

ELIENAI CANDIDA E SILVA

**CONTRIBUIÇÕES DA ANATOMIA FOLIAR PARA A SISTEMÁTICA DE *CROTON*
COM ÊNFASE NAS SEÇÕES *Heptallon*, *Julocroton* E *Lasiogyne* (EUPHORBIACEAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica para obtenção de título de *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira.

Coorientadora: Ricarda Riina

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2023**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

S586c
2023 Silva, Elienai Candida e, 1990-
Contribuições da anatomia foliar para a sistemática de
Croton com ênfase nas seções *Heptallon*, *Julocroton* e
Lasiogyne (Euphorbiaceae) / Elienai Candida e Silva. – Viçosa,
MG, 2023.

1 tese eletrônica (134 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Renata Maria Strozi Alves Meira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Vegetal, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.489>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Crotonoideae - Anatomia. 2. Análise foliar. I. Meira,
Renata Maria Strozi Alves, 1964-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de
Pós-Graduação em Botânica. III. Título.

CDD 22. ed. 583.69

ELIENAI CANDIDA E SILVA

**CONTRIBUIÇÕES DA ANATOMIA FOLIAR PARA A SISTEMÁTICA DE *CROTON*
COM ÊNFASE NAS SEÇÕES *Heptallon*, *Julocroton* E *Lasiogyne* (EUPHORBIACEAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica para obtenção de título de *Doçtor Scientiae*.

APROVADA: 01 de junho de 2023

Assentimento:

Elie nai Candida e Silva

Elie nai Candida e Silva

Autora

gov.br

Documento assinado digitalmente

RENATA MARIA STROZI ALVES MEIRA

Data: 23/08/2023 13:27:52-0300

Verifique em <https://validar.ti.gov.br>

Renata Maria Strozi Alves Meira
Orientadora

*Aos meus pilares, meus pais, José Luiz e
Aparecida, pelo cuidado e apoio de sempre
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu único Senhor, a Ele que é meu Pai e Amigo. Obrigada pelo Seu amor incondicional, por estar comigo em todos os momentos, por me guiar e por ser meu refúgio e fortaleza. Obrigada também por me alimentar espiritualmente através da Catedral das Assembleias de Deus em Viçosa – MG.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV), a mais linda do Brasil! Foi uma honra estudar nessa instituição, que também foi um local de lazer. Obrigada pelos programas de assistência estudantil, especialmente a Divisão Psicossocial e a Divisão de Saúde. Agradeço também a cidade de Viçosa, pelos moradores tão gentis e acolhedores.

Ao Departamento de Botânica e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGBOT) pela oportunidade de realização deste doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, imprescindível para realização deste curso.

A minha orientadora, Renata Maria Strozi Alves Meira, a qual tenho grande admiração. Além de pesquisadora, uma professora excepcional na qual tive a honra de ser aluna, cada aula aumentava ainda mais minha admiração. Agradeço por ter me incentivado a ministrar aulas, foram aprendizados maravilhosos. Obrigada por me receber e pela confiança em aceitar que eu fosse sua orientada. Além da orientação, obrigada pela assistência, pelo respeito e por pensar em cada um dos seus alunos com sua própria realidade. Tenho muito carinho por você. Obrigada por tudo!

A minha coorientadora, a pesquisadora Ricarda Riina do Real Jardim Botânico, Biodiversidade e Conservação de Madrid na Espanha. Obrigada pelo auxílio desde o início do doutorado com a criação de ideias para o projeto, pelas amostras de plantas enviadas, pelas trocas de mensagens tirando minhas dúvidas e pela revisão da tese. Muito obrigada!

A professora Letícia de Almeida Gonçalves da Universidade Federal de Goiás (UFG), a quem minha admiração e carinho só cresceu ao longo dos anos. Obrigada por me apresentar a UFV (a mais linda do Brasil!), a me impulsionar e acreditar em mim para uma nova etapa de crescimento na academia. Você era a pessoa em quem eu pensava a cada conquista e a cada pequena etapa por conquistar. Agradeço também por me ajudar a acalmar meu coração em momentos difíceis. Obrigada por tudo!

A equipe de mulheres cientistas que compuseram a banca de qualificação e foram essenciais na elaboração final do projeto de tese: Dra. Deborah Soares (Universidade Federal de Ouro Preto), Dra. Letícia de Almeida Gonçalves (UFG), Dra. Maria Beatriz Rossi Caruzo

(Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP), Dra. Ricarda Riina (Real Jardim Botânico de Madrid) e a presidente da banca Dra. Renata M.S.A. Meira (UFV).

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) da UFV e ao Laboratório de Microscopia de Alta Resolução (LabMic/UFV) pelo auxílio técnico nas análises de microscopia eletrônica de transmissão, e ao NMM da UFV na eletromicroscopia de varredura.

A Dra. Amanda P. N. Pereira (UNIFESP), ao Dr. Eduardo Valduga (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) e Dra. Profa. Daniela S. C. Torres (Universidade Estadual de Feira de Santana) pelo envio de amostras herborizadas. A doutoranda Rafaela F. dos Santos (Instituto de Pesquisa de Botânica) pelo auxílio nos trabalhos de campo e identificação das plantas coletadas. E ao doutorando Yuri Rossine (Universidade Federal de Pernambuco) pela revisão na identificação das espécies da seção *Lasiogyne*. A todos esses taxonomistas do grande gênero *Croton*, muito obrigada pela parceria.

Aos professores de Anatomia do Departamento de Biologia Vegetal da UFV, Aristeia A. Azevedo, Luzimar Campos, Renata M. S. A. Meira e Wagner C. Otoni, Marília Ventrela e Edgard Picoli, obrigada pelos ensinamentos, pela boa convivência e por tornar o nosso ambiente de trabalho tão leve. Os horários do cafezinho na cozinha foram sagrados, as risadas também. Agradeço também as técnicas do laboratório de Anatomia Vegetal Aurora e Rosana, e ao secretário do PPGBOT Ângelo, por sempre tirar minhas dúvidas com toda a paciência.

Aos irmãos que tive na UFV, Analu Zanotti e José Danizete. Aqueles que foram meu suporte e que estiveram comigo nos momentos difíceis. Sou eternamente grata a Deus por colocar vocês no meu caminho. Analu, minha *roommate*, obrigada por ter sido acolhedora e por ter sido tão fácil de conversar. Dani, que também foi um dos meus coorientadores, ainda que informal, meu parceiro de trabalho, obrigada também pelos dias de conversa na margem da lagoa da UFV com um copo de açaí. Obrigada pelo cuidado. Amo vocês!

Aos Renatetis Analu, Clara, Danizete, Geovanna, João Victor, Letícia Endringer, Luana Miller, Priscila e Rafael. Um grupo muito unido e divertido, foi um grande prazer trabalhar com cada um. Em especial agradeço ao João Victor por me ensinar a utilizar o programa estatístico para análise de similaridades; e ao Miller, meu vizinho, companheiro de feira aos sábados de manhã, foi quem me recebeu e me apresentou cada canto da Universidade mais linda do Brasil!

Aos colegas de laboratório, que tornaram meus dias mais agradáveis e muito alegres. Além dos Renatetis, está também o Hugo, Camila, Franklin, Esneider, Daniela Fernandes e, em especial, aos recém-chegados Gracielle e Luis Henrique pela hospitalidade nos meus últimos dias em Viçosa. Vocês foram companheiros dos trabalhos até tarde da noite; das noites de pizza e de cachorro-quente com direito a campeonato de UNO; das celebrações de aniversário; do

UNO após o almoço, dos piqueniques nos gramados da UFV e das lutas de resistência às ações dos anos de (des)governo do nosso país. Vocês são minha saudade diária. Obrigada por tudo!

A amiga que Jesus me deu em Viçosa, Edinea Freire, ter você ao meu lado durante esses anos foi um presente. Obrigada por me guiar e amparar. Obrigada por tudo!

Aos meus pais, José Luis da Silva e Aparecida Candida da Silva, meus alicerces. Obrigada pelo apoio e ajuda que sempre me deram. Ainda que longe de casa, vocês estiveram presentes. As minhas irmãs Raquel e Sulamita. E a minha sobrinha Mariana, que enche meu coração de ternura. Família muito amada, minha base, meu exemplo.

RESUMO

SILVA, Elienai Candida e, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2023. **Contribuições da anatomia foliar para a sistemática de *Croton* com ênfase nas seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* (Euphorbiaceae)**. Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira. Coorientadora: Ricarda Riina.

Croton (tribo Crotoneae) com cerca de 1.300 espécies, destaca-se como o segundo maior e mais diverso gênero de Euphorbiaceae. Devido ao elevado número de espécies, a ampla distribuição geográfica e as sinapomorfias morfológicas desconhecidas que permitam distinguir alguns dos táxons infragenéricos, *Croton* é considerado taxonomicamente complexo. Os caracteres anatômicos, especialmente os foliares, têm sido utilizados como subsídio à taxonomia, auxiliando no estabelecimento de afinidades e indicando relação em nível de seção, gênero, tribo, família e até ordem. Adicionalmente, as espécies da Crotoneae possuem alta diversidade de estruturas secretoras que são importantes para a sistemática. Sendo assim, este trabalho objetivou estudar a morfoanatomia e micromorfologia foliar de espécies das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* para o reconhecimento de caracteres diagnósticos, para contribuir com o entendimento da relação entre as três seções e para auxiliar na delimitação das espécies dentro de *C. seção Julocroton*. Adicionalmente, a ocorrência de idioblastos secretores com padrão não usual de desenvolvimento foi investigada em representantes destas três seções. *Croton rottlerifolius* Baill. (seção *Cleodora*) foi selecionada como um modelo para esclarecer a origem, a natureza química da secreção e os compartimentos envolvidos na síntese e exsudação da secreção dos idioblastos secretores não usuais em *Croton*, por meio de análises de ontogênese, histoquímica e ultraestrutura. Em nossos estudos, uma espécie nova foi descrita para a seção *Julocroton*. Não houve características morfoanatômicas exclusivas que delimitassem cada uma das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*. Entretanto, essas seções foram circunscritas por um conjunto de caracteres que se sobrepôs entre os grupos. Idioblastos secretores que se projetam acima da superfície foliar, foram observados em uma espécie da seção *Lasiogyne*. Em *C. rottlerifolius*, o idioblasto secretor possui origem de uma inicial protodérmica, se projeta acima da superfície foliar e só então cresce intrusivamente em direção ao mesófilo. A secreção é composta por óleo-resinas. A síntese da secreção ocorre nos plastídios e no RE agranular. A eliminação da secreção provavelmente ocorre via rompimento da parede periclinal externa e pela volatilização das substâncias que são voláteis.

Palavras-chave: Estruturas secretoras. Micromorfologia. Ultraestrutura.

ABSTRACT

SILVA, Elienai Candida e, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2023. **Contributions of the leaf anatomy to *Croton*'s systematic with emphasis on sections *Heptallon*, *Julocroton* and *Lasiogyne* (Euphorbiaceae).** Adviser: Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-adviser: Ricarda Riina.

Croton (tribe Crotoneae) stands out as the second largest and most diverse genus of Euphorbiaceae, with about 1.300 species. Due to the high number of species, wide geographic distribution and unknown morphological synapomorphies that allow distinguishing some of the infrageneric taxa, *Croton* is considered taxonomically complex. Anatomical characters, specially on the leaves, have been used as a subsidy to taxonomy, helping to establish affinities and indicating relationships at the level of section, genus, tribe, family and even order. Additionally, the species of Crotoneae have a high diversity of secretory structures that are important for systematics. Therefore, we aimed to study the morphoanatomy and micromorphology leaves of the species of sections *Heptallon*, *Julocroton* and *Lasiogyne* for the recognition of diagnostic characters, to contribute to understanding the relationship between the three sections and to assist in the delimitation of species within *C. sect. Julocroton*. Furthermore, the occurrence of secretory idioblasts with an unusual pattern of development of these three sections was also investigated. *Croton rottlerifolius* Baill. (sect. *Cleodora*) was selected as a model to clarify the origin, the chemical nature of the secretion and the compartments involved in the synthesis and exudation of the secretion of the unusual secretory idioblasts in *Croton*, through analysis of ontogenesis, histochemistry and ultrastructure. In our studies, a new species was described for sect. *Julocroton*. There were no exclusive morphoanatomical characteristics that delimit each of the sect. *Heptallon*, *Julocroton* and *Lasiogyne*. However, these sections were circumscribed by a character set that overlapped between groups. Secretory idioblasts projecting above the level of other epidermal cells was observed in one species of sect. *Lasiogyne*. In *C. rottlerifolius*, the secretory idioblast originates from a protodermal initial, projects above the other protodermal cells and only then grows intrusively toward the mesophyll. The secretion is composed of lipophilic substances such as oleoresins. Synthesis of secretion occurs in plastids and in the agranular ER. The elimination of the secretion probably occurs in the rupture of the external periclinal wall and by the volatilization of the substances that are volatile.

Keywords: Secretory structure. Micromorphology. Ultrastructure.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
REFERÊNCIAS	14
CAPÍTULO I: <i>Croton maranonensis</i> : a new species of Euphorbiaceae from the tropical inter-Andean dry valleys	16
Abstract	17
Introduction.....	18
Materials and methods	19
Results.....	20
Discussion.....	22
References.....	28
Appendix.....	33
Table and figures	36
CAPÍTULO II: Anatomia foliar de <i>Croton</i> seção <i>Julocroton</i> (Euphorbiaceae): contribuições para a sistemática.....	44
Resumo	44
Introdução	45
Material e métodos.....	46
Resultados	50
Discussão	57
Conclusão.....	62
Referências.....	63
Figuras	67
CAPÍTULO III: <i>Croton</i> seções <i>Heptallon</i> , <i>Julocroton</i> e <i>Lasiogyne</i> (Euphorbiaceae): mofoanatomia foliar e diversidade das estruturas secretoras como contribuições para a sistemática	72
Resumo	72
Introdução	73
Material e métodos.....	74
Resultados	79
Discussão	88
Conclusões	99
Referências.....	100
Figuras e tabelas.....	104

CAPÍTULO IV: Revelando o desenvolvimento incomum do idioblasto secretor de óleo-resina de <i>Croton rottlerifolius</i> , uma árvore de mata seca	115
Resumo	115
Introdução	116
Material e métodos.....	117
Resultados.....	119
Discussão	122
Conclusões.....	125
Referências.....	125
Figuras	128
Conclusão geral	134

INTRODUÇÃO GERAL

Euphorbiaceae na sua circunscrição atual (*sensu stricto*), possui distribuição predominantemente pantropical, com elevada diversidade nas regiões tropicais. É uma das maiores, mais complexas e diversas famílias de angiospermas (SECCO *et al.*, 2012; WEBSTER, 2014), incluindo aproximadamente 300 gêneros e 6.000 espécies (SOUZA & LORENZI, 2012). No Brasil ocorrem cerca de 65 gêneros e 1.000 espécies distribuídas em todas as regiões e domínios fitogeográficos (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2022).

Com base em análises de dados moleculares e morfológicos, Euphorbiaceae inclui apenas as subfamílias 1-ovuladas da antiga circunscrição de Euphorbiaceae *sensu lato* (WEBSTER, 1975; 1987; 1994): Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae (Euphorbiaceae *sensu stricto*). As subfamílias Phyllanthoideae e Oldfieldioideae, que possuem lóculos 2-ovulados, foram elevadas ao status de família (CHASE *et al.*, 2002). Entre os gêneros mais ricos, *Croton* (subfamília Crotonoideae, tribo Crotonae), com cerca de 1300 espécies, destaca-se como o segundo maior e mais diverso gênero de Euphorbiaceae (GOVAERTS *et al.*, 2000; BERRY *et al.*, 2005). Devido ao elevado número de espécies, a ampla distribuição geográfica e as sinapomorfias morfológicas desconhecidas que permitam distinguir alguns dos táxons infragenéricos, *Croton* é considerado taxonomicamente complexo (RIINA *et al.*, 2009). O gênero é organizado em quatro subgêneros monofiléticos (subg. *Croton*, subg. *Geiseleria*, subg. *Adenophylli* e subg. *Quadrilobi*) (VAN EE *et al.*, 2011). Essa classificação, baseada em dados moleculares dos três genomas (nuclear, mitocondrial e plastidial), compreende 32 grupos monofiléticos, classificados em 31 sessões Neotropicais e um clado (subg. *Croton*) formado unicamente pelas espécies do Velho Mundo (VAN EE *et al.*, 2011).

No estudo de Van Ee *et al.* (2011), ficou evidente que a relação entre *Croton* seção *Heptallon*, *C.* seção *Julocroton* e *C.* seção *Lasiogyne* não está bem esclarecida, reforçando achados anteriores (VAN EE & BERRY, 2010). Nas análises das matrizes de regiões genéticas individuais (*e.g.*, regiões EMB2765, trnL-F e rps3) e combinadas, as seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* não resultaram cada uma como um clado, o monofiletismo dessas seções só foi observado na análise com o marcador nuclear ITS (VAN EE *et al.*, 2011). Entretanto, a amostragem taxonômica destas três seções nas análises de filogenia molecular de Van Ee *et al.* (2011) é limitada e apenas representativa, considerando a diversidade de espécies das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*. Quanto a biogeografia, as três seções mostram uma distribuição interessante onde *C.* seção *Heptallon* é exclusivamente Norte Americana

(VAN EE & BERRY, 2010), *C. seção Julocroton* é Neotropical com as espécies concentradas na América do Sul (CORDEIRO, 1990) e *C. seção Lasiogyne* ocorre nos Trópicos e Subtrópicos do Novo Mundo (VAN EE *et al.*, 2011).

Croton seção *Heptallon* compreende nove espécies caracterizadas por possuírem flores estaminadas petalíferas e indumento formado por tricomas estrelados (VAN EE & BERRY, 2010), as espécies são de hábito herbáceo e subarbuscivo e ocorrem em áreas perturbadas, desertos e dunas de areia (VAN EE *et al.*, 2011). No passado, *Croton* seção *Julocroton* correspondia a um gênero distinto de *Croton* (CORDEIRO, 1990) que foi circunscrito com base na filogenia molecular como *C. seção Julocroton*, compreendendo 42 espécies herbáceas e arbustivas (VAN EE *et al.*, 2011; MARTÍN-MUÑOZ *et al.*, em revisão, capítulo I), de ambientes abertos e secos (CORDEIRO, 1990). As espécies de *C. seção Julocroton* são reconhecidas por terem flores pistiladas com sépalas desiguais, altamente divididas e disco compostos por três glândulas separadas ou unidas em forma de lua e androceu formado por 10-12 estames (CORDEIRO, 1990). Por sua vez, *Croton* seção *Lasiogyne* possui cerca de 45 espécies de arbustos e arvoretas, são de ambientes secos e são reconhecidas pelas flores pistiladas com sépalas reduplicado-valvadas, embora essa característica seja uma homoplasia compartilhada com algumas espécies das seções *Barhamia*, *Cleodora*, *Cyclostigma*, *Luntia* e *Prisci* (VAN EE *et al.*, 2011).

Os caracteres anatômicos têm sido utilizados como subsídio à taxonomia desde o século XIX, auxiliando no estabelecimento de afinidades e indicando relação em nível de seção, gênero, tribo, família e até ordem (SOLEREDER, 1908; METCALFE & CHALK, 1950; 1979; 1983; RUDALL, 1994; JUDD *et al.*, 2009). Na tribo Crotonaeae, caracteres anatômicos foliares, especialmente a presença, o tipo e posição de estruturas secretoras, têm sido utilizados como subsídio para a sistemática (VITARELLI *et al.*, 2015; 2016; FEIO *et al.*, 2016; 2018). Nestes trabalhos tricomas secretores, idioblastos, laticíferos, coléteres e nectários foram descritos nas folhas, e utilizados para agrupar ou distinguir espécies de Crotonaeae. Além disso, a diversidade de formas dos tricomas não secretores nas folhas de *Croton* spp., constitui um caráter importante do ponto de vista taxonômico (WEBSTER *et al.*, 1996; PINTO-SILVA *et al.*, 2023) e fisiológico (VITARELLI *et al.*, 2016). Contudo, considerando a diversidade de *Croton*, o número de espécies e seções amostradas em estudos de morfoanatômicos e filogenéticos, necessita ser ampliado a fim de permitir avaliar a evolução dos caracteres anatômicos para o gênero.

Metcalf & Chalk (1957) lista as seguintes estruturas secretoras presentes em Euphorbiaceae: laticíferos; células taníferas, mucilaginosas e resiníferas; cavidades e ductos secretores; tricomas glandulares; tricomas urticantes e nectários extraflorais. Uma característica típica de Crotonae é a presença de idioblastos secretores contendo lipídios, compostos fenólicos, alcaloides e proteínas (FEIO *et al.*, 2016). Idioblastos secretores são células isoladas que diferem das suas circunvizinhas em forma, tamanho e natureza química da secreção (FOSTER, 1955). Em algumas espécies de *C.* seção *Cleodora* subseção *Spruceani* os idioblastos secretores na lâmina foliar, apresentam um padrão não usual, onde os idioblastos emergem acima da superfície foliar (VITARELLI *et al.*, 2015). Apesar de os idioblastos secretores serem comuns nas folhas de *Croton*, sua localização varia entre as espécies e pode ser um caráter diagnóstico para Crotonae (VITARELLI *et al.*, 2015). As espécies de Crotonae possuem alta diversidade de estruturas secretoras, que em conjunto com outras características anatômicas, são importantes para a sistemática (VITARELLI *et al.*, 2015; FEIO *et al.*, 2016; 2018).

Os estudos anatômicos das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* podem contribuir para o reconhecimento de caracteres diagnósticos, para a solução de problemas na sistemática e para auxiliar na delimitação das espécies dentro de *C.* seção *Julocroton*. Além disso, investigou-se a ocorrência dos idioblastos secretores com padrão não usual nas três seções supracitadas. Para elucidar a origem, histoquímica e ultraestrutura dos idioblastos secretores não usuais em *Croton*, selecionou-se a espécie *Croton rottlerifolius* Baill. (seção *Cleodora*).

A tese está organizada em quatro capítulos, estruturados em formato de artigo científico:

- Capítulo I – “*Croton maranonensis*: a new species of Euphorbiaceae from the tropical inter-Andean dry valleys” (submetido e aceito mediante revisões no periódico **European Journal of Taxonomy**. Link para acesso: <https://www.editorialmanager.com/ejt/default2.aspx>);
- Capítulo II – “Anatomia foliar de *Croton* seção *Julocroton* (Euphorbiaceae): contribuições para a sistemática” (a ser submetido no periódico **Acta Botanica Brasílica**. Link para acesso: <https://acta.botanica.org.br>)
- Capítulo III – “*Croton* seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* (Euphorbiaceae): mofoanatomia foliar e diversidade das estruturas secretoras como contribuições para a sistemática” (a ser submetido no periódico **Plant**

Systematics and Evolution. Link para acesso:
<https://www.springer.com/journal/606/>

- Capítulo IV – “Revelando o desenvolvimento incomum do idioblasto secretor de óleo-resina de *Croton rottlerifolius*, uma árvore de mata seca” (a ser submetido no periódico **Protoplasma**. Link para acesso:
<https://www.springer.com/journal/709/>).

REFERÊNCIAS

BERRY, P. E.; HIPPI, A. L.; WURDACK, K. J.; VAN EE, B. & RIINA, R. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonae (Euphorbiaceae *sensu stricto*) using ITS and trnL-trnF DNA sequence data. **American Journal of Botany**, v. 92, p. 1520-1534, 2005.

CHASE, M. W.; ZMARZTY, S.; LLEDÓ, M. D.; WURDACK, K. J.; SWENSEN, S. M. & FAY, M. F. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. **Kew Bulletin**, v. 57, p. 141-181, 2002.

CORDEIRO, I. Aspectos taxonômicos e distribuição geográfica de *Julocroton* Mart. (Euphorbiaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v. 4, p. 83-90, 1990.

Euphorbiaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB113>>. Acesso em: 31 out. 2022.

FEIO, A. C.; RIINA, R. & MEIRA, R. M. S. A. Secretory structures in leaves and flowers of two dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae): new evidence and interpretations. **International Journal Plant Science**, v. 177, p. 511-522, 2016.

FEIO, A. C.; RIINA, R. & MEIRA, R. M. S. A. Leaf anatomical features and their implications for the systematics of dragon's blood *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 187, p. 614-632, 2018.

FOSTER, A. S. Plant idioblasts: remarkable examples of cell specialization. **Plant Science Bulletin**, v. 1, p. 184-193, 1955.

GOVAERTS, R. D. G.; FRODIN, & RADCLIFFE-SMITH, A. **World checklist and bibliography of Euphorbiaceae**, 4 vol. Royal Botanic Garden, Kew, UK, 2000.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. & DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3ª Ed. Artmed, Porto Alegre, 2009.

METCALFE, C. R. & CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. Vol. I. Clarendon Press, Oxford, 1950.

METCALFE, C. R. & CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses** Vol. II. Clarendon Press, Oxford, 1957.

METCALFE, C. R. & CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons: Systematic Anatomy of Leaf and Stem with a Brief History of the Subject**. Vol. I., 2nd. Clarendon Press. Oxford, 1979.

PINTO-SILVA, N.; SOUZA, K.; SILVA, O. L. M.; VITARELLI, N. C.; PEREIRA, M.; SOARES, D.; SODRÉ, R. C.; MEDEIROS, D.; CARUZO, M. B.; CARNEIRO-TORRES, D. S.; SILVA, M.; MEIRA, R. M. S. A.; RIINA, R.; FEIO, A. C. Trichomes in the megadiverse genus *Croton* (Euphorbiaceae): a revised classification, identification parameters and standardized terminology. **Botanical Journal of the Linnean Society**. Aceito para publicação. 2023.

RIINA, R.; BERRY, P. E. & VAN EE B. W. Molecular phylogenetics of the dragon's blood *Croton* sect. *Cyclostigma* (Euphorbiaceae): a polyphyletic assemblage unraveled. **Systematic Botany**, v. 34, p. 360-374, 2009.

RUDALL, P. Laticifers in Crotonoideae (Euphorbiaceae): homology and evolution. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 81, p. 270-282, 1994.

SECCO, R. S.; BIGIO, N. C.; CORDEIRO, I.; PSCHIEDT, A. C.; MARQUES, O. & CARUZO, M. B. R. Check-list de Euphorbiaceae s. str., Phyllanthaceae e Peraceae de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, p. 207-215, 2018.

SOLEREDER, H. **Systematic Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. II. Clarendon Press, Oxford, 1908.

SOUZA, V.C. & LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ª Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012.

VAN EE, B. W. & BERRY, P. E. Taxonomy and phylogeny of *Croton* section *Heptallon* (Euphorbiaceae). **Systematic Botany**, v. 35, p. 151-167, 2010.

VAN EE, B. W.; RIINA, R. & BERRY, P. E. A revised infrageneric classification and molecular phylogeny of new world *Croton* (Euphorbiaceae). **Taxon**, v. 60, p. 1-33, 2011.

VITARELLI, N. C.; RIINA, R.; CARUZO, M. B.; CORDEIRO, I.; AGUILAR, J. F. & MEIRA, R. M. S. A. Foliar secretory structures in Crotonae (Euphorbiaceae): Diversity, anatomy, and evolutionary significance. **American Journal of Botany**, v. 102, p. 1-15, 2015.

VITARELLI, N. C.; RIINA R, CASSINO, M. F. & MEIRA, R. M. S. A. Trichome-like emergences in *Croton* of Brazilian highland rock outcrops: evidences for atmospheric water uptake. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 22, p. 23–35, 2016.

WEBSTER, G. L. The genera of Euphorbiaceae in the Southeastern United States. **Journal of the Arnold Arboretum**, v. 48, p. 303-361, 1967.

WEBSTER, G. L. Conspectus of a new classification of the Euphorbiaceae. **Taxon**, v. 24, p. 593-601, 1975.

WEBSTER, G. L. The saga of the spurge: a review of classification and relationships in the Euphorbiales. **Botanical Journal of the Linnean society**, v. 94, p. 346, 1987.

WEBSTER, G. L. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. **Annals Missouri Botanical Garden**, v. 81, p. 33-144, 1994.

WEBSTER G. L. Euphorbiaceae. In Flowering Plants. Eudicots. The Families and Genera of Vascular Plants (K. Kubitzki, ed). Springer, Berlin, Heidelberg, v. 11. 2014.

CAPÍTULO I

***Croton maranonensis*: a new species of Euphorbiaceae from the tropical inter-Andean dry valleys**

(Submetido e aceito mediante revisões no periódico European Journal of Taxonomy)

Juan MARTÍN-MUÑOZ^{1†*}, Elienai Cândida e SILVA^{2†}, Paúl GONZÁLES³, Álvaro MUÑOZ-SÁNCHEZ⁴, Nixon CUMBICUS⁵, Zoë GOODWIN⁶, Renata Maria Strozi Alves MEIRA⁷, Ricarda RIINA⁸

¹Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Universidad de Salamanca, Av. Licenciado Méndez Nieto s/n, E-37007, Salamanca, Spain

¹marmujuan@gmail.com

¹ORCID 0000-0002-7963-5951

^{2,7}Departamento de Biologia Vegetal, Anatomia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 36570-900, Brazil

²elienaibio@gmail.com

²ORCID 0000-0003-2884-0792

⁷rmeira@ufv.br

⁷ORCID 0000-0001-5324-6168

³Laboratorio de Florística, Departamento de Dicotiledóneas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Museo de Historia Natural, Lima, Peru

³pgonzalesarce@gmail.com

³ORCID 0000-0002-6799-376X

^{4,8}Real Jardín Botánico (RJB), CSIC, Plaza de Murillo 2, ES-28014, Madrid, Spain.

⁴ORCID 0009-0008-8337-6332

⁴alvamu06@ucm.es

⁸ORCID 0000-0002-7423-899X

⁸rriina@rjb.csic.es

⁵Departamento de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador

⁵nlcumbicus@utpl.edu.ec

⁵ORCID 0000-0002-4880-6607

⁶Royal Botanic Garden Edinburgh, 20A Inverleith Row, Edinburgh EH3 5LR, U.K.

⁶zgoodwin@rbge.org.uk

⁶ORCID 0000-0003-2926-1645

^{1,*}Corresponding author: marmujuan@gmail.com

^{1,2,†}Equally contributing authors

Abstract

We describe *Croton maranonensis* Riina & Martín-Muñoz sp. nov., a species in *Croton* section *Julocroton* (Mart.) G.L.Webster from the seasonally dry tropical forests and shrublands of the inter-Andean valleys. This species is a small shrub occurring along the Marañón river valley in Peru and similar dry areas in southern Ecuador. We surveyed morpho-anatomical characters of the new species and closely related taxa. To confirm the placement of the new species in *C.* section *Julocroton*, we conducted a molecular phylogenetic analysis including three accessions of the new species and selected representatives of section *Julocroton* and related groups within *Croton* L. Micro- and macro-morphological evidence, and molecular data support *C. maranonensis* sp. nov. as an independent lineage within the *C.* section *Julocroton* clade. We compared the new species with morphologically similar species in the same section that also occur in the Andean region, including *C. flavispicatus* Rusby, *C. triqueter* Lam., and *C. hondensis* (Karst) G.L.Webster.

Keywords. Anatomy, *Croton* section *Julocroton*, dry vegetation, morphology, Neotropics, taxonomy.

Introduction

Croton section *Julocroton* (Mart.) G.L.Webster is a monophyletic group (Van Ee *et al.* 2011) that consists of 42 species including the new species here described. Species in this section are monoecious herbs or shrubs with usually dense stellate indumentum, leaves without basilaminar/petiolar nectary glands, highly congested bisexual inflorescences composed of staminate flowers with 10–12 stamens and pistillate flowers with lacinate and unequal sepals (Van Ee *et al.* 2011). The section is mainly distributed in tropical areas of South America, with southern Brazil and Paraguay as the main centers of diversity (Cordeiro 1990; Van Ee *et al.* 2011; Caruzo *et al.* 2020). Only one species, *C. argenteus* L., has expanded its range outside South America, occurring also in Central America, Mexico, southern United States and the Caribbean (Van Ee *et al.* 2011).

Croton maranonensis sp. nov. occurs in the seasonally dry forests of the tropical Andes biodiversity hotspot, the most species-rich among the world's hotspots (Myers *et al.* 2000). The new species has been extensively collected along the Marañón Valley and in a few localities in southern Ecuador. The Marañón Valley is part of the Central inter-Andean valleys floristic group identified by DRYFLOR (2016), along with 11 other floristic nuclei of dry forest vegetation in the Neotropics. The levels of plant endemism in the Marañón Valley is extremely high (Marcelo-Peña *et al.* 2016), with many new endemic species being described from this area in the last decade (Moura *et al.* 2013; Michelangeli & Ulloa Ulloa 2016; Esquerre-Ibañez 2017; Jara *et al.* 2020; Montesinos-Tubée *et al.* 2020; Wood & Uría 2021). This suggests that the diversity of Marañón's flora has been underestimated and that there are probably more new plant species waiting to be described (Särkinen *et al.* 2011).

In the last floristic survey of the Marañón valley flora, Euphorbiaceae was recorded as the second family in number of species, after Leguminosae, and *Croton* and *Senna* Mill. were the most species-rich genera with 12 and 11 species, respectively (Marcelo-Peña *et al.* 2016). When considering the entire area covered by the Central inter-Andean valleys floristic group (northern Peru and Ecuador; DRYFLOR 2016), *Croton* also stands out as the genus with the highest number of species and high levels of abundance in many of the forest plots measured so far (DRYFLOR 2016; Quintana *et al.* 2017). In some of these areas, *Croton* plants are the

dominant woody elements of the landscape, acting as ecosystem engineers (Espinoza *et al.* 2018).

In this paper we add to the floristic knowledge of the Central inter-Andean valleys and the Neotropical dry forest by describing *Croton maranonensis* sp. nov., a taxon in the understudied *C.* section *Julocroton*. We used both morphological and anatomical data to characterize the species and to compare it to its most closest relatives in the section. We also performed a molecular phylogenetic analysis based on the ITS region to test the placement of the new species in *C.* section *Julocroton*, as initially suggested by morphology. Finally, we propose a preliminary assessment of the conservation status of the new species.

Materials and methods

We examined collections of *Croton maranonensis* sp. nov. and related taxa in *C.* sect. *Julocroton* deposited in herbaria A, BKL, BM, BR, COL, E, ESA, F, GH, HUTPL, K, IAC, ICN, MA, MICH, MO, MOL, NY, P, RFA, SP, SPF, UB, US, USM, and WIS. The type material and additional specimens available from morphologically similar species in *C.* sect. *Julocroton* were also examined (see Appendix 1). Acronyms of herbaria follow Index Herbariorum (<http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>). For morphological descriptions we used a stereomicroscope with 10–60× magnification. The morphological and anatomical descriptions follow recent taxonomic and anatomical studies about *Croton* (Van Ee *et al.* 2011; Vitarelli *et al.* 2015, 2021; Riina *et al.* 2021). For trichome terminology, we follow the classification proposed by Pinto-Silva *et al.* (2023).

For the anatomical study, we sampled leaves, young leaves, shoots and stipules of five specimens of *Croton maranonensis* sp. nov.: *Van der Weff 14623, 14806* (MICH); *Cumbicus & Camacho 1924* (MA); *Riina 1469* (MA); *Campos 2139* (MICH); *Vásquez 27094* (WIS), three specimens of *C. flavispicatus*: *Sacha 14613* (MO); *Souza 6401* (MO); *Riina 1450* (MICH) and three specimens of *C. triqueter*: *E. Valduga 749, 815* (ICN); *L.C. Bernacci et al. 997* (IAC). These materials were prepared for light and scanning electron microscopy following the methods described in similar anatomical studies (Johansen 1940; Bozzola & Russel 1992; Meira & Martins 2003; Vitarelli *et al.* 2015, 2021; Feio *et al.* 2018).

For the phylogenetic analysis we used sequences from the ITS (Nuclear ribosomal internal transcribed spacers) region using a selection of species of *C.* subgenus *Geiseleria* A.Gray (Van Ee *et al.* 2011) obtained from GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)

along with newly generated sequences of *C. maranonensis* sp. nov., *C. hondensis*, and several specimens of *C. sect. Julocroton*, including the widespread *C. triqueter* (see Appendix 2).

DNA extraction, amplification, sequencing, and alignment followed the same procedures as in Masa-Iranzo *et al.* (2021). The aligned ITS matrix was trimmed on both ends to minimize missing data (the alignments, in fasta format, are provided as Supplementary Material). Phylogenetic analysis was performed in MrBayes 3.2.7 (Ronquist *et al.* 2012) applying the GTR+I+G model (Masa-Iranzo *et al.* (2021). We did 2 runs for 10 million generations sampling every 1000th generation, monitoring the standard deviation of split frequencies (< 0.01) for assuring convergence. Tracer 1.7.2 (Rambaut *et al.* 2014) was used to evaluate the Markov chains. As burn-in, the first 25% of MCMC samples were discarded. Using the *sumt* command we obtained a Bayesian tree with posterior probability (PP) values by computing a majority rule consensus of the post-burn-in trees. We used FigTree 1.4.4 (Rambaut 2006) to edit the consensus tree.

A preliminary assessment of the conservation status, including estimation of the area of occupancy (AOO) and extent of occurrence (EEO) were conducted using the GeoCat software (Bachman *et al.* 2011) and the coordinates available from the examined herbarium collections of the new species. For those without coordinates, we estimated them with Google Earth using locality and habitat information provided in the collection labels.

Results

Figs 1, 2

Diagnosis

Croton maranonensis sp. nov. is morphologically most similar to *C. hondensis* and can be distinguished from the latter mainly by its bifid styles (4-fid in *C. hondensis*), shorter petioles (0.2–1 cm vs 1.8–5.3(7.8) cm in *C. hondensis*), leaf blades that are 2–6(8) cm long (5.5–6.6 (10.2) cm long in *C. hondensis*), bracts 1–1.2 mm long (3.2–5 mm in *C. hondensis*) and the presence of a conspicuous, usually persistent, colleter at the leaf apex (vs. an inconspicuous caducous colleter in *C. hondensis*) (Table 1).

Etymology

The specific epithet of the new species refers to Marañón river valley, the location where the majority of specimens of *C. maranonensis* sp. nov. have been collected.

Type

PERU • Amazonas, Utcubamba, Dtto. Bagua Grande, carretera Corral Quemado a Lonya Grande, bordeando el valle del alto Río Marañón; 06°04'20"S, 78°32'24"W; alt. 600 m; 20 May 2004; *R. Riina & J. Campos 1469*; Holotype: MA [MA 874921], Isotypes: E, MICH, MO, USM.

Other Specimens Examined

ECUADOR • Loja, Cantón Catamayo, Parroquia el Tambo, sector San Bernabé, 500 m de la entrada del desvío desde San Bernabé a Malacatos; 4°05'32.2"S, 79°20'11.8"W; alt. 1950 m; 23 Nov. 2013; *N. Cumbicus, F. Tinitana, O. Cabrera 1890*; HUTPL • Loja, Cantón Catamayo, Parroquia el Tambo, sector San Bernabé, 500 m de la entrada del desvío desde San Bernabé a Malacatos; 4°05'32.2"S, 79°20'11.8"W; 1950 m; 20 May 2008; *N. Cumbicus, V. Camacho 1924*; HUTPL, MA.

PERU • Amazonas, Bagua Grande, El Parco, bosque seco espinoso; 05°40'00"S, 78°25'00"W; alt. 700 m; 5 Dec. 2001; *R. Vásquez, R. Rojas & L. Campos 27094*; MO, USM [198077], WIS • Amazonas, along road Bagua Grande and Pedro Ruiz in dry and semideciduous scrub; 05°54'48"S, 78°07'38"W; alt. 500–1000 m; 10 Mar. 1998; *H. van der Werff, Bruce Gray, Rodolfo Vásquez & Rocío Rojas 14623*; MO, MICH, WIS • Amazonas, Bongorá, Pedro Ruiz-Chachapoyas, km 35; 06°12'53"S, 77°54'21"W; Oct. 1990; *F. Kahn, F. Moussa 2854*; USM [115945] • Amazonas, Along road Tingo-Kuelap, Choctamal, moderately wet scrub, originally forest; 06°23'43"S, 77°57'53"W; alt. 2400 m; 12 Mar. 1998; *H. van der Werff, B. Gray, R. Vásquez & R. Rojas 14806*; USM [201908] • Cajamarca, Jaén; 9 Jun. 1877; *E.D. Andre 4713*; K • Amazonas, Valley of the Marañón river, past Tingo on road to Lambeyeque, property of Lola and Perico Heredia, on eastern bank of Río Utcubamba; -6.432583333, -77.87330556; alt. 1820 m; 8 Mar. 2012; *K.G. Dexter, J.L. Marcelo Peña, A. Daza Yomona, R.T. Pennington 5935*; E • Cajamarca, Jaén, 29 km E of Pucara on road to Bagua, very dry tropical forest along Río Huancabamba; alt. 710 m; 10 Jun. 1978; *A. Gentry, M. Dillon, J. Aronson, C. Diaz 22750 F* [2100677], MICH • Cajamarca, Jaén, Dtto. Jaén, Sector El Huito, bosque seco; 05°40'47"S, 78°47'55"W; alt. 890; 18 Jul. 2005; *J.L. Marcelo-Peña, A. Tapia N., J. Dilas J. 1761*; MICH, MOL • Cajamarca, Jaén, Yanayacu, bosque seco; 05°40'47.8"S, 78°46'12.3"W; alt. 623 m; *J.L. Marcelo Peña 2057*; MOL • Cajamarca, Jaén, El Huito, bosque seco; 05°41'17"S, 78°48'60"W; alt. 780 m; 14 Dec. 2006; *J.L. Marcelo Peña, U.*

Hipler 2235; MOL • Cajamarca, Jaén, Dtto. Jaén, Sector San Isidro, bosque estacionalmente seco; 5°42'30"S, 78°46'54.4"W; alt. 734 m; 18 Apr. 2007; *J.L. Marcelo-Peña, V. Marcelo-Peña* 2601; MICH • Cajamarca, Dtto. Jaén, Sector El Huito, bosque excepcionalmente seco; 05°41'17"S, 78°48'59"W; alt. 780 m; 24 Mar. 2008; *J.L. Marcelo-Peña, C. Carrasco, R. Carhuatocto* 3107; E [E00664543] • Cajamarca, Jaén, Pucará (On the Río Huancabamba), km 127 east of Olmos, north of town up creek in Quebrada de las Breas to an in vicinity of waterfall, ca. 20 minutes by foot; 5°58'17.6"S, 79°11'59.5"W; 11 Jan. 1964; *P. C. Hutchison, J.K. Wright* 3520; F, K [000111643], USM • Cajamarca, Jaén, at Gota de Agua, privately owned conservation área 15 minute drive away from central Jaén. Collected as part of plot work, plot located close to a path leaving from the main gate of the estate.; 5°41'33"S, 78°46'04"W; alt. 800 m; 9 Apr. 2008; *T.E. Sarkinen, A. Daza, H. Vandrot, S. D'ugard* 3026; E [E01007877], FHO, MOL, USM. • Cajamarca, Jaén, Dtto. Morro Solar, camino de Jaén a Chililique. Ladera con vegetación seca, suelo arenoso y pedregoso; 05°43'02"S, 78°48'56"W; alt. 700 m; 22 May 2004; *R. Riina & J. Campos* 1478; MA • Cajamarca, Jaén, Pucará, bosque secundario, 06°03'00"S, 079°10'00"W; alt. 1000 m; 28 Dec. 1999; *R. Rojas, J. Campos, S. Flores* 863; WIS • Cajamarca, Jaén, Colasay, bosque seco; 05°55'00"S, 079°10'00"W; alt. 1600 m; 8 Dec. 2001; *R. Vásquez, R. Rojas & L. Campos* 27200; WIS, USM [196679] • Cajamarca, Jaén, dry scrub along Marañón, between Chamayo and Corral Quemado; 05°42'S, 078°48'W; alt. 700 m; 25 Mar. 2001; *H. van der Werff, R. Vásquez, B. Gray* 16399; USM [178708] • Cajamarca, San Ignacio, Distrito de Chirinos, Patociego; 05°19'S, 078°44'W; alt. 500-800 m; 27 Jan. 1996; *J. Campos, O. Díaz* 2210; MO, MOL • Cajamarca, San Ignacio, Dtto. Chirinos, La Catahua, 05°24'S, 78°47'W; alt. 500–800 m; 24 Jan. 1996; *J. Campos* 2139; MA, MICH, MO, USM. • Dtto. La Libertad, Sánchez Carrión, Chugay, 4 km abajo El Convento en la ruta Huamachuco - Calemar; 7°36'21"S, 77°51'45"W; alt. 1695; 16 Feb. 2020; *P. Gonzáles, Z.A. Goodwin, J.L. Marcelo-Peña, W. Aparco, R. Balvin* 6491; E [E01059878], USM. • Dtto. La Libertad, Sánchez Carrión, Chugay, 4 km abajo El Convento (margen derecho del Río Chusgón); 7°36'21"S, 77°51'45"W; alt. 1695 m; 13 Feb. 2020; *J.L. Marcelo-Peña, P. Gonzáles, Z.A. Goodwin, W. Aparco, R. Balvin* 11142; E, USM. • Dtto. La Libertad, Sánchez Carrión, Chugay, 4 km abajo El Convento (margen derecho del Río Chusgón); 7°36'21"S, 77°51'45"W; alt. 1695 m; 13 Feb. 2020; *J.L. Marcelo-Peña, P. Gonzáles, Z.A. Goodwin, W. Aparco, R. Balvin* 11146; E, USM.

Description

Monoecious shrub, up to 2 m high; young branches with dense indumentum of stellate trichomes, often stipitate; without evident latex. Stipules 0.5–3 mm long, linear to narrowly subulate, with colleters (ovoid glands) at the base, margin, and apex. Petiole 0.2–1 cm long, with dense indument of stellate trichomes and stipitate stellate trichomes; petiolar nectary glands absent; colleters present at the apex of petioles, sometimes arranged into two clusters at both sides of the petiole. Leaf blade ovate-lanceolate 2–6(8) × 1–2(4) cm; indumentum on the adaxial side more or less dense with stipitate porrect stellate trichomes, simple trichomes also present; indumentum on the abaxial side very dense with long-stipitate porrect stellate trichomes; base cordate or rounded, sometimes asymmetrical; apex acute, usually mucronate with a single conspicuous colleter (no longer active); margin entire; colleters (no longer active) along the margin; venation palmate-pinnate, 3–5 veined at base, brochidodromous; primary and secondary veins raised only on the abaxial side. Inflorescences terminal, 2–4.5 cm long, axis slightly costate, with a dense indumentum of mostly stipitate porrect stellate trichomes, bracts linear and curved, ca. 1–1.2 mm long; basal cymules pistillate; upper cymules with staminate flowers, all flowers regularly spaced or sometimes with a gap in the middle, between the pistillate and staminate portions, with persistent bracts and rounded scars of the fallen flowers. Staminate flowers pedicellate; pedicel 0.5–2.0 mm; sepals valvate, triangular-ovate, 1.3–2.0 × 1.0–1.2 mm, adaxial side glabrous with simple trichomes at the apex, abaxial surface with a dense indumentum of stellate trichomes; petals narrow-elliptic 1.2–2.0 × 0.5–0.7 mm, simple trichomes scattered on adaxial side and toward the apex, abaxial side glabrous; receptacle densely pilose; stamens 11–12, filaments 2.5–3.0 mm long, with trichomes toward the base, anthers 0.6–0.8 × 0.3–0.5 mm. Pistillate flowers pedicellate, pedicel 0.5–1 mm long; sepals triangular-ovate, valvate, unequal, the 3 large sepals 1.8–2.0 × 0.8–1.2 mm, often with a dissected margin, sometimes with a long acuminate apex, the 2 small sepals 1.0–1.2 × 0.3–0.5 mm, with margin entire, adaxial and abaxial sides with stellate trichomes; petals absent; nectary disc entire; ovary densely covered with stellate trichomes; styles bifid, covered in part with stellate trichomes. Fruits subglobose, 4.0–5.0 × 3.0–3.5 mm, columella 2.5–3.0 mm long; seeds elliptical, 2.7–3.0 × 1.3–1.5 mm, usually mottled (brownish with black spots), surface slightly foveolate, shiny; caruncle 0.2–0.3 × 0.2–0.3 mm. Figures 1, 2.

Main micromorphological features of *Croton maranonensis* sp. nov.

Leaves are amphi-hypoestomatic, with paracytic stomata and epidermal cells exhibiting straight contour (Fig. 3A) on both faces. Simple trichomes and stipitate stellate porrect

trichomes were present (Figs. 3B, C); trichome stipes were shorter on the adaxial sides than on the abaxial side. Sometimes idioblasts were observed at the base of the radial cells of stellate trichomes (Fig. 3D, in detailed image). Sclereids, connecting both leaf sides across the mesophyll, were present at the base of stellate trichomes (Fig. 3E). Unicellular glandular trichomes were relatively abundant on the abaxial side (Fig. 3C) and rare on the adaxial side (Fig. 3B). Glandular trichome had a knob-like appearance with a narrow base and a dilated distal portion (Fig. 3F, G). Epidermal cells were tabular with mucilage content (Fig. 3F, G); the mesophyll is dorsiventral (Fig. 3F). The contour of the midrib is biconvex, with 2-3 layers of annular subepidermal collenchyma (Fig. 3D). The bicolateral vascular system is organized in an open arch with a dorsal bundle (Fig. 3D). The blade margin is straight with non-continuous palisade parenchyma (Fig. 4A). The petiole has a flat-convex shape (Fig. 4B) and is covered by a uniseriate epidermis. Three to five subepidermal layers of annular collenchyma surround the entire petiole (Fig. 4B). The bicolateral vascular system is organized in a closed arch with the bundles separated by parenchyma (Fig. 4B). Both young and fully expanded leaves present standard colleters scattered along the blade margin (Figs. 4A, C). Clusters of colleters were observed at the base of stipules (Fig. 4D) and on the basilaminar/acropetiolar region of the leaf (Fig. 4F), while only a single colleter was present at the stipule apex (Fig. 4E). Standard colleters consist of one-layer secretory palisade epidermis, and parenchyma, which are vascularized by xylem and phloem (Fig. 4A, E). Idioblasts with druse occur in the mesophyll (Fig. 3F), midrib, and petiole. Non-anastomosed articulated laticifers were observed in shoots and fully expanded leaves, always associated with phloem (Fig. 4G), often exhibiting a y-shaped form (Fig. 4H). Specimens of *C. flavispicatus* and *C. triqueter* had similar anatomical features (Fig. 4I), with the exception of the presence of a pair of accessory bundles in the petiole (Fig. 4J, Table1), which was absent in *C. maranonensis* sp. nov. (Fig. 4B), and the absence of simple trichomes on the blade abaxial side. The presence of simple trichomes on the abaxial side of the blade (Fig. 4I) and the occurrence of idioblasts at the base of the radial cells of stellate trichomes of *C. triqueter* were the only anatomical differences observed between *C. triqueter* and *C. flavispicatus*.

Phylogenetic placement and relationships

The ITS matrix, with 63 aligned positions, consisted of 32 sequences representing 24 species of *Croton*, including 9 from the focal group (*C. sect. Julocroton*). Overall the topology of the represented *Croton* clades or sections (Fig. 5) was congruent with previous *Croton*

phylogenetic analyses (Berry *et al.* 2005; Van Ee *et al.* 2011). *Croton* sect. *Julocroton*, *C.* sect. *Lasiogyne* (Klotzsch) Baill. and *C.* sect. *Heptallon* (Raf.) Müll.Arg. were recovered as highly supported monophyletic groups (Posterior Probability, PP = 1). The three specimens of *C. maranonensis* sp. nov. were clustered together in a highly supported clade (PP = 1) within the *C.* sect. *Julocroton* clade. The new species was recovered sister to a clade including *C. triqueter*, *C. flavispicatus*, *C. hondensis*, *C. conspurcatus* Schltldl. and *C. fuscescens* Spreng., albeit with relatively low support (PP = 0.79). The three accessions of *C. hondensis* and the two specimens of *C. fuscescens* were recovered as monophyletic groups, while the four representatives of *C. triqueter* emerged as unresolved within the largest clade including *C. flavispicatus*, *C. hondensis*, *C. triqueter*, and *C. conspurcatus*. The clade including *C. argenteus* was recovered sister to the rest of the *C.* sect. *Julocroton*.

Distribution, ecology, and phenology

Croton maranonensis sp. nov. is distributed in the Marañón Valley in northern Peru and in the Province of Loja, southern Ecuador. According to information from specimens labels, the species grows in seasonally dry tropical forest and dry shrublands, along semideciduous shrubs from different plant families, giant columnar cacti, ferns, and epiphytic bromeliads (Fig. 6). Examined specimens were in flower and fruit throughout the year.

Preliminary conservation status assessment

The extent of occurrence (EOO) and area of occupancy (AOO) resulted in 26,335.574 km² for EOO and 72,000 km² for AOO. Following the IUCN criteria (IUCN 2012), *Croton maranonensis* sp. nov. cannot be classified as vulnerable (VU) using the B1 criterion due to its disjunct distribution with relatively isolated populations in southern Ecuador and a few records (*González 6491* and *Marcelo-Peña 11142, 11146*) collected upstream (south) in the Marañón valley (Fig. 5). For this reason we classify the species tentatively as nearly threatened (NT).

Discussion

New species discovery, elaboration of morphological description, and the final publication of a new taxon is often a long process which could extend for decades (Bebber *et al.* 2010; Riina *et al.* 2015; Goodwin *et al.* 2020). This is the case of *Croton maranonensis* sp. nov., whose first specimen was collected in 1877, about 145 years ago, by the famous french

botanist and explorer Édouard François André (Smith 1965; Padilla 1984). We provide strong evidence from multiple sources that support the recognition of this species as an independent *Croton* lineage within *C.* section *Julocroton*. Both morphological (including anatomy) and molecular data provide strong support for establishing *C. maranonensis* sp. nov. Although our phylogenetic analysis is limited in genome representation (only ITS) and in taxon sampling (21% of the *C.* sect. *Julocroton* diversity), the molecular evidence is relatively strong in support of *C. maranonensis* sp. nov. because its clade, including accessions from Peru and Ecuador, is both strongly supported and highly divergent from all the other central-northern Andean species sampled in the section. Key morphological characters separating the new species from its most closely similar Andean species (*C. hondensis* and *C. flavispicatus*) include cylindrical and smooth stems opposed to costate stems in *C. flavispicatus* and *C. triqueter*, shorter petioles without a pair of accessory bundles and smaller leaves, stipules and bracts. *Croton maranonensis* sp. nov. also occupies different habitats (dry forests and shrublands) than *C. flavispicatus*, and it can be found at higher elevations, up to 2400 m (Table 1). Finally, *C. maranonensis* occurs in northern Peru and southern Ecuador while *C. hondensis* is known only from Colombia, where it also grows in dry forests.

We observed slight morphological differences between the Peruvian and Ecuadorian populations of *C. maranonensis* sp. nov., such as the presence of sparse, dark ferruginous, stellate trichomes (interspersed with withish trichomes) on the apical parts of branches and inflorescences and the more costate stems in the Ecuadorian specimens. However, scattered ferruginous stellate trichomes were also observed in some specimens from Peru, especially on young leaves and young inflorescences.

Croton maranonensis sp. nov. might be the undetermined *Croton* species (as “*Croton* sp.”) reported by Marcelo-Peña *et al.* (2016) in their study of the Marañón flora. However, the authors did not include voucher information that could allow us to verify the species identity. Similarly, researchers conducting ecological studies in the southern Ecuadorian dry shrublands, where *C. maranonensis* sp. nov. could occur, were unable to identify the focal *Croton* taxa under study because of incomplete taxonomic knowledge of the species dominating those dry habitats and the possibility of hybridization involving populations of closely related species (Velez-Mora *et al.* 2022). Additional systematics studies, including a phylogeographic approach, are needed to understand species boundaries among these abundant *Croton* shrubs from arid Andean ecosystems (e.g., Luján *et al.* 2015).

In our dissections of specimens of *Croton flavispicatus* and *C. maranonensis* sp. nov. flowers, we found that style branches are very fragile and they are often broken in herbarium specimens. This may lead to confusion when this character is used to separate these species. Morphological differences between *C. triqueter*, *C. hondensis*, and *C. flavispicatus* are very subtle, which is also reflected in the results of the phylogenetic analysis, where specimens from the three species are embedded in a polytomy. A specimen of *C. conspurcatus* is also part of this polytomy but is well resolved in a clade with one of the accessions of *C. triqueter* (accession 4). These preliminary phylogenetic results indicate that further phylogenetic studies using a wider taxon sampling of section *Julocroton* and related clades will be needed to better establish species limits within this understudied section of Neotropical *Croton*.

The presence of the acropetiolar/basilaminar clusters of colleters (Figs. 1B, 3I) is a novel finding for the genus *Croton* as a whole. So far, this feature is only known for *C. maranonensis* sp. nov., but it is possible that it could be present in other *Julocroton* species. Interestingly, these raceme of petiolar colleters are situated in the usual position of nectary glands in other *Croton* sections. However, it is unlikely that these colleters have the same function (ant attraction) of extrafloral nectaries in *Croton* (Aguirre *et al.* 2013; Leal *et al.* 2015) since colleters are only active in their early stage of leaf development (Vitarelli *et al.* 2015; Meira *et al.* 2020).

Similar to other *Croton* species that occur in dry environments (Vitarelli *et al.* 2016, 2021; Sodré *et al.* 2019), *C. maranonensis* sp. nov. bears sclereids associated with epidermal trichomes in leaves. Therefore, our results reinforce previous findings about the functional role of these structures as capable of atmospheric water absorption, which has been suggested as a survival strategy for *Croton* species that live in environments with strong soil water restrictions (Vitarelli *et al.* 2016; 2021). In fact, *Croton maranonensis* sp. nov. occurs in extreme dry habitats, subject to a severe dry season (8-9 months) with an average annual rainfall of ca. 550 mm in the Marañón Valley (Marcelo-Peña *et al.* 2016) and 317 mm in the southern Ecuadorian inter-Andean valleys (Velez-Mora *et al.* 2022).

Regarding the suggested conservation status for the new species, it will be important to explore possible under-collected areas within the two gaps, in Peru and Ecuador, shown in the distribution map (Fig. 6), since there are areas of dry forest in those areas (DRYFLOR 2016; Quintana *et al.* 2017) where *C. maranonensis* sp. nov. populations could be present.

Acknowledgements

A research visit of RR to E was funded by the Edinburgh Botanic Garden (Sibbald) Trust as part of Sibbald Project No: 2022#05 Revision of *Euphorbia* & *Croton* in the Marañón dry forest, Peru. Fieldwork was conducted as part of the Newton-Paulet funded project ‘Increasing knowledge of dry and montane ecosystems across Peru’ (project number 418235692). Financed in Peru by CONCYTEC-PROCIENCIA as part of Biodiversity - Institutional Links - Expeditions 2018-02 call [Agreement N° 026-2019-FONDECYT]. Specimens were collected under the research permit issued by SERFOR with RDG N° 002-2020 MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS and RDG N° 602-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS. JMM thanks the Real Jardín Botánico-CSIC, for allowing him to conduct two summer internships (2021, 2022). We also thank Tiina Särkinen from RBGE for her help and support. This work has benefited from collaborations within the DRYFLOR network with the support of CYTED (Grant/Award: 418RT0554). RMSAM received productivity grants from CNPq — Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (#306740/2019–2). RMSAM thanks the Centro de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa for technical assistance and the financial support of Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Finance Code 001) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

References

- Aguirre A., Coates R., Cumplido-Barragán G., Campos-Villanueva A. & Díaz-Castelazo C. 2013. Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 208: 147-156. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.02.008>
- Arévalo R., van Ee B.W., Riina R., Berry P.E. & Wiedenhoeft A.C. 2017. Force of habit: shrubs, trees and contingent evolution of wood anatomical diversity using *Croton* (Euphorbiaceae) as a model system. *Annals of botany* 119: 563–579. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw243>
- Bachman S. Moat J., Hill A.W., de Torre J. & Scott B. 2011. Supporting red list threat assessments with GeoCAT: Geospatial conservation assessment tool. *ZooKeys* 150: 117. <https://doi.org/10.3897/zookeys.150.2109>

Bebber D.P., Carnie M.A., Wood J.R.I., Wortley A.H., Harris D.J., Prance G.T., Davidse G., Paige J., Pennington T.D., Robson N.K.B. & Scotland R.W. 2010. Herbaria are a major frontier for species discovery. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(51): 22169-22171. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011841108>

Berry P.E., Hipp A., Wurdack K.J., Van Ee B., Riina R. 2005. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotoneae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL–F DNA sequence data. *American Journal of Botany* 92: 1520–1534. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.9.1520>

Bozzola J.J. & Russel L.D. 1992. Electron microscopy. Jones and Bartlett Publishers: Boston.

Caruzo M.B.R., Santos R.F.S., Feio A.C., Meira R.M.S.M. & Riina R. 2016. Redefinition of *Croton macrobothrys* (Euphorbiaceae), a tree species from the Brazilian Atlantic Forest, with the description of a new subspecies. *Phytotaxa* 273: 51–58. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.273.1.5>

Caruzo, M.B.R., Secco R.S., Medeiros D., Riina R., Torres D.S.C., Santos R.F., Pereira A.P.N., Rossine Y., Lima L.R., Muniz-Filho E. & Valduga E. 2022. *Croton*. In: Flora e Funga do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB17497> [Accessed: 24 August 2022]

Cordeiro I. 1990. Aspectos taxonômicos e distribuição geográfica de *Julocroton* Mart. (Euphorbiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 4(1): 83-90. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061990000100006>

DRYFLOR. 2016. Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. *Science* 353: 1383-1387 <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abn1767>

Espinosa C.I., Vélez-Mora D.P., Ramón P., Gusmán-Montalván E., Duncan D.H. & Quintana-Ascencio P.F. 2019. Intraspecific interactions affect the spatial pattern of a dominant shrub in a semiarid shrubland: A prospective approach. *Population Ecology* 61: 217-226. <https://doi.org/10.1002/1438-390X.1018>

Esquerre-Ibañez B. 2017. A new species of *Passiflora* section *Granadillastrum* (Passifloraceae) from Jaén, Peru. *Phytotaxa* 298(1): 89-95 <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.298.1.10>

Feio A.C., Meira R.M.S.A. & Riina R. 2018. Leaf anatomical features and their implications for the systematics of dragon's blood, *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 187: 614-632 <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy038>

Goodwin Z.A., Muñoz-Rodríguez P., Harris D.J., Wells T., Wood J.R.I., Filer D. & Scotland R.W. 2020. How long does it take to discover a species? *Systematics and Biodiversity* 18(8): 784-793. <https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1751339>

IUCN. 2012. *IUCN red list categories and criteria version 3.1. Ed. 2*. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN. Available from <https://portals.iucn.org/library/node/10315> [accessed: 3 September 2021].

Jara E., Muñoz-Rodríguez P., Wood J.R.I. & Beltrán H. 2020. *Ipomoea noemana* (Convolvulaceae) a new species from Ancash eastern slope in Peru. *Phytotaxa*, 461(4), 286-294. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.461.4.5>

Johansen D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Books: New York.

Leal L.C., Andersen A.N. & Leal I.R. 2015. Disturbance winners or losers? Plants bearing extrafloral nectaries in Brazilian Caatinga. *Biotropica* 47: 468-474. <https://doi.org/10.1111/btp.12230>

Luján M, Leon Y, Riina R. 2015. Sinopsis de *Croton* (Euphorbiaceae) en los Andes de Mérida, Venezuela. *Caldasia* 37: 73–90. <http://dx.doi.org/10.15446/caldasia/v37n1.50815>

Marcelo-Peña J.L., Huamantupa I., Särkinen, T. & Tomazzelo M. 2016. Identifying conservation priority areas in the Marañón Valley (Peru) based on floristic inventories. *Edinburg Journal of Botany* 73(1): 95-123 <https://doi.org/10.1017/S0960428615000281>

Masa-Iranzo I., Sanmartín I., Caruzo M.B.R. & Riina R. 2021. Skipping the Dry Diagonal: spatio-temporal evolution of *Croton* section *Cleodora* (Euphorbiaceae) in the Neotropics. *Botanical Journal of the Linnean Society* 197: 61-84 <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boab016>

Meira R.M.S.M. & Martins F.M. 2003. Inclusão de material herborizado em metacrilato para estudos de anatomia vegetal. *Revista Árvore* 27: 109-112. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622003000100015>

- Meira R.M.S.A, Miranda J.D.B. & Coutinho I.A.C. 2020. Anatomical reevaluation and novelties on the leaf marginal tooth glands in *Sapium glandulosum* (L.) Morong. (Euphorbiaceae): the importance of distinguishing colleters from nectaries. In: Demarco D. (Org.). *Plant ontogeny: studies, analyses and evolution*, 1ed., New York: Nova Science Publishers, Inc. 1: 63-83.
- Michelangeli F.A. & Ulloa Ulloa C. 2016. A new species of *Alloneuron* (Melastomataceae) from northern Peru. *Brittonia* 68: 429-432 <https://doi.org/10.1007/s12228-016-9436-2>
- Montesinos-Tubée D.B., Tovar C., Iberico-Vela G., Montoya-Quino J., Sanchez-Vega I. 2020. *Drymaria veliziae* (Caryophyllaceae), a new species from the Andes of Cajamarca (North Peru). *PhytoKeys* 140: 47-56 <https://doi.org/10.3897/2Fphytokeys.140.47738>
- Moura T.M., Lewis G.P., Mansano V.F. & Tozzi A.M.G.A. 2013. Three new species of *Mucuna* (Leguminosae: Papilionoideae: Phaseoleae) from South America. *Kew Bulletin*. 68: 143-150 <https://doi.org/10.1007/s12225-012-9429-6>
- Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., da Fonseca G.A.B. & Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Padilla, V. 1984. Edouard Francois Andre: explorer, botanists, gardener, city planner and landscape designer. *Pacific horticulture* 45(3): 2-7
- Pinto-Silva NP, de Souza KF, Silva OLM, Vitarelli NC, Pereira APN, Soares DA, Sodré RC, Medeiros D, Caruzo MBR, Carneiro Torres DS, da Silva MJ, Meira RMSA, Riina R, Feio AC. 2023. Trichomes in the megadiverse genus *Croton* (Euphorbiaceae): a revised classification, identification parameters and standardized terminology. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 20: 1-13. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boad008>
- Quintana C., Girardello M., Barfod A.S. & Balslev H. 2017. Diversity patterns, environmental drivers and changes in vegetation composition in dry inter-Andean valleys. *Journal of Plant Ecology* 10(3): 461-475. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtw036>
- Rambaut A. 2006. *FigTree v1.4.4*. Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree> [accessed: 22 August 2022].
- Rambaut A., Suchard M.A, Xie D., Drummond A.J. 2014. *Tracer v1.7.2*. Available from <https://beast.community/tracer> [accessed: 23 August 2022].

Riina R., Cumbicus N., Feio A.C., Cerón C.E., Meira R.M.S.A. & Berry P.E. 2015. A new species of dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae) from South America with singular inflorescences. *Webbia* 70: 187-192. <https://doi.org/10.1080/00837792.2015.1020129>

Riina R., Van Ee B.W., Caruzo M.B.R., Carneiro-Torres D.S., Santos R.F., Berry P.E. 2021. The neotropical *Croton* section *Geiseleria* (Euphorbiaceae): classification update, phylogenetic framework, and seven new species from South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 106: 111–166. <https://doi.org/10.3417/2021669>

Ronquist F., Teslenko M., Van der Mark P., Ayres D., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M.A. & Huelsenbeck J.P. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

Särkinen T.E., Marcelo-Peña J.L., Yomona A.D., Simon M.F., Pennington R.T. & Hughes C.E. 2011. Underestimated endemic species diversity in the dry inter-Andean valley of the Río Marañón, northern Peru: An example from *Mimosa* (Leguminosae, Mimosoideae). *Taxon* 60(1): 39-150. <https://doi.org/10.1002/tax.601012>

Smith L.B. 1975. Itinerary of Edouard Francois Andre in his expedition to the northern Andes 1875-76. *Phytologia* 12: 401-413. Available from <https://www.biodiversitylibrary.org/page/14345727> [accessed: 2 September 2022]

Sodré R.C, Souza A.O., Alonso A.A. & Silva M.J. 2019. Molecular, morphological, and anatomical data support a new species of *Croton* sect. *Geiseleria* (Crotonoideae, Euphorbiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 305: 233-246. <https://doi.org/10.1007/s00606-019-1566-z>

Van Ee B.W., Riina R. & Berry P.E. 2011. A revised infrageneric classification and molecular phylogeny of New World *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 60: 791-823. <https://doi.org/10.1002/tax.603013>

Vélez-Mora D.P., Gusmán E., Espinosa C.I. & Quintana-Ascencio P.F. 2022. Changes in climate, grazing pressure and nutrient inputs affect the structural integrity and functioning of Andean shrublands. *Plant Ecology & Diversity* <https://doi.org/10.1080/17550874.2022.2122753>

Vitarelli N.C., Riina R., Caruzo M.B.R., Cordeiro I., Fuertes-Aguilar J. & Meira R.M.S.A. 2015. Foliar secretory structures in Crotonae (Euphorbiaceae): Diversity, anatomy, and

evolutionary significance. *American Journal of Botany* 12: 833-847.
<https://doi.org/10.3732/ajb.1500017>

Vitarelli N.C., Somavilla N., Ferrari F.B., Silva M.R., Soares E.M., Silva O.L.M., Riina R. 2021. The Amazonian *Croton mollis* (Euphorbiaceae): morphology and leaf anatomy help to understand its preference for the extreme igapó habitat. *Flora* 281: 151878
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151878>

Webster G.L., Del-Arco-Aguilar M.J. & Smith B.A. 1996. Systematic distribution of foliar trichome types in *Croton* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 41-57. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1996.tb00744.x>

Wood J.R.I. & Uría R. 2021. *Salvia celendina* (Lamiaceae), a new species from Peru. *Kew Bulletin* 76: 421-425. <https://doi.org/10.1007/s12225-021-09963-2>

Appendix

Appendix 1. Specimens of *Croton flavispicatus*, *C. hondensis*, and *C. triqueter* examined for morphological and anatomical analysis.

Croton hondensis (Karst.) G.L. Webster. COLOMBIA • Dpto. Antioquia, Olaya, Carretera que conduce al corregimiento de Llanadas; 6°40'59"N, 75°49'0"W; alt. 800–1000 m; 1 Mar. 2003; *J.C. Marrugo* G. 875; COL [COL000220351] • Dpto. Antioquia, Santa Fe de Antioquia, Finca Cotove, margen derecha del Río Tonusco, 1 km antes de la desembocadura; 6°33'35"N, 75°49'41"W; alt. 700–750 m; 20 Feb. 1981; *G. Galeano* 383; COL [COL000390653] • Dpto. Antioquia, Santa Fe de Antioquia, vega del río Tonuzco; alt. 600 m; Aug. 1962; *J. Murillo* 567; COL [COL000390662] • Dpto. Cudinarca, Girardot; alt. 326 m; 19 Mar. 1962; I. Baptiste, 16; COL [COL000396921] • Dpto. Tolima, Armero, I.F.A., Campo Exp. de Bledonia; 15 Jun. 1960; *J.A. Barreneche* 27; COL [COL000390659] • Dpto. Cudinarca, Municipio de Nariño, Quebradas de Apauta, Pitalito, Juanchiquito y Los Mangos; alt. 350–600 m; 13–15 Sep. 1989; *J.L. Fernández Alonso & R. Jaramillo Mejía* 8093; MA [MA-491555], • Dpto. Cudinarca, Poblado de Nariño, Carretera de Los Mangos; alt. 340 m; 15 Feb. 1986; Fernández Alonso & R. Jaramillo Mejía, 5256; MA [MA-517068] • Dpto. Cudinarca, Nariño; alt. 340 m; 15 Feb. 1986; Fernández Alonso & R. Jaramillo, 5257; MA [MA-851531] • Dpto. Cudinarca, Tocaima, Prov. Bogota; alt. 450 m; Jan. 1853; Triana, 5827-1; A [A00003143] • Dpto. Tolina, Armero, I.F.A.- Campo Exp. de Bledonia; 15 Jun 1960; *J.A. Barreneche* E., 27; COL

[COL000390659] • Dpto. Tolima, Honda; Karsten, s.n.; F [F871326] • Without locality; 1783–1808; J.C. Mutis, 1473; MA [MA-663646], [MA-663647], [MA-663648], [MA-663649]; J.C. Mutis, 1479; MA [MA-663650], [MA-663651].

Croton flavispicatus Rusby.

BOLIVIA • 20 Dec. 1921; 800 ft.; *M. Cárdenas* 2026; A [A00003150], GH [GH00047295], BKL [BKL00000631], NY [NY 00246540], US [US00109559].

PERU • Dpto. San Martín, Tarapoto; 6 Jan. 1855; *Richard Spruce* 4290; BM [BM000777935], BR [BR000006999223], K [K000601111], P [P00623189] • Dpto. San Martín, Juanjul, Tarapoto; 7°5'S, 76°55'W; alt. 400 m; 5 Feb. 1984; *A. Gentry, D.N. Smith* 44940; MO, COL [COL000390386] • Dpto. San Martín, Prov. Lamas, Caserío Lamas, en chacra cerca de nacimiento de quebrada; 06°25'13"S, 76°30'51"W; alt. 800 m; 18 May 2004; *R. Riina & J. Campos* 1450; MA, USM.

Croton triqueter Lam.

BRAZIL • Rio de Janeiro, des environs Rio de Janeiro; June 1767; *Commerson s.n.*; P (P00634801) • Minas Gerais, Santana do Riacho, Morro da Pedreira; 19°18'27"S, 43°36'50"W; 900 m; 5 Mar. 2002; *L.R. Lima* 134; SPF (SPF00150863) • Minas Gerais, Diamantina, Turmalina; 16°59'51"S, 42°47'51"W; 445 m; 24 Jan. 2004; *Riina* 1356; SPF (SPF00164171) • São Paulo, Eldorado, Estrada para o Mirante do Cruzeiro; 10 Apr. 2004; *S.E. Martins* 834; SP (SP0369873) • São Paulo, Itararé; 13 Mar. 2004; *M.B.R. Caruzo et al.* 27; ESA [ESA052603], F [2260700], RFA [RFA39534], SP [SP0367404], UB [UB150891].

Appendix 2. Taxa, localities, vouchers, and GenBank accession numbers for all sequences of the nuclear ITS region analyzed in this study. Newly generated sequences are marked with an asterisk.

Croton adipatus Kunth; Ecuador, Bagua Grande; *Riina* 1468 (QCNE); KP764612. ***C. argenteus*** L.; Costa Rica, Guanacaste; *Van Ee* 297 (WIS); EU478094. ***C. conspurcatus*** Schltld.; Mexico, Jalisco; *Santana* 5921 (WIS); EU478095. ***C. cupreatus*** Croizat; Ecuador, Pichincha; *Smith* 473 (WIS); HM564077. ***C. didrichsenii*** G.L.Webster; Brazil, Tocantins, Natividade; *Mello-Silva* 2361 (SPF); PENDING*. ***C. flavispicatus*** Rusby; Perú, San Martín, Tarapoto; *Riina* 1450 (USM, MICH, MA); PENDING*. ***C. floribundus*** Spreng.; Brazil, São Paulo, Jundiá; *Santos* 3 (SP); PENDING*. ***C. fuscescens*** Spreng. 1; Brazil, Ceará, Meruoca; *Souza* 4 (HUEFS); PENDING*. ***C. fuscescens*** Spreng. 2; Brazil, São Paulo; *Van Ee* 502 (WIS);

HM564081. *C. glandulosus* L.; U.S.A., Wisconsin; *Van Ee et al. 512* (WIS); EU478066. *C. gracilipes* Baill.; Bolivia, Santa Cruz; *Nee 47412* (NY); EU586909. *C. hircinus* Vent.; Venezuela, Distrito Federal; *Riina 1291* (VEN); EU477889. *C. hirtus* L'Her.; Brazil, Pernambuco; *Van Ee 481* (WIS); EU478071. *C. hondensis* (H.Karst.) G.L.Webster [1]; Colombia, Cudinamarca; *Fernández Alonso & Jaramillo 5256* (MA); PENDING*. *C. hondensis* (H.Karst.) G.L.Webster [2]; Colombia, Cudinamarca; *Fernández Alonso & Jaramillo 5257* (MA); PENDING*. *C. hondensis* (H.Karst.) G.L.Webster [3]; Colombia, Cudinamarca; *Fernández Alonso & Jaramillo 8093* (MA); PENDING*. *C. lindheimeri* (Englem. & A.Gray) Alph.Wood; U.S.A., Louisiana; *Van Ee et al. 517* (WIS); EU478106. *C. luetzelburgii* Pax & K.Hoffm.; Brazil, Bahia; *Conceição 1457* (HUEFS); HM564087. *C. maranonensis* sp. nov. [1]; Ecuador, Loja; *Cumbicus & Camacho 1924* (MA); PENDING*. *C. maranonensis* sp. nov. [2]; Peru, Amazonas; Bagua Grande; *Vásquez 27094* (MO); PENDING*. *C. maranonensis* sp. nov. [3]; Peru, Amazonas; *Dexter 5935* (E); PENDING*. *C. michauxii* G.L.Webster var. *elliptica* (Willd.) B.W.van Ee & P.E.Berry; U.S.A., Missouri; *Archer 40* (MO); EU478004. *C. monoanthogynus* Michx.; U.S.A., Illinois; *Van Ee et al. 515* (WIS); EU478113. *C. punctatus* Jacq.; Mexico, Veracruz; *Van Ee et al. 528* (WIS); EU478022. *C. sapiifolius* Müll.Arg; Brazil, Bahia; *Lima 677* (CEPEC); EF421754. *C. sellowii* Baill.; Brazil, Bahia; *Van Ee 498* (WIS); HM564095. *C. subpannosus* Griseb.; Brazil, Matto Grosso do Sul; *Webster 25374* (MO), AY971253. *C. triqueter* Lam. [1]; Brazil, Minas Gerais, Santana do Riacho; *L.R. Lima 134* (SPF); PENDING*. *C. triqueter* [2]; Bolivia, Santa Cruz; *Nee 40034* (NY); AY971256. *C. triqueter* [3]; Brazil, Minas Gerais; *Riina 1356* (SPF); PENDING*. *C. triqueter* [4]; Brazil, São Paulo, Eldorado; *S.E. Martins 834* (SP); PENDING*. *C. yucatanensis* Lundell; Mexico, Yucatán; *Van Ee & May-Pat 121* (WIS); DQ227537

Table and figures

Table 1. Main differences between *Croton maranonensis* sp. nov. and its most morphologically similar species *C. flavispicatus*, *C. hondensis* and *C. triqueter* in section *Julocroton*.

	<i>C. maranonensis</i> sp. nov.	<i>C. flavispicatus</i>	<i>C. hondensis</i>	<i>C. triqueter</i>
Leaf blade (cm)	2–6(8) × 1–2(4)	4.2–11 × 1.2–7	5.5–6.6 (10.2) × 2.9–3.8 (4.2)	7.4–14 × 3–5.6
Colleter at leaf apex	Conspicuous, usually persistent (Figs. 1D, 2C)	Inconspicuous, caducous	Inconspicuous, caducous	Inconspicuous, caducous
Petiole anatomy	Absence of accessory bundles	Presence of 2 accessory bundles	Unknown	Presence of 2 accessory bundles
Petiole length (cm)	0.2–1	0.7–3.3(5)	1.8–5.3 (7.8)	1–4.5
Stipules length (mm)	0.5–3	4.1–9		5–9
Inflorescences (cm)	1–3(3.5) × 0.5–1	2–4 × 1	2–3 × 1–1.2	1.5–2.5(3) × 1–1.5
Bracts length (mm)	1–1.2	2.5–4	3.2–5	3–4
Styles	Bifid (6 tips)	4-fid (12 tips)	4-fid (12 tips)	4-fid (12 tips)
Longest sepals in fruit	< 1/2 the length of capsule	≥ length of capsule	≥ length of capsule	≥ length of capsule
Fruit size (mm)	4.0–5.0 × 3.0–3.5	2.5–3.5 × 3–4.5	4.5–4.9 × 4.2–4.5	4–5 × 4–5
Habitat	Dry forests, dry shrublands	Moist forest and along rivers	Dry forests	Moist to mesic habitats
Elevation (m)	600–2400	200–1100	340–600	800–1600

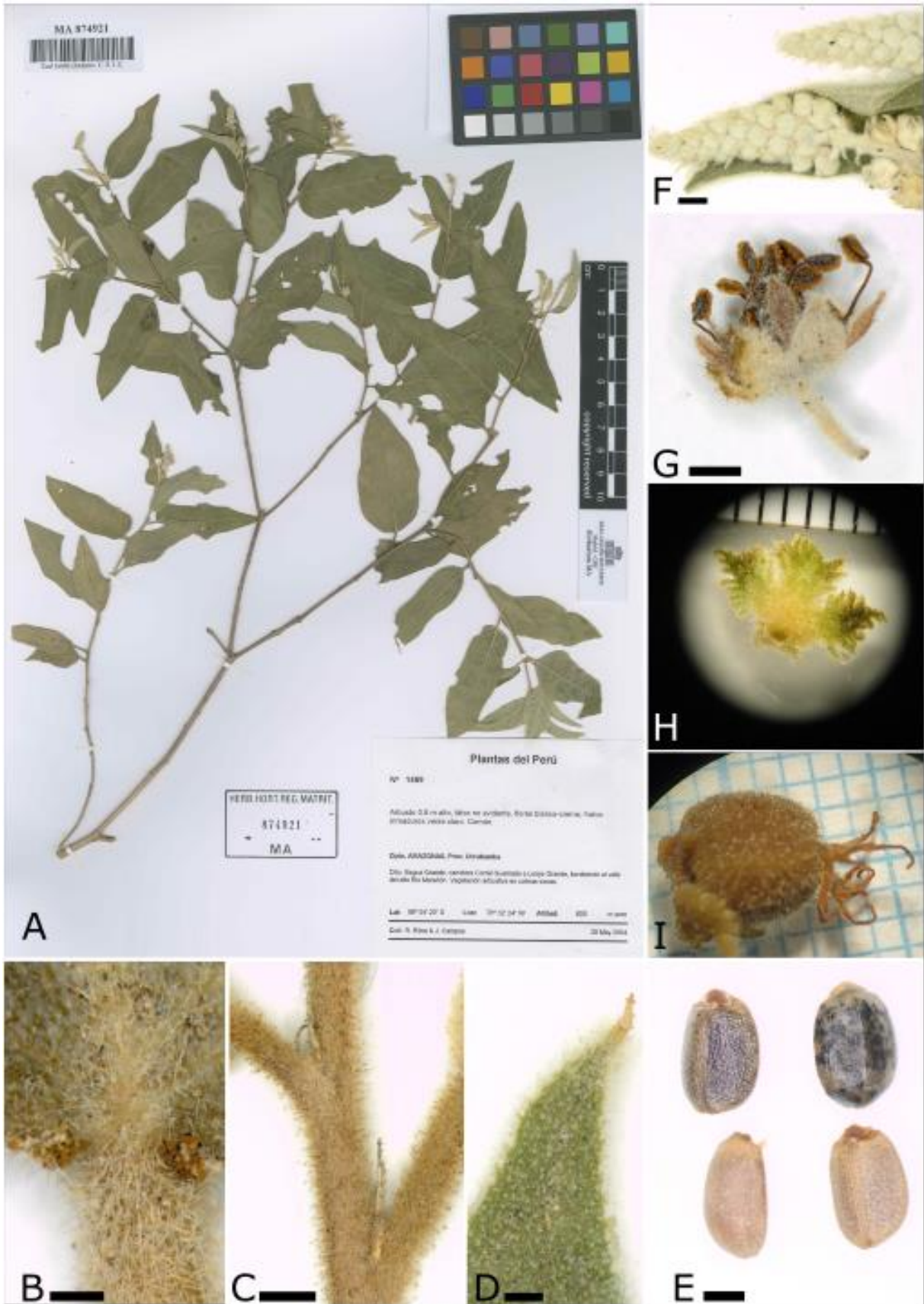


Fig. 1. *Croton maranonensis* sp. nov. **A.** Image of the holotype: MA[874921]. **B.** Clusters of no longer active collectors at the base of the lamina; scale 500 μ m. **C.** Detail of the stipules; scale 2 mm. **D.** Leaf apex bearing a collector (no longer active) at the tip; scale 500 μ m. **E.** Seeds in different views; scale 1 mm. **F.** Inflorescences

showing mainly the staminate portion (distal) with flowers in bud; scale: 2 mm. **G.** Individual staminate flower; scale 1 mm. **H.** Detail of the calyx showing the three conspicuous and dissected lobes and the two highly reduced ones; scale 1 mm. **I.** Detail of the fruit showing the bifid styles; scale 1 mm. From: *R. Riina & J. Campos 1469* (MA) (a), *van der Werff 14623* (MICH) (b, e), *Rojas 0863* (WIS) (c), *van der Werff 16399* (WIS) (d, f), *Campos 2139* (MICH, MO) (g), *Cumbicus & Camacho 1924* (h, i).

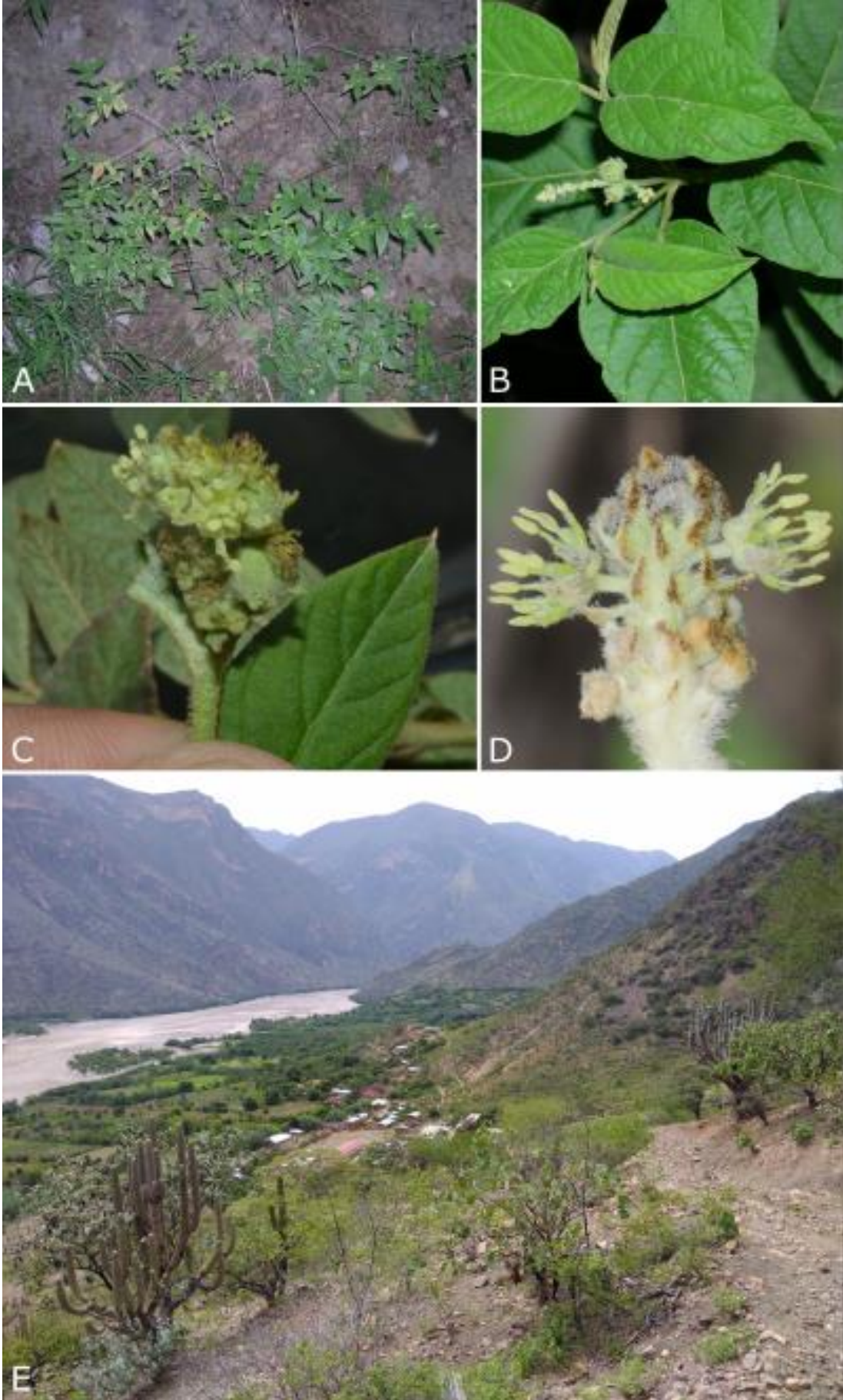


Fig. 2. *Croton maranonensis* sp. nov. **A.** Small individual growing in dry forest understory. **B.** Fertile branch. **C.** Inflorescence showing both pistillate and staminate flowers; note the conspicuous colleter at the apex of the leaf on the right. **D.** Detail of inflorescence with two staminate flowers in anthesis. **E.** A view of the open dry vegetation associated with the seasonally dry tropical forest in the Marañón Valley where the new species occur. From: Riina R. 1478 (a, b), Cumbicus 1924 (c), González 6491 (d). Photographs by R. Riina (a, b), N. Cumbicus (c), and P. González (d, e).

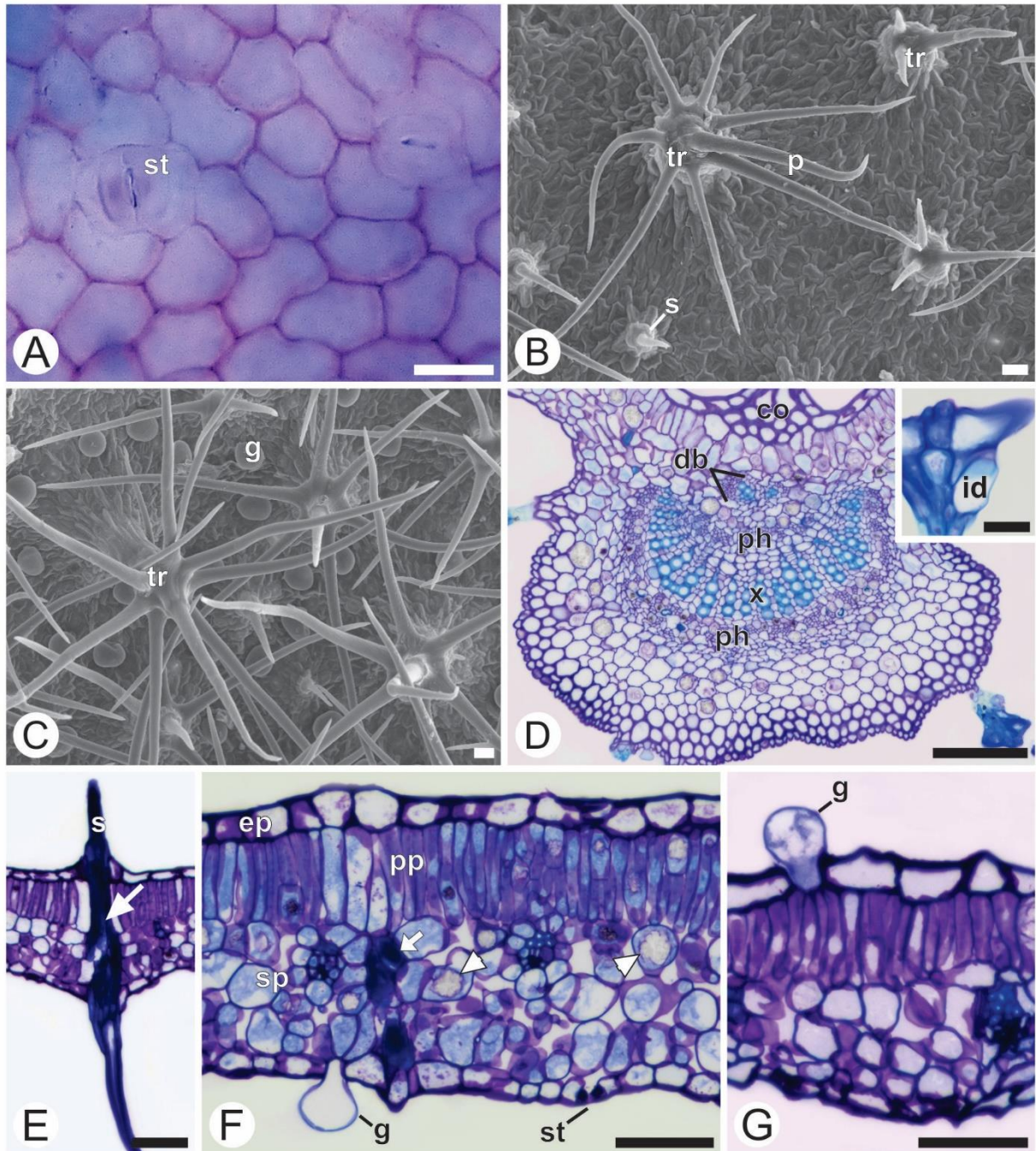


Fig. 3. Leaf anatomy features of *Croton maranonensis* sp. nov., based on diaphanization of leaf blade (A); scanning electron microscopy from the adaxial (B) and abaxial (C) surface; and transverse sections (D-G). **A.** Cells with straight contour and paracytic stomata (st) on the adaxial surface. **B.** Epidermal appendages of simple (s) and pectinate (p) stellate trichomes (tr) with a variable number of radial cells. **C.** Epidermal appendages of pectinate stellate

trichomes and many glandular trichomes (g). **D.** Biconvex midrib and secretory idioblast (id) at the base of the stellate trichome in detail. **E.** Simple trichomes connected to sclereids crossing the mesophyll (arrow). **F.** Middle region of the blade with dorsiventral mesophyll and glandular trichome on the abaxial side; note druses (head arrow) dispersed on the mesophyll. **G.** Glandular trichome on the adaxial side, ep: epidermal cells, pp: palisade parenchyma, sp: spongy parenchyma, co: collenchyma, db: dorsal bundles, ph: phloem, x: xylem. Scale bars: A-C = 20 μm ; D = 100 μm (detail = 20 μm); E-G = 50 μm .

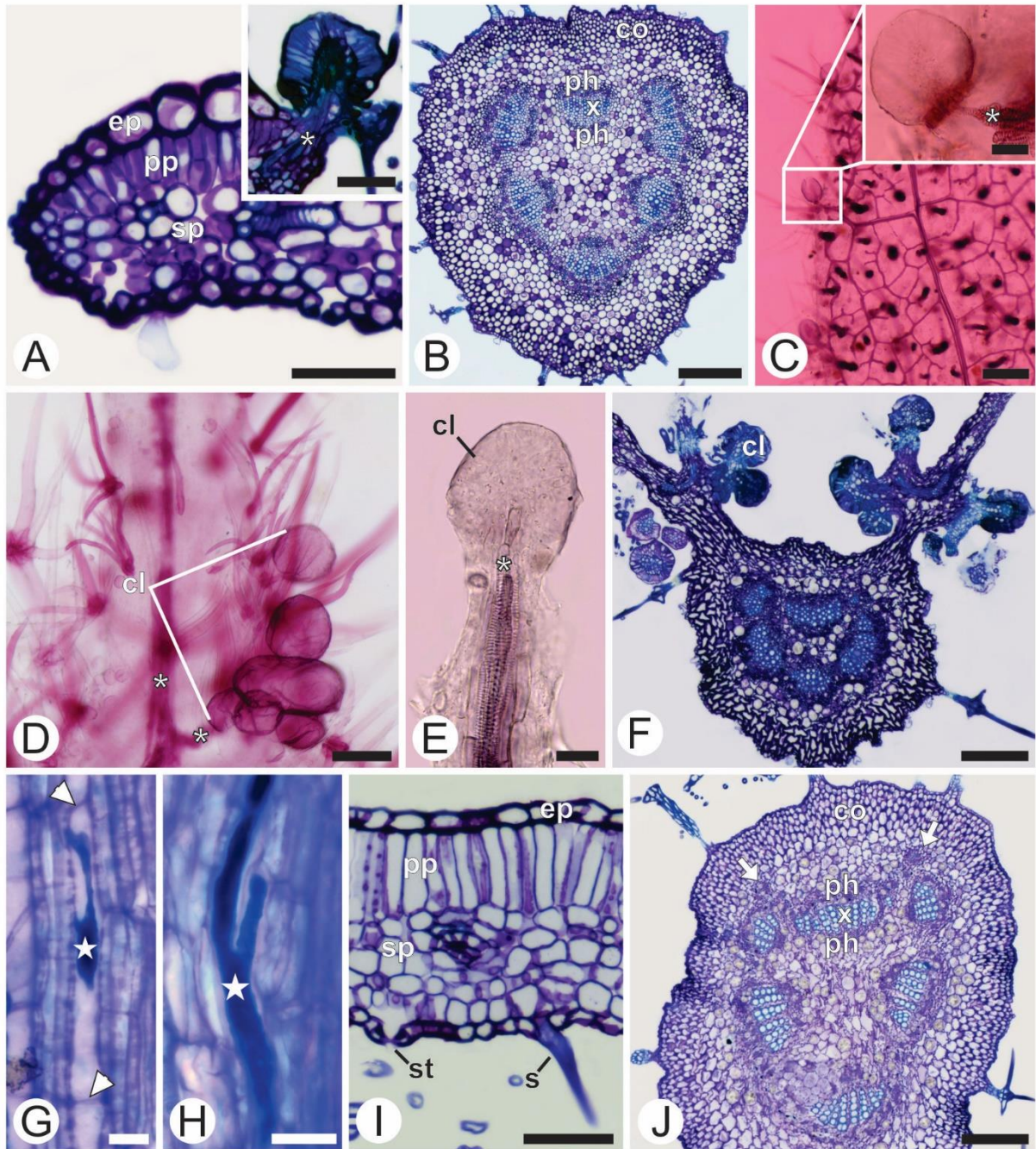


Fig.4. Leaf anatomy features of *Croton maranonensis* sp. nov. (A-H), *C. triqueter* (I) and *C. flavispicatus* (J), based on transverse (A, B, F, I, J) and longitudinal (G, H) sections; diaphanization of leaf blade (C) and stipules (D, E). **A.** Blade margin with non-continuous palisade parenchyma; note standard vascularized coléter in detail (D, E). **A.** Blade margin with non-continuous palisade parenchyma; note standard vascularized coléter in detail (*). **B.** Petiole with bicollateral vascular system organized in a closed arch with the bundles separated by

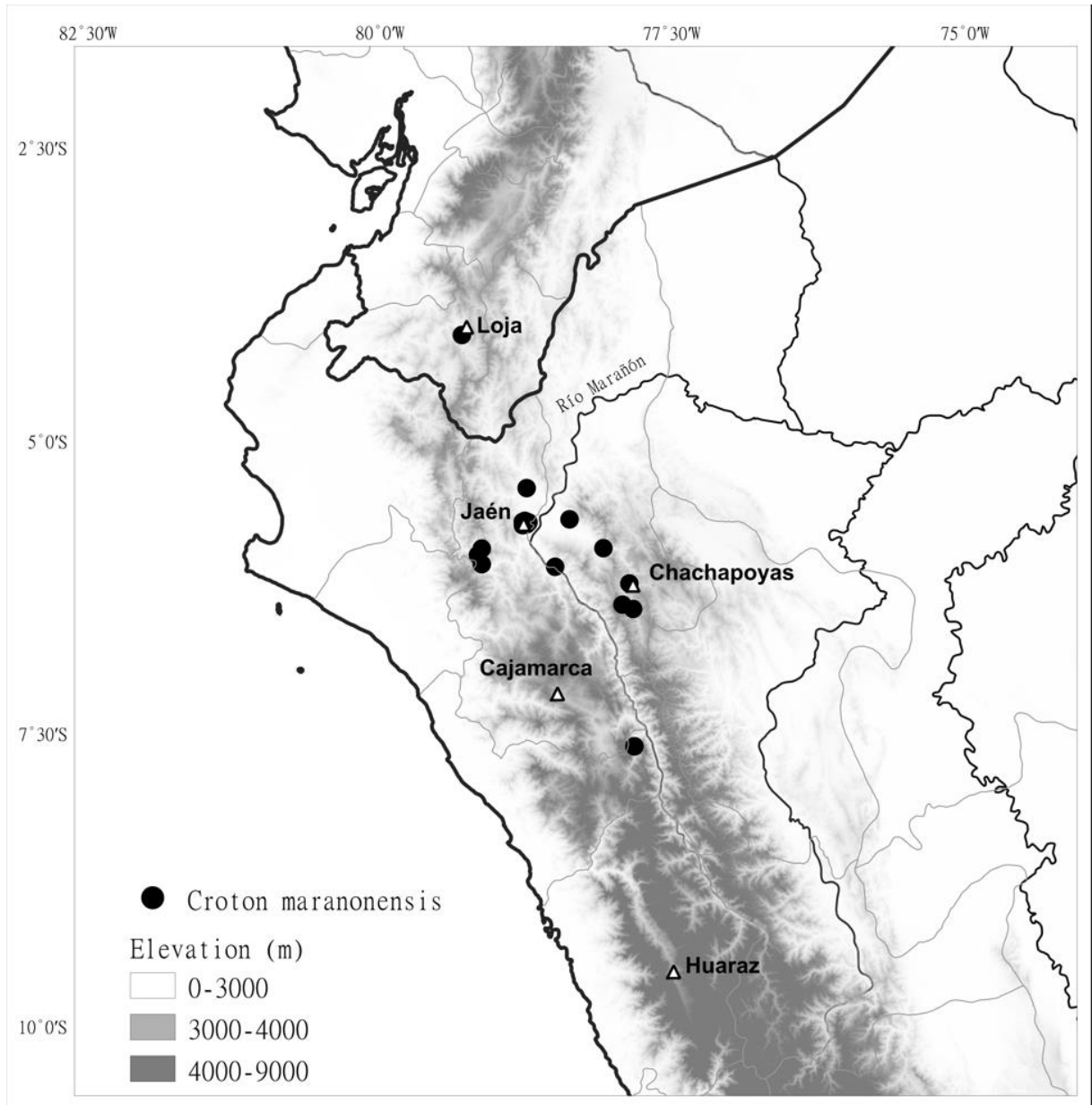


Fig. 6. Map showing the location of the known herbarium collections of *Croton maranonensis* sp. nov. (solid circles). Main cities in the area are indicated by white triangles.

CAPÍTULO II

Anatomia foliar de *Croton* seção *Julocroton* (Euphorbiaceae): contribuições para a sistemática

(A ser submetido no periódico Acta Botanica Brasilica)

Resumo

Croton seção *Julocroton* é um grupo de 42 espécies de ervas e arbustos do Neotrópico, que habitam ambientes abertos e secos. Embora o grupo esteja estabelecido como um clado, a amostragem filogenética existente é incompleta e as espécies são difíceis de serem identificadas, devido a semelhança na morfologia externa que é pouco variável entre as espécies, tanto no aspecto vegetativo quanto reprodutivo. Diante disso, este trabalho objetivou estudar a morfoanatomia foliar e a micromorfologia de espécies de *C.* seção *Julocroton* para auxiliar na delimitação das espécies dentro da seção. Adicionalmente, investigou-se a diversidade e o padrão de distribuição das estruturas secretoras foliares de espécies da seção. Foram analisadas 14 espécies da seção *Julocroton*, que resultou na descrição de 41 caracteres morfoanatômicos e micromorfológicos foliares. As amostras foram processadas seguindo protocolos usuais para análise em esteriomicroscópio, em microscopia de luz e em microscópio eletrônico de varredura. Dentre os caracteres importantes para o diagnóstico das espécies, destacaram-se o arranjo do sistema vascular do pecíolo, a anatomia e morfologia da margem foliar, o tipo de mesofilo, a posição dos estômatos, o arranjo do sistema vascular da nervura central, a distribuição dos tricomas não secretores e emergências e o tipo e a posição das estruturas secretoras. Por outro lado, a presença dos laticíferos e das esclereídes no mesofilo foram comuns a todas as espécies estudadas e foram considerados caracteres conservativos para o grupo.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, Crotonoideae, estruturas secretoras, taxonomia, tricomas

Introdução

A linhagem da seção *Julocroton*, considerada dentro do hiper diverso gênero *Croton* (Macbride 1951; Webster 1967; Webster 1992; Berry *et al.* 2005), já foi reconhecida como um gênero em Crotonoideae por Jean Mueller no século XIX (Webster 1992). Atualmente, a seção *Julocroton* compoem 41 espécies, suportada por caracteres moleculares representativos dos três genomas (nuclear, plastidial e mitocondrial) (van Ee *et al.* 2011). *Croton maranonensis* Riina & Martín-Muñoz (Martín-Muñoz *et al.* em revisão, capítulo I) é uma espécie nova que foi incluída em *Julocroton*, ampliando para 42 espécies na seção. Embora a seção *Julocroton* esteja suportada como um grupo monofilético (Berry *et al.* 2005; van Ee *et al.* 2011), sua diversidade sugere que as espécies possam ser organizadas em subseções no futuro (van Ee *et al.* 2011).

As espécies de *Croton* seção *Julocroton* habitam ambientes abertos e secos dos Neotropicos, concentrado-se na América do Sul, principalmente Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai, com a maior diversidade no Paraguai. Na Argentina, Bolívia e Paraguai as espécies ocorrem na região do Chaco e em campos de áreas montanhosas. No Brasil, as espécies localizam-se predominantemente em vegetações abertas como no cerrado do Brasil Central e São Paulo, nos campos do sulinos e nos campos rupestres da Bahia e Minas Gerais (Cordeiro 1990).

As espécies da seção *Julocroton* caracterizam-se por flores pistiladas com três sépalas desenvolvidas e duas delas são reduzidas ou ausentes, caracteres comuns em *Croton*. Adicionalmente, as flores pistiladas possuem o disco composto por três glândulas separadas ou unidas em forma de lua e flores estaminadas com 10-12 estames (Cordeiro 1990).

Os caracteres anatômicos têm sido utilizados como subsídio à taxonomia desde o século XIX, auxiliando no estabelecimento de afinidades e indicando relação em nível de seção, gênero, tribo, família e até ordem (Solereider 1908; Metcalfe & Chalk 1950; 1979; 1983; Rudall 1994; Judd *et al.* 2009). Na tribo Crotoneae, caracteres anatômicos foliares, especialmente a presença, o tipo e posição de estruturas secretoras, têm sido utilizados como subsídio para a sistemática (Vitarelli *et al.* 2015; 2016; Feio *et al.* 2016; 2018; Sodr e *et al.* 2019).

Muitas das espécies da seção *Julocroton* são difíceis de identificar morfológicamente, tanto em estágio vegetativo quanto reprodutivo. Portanto, estudos anatômicos com ênfase nas estruturas secretoras podem contribuir para o reconhecimento de caracteres diagnósticos da seção. Adicionalmente, diversas espécies de *Croton* são conhecidas por seu valor farmacológico e por sua atividade antioxidante (Salatino *et al.* 2007; Lima *et al.* 2009; Feio *et*

al. 2016), assim, o estudo de estruturas secretoras pode contribuir para o reconhecimento de sítios de síntese de compostos de interesse farmacológico.

Este trabalho tem o objetivo de estudar a morfoanatomia e a micromorfologia foliar de espécies representativas de *Croton* seção *Julocroton* para auxiliar na delimitação das espécies dentro da seção. Adicionalmente, investigar a diversidade e o padrão de distribuição das estruturas secretoras foliares nas espécies representativas da seção *Julocroton*.

Material e métodos

Das 42 espécies pertencentes à *Croton* seção *Julocroton* (Mart.) G.L. Webster (van Ee *et al.* 2011; Martín-Muñoz *et al.*, em revisão, capítulo I), 14 espécies foram amostradas e estão listadas na tabela 1. Parte dos dados anatômicos de *Croton maranonensis* Riina & Martín-Muñoz foi extraída de Martín-Muñoz *et al.* (em revisão, capítulo I), sendo utilizado mais espécimes para os estudos.

Amostras foliares das 14 espécies de *Croton* seção *Julocroton* foram obtidas nos seguintes herbários: BHCB, CORD, CTES, IAC, ICN, LPB, MA, MBML, MICH, MO, SI, SP-Fanerogamas, UESC e WIS. Os acrônimos dos herbários estão de acordo com *Index herbariorum* (Thiers 2022, continuamente atualizado). A tabela 1 contém a lista das espécies estudadas, local de ocorrência e o voucher. A ocorrência das plantas foi obtida através das plataformas: Lista Flora e Funga do Brasil 2022, Species Link, Kew Science (Plants of the World Online) e Martín-Muñoz *et al.* (em revisão, capítulo I) para *C. maranonensis*.

Quando possível, para todas as análises, foram utilizados pelo menos três indivíduos de cada espécie (tabela 1).

Tabela 1 – Lista de espécies de *Croton* seção *Julocroton*, ocorrência e voucher das espécies obtidas

Espécies	Ocorrência	Voucher
<i>Croton abutilopsis</i> G.L.Webster	Bolívia; Brasil (MS e MT)	<i>Maciel 1547</i> (MO); <i>R. Riina 1516</i> (MICH); <i>St.G. Beck 30162</i> (LPB)
<i>Croton ackermannianus</i> (Müll.Arg.) G.L.Webster	Argentina; Bolívia (BA, DF, MG, PR, SC e SP); Paraguai	<i>R. Guillen 871</i> (MO)
<i>Croton allemii</i> G.L.Webster	Argentina; Brasil (PR, RS e SC)	<i>J. Gurtler et al. 75</i> (MBML); <i>L.Kollmann et al. 13261</i> (MBML)
<i>Croton apostolon</i> Radcl.-Sm & Govaerts	Argentina; Paraguai	<i>C. Xifreda e S. Maldonado et al. 511</i> (SI)
<i>Croton argenteus</i> L.	Argentina; Bolívia; Brasil (AM, BA, MA, MG, PE, PI, RJ e RN); Chile; Colômbia; Costa Rica; Guiana Francesa; Honduras; México; Nicarágua; Paraguai; Panamá; Peru; Venezuela.	<i>W.R. Car 27038</i> (MO); <i>M. Nee 57293</i> (MO); <i>H. Maruto e B.D. Prado 144</i> (MO); <i>R. Runyon 7044</i> (MO)
<i>Croton calonervosus</i> G.L.Webster	Argentina; Bolívia; Brasil (MG, MT, PR, RS e SC)	<i>M. Nee et al. 37666</i> (MO); <i>M. Nee 40034</i> (MO); <i>L.F.A. De Paula et al. 229</i> (BHCB)
<i>Croton didrichsenii</i> G.L.Webster	Argentina; Bolívia; Brasil (BA, DF, GO, MG, MS, MT, PR, RS, SP, TO); Paraguai; Uruguai	<i>E. Valduga 826 e 827</i> (não tombado no ICN); <i>P. Souza 7256</i> (CTES)
<i>Croton flavispicatus</i> Rusby	Bolívia; Brasil (AC, MG, PA, PR); Paraguai; Peru	<i>C. Sacha 14613</i> (MO); <i>N. Souza 6401</i> (MO); <i>R. Riina 1450</i> (MICH)

<i>Croton fuscescens</i> Spreng.	Brasil (AL, BA, ES, GO, MG, PE, RJ, SE, SP)	<i>R.C. Mota</i> 714 (BHCB); <i>L.V. Costa</i> s/n (BHCB)
	Brasil (MG, PR)	<i>M.T.V.A Campos</i> et al. 12869 (SP); <i>M.C.E. Amaral</i> 7121 (SP)
<i>Croton aff. fuscescens</i> Baill.		
<i>Croton maranonensis</i> Riina & Martín-Muñoz	Equador e Peru	<i>Vau Der Weff</i> 14623, 14806 (MICH); <i>Cumbicus e Camacho</i> 1924 (MA); <i>R. Riina</i> 1469 (MA); <i>J. Campos</i> 2139 (MICH); <i>R. Vasquez</i> 27094 (WIS)
	Brasil (PR, RS, SC); Paraguai	<i>G. Pereira da Silva</i> et al. 4374 (SP); <i>Jr. J. Correa Gomes</i> 2295 (SP); <i>R.M. Harley</i> 26498 (SP)
<i>Croton rutilus</i> (Chodat & Hassl.) G.L.Webster		
<i>Croton subpannosus</i> Müll.Arg. ex Griseb.	Argentina, Bolívia, Brasil (MS, RS, SC); Paraguai	<i>E. Valduga</i> 906 (ICN); <i>M.C. Luján</i> 226 (CORD); <i>J.J. Canteiro</i> 5349 (CORD)
<i>Croton triqueter</i> Lam.	Bolívia; Brasil (AL, BA, CE, ES, GO, MA, MG, MS, MT, PA, PB, PE, PI, PR, RJ, RN, RO, RS, SC, SE, SP, TO); Paraguai; Peru	<i>E. Valduga</i> 749 e 815 (não tombado no ICN); <i>L.C. Bernacci</i> et al. 997 (IAC)

Estudos morfológicos e anatômicos

As folhas foram analisadas em esteriomicroscópio (Carl Zeiss Stemi 2000-C) a fim de investigar a presença de estruturas secretoras externas. Para caracterização anatômica, amostras foliares foram submetidas a reversão de herborização (Smith & Smith 1942), desidratadas em série etanólica e estocadas em etanol 70%. Foram seccionadas a região mediana da lâmina foliar (incluindo a nervura central e a margem), a região basilaminar/acropeciolar e a porção distal do pecíolo de folhas completamente expandidas. Também foram analisadas, quando possível, estípulas, folhas jovens e ápice caulinar.

As amostras foliares obtidas, foram utilizadas para inclusão em historresina e diafanização (Johansen 1940). Para inclusão, as amostras foram desidratadas em série etanólica e incluídas em historresina (Leica, Historesin) seguindo as recomendações do fabricante. Foram obtidos cortes transversais e longitudinais com 5 µm de espessura em micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2265, Deerfield, IL, USA), com o auxílio de lâminas de vidro descartáveis (Leica, Biosystems, Nussloch GmbH). Os cortes resultantes foram corados com solução de azul de Toluidina em pH 4.4 (O'Brien & McCully 1981) e as lâminas montadas com resina sintética *Permout* (Fisher ®). Para diafanização, as folhas foram submetidas ao hidróxido de sódio 5% overnight, lavadas e, em seguida, tratadas com hipoclorito de sódio 50% até a clarificação e lavadas novamente. Posteriormente as amostras foram coradas com fucsina etanólica 50% (Vasco *et al.* 2014) e as lâminas montadas em gelatina glicerinada (Kaiser 1880).

Os resultados foram documentados em microscópio de luz (AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan) com câmera fotográfica digital acoplada (AxioCam HRc, Göttinger, Germany).

Para caracterização do pecíolo e nervura central foi utilizado a literatura de Metcalfe & Chalk (1952).

Estudos micromorfológicos

As amostras estocadas em etanol 70% foram desidratadas em série etanólica e submetidas ao Ponto Crítico com CO₂ (030 CPD Bal-Tee; Liechtenstein). Logo após as amostras foram cobertas com ouro no Metalizador (Sputter Coater, Quorum Q150RS) e montadas em stubs (Bozzola & Russel 1991). As imagens foram obtidas no Microscópio Eletrônico de Varredura Leo, 1430VP (Zeiss, Cambridge, United Kingdom) do Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (NMM-UFV).

Os estudos micromorfológicos foram utilizados para caracterização das estruturas secretoras externas na folha e dos apêndices não secretores na lâmina foliar. Os coleteres foram classificados segundo Lersten (1974) e Thomas (1991). Para caracterização dos apêndices não secretores foliares seguiu-se a literatura de Vitarelli et al. (2016) e (2021), onde esses apêndices foram denominados de “emergências” quando estão associados com as esclereídes no mesofilo, e “tricomas não secretores” quando não existem esclereídes associadas. Para a classificação das emergências e dos tricomas não secretores foi utilizada a literatura de Pinto-Silva *et al.* (2023). Já os laticíferos foram classificados conforme Hagel *et al.* (2008) e Evert (2013).

Resultados

Descrição morfoanatômica e micromorfológica da folha

O resultado das características morfoanatômicas e micromorfológicas estão resumidas na tabela 2. O pecíolo possui sistema vascular organizado em arco fechado, na maioria das espécies (Fig. 1A-C), ou arco aberto, que ocorre apenas em *C. didrichsenii* (Fig. 1D). Os feixes são bicolaterais em todas as espécies (Fig. 1A-D). Um par de feixes dorsais foi observado em *C. didrichsenii* (Fig. 1D), estando ausente nas demais espécies. Um par de feixes acessórios é recorrente nas espécies amostradas da seção, com exceção de *C. maranonensis* (Fig. 1C). Cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, são observados em todas as espécies e estão distribuídos aleatoriamente no parênquima cortical e próximo aos feixes vasculares (Fig. 1A em detalhe).

A nervura central da lâmina foliar de todas as espécies estudadas possui formato biconvexo com sistema vascular organizado em arco aberto com um feixe dorsal, na nervura central os feixes são do tipo bicolateral (Fig. 2A, B). Na nervura central, o parênquima paliçádico é interrompido por colênquima e parênquima fundamental na maioria das espécies (Fig. 2A), exceto em *C. aff. fuscescens* onde o parênquima paliçádico é contínuo na face adaxial (Fig. 2B).

O mesofilo é dorsiventral na maioria das espécies (Fig. 2C). Em *C. apostolon* e *C. subpannosus* o mesofilo é isobilateral (Fig. 2D). Ao analisar as folhas completamente expandidas, a maioria das espécies estudadas apresentou margem foliar denteada, exceto *C. maranonensis* e *C. rutilus*. O parênquima paliçádico é contínuo na margem foliar em *C. allemii* (Fig. 2E), enquanto que nas demais espécies se apresenta interrompido (Fig. 2F).

A epiderme é uniestratificada e possui células em formato tabular em corte transversal (Fig. 2C-F). As células epidérmicas possuem conteúdo mucilaginoso, corado de roxo pelo azul de toluidina (Fig. 2E, F). Os estômatos são do tipo paracítico e a lâmina foliar é anfiestomática (Fig. 2C, D), exceto em *C. aff. fuscescens* que é hipoestomática. Cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa ocorrem nos idioblastos cristalíferos na nervura central e no mesofilo (Fig. 2A, C).

Tricomas não secretores (Fig. 2 C, F) e emergências (Fig. 2D) foram observados nas folhas completamente expandidas em ambas as faces epidérmicas e são persistentes na lâmina foliar de todas as espécies estudadas. Foram observados dois tipos, tanto de tricomas quanto de emergências: o simples (Fig. 3A) e o estrelado (3A-E).

O tipo simples, é unicelular e pode ser curto, quando está inserido na mesma altura das demais células epidérmicas (Fig. 3F) ou longo, quando está elevado devido a projeção das células epidérmicas circunvizinhas (Fig. 3G). O tipo simples foi observado na face adaxial de todas as espécies. Enquanto na face abaxial, o tipo simples foi visto apenas em *C. abutilopsis*, *C. apostolon*, e *C. subpannosus*.

O tipo estrelado possui pedúnculo multisseriado, que pode ser longo (estrelado longo-pedunculado), quando o pedúnculo é mais longo que a altura do mesofilo (Fig. 3C, E), ou curto (estrelado curto-pedunculado), quando o pedúnculo é mais curto que a altura do mesofilo (Fig. 3D, E). O tipo estrelado possui o raio porrecto (Fig. 3B), que constitui de uma célula mais ou menos ereta em relação as demais células do raio. O tipo estrelado porrecto ocorrem nas faces adaxial e abaxial, e varia quanto ao número dos raios (Fig. 3A-C, F, G, I-K).

Em todas as espécies foram observados tricomas e emergências estrelados tanto com pedúnculo longo quanto curto na face abaxial (Fig. 3D, E, H). Enquanto na face adaxial o pedúnculo longo e curto foi observado em *C. abutilopsis*, *C. apostolon*, *C. argenteus*, *C. calonervosus*, *C. didrichsenii*, *C. flavispicatus*, *C. fuscescens*, *C. rutilus* e *C. subpannosus* (Fig. 3E). Apenas pedúnculo longo na face adaxial foi observado em *C. ackermannianus* e *C. allemii*, e apenas pedúnculo curto na face adaxial foi observado em *C. aff. fuscescens*, *C. maranonensis* e *C. triqueter*.

É constituinte das emergências, tanto do tipo simples quanto estreladas, as esclereídes que se estendem perpendicularmente ao mesofilo. As esclereídes podem conectar uma face a outra face da lâmina foliar (Fig. 3H), inclusive podendo promover o contato de uma emergência do tipo estrelada com uma do tipo simples em faces opostas da folha (Fig. 3H).

Para descrever precisamente as características dos tricomas e das emergências foi necessário analisar a lâmina foliar tanto em vista frontal visualizada em microscópio eletrônico de varredura, quanto em cortes transversais observados em microscópio de luz. Desta forma, foi possível visualizar tais estruturas em mais de um plano, assegurando o reconhecimento dos tipos, mesmo quando a densidade do indumento era maior, dificultando a interpretação.

Diversidade das estruturas secretoras

Quatro tipos de estruturas secretoras foram descritos nas espécies analisadas de *Croton* seção *Julocroton*: coléteres, idioblastos secretores, laticíferos e tricomas glandulares.

Classificação e distribuição dos coléteres

Os coléteres do tipo padrão (Fig. 4A-F) foram identificados ao longo da margem foliar (coléteres marginais) (Fig. 4A, B) e estão voltados para a face adaxial (Fig. 3C). Os coléteres possuem pedúnculo curto, são multicelulares e multisseriados (Fig. 4C). O eixo central não secretor é alongado e recoberto por células secretoras em paliçada e revestidas por uma cutícula fina (Fig. 4C, E). O eixo central multicelular é parenquimático, é vascularizado por xilema e floema (Fig. 4B, C) e possui idioblastos dispersos contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa.

Aglomerados de coléteres na região basilaminar/acropetiolar foram observados em sete espécies (Fig. 4D, E): *C. abutilopsis*, *C. ackermannianus*, *C. calonervosus*, *C. aff. fuscescens*, *C. flavispicatus*, *C. maranonensis* e *C. triqueter*. A presença desses aglomerados foi atestada por observações no esteriomicroscópio, pelas imagens ao microscópio de varredura e nos cortes histológicos seriados. Nas demais espécies estudadas, não foi observado esse aglomerado de coléteres.

Foi possível analisar somente as estípulas de *C. abutilopsis*, *C. argenteus*, *C. didrichsenii*, *C. flavispicatus*, *C. maranonensis*, *C. subpannosus* e *C. triqueter*. Em todas essas sete espécies, as estípulas apresentaram vários coléteres na base e apenas um coléter no ápice (Fig. 4F).

Descrição e ocorrência dos tricomas glandulares e idioblastos secretores

Tricomas glandulares estão presentes em todas as espécies estudadas (Fig. 3J, K). Eles são unicelulares, possuem a base estreita e o ápice dilatado (Fig. 3J, 4G), o que dá a ele um

aspecto de “maçaneta” (Fig. 4G). Os tricomas glandulares estão presentes na face abaxial e adaxial de *C. abutilopsis*, *C. ackermannianus*, *C. allemii*, *C. apostolon*, *C. argenteus*, *C. didrichsenii*, *C. flavispicatus*, *C. maranonensis*, *C. rutilus*, *C. subpannosus* e *C. triqueter*. Em *C. subpannosus*, o tricoma é abundante em ambas as faces (Fig. 4G). Nas demais espécies eles foram raramente observados na face adaxial. Tricomas glandulares ocorrem exclusivamente na face abaxial de *C. calonervosus*, *C. aff. fuscescens* e *C. fuscescens*.

No mesofilo, os idioblastos secretores foram observados por entre as células do parênquima paliádico em *C. fuscescens* (Fig. 4H). Nos tricomas e emergências estrelados porrecto de *C. ackermannianus*, *C. allemii*, *C. argenteus*, *C. aff. fuscescens*, *C. rutilus* e *C. triqueter*, ocorrem idioblastos secretores na inserção do raio com o pedúnculo (Fig. 4I).

Classificação e distribuição dos Laticíferos

Laticíferos ocorrem em todas as espécies estudadas. Foram observados associados ao floema dos feixes vasculares do pecíolo (Fig. 1A) e nervura central (Fig. 2A). Os laticíferos são facilmente reconhecidos pois apresentam-se fortemente corados de azul escuro pelo azul de toluidina (Fig. 1A, 2A, 4J). Não foi possível classificar os laticíferos de todas as espécies de *C. seção Julocroton* estudadas, devido à indisponibilidade de ápice caulinar para coleta no material herborizado. Foi possível avaliar ápices caulinares de *C. abutilopsis* e *C. maranonensis* onde a ontogenia dos laticíferos foi descrita. Nestas espécies, os laticíferos se originam do procâmbio (Fig. 4J) e são classificados como articulados, não anastomosados (Fig. 4K) e algumas vezes visto com ramificações em “Y” (Fig. 4L).

Tabela 2 – Lista das espécies estudadas de *Croton* seção *Julocroton* com as características morfoanatômicas da folha.

Espécies de <i>Croton</i>	Pecíolo	Nervura Central	Mesofilo	Margem	Estruturas secretoras			Tricoma/emergência		
					Coléteres	TG (Posição)	Id (Posição)	Lat	Estralado (Posição)	Simples (Posição)
<i>C. abutilopsis</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; bas/acro; vascularizados	Ada (raro)/Aba	-	+	Ada/Aba	Ada/Aba
<i>C. ackermannianus</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; bas/acro; vascularizados	Ada (raro)/Aba	Base do raio	+	Ada/Aba	Ada
<i>C. allemii</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico contínuo	Marginais; vascularizados	Ada (raro)/Aba	Base do raio	+	Ada/Aba	Ada
<i>C. apostolon</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Isobilateral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; vascularizados	Ada (raro)/Aba	-	+	Ada/Aba	Ada/Aba
<i>C. argenteus</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido.	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; vascularizados	Ada (raro)/Aba	Base do raio	+	Ada/Aba	Ada
<i>C. calonervosus</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo	Dorsiventral; esclereídes	Denteada; parênquima	Marginais; bas/acro; vascularizados	Aba	-	+	Ada/Aba	Ada

	dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	presentes; anfiestomática	paliçádico interrompido							
<i>C. didrichsenii</i>	Feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; com um par de feixes dorsais; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; vascularizados	Ada (raro)/Aba	-	+	Ada/Aba	Ada	
<i>C. flavispicatus</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; bas/acro; vascularizados	Ada (raro)/Aba	-	+	Ada/Aba	Ada	
<i>C. fuscescens</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios.	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; vascularizados	Aba		+	Ada/Aba	Ada	
<i>C. cf. fuscescens</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico contínuo	Dorsiventral; esclereídes presentes; hipoestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; bas/acro; vascularizados	Aba	Base do raio	+	Ada/Aba	Ada	
<i>C. maranonensis</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; par de feixes acessórios ausentes	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Inteira; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; bas/acro; vascularizados	Ada (raro)/Aba	Base do raio	+	Ada/Aba	Ada/Aba	
<i>C. rutilus</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Inteira; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; vascularizados	Ada (raro)/Aba	Base do raio	+	Ada/Aba	Ada	

<i>C. subpannosus</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompid	Isobilateral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; vascularizados	Ada (abundante)/aba	-	+	Ada/Aba	Ada/Aba
<i>C. triqueter</i>	Feixes vasculares em arco fechado do tipo bicolateral; feixes dorsais ausentes; um par de feixes acessórios	Formato biconvexo; feixes vasculares em arco aberto do tipo bicolateral; um feixe dorsal; parênquima paliçádico interrompido	Dorsiventral; esclereídes presentes; anfiestomática	Denteada; parênquima paliçádico interrompido	Marginais; bas/acro; vascularizados	Ada (raro)/Aba	Base do raio	+	Ada/Aba	Ada/Aba

Notas: Aba, abaxial; Ada, adaxial; Bas/acro, basilaminar/acropeciolar; Id, idioblasto; Lat, laticífero; TG, tricoma glandular; +, presença; -, ausência.

Discussão

As características morfoanatômicas e micromorfológicas das espécies estudadas de *Croton* seção *Julocroton* foram úteis na identificação das espécies.

Todas as espécies possuem feixes bicolaterais no pecíolo e na nervura central da lâmina foliar. Portanto, esta não foi uma característica diagnóstica entre as espécies amostradas. Miranda *et al.* (em preparação) observou que essa característica se manteve nas espécies analisadas de *C.* seção *Geiseleria* e também foi pouco útil na delimitação das subseções da seção *Barhamia*. Pecíolo com feixes organizados em arco fechado é considerado recorrente em Euphorbiaceae (Metcalf & Chalk 1957), o que se confirmou na maioria das espécies de *C.* seção *Julocroton* estudadas, assim como em outras espécies de *Croton* (Sá-Haiad *et al.* 2009; Riina *et al.* 2015) e *Astraea* (Souza 2018). Portanto pode ser considerada como uma característica comum para os membros da tribo Crotonae (Crotonoideae).

Por outro lado, a presença e o número de feixes dorsais e acessórios no pecíolo podem ser relevantes para distinção de espécies. A presença de feixes dorsais no pecíolo, além dos feixes organizados em arco aberto, foi diagnóstico para *C. didrichsenii*, que apresenta dois feixes dorsais. Já, *C. maranonensis* foi a única espécie analisada que não possuiu feixes acessórios. A presença de feixes dorsais no pecíolo também se mostrou útil para distinção de espécies nas seções *Barhamia* e *Geiseleria* (Miranda *et al.* em preparação). De forma similar, o tipo de feixe e a presença de feixes acessórios no pecíolo foram considerados importantes na distinção entre quatro espécies de *Croton* seção *Adenophylli* (Sodré *et al.* 2022).

Características da lâmina foliar como o formato biconvexo da nervura central, epiderme uniestratificada com células mucilaginosas, estômatos paracíticos e a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusas no mesofilo são comuns nas espécies da tribo Crotonae (Sá-Haiad *et al.* 2009; Soares 2013; Riina *et al.* 2015; Feio *et al.* 2018; Souza 2018; Miranda *et al.* em preparação) e em Euphorbiaceae (Metcalf & Chalk 1957). Entretanto foram reunidos caracteres anatômicos da lâmina foliar úteis para separar as espécies de *C.* seção *Julocroton* estudadas. O parênquima paliçádico contínuo na nervura central e na margem, mesofilo isobilateral, folha hipostomática e margem foliar inteira destacaram-se como caracteres exclusivos de algumas das espécies, sendo utilizados para distingui-las das demais. Estudos mostraram que o parênquima paliçádico contínuo na nervura central foi diagnóstico para as seções *Cyclostigma* (Feio *et al.* 2018) e *Adenophylli* (Feio *et al.* 2018; Sodré *et al.* 2022), seções que são proximamente relacionadas filogeneticamente. Contudo, nas espécies de *Cyclostigma*

estudadas por Sá-Haiad (2009), o parênquima paliçádico é interrompido por células do colênquima na nervura central. Já o parênquima paliçádico interrompido na nervura central, caracterizou as seções *Cupreati* e *Sampatik* (Feio *et al.* 2018). A posição dos estômatos na lâmina foliar foi importante para separar quatro espécies de *C.* seção *Adenophylli* (Sodré *et al.* 2022). O parênquima paliçádico contornando a margem foi uma característica recorrente nas espécies da seção *Barhamia* com poucas exceções (Miranda *et al.* em preparação). Portanto, os caracteres da lâmina foliar aparentemente podem não representar sinapomorfias para as seções de *Croton*, mas são úteis para distinção de espécies proximalmente relacionadas.

Os apêndices foliares não secretores foram denominados de emergências e tricomas, segundo Vitarelli *et al.* (2016) e (2021). Onde, nas emergências, os apêndices foliares estão associados a esclereídes e os tricomas não estão associados a esclereídes. Nas espécies de *Julocroton* estudadas ocorrem tricomas não secretores e emergências do tipo estrelados com raio porrecto. Webster *et al.* (1996) caracterizaram os tricomas não secretores de *C.* seção *Julocroton* em fasciculado a principalmente estrelado-rotado com raio porrecto. Entretanto, Pinto-Silva *et al.* (2023) revisaram e classificaram o tricoma fasciculado como estrelado e o estrelado-rotado como sublepidoto. Além dos tricomas e emergências do tipo estrelados, observamos a presença de tricomas e emergências do tipo simples em grande parte das espécies de *C.* seção *Julocroton* estudadas, o que não foi relatado no trabalho de Webster *et al.* (1996), mas foi registrado na revisão de Pinto-Silva *et al.* (2023). Tricomas não secretores e emergências são comuns nas espécies de *Croton* (Metcalf & Chalk 1957; Webster *et al.* 1996; Lucena & Sales 2006; Riina *et al.* 2015; Feio *et al.* 2018; Vitarelli *et al.* 2021; Pinto-Silva *et al.* 2023). As emergências são formadas por células protodérmicas e do meristema fundamental (Vitarelli *et al.* 2016). Já os apêndices foliares que não possui esclereídes associadas, necessitam de estudos para esclarecer sua origem ontogenética.

Experimentos mostram que os diferentes tipos de emergências nas espécies de *Croton* absorvem a umidade atmosférica e distribuem a água para o mesófilo e feixes vasculares via esclereídes (Vitarelli *et al.* 2016). Considerando que as espécies de *C.* seção *Julocroton*, ocorrem predominantemente em ambientes abertos e secos (Cordeiro 1990), as esclereídes no mesófilo conferem uma vantagem adaptativa para as espécies amostradas. As emergências também ocorrem em muitas espécies das seções *Lamprocroton* (Vitarelli 2013) e *Geiseleria* (Sodré *et al.* 2019; Vitarelli *et al.* 2021; Miranda *et al.*, em preparação) que ocorrem em ambientes abertos e secos, e em solos arenosos ou rochosos com limitada disponibilidade de água no substrato e alta umidade atmosférica (Vitarelli *et al.* 2016; 2021). Em contrapartida,

espécies de *Croton* de seções que ocorrem em ambientes predominantemente úmidos, pouca ou nenhuma espécie possui emergências, como por exemplo nas seções *Cyclostigma* (Sá-Haiad *et al.* 2009; Riina *et al.* 2015; Feio *et al.* 2018), *Cleodora* (subseção *Sphaerogyni*), *Alabamenses* (Vitarelli 2013), *Luntia* (Soares 2013), *Sampatik* e *Cupreati* (Feio *et al.* 2018). Uma excessão a este padrão estão nas espécies da seção *Barhamia* e *Luetzelburgiorum* que ocorrem em ambientes abertos e secos (van Ee *et al.* 2011) e não possuem emergências (Miranda *et al.*, em preparação). Embora ainda não existam estudos ontogenéticos para os tricomas não associados às esclereídes em representantes da tribo Crotoneae, a presença de emergências parece ser uma característica selecionada em resposta ao déficit de água.

Estruturas secretoras em Croton seção Julocroton

Coléteres do tipo padrão e vascularizados foram comuns nas espécies estudadas. Mesmo nas folhas completamente expandidas, os coléteres foram persistentes. Aparentemente, a presença de vascularização no eixo central auxilia na permanência do coléter mesmo no órgão desenvolvido, dificultando sua queda. Como os coléteres são estruturas caracterizadas por se diferenciarem precocemente e frequentemente caem nas folhas completamente expandidas, geralmente observa-se apenas uma cicatriz ou o um pedúnculo no órgão desenvolvido (Paiva 2012; Fernandes *et al.* 2016; Almeida & Paiva 2019). Entretanto, uma característica marcante de coléteres senescentes que são persistentes é a presença de células com aspectos colapsados e enegrecidos devido ao acúmulo de compostos fenólicos (Fernandes *et al.* 2016; Meira *et al.* 2020). Esse padrão foi evidente nas espécies estudadas.

Os coléteres possuem secreção de natureza mucilaginosa hidrofílica ou resinosa lipofílica e insolúvel em água, sua atividade secretora se inicia nos primórdios foliares e sua secreção cobre o ápice caulinar protegendo o meristema, folhas jovens e botões florais contra a dessecação, herbívoros e patógenos (Thomas 1991; Evert 2013; Machado *et al.* 2015; Meira *et al.* 2020). Na tribo Crotoneae, a vascularização dos coléteres pode ter valor taxonômico ao nível subgenérico, como ao nível de seção. O padrão vascularizado observado nos coléteres de *C. seção Julocroton* foi reportado também para as espécies estudadas das seções *Cuneati*, *Luntia* (Soares 2013) e *Geiseleria* (Soares 2013; Miranda *et al.* em preparação). Já o padrão avascularizado foi registrado nas espécies estudadas das seções *Cyclostigma* (Feio *et al.* 2016; 2018), *Adenophylli*, *Cupreati*, *Sampatik* (Feio *et al.* 2018) e nas espécies de *Astraea* (Souza 2018). Nas espécies das seções de *Barhamia* e *Luetzelburgiorum* não ocorrem coléteres na

lâmina foliar, entretanto, nas etímulas essa estrutura secretora está presente e é vascularizada por xilema e floema (Miranda *et al.* em preparação).

Coléteres na margem foliar e nectários extraflorais (NEFs) basilaminar/acropeciolar são caracteres comuns na tribo Crotonae (Soares 2013; Vitarelli *et al.* 2015; Riina *et al.* 2015; Feio *et al.* 2016; 2018; Souza 2018; Vitarelli *et al.* 2021; Miranda *et al.* em preparação). Entretanto, existem relatos sobre nectários ocupando a mesma posição de coléteres marginais em espécies de *Croton* (Miranda *et al.* em preparação). A caracterização das glândulas marginais e basilaminar/acropeciolar foi fundamentada na estrutura anatômica, na atividade precoce e na senescência dessas estruturas, seguindo recomendação de Meira *et al.* (2020). Coléteres exibem atividade secretora precoce, e geralmente quando os nectários entram em atividade, os coléteres encontram-se senescentes (Meira *et al.* 2020). Os nectários exsudam uma solução açucarada, contendo mono e dissacarídeos, enquanto a secreção dos coléteres é pegajosa, constituída por mucilagem e/ou resina (Fahn 1979).

Aglomerados de dois a quatro coléteres na região basilaminar/acropeciolar foram reportados em nove espécies de *Astraea* (Vitarelli *et al.* 2015; Souza 2018) e restritos à base da lâmina em *C. alabamensis* E.A. Sm. ex Chapm. da seção *Alabamensis* que é monoespecífica (Vitarelli *et al.* 2015). Em nossos estudos, descrevemos a presença de aglomerado de coléteres na região basilaminar/acropeciolar em 8 das 15 espécies analisadas. Eles ocorreram em grupos de três ou mais coléteres em uma mesma região. Portanto, foi uma característica de valor taxonômico para as espécies de *C.* seção *Julocroton*.

Nas espécies de *Croton* seção *Julocroton*, as estípulas analisadas tiveram o mesmo padrão de presença e distribuição de coléteres, o que indica ser um bom caractere taxonômico. Diferentes tipos de estruturas secretoras podem estar presentes na estípula, e estas podem variar quanto a sua distribuição nos diferentes táxons (Souza 2018; Faria *et al.* 2019; Miranda *et al.* em preparação). Em alguns casos, as estípulas podem sofrer modificações morfofuncionais e se constituírem por si só em um tipo especializado de estrutura secretora, como coléteres ou NEFs (Miranda *et al.* em preparação). Devido as estípulas serem diminutas, senescentes e caducas, encontram-se preservadas apenas no ápice caulinar, o que tem dificultado a obtenção de amostras proveniente de exsicatas. Assim, a análise dessa característica de uma forma mais sistematizada em representantes de Crotonae dependerá de esforços para coletas de campo a fim de avaliar o potencial valor taxonômico deste atributo.

Nas espécies estudadas, a presença de idioblasto secretor em meio às células do parênquima paliçádico foi um caractere diagnóstico para *C. fuscescens*. Os idioblastos secretores são comuns nas espécies de *Croton*, mas sua localização pode variar entre as espécies (Vitarelli *et al.* 2015). Essas células podem secretar substâncias de natureza lipofílica (Vitarelli *et al.* 2015; Sá-Haiad *et al.* 2019) ou uma mistura de polissacarídeos, compostos fenólicos, alcaloides e proteínas (Feio *et al.* 2016). Idioblastos secretores na face abaxial da epiderme foliar foi característico para as espécies da seção *Cleodora*, enquanto na epiderme adaxial foi recorrente nas espécies da seção *Lamprocroton* (Vitarelli *et al.* 2015).

A presença de idioblastos inseridos na base do raio das emergências e dos tricomas estrelados não foi comum para todas as espécies estudadas de *C. seção Julocroton*, constituindo uma característica importante para a taxonomia dentro da seção, uma vez que permitiu distinguir um grupo de espécies. Em outras espécies de *Croton* esses idioblastos foram observados no pedúnculo dos tricomas estrelados (Sá-Haiad *et al.* 2009; Feio *et al.*; 2018; Sodré *et al.* 2022) e no pedúnculo do NEF (Riina *et al.* 2015). Sugerimos que os idioblastos secretores presentes nos tricomas tectores, possam secretar compostos químicos de natureza lipídica que atuariam na defesa química da planta contra herbívoros e patógenos, aumentando a ação física da porção não secretora desses tricomas. Em nossos estudos, observamos que nas espécies de *Julocroton* analisadas que possuem idioblastos no tricoma, não possuem idioblastos secretores no mesofilo ou nas demais células epidérmicas. Portanto, parece não ser comum a ocorrência de idioblastos secretores tanto no tricoma quanto nas demais regiões foliares. Já os compostos lipídicos que poderiam estar presentes nos idioblastos que ocorrem no pedúnculo do NEF, poderiam atrair formigas para próprio NEF, atuariam na defesa da planta. Contudo, essas sugestões precisam ser confirmadas por meio de experimentos futuros.

A presença de laticíferos é comum em Euphorbiaceae (Metcalf & Chalk 1957), eles estão presentes nas subfamílias Crotonoideae, Euphorbioideae e são considerados raros em Acalyphoideae (Rudall 1994). Os laticíferos articulados não anastomosados encontrados nas duas espécies da seção *Julocroton*, se assemelham aos encontrados nas espécies de *Croton* seções *Cleodora* e *Lamprocroton* analisadas por Vitarelli *et al.* (2015). Em contraste, laticíferos não articulados foram encontrados nas espécies da seção *Cyclostigma* (Sá-Haiad *et al.* 2009; Wiedenhoef *et al.* 2009; Riina *et al.* 2015; Feio *et al.* 2016; 2018) e em algumas espécies das seções *Geiseleria* e *Adenophylli* (Rudall 1994). Estudos anatômicos adicionais do ápice caulinar de *C. seção Julocroton* são necessários para determinar o(s) tipo(s) de laticífero(s) que caracteriza (ou caracterizam) a seção.

A alta frequência de tricomas glandulares na face adaxial em *C. subpannosus* foi uma característica diagnóstica em relação às espécies amostradas no presente estudo. Tricomas glandulares na lâmina foliar foi útil para separar anatomicamente *C. seção Lamprocroton* onde estiveram presentes, de *C. seção Cleodora* onde estiveram ausentes (Vitarelli *et al.* 2015), o que demonstra a importância das estruturas secretoras como um caractere taxonômico.

Em *Crotonae*, os tricomas glandulares na lâmina foliar já foram relatados para a face abaxial das seções *Lamprocroton* (exceto *Croton imbricatus* L.R.Lima & Pirani) (Soares 2013; Vitarelli *et al.* 2015) e *Alabamenses* (Vitarelli 2013); em ambas as faces ou apenas na face abaxial de *C. seção Geiseleria* (Sodré *et al.* 2019; Vitarelli *et al.* 2021; Miranda *et al.* em preparação) e na face abaxial de poucas espécies da seção *Barhamia* (Miranda *et al.* em preparação). Já os tricomas glandulares não foram descritos nas espécies estudadas das seções *Luntia*; *Cuneati*; *Cleodora* (Vitarelli *et al.* 2015); *Cyclostigma* (Sodré *et al.* 2019; Vitarelli *et al.* 2021); *Cupreati*; *Sampatik*; *Adenophylli* (Feio *et al.* 2018; Sodré *et al.* 2022); *Luetzelburgiorum* e em grande parte das espécies da seção *Barhamia* (Miranda *et al.* em preparação) e nas espécies de *Astraea* (Sá-Haiad *et al.* 2009; Soares 2013; Vitarelli *et al.* 2015; Souza 2018) e *Brasiliocroton mamoinha* P.E.Berry & Cordeiro (Sá-Haiad *et al.* 2009; Soares 2013; Vitarelli *et al.* 2015). O habitat destaca-se como uma característica comum à maioria dessas espécies. Aparentemente, existe uma correlação entre a presença de tricomas secretores e as plantas de ambientes abertos e secos e de hábitos herbáceos, arbustivo ou subarbustivo. Já as espécies das seções que não possuem tricomas secretores são predominantemente de ambientes úmidos e hábito arbóreo. Foi verificado a presença de óleo-resina nos tricomas secretores das espécies de *Lamprocroton*, e essa secreção foi relacionada com o odor distintivo dessas plantas (Vitarelli *et al.* 2015). Sugerimos que o ambiente extremo das espécies de *Croton* foi um fator importante na seleção das espécies que possuem tricomas secretores, essa estrutura pode atuar na defesa química contra herbívoros e patógenos.

Conclusão

A morfoanatomia e a micromorfologia foliar foram fontes de dados importantes para a taxonomia de *Croton* seção *Julocroton*, pois permitiram distinguir espécies proximalmente relacionadas que compõem a seção. O tipo e a posição das estruturas secretoras foram características diagnósticas relevantes para separar espécies. Dentre os caracteres importantes para o diagnóstico das espécies, destacam-se o sistema vascular do pecíolo, a anatomia e morfologia da margem, o tipo de mesofilo, a posição dos estômatos, a caracterização anatômica

da nervura central e a distribuição das emergências e dos tricomas não secretores. Além disso, a presença e a distribuição dos coléteres, idioblastos secretores e tricomas glandulares foram importantes para o diagnóstico das espécies da seção *Julocroton*. Por outro lado, a presença e distribuição dos laticíferos e a presença de esclereídes no mesofilo foram comuns a todas as espécies estudadas e foram considerados caracteres conservativos para o grupo.

Referências

- Almeida AL, Paiva EAS. 2019. Colleters in *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae): Anatomy and biology of the secretory process. *Flora* 258: 1-9.
- Berry PE, Hipp AL, Wurdack K J, van EeB, Riina R. 2005. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotoneae (Euphorbiaceae *sensu stricto*) using ITS and trnL-trnF DNA sequence data. *American Journal of Botany* 92: 1520-1534.
- Bozzola JJ, Russell LD. 1992. Electron microscopy: principles and techniques for biologists. Jones and Bartlett Publishers.
- Cordeiro I. 1990. Aspectos taxonômicos e distribuição geográfica de *Julocroton* Mart. (Euphorbiaceae). *Acta Botânica Brasileira* 4:83-90.
- Evert RF. 2013. Anatomia das Plantas de Esau. São Paulo: Blucher.
- Faria DNS, Fernandes VF, Marquete R, Meira RMSAM. 2019. Morphology, anatomy, and exudates of stipular colleters in *Casearia* Jacq. (Salicaceae) across two tropical plant communities. *International Journal of Plant Science* 180: 141-152.
- Feio AC, Riina R, Meira RMSA. 2016. Secretory structures in leaves and flowers of two dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae): new evidence and interpretations. *International Journal Plant Science* 177: 511-522.
- Feio AC, Riina R, Meira RMS. 2018. A. Leaf anatomical features and their implications for the systematics of dragon's blood *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 187: 614-632.
- Fernandes VF, Thadeo M, Dalvi VC, Marquete R, Meira RMS. 2016. Colleters in *Casearia* (Salicaceae): a new interpretation for the theoid teeth. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 682-691.
- Hagel JM, Yeung EC, Facchini PJ. 2008. Got milk? The secret life of laticifers. *Trends in Plant Science* 13: 631-639.
- Johansen DA 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York, USA.

- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. 2009. Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético. 3ª ed. Artmed, Porto Alegre.
- Kaiser E. 1880. Verfahren zur herstellung einer tadellosen glycerin-gelatine. Botanisch Zentralb 180: 25-26.
- Lersten NR. 1974. Morphology and distribution of colleters and crystals in Relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). American Journal of Botany 61: 973-981.
- Lima SG, Neto JMM, Cito AMGL, Costa JGM, Reis FAM. 2009. Monoterpenes, sesquiterpenes and fatty acids from *Julocroton triqueter* (Euphorbiaceae) from Ceará – Brazil. Journal of the Chilean Chemical Society 54:55-57.
- Lucena MFA, Sales MF. 2006. Tricomas foliares em espécies de *Croton* L. (Crotonoideae-Euphorbiaceae). Rodriguésia 57:11-25.
- Macbride JF. 1951. Euphorbiaceae. In: Flora of Peru. Field Museum Natural History. Botanical Series. Vol. 13, 3A: 3-200.
- Machado SR, Paleari LM, Paiva EAS, Rodrigues TM. 2015. Colleters on the inflorescence axis of *Croton glandulosus* (Euphorbiaceae): structural and functional characterization. International Journal of Plant Science 176: 86-93.
- Meira RMSA, Miranda JD, Coutinho IAC. 2020. Anatomical Reevaluation and novelties on the leaf marginal tooth glands in *Sapium glandulosum* (L.) Morong. (Euphorbiaceae): The importance of distinguishing colleters from nectaries. In: Demarco D (ed.) Plant Ontogeny: Studies, analyses and evolutionary implications. Nova, Science Publishers, New York Inc. p. 63-82.
- Metcalf CR, Chalk L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Vol. I. Clarendon Press, Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L. 1979. Anatomy of the Dicotyledons: Systematic Anatomy of Leaf and Stem with a Brief History of the Subject. 2nd. Vol. I. Clarendon Press. Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L. 1983. Anatomy of the Dicotyledons. 2nd. Vol. II. Clarendon Press, Oxford.
- O'Brien TP, Mccully ME. 1981. The study of plant structure principles and selected methods. Termarcaphi Pty, Melbourne, Australia.
- Paiva EAS 2012. Colleters in *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae): structure, secretion and evidences for youn leaf protection. The Journal of the Torrey Botanical Society 139:1-8.
- Pinto-Silva NP, de Souza KF, Silva OLM, Vitarelli NC, Pereira APN, Soares DA, Sodré RC, Medeiros D, Caruzo MBR, Carneiro Torres DS, da Silva MJ, Meira RMSA, Riina R, Feio

- AC. 2023. Trichomes in the megadiverse genus *Croton* (Euphorbiaceae): a revised classification, identification parameters and standardized terminology. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 20: 1-13.
- Riina R, Cumbicus N, Feio AC, Cerón CE, Meira RMSA, Berry PE. 2015. A new species of dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae) from South America with singular inflorescences. *Journal of Plant Taxonomy and Geography* 70:187-192.
- Rudall P. 1994. Laticifers in Crotonoideae (Euphorbiaceae): homology and evolution. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81: 270-282.
- Sá-Haiad B, Serpa-Ribeiro ACC, Barbosa CN, Pizzini D, Leal DO, Senna-Valle L, Santiago-Fernandes LDR. 2009. Leaf structure of species from three closely related genera from tribe Crotonae Dumort. (Euphorbiaceae s.s., Malpighiales). *Plant Systematics and Evolution* 283:179-202.
- Salatino A, Salatino MLF, Negri G. 2007. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 18: 11-33.
- Soares DA. 2013. Morfoanatomia foliar de espécies de *Croton* sect. *Luntia* (Euphorbiaceae) como contribuição para a taxonomia do gênero. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais p. 1-44.
- Sodré RC, Alonso AA, Silva MJ. 2019. Molecular, morphological, and anatomical data support a new species of *Croton* sect. *Geiseleria* (Crotonoideae, Euphorbiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 305: 233-246.
- Sodré RC, Alonso AA, Silva MJ. 2022. Revised delimitation of *Croton campestris* (Euphorbiaceae), including description of two new species, molecular phylogenetic, anatomical and micromorphological data. *Acta Botanica Brasilica* 36:1-35.
- Solereder H. 1908. Systematic Anatomy of the Dicotyledons. Vol. II. Clarendon Press, Oxford.
- Souza KF. 2018. Contribuições da anatomia foliar para a taxonomia da tribo Crotonae Dumort. (Euphorbiaceae). Tese (doutorado), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais p. 1-62.
- Thomas V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the coléter. *Annals of Botany* 68: 287-305.
- Vasco A, Thadeo M, Conover M, Daly DC. 2014. Preparation of samples for leaf architecture studies, a method for mounting cleared leaves. *Applications in Plant Sciences* 9: 1- 4.
- van Ee BW, Riina R, Berry PE. 2011. A revised infrageneric classification and molecular phylogeny of new world *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 60: 1-33.

- Vitarelli NC. 2013. Anatomia foliar como subsídio para a sistemática de *Croton* L. (seções *Cleodora* e *Lamprocroton*) Euphorbiaceae. Tese de doutorado, 155f. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Vitarelli NC, Riina R, Caruzo MB, Cordeiro I, Aguilar JF, Meira RMSA. 2015. Foliar secretory structures in Crotonaeae (Euphorbiaceae): Diversity, anatomy, and evolutionary significance. *American Journal of Botany* 102: 1-15.
- Vitarelli NC, Riina R, Cassino MF, Meira RMSA. 2016. Trichome-like emergences in *Croton* of Brazilian highland rock outcrops: evidences for atmospheric water uptake. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 22: 23–35.
- Vitarelli NC, Somavilla N, Ferrari FB, Silva MR, Soares EM, Silva OLM, Riina R. 2021. The Amazonian *Croton mollis* (Euphorbiaceae): morphology and leaf anatomy help to understand its preference for the extreme igapó habitat. *Flora* 281:1-12.
- Webster GL. 1967. The genera of Euphorbiaceae in the Southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 48: 363-430.
- Webster GL. 1992. Realignment in American *Croton* (Euphorbiaceae). *Novon* 2: 269-273.
- Webster GL, Del-Arco-Aguilar MJ, Smith BA. 1996. Systematic distribution of foliar trichome types in *Croton* (Euphorbiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 41-57.
- Wiedenhoef AC, Riina R, Berry PE. 2009. “Ray-intrusive” Laticifers in species of *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Iawa Journal* 30: 135-148.

Figuras

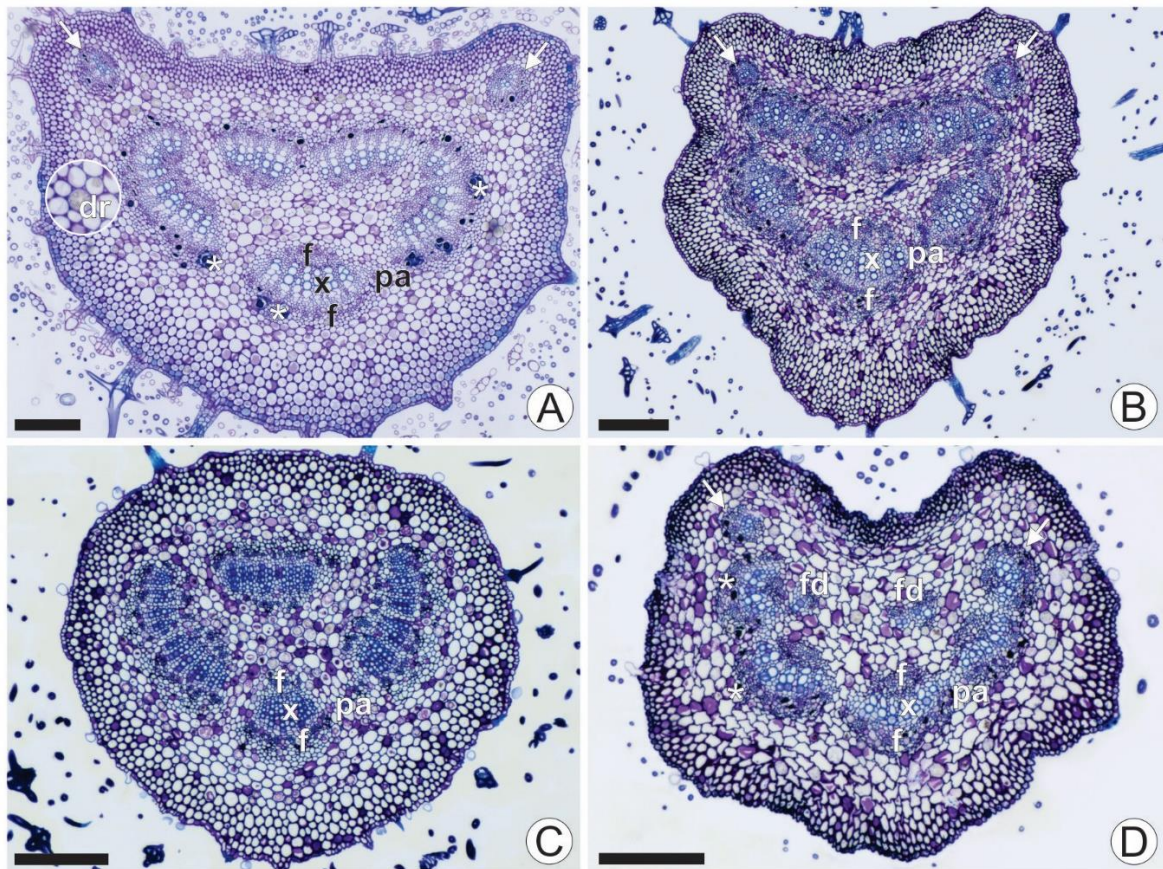


Figura 1. Descrição anatômica do pecíolo de *Croton* seção *Julocroton* em cortes transversais da região distal de *Croton argenteus* (A), *C. triqueter* (B), *C. maranonensis* (C) e *C. didrichsenii* (D). A, B. Sistema vascular em arco fechado com os feixes separados por parênquima, um par de feixes acessórios, e em destaque a presença de drusas. C. Sistema vascular em arco fechado com os feixes separados por parênquima. D. Sistema vascular em arco aberto com os feixes separados por parênquima, um par de feixes dorsais e um par de feixes acessórios. Asterisco indica laticíferos, seta indica feixes acessórios. Barras de escala: A-D = 200 μ m. Abreviações: dr = drusa, f = floema, fd = feixe dorsal, pa = parênquima, x = xilema.

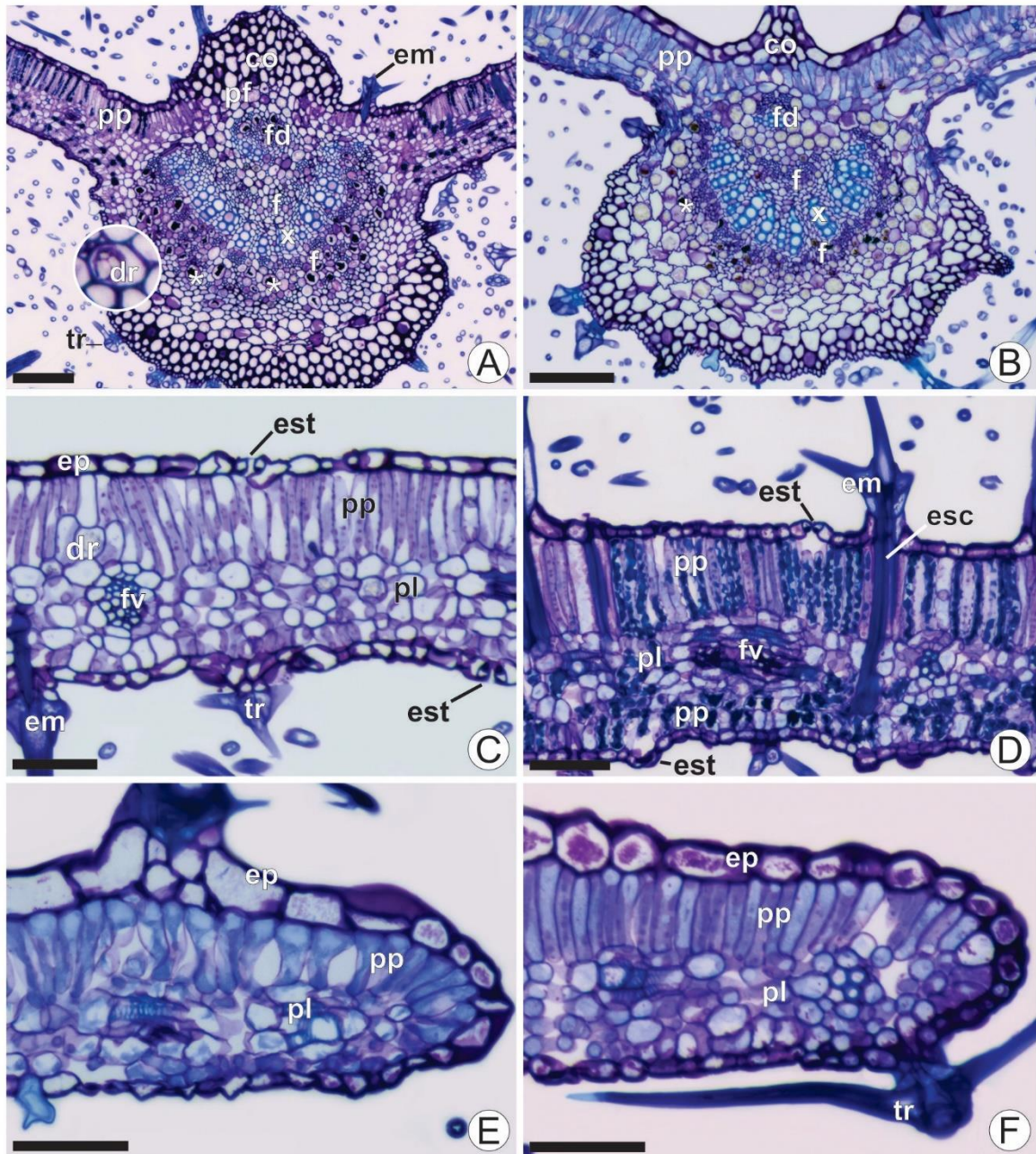


Figura 2. Caracterização anatômica da lâmina foliar de *Croton* seção *Julocroton* em cortes transversais da região mediana. *Croton subpannosus* (A, D), *C. aff. fuscescens* (B); *C. triqueter* (C), *C. allemii* (E) e *C. calonervosus* (F). A. Nervura central com o feixe em arco aberto e um feixe dorsal, o parênquima paliçádico é interrompido, em detalhe a célula com drusas. B. Nervura central com o feixe em arco aberto e um feixe dorsal, o parênquima paliçádico é contínuo. C. Mesofilo dorsiventral. D. Mesofilo isobilateral. E. Margem foliar com parênquima paliçádico contínuo. F. Margem foliar com parênquima paliçádico interrompido e células epidérmicas com mucilagem. Barras de escala: A, B = 100 μ m; C-F = 50 μ m. Abreviações: co = colênquima, dr = drusa, em = emergência, ep = epiderme, esc = escleréide, est = estômato, f = floema, fd = feixe dorsal, fv = feixe vascular, pf = parênquima paliçádico, pl = parênquima lacunoso, pp = parênquima paliçádico, tr = tricoma não secretor; x = xilema.

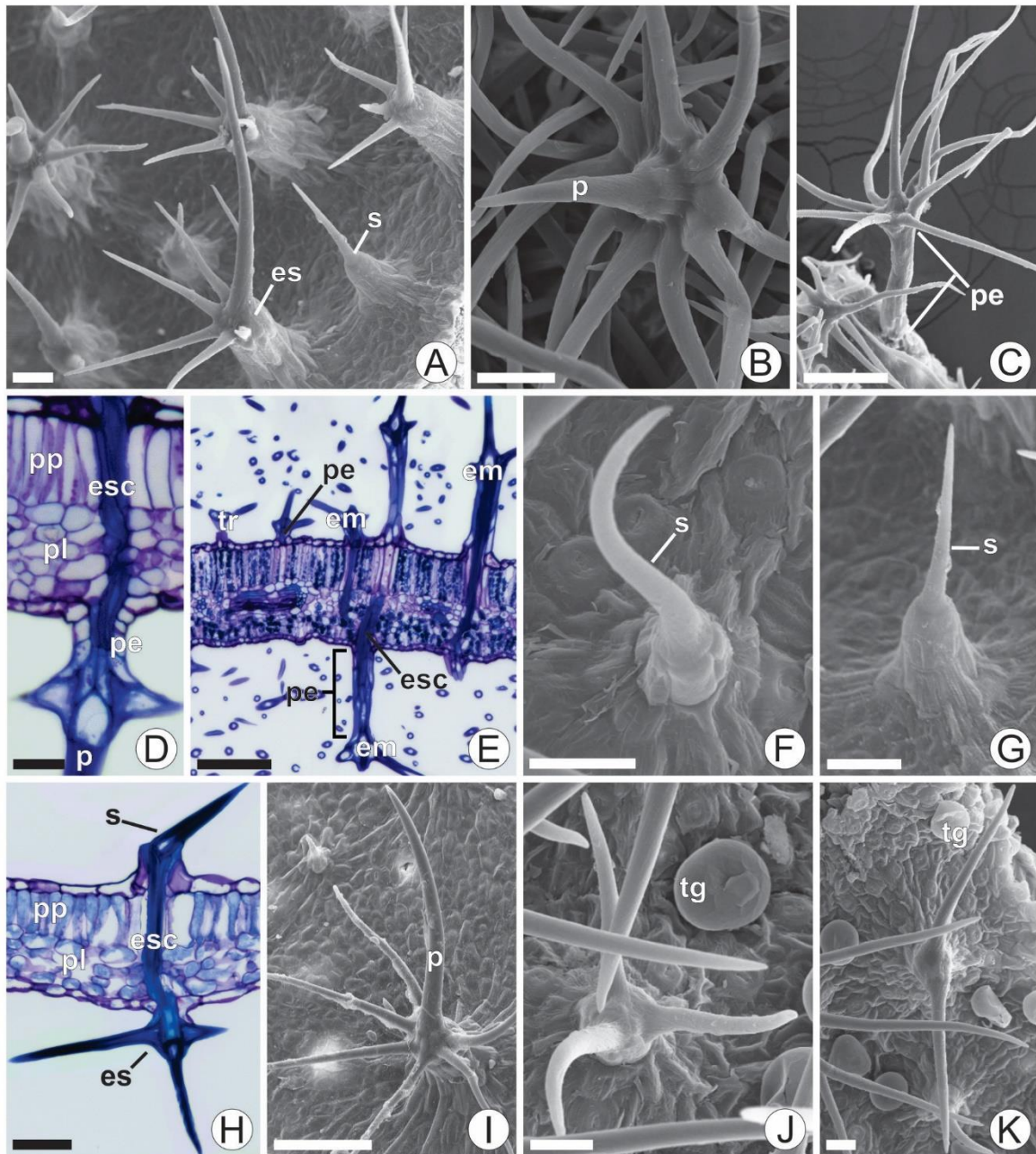


Figura 3. Descrição das emergências e dos tricomas não secretores da lâmina foliar de *Croton* seção *Julocroton*, observados em microscopia eletrônica de varredura das faces adaxial (**A, G, I**) e abaxial (**B, C, F, J, K**) e em cortes transversais em microscopia de luz (**D, E, H**). *Croton calonevrosus* (**A, C, E, G**), *C. abutilopsis* (**B**), *C. triqueter* (**D**), *C. maranonensis* (**F, J, K**) e *C. allemii* (**H, I**). **A.** Tricomas estrelados porrecto e simples. **B.** Tricoma estrelado evidenciando o raio porrecto. **C.** Tricoma estrelado porrecto com pedúnculo longo. **D.** Emergência estrelado porrecto com pedúnculo curto. **E.** Tricomas e emergências estrelado porrecto com pedúnculo curto e longo. **F.** Tricoma simples. **G.** Tricoma simples e elevado pelas células epidérmicas vizinhas. **H.** Esclereíde atravessando o mesofilo e conectando as emergências simples e estrelado porrecto. **I.** Tricoma estrelado porrecto com vários raios. **J.** Tricoma estrelado porrecto com poucos raios e tricoma glandular. **K.** Tricoma estrelado com dois raios e tricomas glandulares. Barras de escalas: **A, B, D, G** = 30 μm ; **C, E, I** = 100 μm ; **F, J, K** = 20 μm ; **H** = 50 μm . Abreviações: em = emergência, es = estrelado, esc = esclereíde, p = raio porrecto, pp = parênquima paliçádico, pe = pedúnculo, pl = parênquima lacunoso, s = simples, tg = tricoma glandular, tr = tricoma.

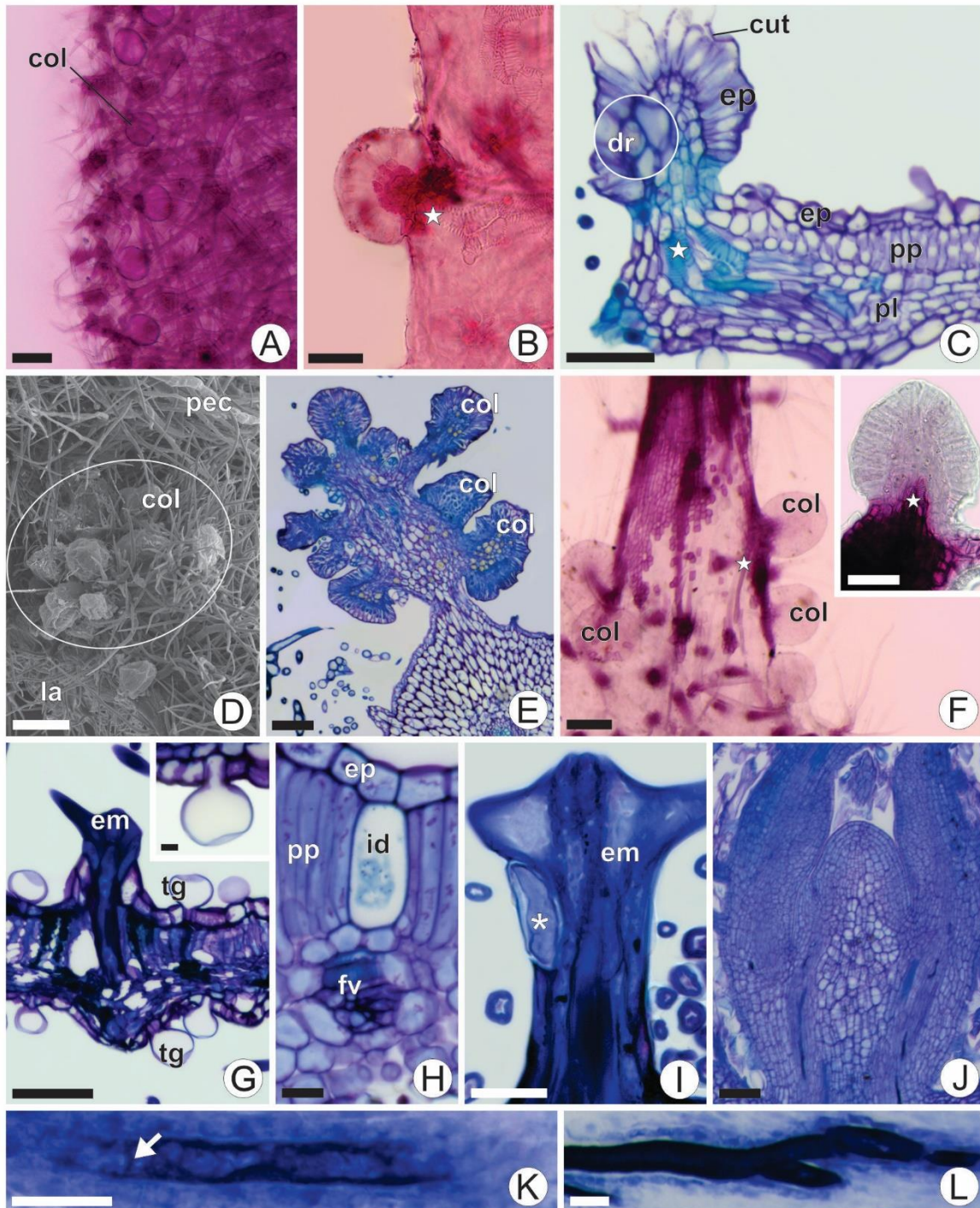


Figura 4. Estruturas secretoras em *Croton* seção *Julocroton* observadas em amostras diafanizadas da lâmina foliar (A, B) e da estípula (F), em cortes transversais da lâmina foliar (C, G-I) e da região basilaminar/acropeciolar (E), em imagens de microscopia eletrônica de varredura (D) e em cortes longitudinais do ápice caulinar (J-L). *Croton triqueter* (A, C), *C. allemii* (B), *C. abutilopsis* (D, K, L), *C. flavispicatus* (E), *C. subpannosus* (F, G), *C. fuscescens* (H), *C. ackermannianus* (I), *C. maranonensis* (J). A. Coléteres ao longo da margem. B. Detalhe de um coléter marginal. C. Coléter do tipo padrão voltado para a face adaxial da margem, detalhe da drusa no parênquima do eixo central. D. Aglomerado de coléteres na região basilaminar/acropeciolar em vista frontal. E. Aglomerado de coléteres na região basilaminar/acropeciolar. F. Base da estípula com coléteres marginais e detalhe do coléter no ápice da estípula. G. Tricoma glandular em ambas as faces da epiderme, note o formato em maçaneta (detalhe). H. Idioblasto secretor no parênquima paliádico. I. Idioblasto secretor na inserção do raio da emergência com o pedúnculo. J. Laticíferos presentes no procâmbio. K. Laticífero com parede transversal (seta). L. Laticífero em forma de “Y”. Barras de escala: A, E, F = 100 µm; B, C, detalhe de F, H, J = 50 µm; D = 200 µm; G, detalhe

de H = 10 μm ; **I, K, L** = 20 μm . Abreviações: col = coléter, cut = cutícula, ep = epiderme, fv = feixe vascular; pec = pecíolo, pl = parênquima lacunoso, pp = parênquima paliçádico, id = idioblasto, la = lâmina foliar, te = tricoma estrelado-porrecto, tg = tricoma glandular, estrela indica vascularização, asterisco indica secreção.

CAPÍTULO III

***Croton* seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* (Euphorbiaceae): morfoanatomia foliar e diversidade das estruturas secretoras como contribuições para a sistemática**

(A ser submetido no periódico *Plant Systematics and Evolution*)

Resumo

As espécies de *Croton* seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* são grupos monofiléticos e filogeneticamente relacionados. Entretanto, a amostragem taxonômica nos trabalhos de filogenia molecular é pouco representativa. Por outro lado, a relação entre as três seções não está bem esclarecida pela pouca resolução das regiões genéticas utilizadas. Em Crotonoideae os caracteres anatômicos, especialmente as estruturas secretoras, têm sido utilizados como subsídio para a sistemática, auxiliando na delimitação de espécies e seções. Diante disso, este estudo objetivou analisar as características morfoanatômicas e micromorfológicas de espécies das seções *Heptallon* e *Lasiogyne* para o reconhecimento de caracteres diagnósticos e circunscrição das seções. Além disso, os resultados morfoanatômicos obtidos nos estudos prévios de espécies da seção *Julocroton* foram incluídos na análise de similaridades. Ademais, as estruturas secretoras presentes nas espécies de *Heptallon* e *Lasiogyne* foram descritas. Para isso, 24 espécies foram analisadas, sendo 4 espécies da seção *Heptallon*, 14 espécies de *Lasiogyne* e 14 espécies de *Julocroton*. As demais espécies amostradas formaram o grupo externo, com representantes das seções *Adenophylli*, *Geiseleria*, *Luetzelburgiorum*, *Pedicellati*, *Croton pulegioidorus* Baill. e *C. tetradenius* Baill. Foram utilizadas metodologia usuais em morfoanatomia e micromorfologia vegetal e realizada análise de similaridade com uma matriz binária com base em 41 caracteres. Os caracteres foram importantes para o diagnóstico e agrupamento das espécies dentro de cada uma das seções. Dentre esses caracteres estão, a presença e número de feixes acessórios do pecíolo, as características anatômicas da nervura central, a presença de extensão de bainha parenquimática nos feixes, o tipo de mesofilo, a caracterização da margem foliar, o tipo e a posição dos tricomas não secretores e a ocorrência de esclereíde no mesofilo. Os tipos de estruturas secretoras também foram importantes para o diagnóstico e agrupamento das espécies.

Palavras-chave: Anatomia. Crotonoideae. Micromorfologia. Taxonomia. Tricomas

Introdução

Croton possui cerca de 1300 espécies, com alta diversidades nas Américas, desde a Argentina até o sul dos Estados Unidos (Govaerts et al. 2000). No Velho Mundo, Madagascar é o centro de diversidade do gênero, com cerca de 114 espécies nativas, das quais 113 são endêmicas da ilha (Berry et al. 2017). No Brasil ocorrem aproximadamente 300 espécies, sendo 230 endêmicas, estão distribuídas em todas as regiões e domínios fitogeográficos (Caruzo et al. 2023). As espécies de *Croton* são herbáceas, arbustivas ou lenhosas de pequeno a médio porte. As espécies do gênero são caracterizadas por possuírem flores estaminadas com filetes flexionados, quando em botão e flores pistiladas com pétalas geralmente reduzidas. Muitas espécies de *Croton* apresentam tirso terminais constituídos de flores pistiladas, e cúpula de flores estaminadas (Webster 1993).

Van Ee et al. (2011) avaliaram 712 espécies de *Croton* do Novo Mundo, as quais foram organizadas em 31 seções. Neste estudo, ficou evidente que a relação entre *Croton* seção *Heptallon*, *C.* seção *Julocroton* e *C.* seção *Lasiogyne* não está bem esclarecida, reforçando achados anteriores (van Ee e Berry 2010). Em todas as análises realizadas essas seções estão proximamente relacionadas, mas apenas a região genética nuclear ITS mostra que as três seções foram recuperadas como monofiléticas (van Ee et al. 2011). Por outro lado, a amostragem taxonômica das espécies das seções *Julocroton* e *Lasiogyne* é pouco representativa considerando a diversidade existente, especialmente as espécies da seção *Julocroton*. Van Ee et al. (2011) incluíram nos estudos de filogenia molecular todas as nove espécies reconhecidas hoje para *Heptallon*, 20 espécies das 45 reconhecidas para *Lasiogyne* e 5 espécies das 41 reconhecidas para *Julocroton*.

Quanto à distribuição biogeográfica *C.* seção *Heptallon* é exclusivamente Norte Americana (van Ee e Berry 2010), *C.* seção *Julocroton* é Neotropical maior concentração de espécies na América do Sul (Cordeiro 1990) e *C.* seção *Lasiogyne* tem distribuição mais ampla compreendendo desde o Trópico até os Subtrópicos do Novo Mundo (van Ee et al. 2011).

Croton seção *Heptallon* possui flores estaminadas petalíferas e indumento formado por tricomas estrelados (van Ee e Berry 2010), ocorre em áreas perturbadas, desertos e dunas de areia (van Ee et al. 2011) e compreende espécies morfológicamente semelhantes, difíceis de serem distinguidas (van Ee e Berry 2010). *Croton* seção *Julocroton* já foi tratado como um gênero de *Croton* (Cordeiro 1990) e passou a compor a seção *Julocroton*, contabilizando 42 espécies (van Ee et al. 2011; Martín-Muñoz et al., em revisão, capítulo I), de ambientes abertos

e secos (Cordeiro 1990). Apesar de *Julocroton* estar bem estabelecido como seção (Webster 1967; 1993; Berry et al. 2005; Wurdack et al. 2005; van Ee et al. 2011), faltam estudos que auxiliem na distinção das espécies. *Croton* seção *Lasiogyne* possui flores pistiladas com sépalas reduplicado-valvadas, característica homoplástica compartilhada com algumas espécies das seções *Barhamia*, *Cleodora*, *Cyclostigma*, *Luntia* e *Prisci* (van Ee et al. 2011). Esta seção tem cerca de 45 espécies que habitam ambientes predominantemente secos (van Ee et al. 2011), das quais 11 espécies ocorrem no Brasil (seis endêmicas) e a maioria na Caatinga (Rossine et al. 2023).

As espécies de *Croton* possuem uma variedade de estruturas anatômicas. Dentre elas, incluem a presença de estruturas secretoras, diferentes formas de tricomas não glandulares, epiderme geralmente com células mucilaginosas, folhas anfiestomáticas ou hipoestomáticas com estômatos paracíticos, mesofilo com células em paliçada e parênquima lacunoso e grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio (Metcalf e Chalk 1957). Em *Croton* spp., os caracteres anatômicos foliares, especialmente a presença, o tipo e a posição das estruturas secretoras, têm sido utilizados como subsídio para a sistemática, auxiliando na delimitação de espécies e seções (Sá-Haiad et al. 2009; Feio et al. 2018; Sodr e et al. 2022; Miranda et al., em preparação).

As espécies de *Croton* das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* permanecem proximamente relacionadas filogeneticamente, porém com hipóteses não esclarecidas (Van Ee et al. 2011). Além disso, compartilham o mesmo hábito e ocorrem, predominantemente, em ambientes abertos e secos (Van Ee et al. 2011). Ademais, as espécies dentro de cada uma dessas seções são difíceis de distinguir, tanto no aspecto vegetativo quanto reprodutivo. Diante do exposto este estudo objetivou analisar as características morfoanatômicas e micromorfológicas de espécies das seções *Heptallon* e *Lasiogyne* e integrou os resultados obtidos nos estudos das espécies da seção *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II) na análise de similaridade. Assim, será possível o reconhecimento de caracteres diagnósticos e circunscrição das seções. Além disso, este estudo objetivou identificar e analisar as estruturas secretoras presentes nas espécies estudadas das seções *Heptallon* e *Lasiogyne*.

Material e métodos

Material vegetal

Foram analisadas folhas de 24 espécies de *Croton*. Destas, quatro espécies pertencem a seção *Heptallon* (4/9) e 14 espécies pertencem a seção *Lasiogyne* (14/45). As demais espécies foram selecionadas como grupo externo e inclui uma espécie da seção *Adenophylli*, uma espécie da seção *Geiseleria*, a espécie monoespecífica da seção *Luetzelburgiorum* e uma espécie da seção *Pedicellati*. Também foram selecionadas como grupo externo *C. pulegiodorus* e *C. tetradenius*, espécies proximamente relacionadas (Riina et al. 2021), denominada de “Grupo 1” no presente trabalho. Adicionalmente, foram utilizados os dados morfoanatômicos de 14 espécies da seção *Julocroton* descritas por Silva (2023, capítulo II) na análise de similaridades. As espécies do grupo externo foram selecionadas por estarem proximamente relacionadas às seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* na hipótese filogenética publicada por van Ee et al. (2011). Os indivíduos analisados estão listados na tabela 1, bem como o local de ocorrência e o voucher. Em *C. tricolor* (seção *Lasiogyne*), houve uma divergência nos dois indivíduos analisados, eles foram denominados de morfotipo 1 (mft. 1) e morfotipo 2 (mft. 2) (tabela1). A ocorrência das plantas foi obtida em consultas às plataformas Lista Flora e Funga do Brasil 2020 e o *Global Biodiversity Information Facility (GBIF)*. Os acrônimos dos herbários estão acordo com *Index herbariorum* (Thiers 2023, continuamente atualizado).

Estudos morfológicos e anatômicos

As amostras de folhas foram obtidas através de exsicatas de herbários. Em todas as análises, ao menos três indivíduos por espécie foram utilizados, quando possível (Tabela 1).

As folhas herborizadas foram revertidas (Smith e Smith 1942), desidratadas em série etanólica e estocadas em etanol 70%. Para avaliar a presença de estruturas secretoras externas foi utilizado microscópio estereoscópico (Carl Zeiss Stemi 2000-C). As regiões de secção da lâmina foliar e pecíolo para análise anatômica, seguiram a mesma metodologia adotada em Silva (2023, capítulo II).

As amostras obtidas seguiram a metodologia de diafanização (Johansen 1940) e inclusão em historresina (Leica, Historesin) conforme as indicações do fabricante. As amostras incluídas foram seccionadas em micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2265, Deerfield, IL, USA) em 5µm de espessura em cortes transversais e longitudinais (pecíolo). Os cortes resultantes foram corados com azul de Toluidina em pH 4.4 (O’Brien e McCully 1981), e as lâminas e lamínulas foram vedadas com resina sintética *Permout* (Fisher ®).

Tabela 1 – Lista de números de espécies de *Croton* seções *Heptallon*, *Lasiogyne*, *Adenophylli*, *Geiseleria* e *Luetzelburgiorum*, ocorrência e voucher das espécies analisadas

Seção	Número de espécies	Ocorrência	Voucher
<i>Heptallon</i>	<i>Croton capitatus</i> Michx.	Estados Unidos da América	S.W. Leonard et al. 5000 (HUFSP)
	<i>Croton lindheimeri</i> (Engelm. & A. Gray) Alph. Wood	Estados Unidos da América	Miller 9085 (MO); Thomas 24850 (MICH); Rhodes 17738 (MICH)
	<i>Croton monanthogynus</i> Michx.	Estados Unidos da América	R. Dale Thomas & S. Hooks 97606 (HUFSP)
<i>Lasiogyne</i>	<i>Croton pottsii</i> (Klotzsch) Müll. Arg.	Estados Unidos da América; México	V.W. Steinmann 935 (HUFSP)
	<i>Croton alamosanus</i> Rose	México	Sanders 13445 (MICH)
	<i>Croton anomalus</i> Pittier	Venezuela	R. Riina 1843 (MA)
	<i>Croton argyrophyllus</i> Kunth	Bolívia, Brasil (AL, AM, BA, CE, MA, MG, MT, PB, PE, PI, RN, RO, RR, SE, SP); Colômbia; Guiana; Guiana Francesa; Paraguai; Venezuela	A.S. Soares 392 (UB); A.S. Soares 421 (UB)
	<i>Croton blanchetianus</i> Bailbl.	Brasil (AL, BA, CE, ES, MG, MS, PA, PE, PI, RN, PR, SE)	C.A. Conceição 1640 (UB); M.L. Silva et al. 35 (UB); T.S.M.G. Randi 835 (BHCB); Melo et al. 3818 (BHCB)
	<i>Croton compressus</i> Lam.	Brasil (CE, MG, PB, PE, PI, PR, RJ, SP)	R. Riina s.n. (MA)

<i>Croton curranii</i> S.F. Blake	Venezuela	<i>R. Riina</i> 1849 (MA)
<i>Croton floribundus</i> Spreng.	Brasil (AL, AM, BA, CE, DF, ES, MA, MG, MT, MS, PB, PE, PI, PR, RJ, RN, RO, RS, SP, TO); Paraguai	<i>T.M. Moraes</i> 1401 (UB); <i>E. Tameirão Neto</i> 3629 (BHCB); <i>M.F. Santos</i> 211 (BHCB); <i>O.S. Hatschbach s.n.</i> (BHCB)
<i>Croton jacobinensis</i> Baill.	Brasil (AL, BA, CE, MA, MG, PE, PI, PR, RJ, RN, SE)	<i>Araújo</i> 999 (UB); <i>Moraes</i> 1401 (UB); <i>Morais</i> 1410 (UB)
<i>Croton limae</i> A.P.S. Gomes, M.F. Sales & P.E. Berry	Brasil (BA, CE, PE, PI, PR, SE)	<i>Harley et al.</i> 54836 (UB); <i>R.M. Harley et al.</i> 55788 (HUFSP)
<i>Croton micans</i> Müll. Arg.	Brasil (AL, BA, CE, MS, MT, PB, PE, PI, RJ, SE); Bolívia; Equador; Guyana; Peru; Venezuela	<i>E. Gusman & A. Jara</i> 009 (MA); <i>E. Gusman & A. Jara</i> 011 (MA)
<i>Croton sacaquinha</i> Croizat.	Brasil (AM, MS, MT, PA, RO)	<i>M.B.R. Caruzo & R. Riina</i> 97 (SP); <i>E. Rodrigues s.n.</i> (HUFSP)
<i>Croton scaber</i> Willd.	Brasil (AM, CE, DF); Peru; Venezuela	<i>R. Riina</i> 1284 (MYF)
<i>Croton sucrensis</i> Steyerm.	Venezuela	<i>R. Riina</i> 1297 (MYF); <i>R. Riina</i> 1298 (MA)
<i>Croton tricolor</i> Klotzsch ex Baill. Morfotipo 1	Bolívia; Brasil (AL, BA, CE, PB, MA, MG, PE, PI, PR, RN, SE, SP); Guiana Francesa; Colômbia; Venezuela	<i>E. Melo et al.</i> 5612 (HUFSP)

	<i>Croton tricolor</i> Morfotipo 2	Bolívia; Brasil (AL, BA, CE, PB, MA, MG, PE, PI, PR, RN, SE, SP); Guiana Francesa; Colômbia; Venezuela	<i>M.B.R. Caruzo & L.R. Mendonça</i> 87 (HUFSP)
<i>Adenophylli</i>	<i>Croton laceratoglandulosus</i> Caruzo & Cordeiro	Bolívia; Brasil (BA, CE, MG, PE, PI)	<i>A. Salino</i> 4045 (MICH); <i>L.V. Costa</i> 26320 (MICH)
Grupo 1	<i>Croton pulegioidorus</i> Baill.	Brasil (BA, CE, GO, MG, PB, PE, PI)	<i>A.C. Melo</i> 10 (UEC); <i>L.P. Queiroz et al.</i> 5926 (ALCB); <i>L.P. Queiroz</i> 5776 (CEPEC); <i>J.F.B. Pastore</i> 2600 (HUEFS)
	<i>Croton tetradenius</i> Baill.	Brasil (AL, BA, CE, GO, MG, PB, PE, RN, SE)	<i>F. França</i> 1352 (HUEFS); <i>A.C. Pereira et al.</i> 63 (HUEFS); <i>R.P. Oliveira</i> 1451 (HUEFS); <i>E.R. Silveira</i> 24460 (HUEFS)
<i>Geiseleria</i>	<i>Croton lundianus</i> (Didr.) Müll. Arg.	Argentina; Paraguai, Brasil (AM, ES, MG, MT PA, PR, RJ, RO, SC, SP)	<i>A.P.N. Pereira et al.</i> 99 (HUFSP)
<i>Luetzelburgiorum</i>	<i>Croton luetzelburgii</i> Pax & K. Hoffm.	Brasil (BA, MG)	<i>A.P.N. Pereira</i> 61 (HUFSP)
<i>Pediccellati</i>	<i>Croton pedicellatus</i> Kunth	México; Colômbia; Peru; Bolívia; Brasil	<i>J.L. Paixão</i> 1538 (UESC)

O registro dos resultados foi realizado em microscópio de luz (AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan), com uma câmera fotográfica digital acoplada (AxioCam HRc, Göttinger, Germany).

Para estudos micromorfológicos da lâmina foliar, utilizou-se a mesma metodologia empregada em Silva (2023, capítulo II). No microscópio eletrônico de varredura, foram analisadas as estruturas secretoras externas e os apêndices não secretores.

Para a nomenclatura dos apêndices foliares não secretores foi utilizado a literatura de Vitarelli et al. (2016) e (2021), onde esses apêndices foram denominados de “emergências” quando ocorre associação com as esclereídes no mesofilo e “tricomas” quando não ocorre associação com as esclereídes. Para a classificação dos tricomas não secretores e emergências foi utilizada a literatura de Pinto-Silva et al. (2023). Para a classificação anatômica dos coléteres utilizou-se a literatura de Lersten (1974) e Thomas (1991), e para a caracterização do pecíolo e nervura central foi utilizado a literatura de Metcalfe e Chalk (1979).

Análise de similaridades

Foi construída uma matriz binária de 41 caracteres (Apêndice 1 e 2), baseada em dados morfoanatômicos e micromorfológicos da lâmina foliar e pecíolo. Os dados das estípulas não foram incluídos nessa análise, pois não foi possível observá-las em todas as espécies. A análise de agrupamento foi realizada no programa MVSP versão 3.22 (*Multi Variate Statistical Package, software*). Um dendograma foi construído baseado no *Sorensen's Coefficient* utilizando-se o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic*) (Fig. 5).

Além das espécies de estudo deste trabalho, os resultados das análises morfoanatômicas das espécies da seção *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II) foram incluídas nas análises de similaridades.

Resultados

Morfoanatomia foliar

O sistema vascular do pecíolo está organizado em arco fechado ou arco aberto (Fig. 1A-D). O sistema em arco fechado pode ser constituído por feixes separados por parênquima fundamental, tendo sido observado em *C. capitatus* (seção *Heptallon*); nas espécies das seções *Lasiogyne*, *Adenophylli*, *Geiseleria* e em *C. pulegioidurus* e *C. tetradenius* (Fig. 1A). O sistema

em um único arco fechado, não segmentado em feixes, ocorre apenas em *C. pottsii* da seção *Heptallon* (Fig. 1B). O sistema vascular organizado em arco aberto ocorre em *C. lindheimeri* e *C. monanthogynus* (seção *Heptallon*) e em *C. luetzelburgii* (Fig. 1C).

Feixes bicolaterais, ocorrem na maioria das espécies analisadas (Fig. 1A-C). Enquanto feixes colaterais estão presentes apenas nas espécies *C. laceratoglandulosus* (seção *Adenophylli*), *C. pulegiodorus* e *C. tetradenius* (Grupo 1) (Fig. 1D). Um par de feixes acessórios é recorrente nas espécies estudadas (Fig. 1A, D) e ausente em *C. monanthogynus*, *C. pottsii* (seção *Heptallon*); e *C. limae* (seção *Lasiogyne*) (Fig. 1B, C). Não foram observados feixes dorsais nas espécies estudadas.

Idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de drusas, ocorrem no pecíolo de todas as espécies. Se distribuem ao longo do córtex, medula e próximo as células do floema (Fig. 1A em detalhe).

A nervura central da lâmina foliar varia quanto ao formato (Fig. 2A-D), ela é biconvexa na maioria das espécies analisadas (Fig. 2A, C, D) e plano-convexa em *C. monanthogynus*, *C. pottsii* (seção *Heptallon*); *C. limae* e *C. sacaquinha* (seção *Lasiogyne*) (Fig. 2B). A maior parte das espécies possui o sistema vascular organizado em arco aberto (Fig. 2B, D). Exceções ocorrem em *C. anomalus*, *C. compressus* e *C. curranii* (seção *Lasiogyne*) com o sistema vascular formado por um arco fechado com parênquima entre os feixes (Fig. 2A), e arco fechado com ausência de tecido parenquimático entre os feixes ocorre em *C. micans* e *C. scaber* (seção *Lasiogyne*) (Fig. 2C).

Na nervura central, o tipo de feixe vascular segue o mesmo padrão do pecíolo. Feixes bicolaterais ocorrem na maioria das espécies (Fig. A-C), enquanto feixes colaterais estão presentes nas espécies da seção *Adenophylli* e do Grupo 1 (Fig. 2D). A presença de um feixe dorsal ocorre em ao menos uma espécie de todas as seções (Fig. 2D), a ausência dessa característica foi observada em *C. monanthogynus* e *C. pottsii* da seção *Heptallon*; e *C. anomalus*, *C. compressus*, *C. currani*, *C. micans*, *C. sacaquinha*, *C. scaber* da seção *Lasiogyne* (Fig. 2A-C). Na nervura central o parênquima paliçádico é interrompido por células do parênquima fundamental na maioria das espécies (Fig. 2A, C). Mas é contínuo em *C. monanthogynus*, *C. pottsii* da seção *Heptallon*; em *C. lundianus* da seção *Geiseleria*; *C. pulegiodorus* e *C. tetradenius* do Grupo 1; e *C. luetzelburgii* da seção monoespecífica *Luetzelburgiorum* (Fig. 2B, D).

O tipo de mesofilo varia nas espécies analisadas (Fig. 2E-I). O tipo predominante é o dorsiventral (Fig. 2E, G, I), mesofilo isobilateral foi observado em *C. capitatus*, *C. lindheimeri*, *C. pottsii* (seção *Heptallon*); *C. alamosanus*, *C. currani*, *C. floribundus*, *C. limae*, *C. tricolor* (seção *Lasiogyne*); e *C. luetzelburgii* (Fig. 2F, H). Foi verificado a ocorrência de extensão de bainha parenquimática nos feixes vasculares apenas em *C. alamosanus*, *C. floribundus*, *C. limae*, *C. micans* e *C. sucrensis* da seção *Lasiogyne* (Fig. 2H).

Nas folhas completamente expandidas, a maioria das espécies possui margem inteira. Margem foliar denteada foi observada em *C. compressus* (seção *Lasiogyne*); *C. lundianus* (seção *Geiseleria*); *C. pulegioidorus* e *C. tetradenius* (Grupo 1); e em *C. luetzelburgii*. O parênquima paliçádico é contínuo na margem foliar de todas as espécies de *C.* seção *Heptallon* e nas espécies do grupo externo (Fig. 2F), exceto em *C. lundianus*. O parênquima paliçádico é descontínuo em *C.* seção *Lasiogyne*, (Fig. 2I). Cristais de oxalato de cálcio do tipo drusas ocorre nas células da nervura central e do mesofilo de todas as espécies estudadas (Fig. 2A, E).

A epiderme é uniestratificada e, em corte transversal, possui formato tabular (Fig. 2E-H), exceto na face adaxial de *C. anomalus*, onde o formato é colunar (Fig. 2I). As células epidérmicas possuem conteúdo mucilaginoso na maioria das espécies, corados em tons de rosa e roxo quando submetidos ao teste com azul de toluidina (Fig. 2F, H, I). Células com compostos fenólicos, corados de azul esverdeado com o mesmo reagente, foram observadas em *C. monanthogynus* (seção *Heptallon*) e *C. lundianus* (seção *Geiseleria*) (Fig. 2G). Os estômatos são do tipo paracítico e a lâmina foliar varia em anfiestomática e hipoestomática (maioria das espécies). Folhas anfiestomáticas ocorrem em todas as espécies analisadas da seção *Heptallon* (Fig. 2F); em *C. alamosanus*, *C. compressus*, *C. jacobinensis* e *C. sacaquinha* (seção *Lasiogyne*); *C. lundianus* (seção *Geiseleria*); e *C. pulegioidorus* e *C. tetradenius* (Grupo 1). Nas demais espécies, a lâmina foliar é hipoestomática (Fig. 2H, I).

Para a observação dos tricomas não secretores e emergências foram analisadas folhas completamente expandidas e essas estruturas são persistentes na lâmina foliar. Foram observados cinco tipos de tricomas e emergências (Fig. 3A-I): emergências e tricomas estrelados (Fig. 3A), emergências *pin-cushion* (Fig. 3B-E); emergências do tipo dendrítico (Fig. 3F); emergências e tricomas simples (Fig. 3G, H) e emergências e tricomas do tipo lepidoto (sublepidoto) (Fig. 3I).

As emergências e os tricomas estrelados possuem pedúnculo multisseriado (Fig. 3J, K), que podem ser curto-pedunculado, quando o comprimento do pedúnculo é menor que a largura

do mesofilo (Fig. 3J), ou longo-pedunculado quando o comprimento do pedúnculo é igual ou maior que a largura do mesofilo (Fig. 3K). As células do raio das emergências e dos tricomas estrelados são livres entre si, além de possuir o raio porrecto (Fig. 3A, B, J, K). As emergências do tipo *pin-cushion* possuem células secretoras na base do raio (Fig. 3B-E) e foram observados contendo várias células do raio (Fig. 3B-D) ou com apenas uma célula do raio (Fig. 3C, E).

As emergências do tipo dendrítico são longo-pedunculados, mas diferentemente dos estrelados, as células do raio são inseridas em diferentes níveis de um único eixo (Fig. 3F). As emergências e os tricomas simples podem estar inseridos na mesma altura das demais células epidérmicas (Fig. 3G) ou elevado devido a projeção das células epidérmicas circunvizinhas (Fig. 2E; 3H). As emergências e os tricomas do tipo sublepidoto, diferentemente dos das emergências e dos tricomas estrelados, possuem as células do raio parcialmente unidas entre si, formando um único plano (Fig. 3I), possuem pedúnculo curto e uma célula central espessada (Fig. 3L). Nas espécies das seções *Heptallon* e *Lasiogyne* (exceto *C. sacaquinha*, que não possui emergências), as esclereídes na base das emergências, se estendem e atravessam o mesofilo e, algumas vezes, são observadas conectando as emergências de uma face a outra face da epiderme (Fig. 2E).

Houve diferença na distribuição das emergências e dos tricomas na face adaxial da lâmina foliar em três espécies da seção *Lasiogyne*. Em *C. anomalus* e *C. scaber*, as emergências e os tricomas estrelados estão restritos ao longo das nervuras, enquanto as emergências e os tricomas simples só ocorrem na região intercostal (Fig. 3M). Na face adaxial de *C. sacaquinha*, poucos tricomas estrelados foram observados ao longo das nervuras, e na região intercostal nenhum tipo de tricoma foi encontrado.

Emergências e tricomas estrelados com raio porrecto nas faces abaxial e adaxial da lâmina foliar, ocorrem em todas as espécies estudadas (Fig. 3A). As emergências do tipo *pin-cushion* ocorrem em ambas as faces da lâmina foliar apenas em *C. pulegiodorus* e *C. tetradenius* (nova seção) (Fig. 3B-E). As emergências e os tricomas do tipo simples, ocorrem na face adaxial de grande parte das espécies (Fig. 3G), exceto em *C. capitatus*, *C. lindheimeri* e *C. pottsii* (seção *Heptallon*); *C. curranii* e *C. sacaquinha* (seção *Lasiogyne*); e *C. luetzelburgii*. Enquanto na face abaxial, as emergências e os tricomas simples estão presentes em três espécies da seção *Lasiogyne* (*C. alamosanus*, *C. compressus* e *C. jacobinensis*) e na espécie da seção *Geiseleria* (*C. lundianus*).

Emergências do tipo dendríticos ocorrem na face abaxial de *C. anomalus* e *C. floribundus* (seção *Lasiogyne*) (Fig. 3F). Já as emergências e os tricomas do tipo lepidotos estão presentes na face abaxial de sete espécies da seção *Lasiogyne* (*C. argyrophyllus*, *C. blanchetianus*, *C. floribundus*, *C. limae*, *C. sacaquinha*, e *C. tricolor*) (Fig. 3I).

Diversidade das estruturas secretoras

Cinco tipos de estruturas secretoras ocorrem nas espécies estudadas: coléteres, idioblastos secretores, laticíferos, nectários extraflorais (NEFs) e tricomas glandulares (Fig. 4).

Os coléteres podem ocorrer ao longo da margem foliar (coléteres marginais), nas estípulas ou na região basilaminar/acropeciolar. Coléteres marginais ocorrem em todas as espécies das seções *Heptallon*, *Lasiogyne*, *Geiseleria* e nas espécies de *C. pulegioidorus* e *C. tetradenius* (Fig. 4A-D), e estão ausentes em *C. luetzelburgii*.

Os coléteres são do tipo padrão, formados por um eixo central parenquimático multicelular e multisseriado que é revestido por uma epiderme com células secretoras em paliçada, recobertas por uma cutícula fina (Fig. 4B). Por entre as células do eixo central ocorrem idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (Fig. 4B). O eixo parenquimático pode ser vascularizado por xilema e floema, como ocorre na maioria das espécies da seção *Lasiogyne* (Fig. 4A, B) e nos representantes do grupo externo. Coléteres não vascularizados estão presentes em *C. argyrophyllus*, *C. limae*, *C. sacaquinha* e *C. tricolor* (Fig. 4C) (seção *Lasiogyne*) e nas espécies de *C. seção Heptallon* (Fig. 4D).

Os coléteres possuem pedúnculo curto na maioria das espécies (Fig. 4A-C), mas em *C. lindheimeri* (seção *Heptallon*) o pedúnculo é longo (Fig. 4D). Porém, nas outras espécies da seção *Heptallon*, foram observados apenas cicatrizes de coléteres na margem foliar, o que é comum ocorrer nas folhas completamente expandidas (Fig. 4E). Aglomerado de coléteres foi observado na região basilaminar/acropeciolar em poucas espécies de *C. seção Lasiogyne* (*C. blanchetianus*, *C. curranii* e *C. sucrensis*) (Fig. 4F) e em *C. pedicellatus* (seção *Pedicellati*). Nas espécies das seções *Adenophylli*, *Geiseleria*, *Heptallon*, *Luetzelburgiorum* e do Grupo 1, essa característica não foi observada.

Foram analisadas estípulas de *C. alamosanus*, *C. anomalus*, *C. blanchetianus*, *C. compressus*, *C. curranii*, *C. micans*, *C. scaber*, *C. sucrensis* (seção *Lasiogyne*); *C. laceratoglandulosus* (seção *Adenophylli*) e *C. lundianus* (seção *Geiseleria*). Na maioria dessas espécies, os coléteres estão distribuídos, na base das estípulas (como um aglomerado) (Fig. 4G),

ao longo dela (Fig. 4H) e no ápice com apenas um coléter (Fig. 4I). A distribuição dos coléteres é diferente em *C. anomalus* (seção *Lasiogyne*) e *C. lundianus* (seção *Geiseleria*), onde não foi observado coléteres ao longo de toda a estípula, mas apenas concentrados base e um único coléter no ápice.

Os idioblastos secretores foram observados em várias espécies e eles variam quanto a distribuição na lâmina foliar (Fig. 4J-R). Os idioblastos secretores estão presentes em *C. alamosanus*, *C. compressus*, *C. curranii*, *C. sacaquinha*, *C. sucrensis*, *C. tricolor* (mft 1) (seção *Lasiogyne*); *C. laceratoglandulosus* (seção *Adenophylli*) e *C. tetradenius* (Grupo 1); *C. lundianus* (seção *Geiseleria*); *C. luetzelburgii*; e *C. pedicellatus* (seção *Pedicellati*). Ao analisar as folhas completamente expandidas de *C. alamosanus*, *C. curranii* e *C. lundianus* foram observados idioblastos em toda a extensão do mesofilo interrompendo a epiderme abaxial (Fig. 4J). Em *C. luetzelburgii*, além dos idioblastos ocorrerem em toda a extensão do mesofilo, eles interrompem a epiderme tanto da face abaxial quanto da adaxial (Fig. 4K). Já nas folhas jovens de *C. curranii*, os idioblastos secretores são observados se projetando para a superfície externa da epiderme (Fig. 4L), o que não foi possível verificar nas demais espécies pela ausência de amostras de folhas jovens. Em *C. compressus* os idioblastos estão imersos entre o parênquima paliçádico e lacunoso (Fig. 4M). Em *C. sacaquinha* foram observados idioblastos secretores apenas na região do parênquima paliçádico (Fig. 4N). Nas espécies da seção *Heptallon*, não foram observadas a presença de idioblastos secretores.

Idioblastos secretores epidérmicos estão restritos à face abaxial em *C. sacaquinha*, *C. laceratoglandulosus* e *C. tetradenius* (Fig. 4O). *C. tricolor* (mft. 1) e *C. lundianus* possuem idioblastos secretores na epiderme adaxial, mas que se projetam levemente para o parênquima paliçádico (Fig. 4P). Já em *C. tricolor* (mft 2) não foi observado essa característica. Em *C. pedicellatus*, os idioblastos secretores ocorrem na epiderme abaxial e se projetam para o parênquima paliçádico.

Idioblastos secretores foram observados compondo a estrutura das emergências e dos tricomas do tipo estrelado porrecto. Eles estão presentes na inserção do raio com o pedúnculo em *C. curranii*, *C. sacaquinha* e *C. sucrensis* (seção *Lasiogyne*) (Fig. 4Q) e no pedúnculo em *C. laceratoglandulosus* (seção *Adenophylli*) (Fig. 4R).

Laticíferos ocorrem em todas as espécies analisadas. Estão associados ao floema nos feixes vasculares do pecíolo (Fig. 1B, C) e nervura central (Fig. 2A) e estão fortemente corados de azul-esverdeado pelo azul de toluidina. O ápice caulinar foi analisado apenas em *C.*

anomalus, *C. blanchetianus*, *C. jacobinensis* e *C. sucrensis* (seção *Lasiogyne*). Em todas essas espécies os laticíferos possuem origem no procâmbio (Fig. 4S), são articulados, não anastomosados (Fig. 4T) e possuem ramificação em “Y” (Fig. 4U).

Nectários extraflorais (NEFs) estão presentes apenas em *C. lundianus* (seção *Geiseleria*); em *C. pulegiodorus* e *C. tetradenius* (Grupo 1), todos situados na região basilaminar/acropeciolar; e em *C. luetzelburgii*, onde ocorrem apenas na margem da lâmina foliar. O número de NEFs varia entre as espécies, dois pares de NEFs ocorrem em *C. lundianus*, um par de NEFs está presente em *C. pulegiodorus* e 4-6 NEFs ocorrem em *C. tetradenius*. Em *C. lundianus*, *C. pulegiodorus* e *C. tetradenius*, os nectários possuem superfície plana (Fig. 4V), enquanto em *C. luetzelburgii* os NEFs marginais possuem a superfície é côncava.

Os nectários extraflorais possuem pedúnculo longo, epiderme nectarífera, parênquima nectarífero e parênquima subnectarífero (Fig. 4V). A epiderme nectarífera é uniestratificada com células em paliçada e cutícula fina recobrindo a superfície. O parênquima nectarífero é constituído por células pequenas em poucas camadas, possui células de paredes delgadas e, em muitas delas, foram observados cristais de oxalato de cálcio em forma de drusa. O parênquima subnectarífero, possui células grandes com drusas e é vascularizado por xilema e floema. No parênquima nectarífero e subnectarífero foram observadas a presença de laticíferos (Fig. 4V), muitas vezes em ramificado em forma de “Y”.

Os tricomas glandulares são unicelulares, possuem base estreita e ápice dilatado, o que confere forma de “maçaneta” para a estrutura (Fig. 4O, X). Eles ocorrem na face abaxial da lâmina foliar de todas as espécies das seções *Heptallon* e *Lasiogyne*, exceto em *C. curranii* onde os tricomas glandulares não foram observados. Além de serem observados na face abaxial (Fig. 4O), os tricomas glandulares são frequentes na face adaxial de *C. argyrophyllus* e *C. tricolor* (mft 2) (Fig. 4X), e raramente encontrados na face adaxial de *C. blanchetianus*. Nas espécies do grupo externo, não foram encontrados tricomas glandulares, exceto em *C. pedicellatus*, onde ocorrem na face abaxial.

Análise de similaridades

A análise de similaridade resultou em um dendograma (Fig. 5) que compreende as espécies das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*. Além disso, foram incluídas as espécies das seções *Adenophylli*, *Geiseleria*, *Luetzelburgiorum*, *Pedicellati* e as espécies de *C. pulegioidorus* e *C. tetradenius* (Grupo 1) que compõem o grupo externo. As características que delimitaram as espécies e que resultou na discussão das relações de similaridades entre os grupos, foram plotadas no dendograma como diagramas coloridos (Fig. 5). Os resultados da análise de similaridades estão contidos na figura 5, apêndice 1 e apêndice 2.

Em *Croton* seção *Heptallon*, nenhuma característica anatômica foi exclusiva para circunscrever a seção, embora as espécies tenham sido agrupadas com alto índice de similaridade ($\leq 0,8$) (Fig. 5). A ausência de idioblastos secretores na folha, foi uma característica comum à todas as espécies de *Heptallon* analisadas. Dentre as quatro espécies estudadas dessa seção, *Croton capitatus* e *C. lindheimeri* são mais similares entre si ($< 0,9$) (Fig. 5), compartilhando caracteres da nervura central, que é biconvexa, possui feixe dorsal e o parênquima paliçádico é interrompido. Além disso, o pecíolo possui um par de feixes acessórios. *Croton capitatus* e *C. lindheimeri* diferem quanto a conformação do sistema vascular do pecíolo, a primeira espécie contendo arco fechado e a segunda com arco aberto sem feixes dorsais. Por outro lado, *C. pottsii* e *C. monanthogynus* (seção *Heptallon*) (Fig. 5) reúnem as seguintes características: nervura central plano-convexa e sem feixe dorsal e parênquima paliçádico contínuo, além de não possuírem feixes acessórios no pecíolo. A presença de emergências e tricomas do tipo simples na lâmina foliar (face adaxial) e o mesofilo dorsiventral foi diagnóstico para *C. monanthogynus*.

Croton pedicellatus (seção *Pedicellati*) compartilha mais características anatômicas com a seção *Heptallon* (Fig. 5) que as demais espécies do grupo externo. Entretanto, *C. pedicellatus* difere das espécies que compõem a seção *Heptallon* por apresentar idioblasto secretor, aglomerados de coléteres e o sistema vascular do pecíolo em arco aberto com um feixe dorsal.

Para a seção *Julocroton* também não houve caracteres exclusivos que delimitasse a seção. Mas existem características que podem contribuir para a identificação e distinção entre espécies dentro do grupo. *Croton* aff. *fuscescens* é a única espécie com folha hipoestomática; apenas *C. fuscescens* possui idioblasto secretor no parênquima paliçádico e *C. maranonensis* não possui feixes acessórios no pecíolo.

As espécies da seção *Julocroton* apresenta alto índice de similaridade (<0,8), porém três espécies da seção *Lasiogyne* (*C. blanchetianus*, *C. jacobinensis*, *C. sucrensis*) se agruparam com *Julocroton* por compartilharem características morfoanatômicas e micromorfológicas comuns às espécies de *Julocroton* (Fig. 5). *Croton sucrensis* (seção *Lasiogyne*) e *Croton* aff. *fuscecens* (seção *Julocroton*) compartilham 32 características (apêndice 2). As diferenças são: *C. sucrensis* possui margem inteira, nervura central com parênquima paliçádico interrompido e extensão de bainha parenquimática nos feixes da lâmina foliar; *Croton* aff. *fuscecens* possui margem denteada, nervura central com parênquima paliçádico contínuo e ausência de extensão de bainha parenquimática. De forma semelhante, *C. blanchetianus* (seção *Lasiogyne*) e *C. maranonensis* (seção *Julocroton*) compartilham 31 características (apêndice 2). Mas elas apresentam diferenças anatômicas, *C. blanchetianus* possui emergências e tricomas do tipo simples na face adaxial e emergências e tricomas do tipo lepidoto na face abaxial, a folha é hipostomática e o pecíolo possui um par de feixes acessórios. *Croton maranonensis* possui emergências e tricomas do tipo simples em ambas as faces, não possui emergências e tricomas lepidotos, a folha é anfiestomática e não ocorre feixes acessórios no pecíolo. Para *C. jacobinensis* (seção *Lasiogyne*) e *C. fuscescens* (seção *Julocroton*) 30 características são comuns (apêndice 2). Porém, *C. fuscescens* possui idioblastos secretores, emergências e tricomas do tipo simples na face adaxial e margem denteada. *Croton jacobinensis* não possui idioblasto secretor, as emergências e os tricomas do tipo simples ocorrem em ambas as faces e a margem é inteira.

Na seção *Julocroton*, os grupos *C. ackermannianus* e *C. triqueter*; *C. abutilopsis* e *C. flavispicatus* apresentam alto índice de similaridade (<0,9) (Fig. 5). O primeiro grupo difere por conter idioblastos secretores, e este está presente na inserção do raio com o pedúnculo das emergências e dos tricomas estrelados. O segundo grupo, não possui idioblastos secretores. A localização das emergências e dos tricomas simples na lâmina foliar, distinguiram as espécies: *Croton triqueter* e *C. abutilopsis* possuem emergências e tricomas do tipo simples em ambas as faces, *C. ackermannianus* possui emergências e tricomas do tipo simples na face abaxial e *C. flavispicatus* possui emergências e tricomas do tipo simples apenas na face adaxial.

Em *Croton* seção *Lasiogyne* também não foram observadas características anatômicas exclusivas que reunissem todas as espécies. Entretanto, dentre as 14 espécies analisadas, algumas apresentaram caracteres exclusivos dentro da seção, tais como: ausência de tricomas glandulares em *C. curranii*; idioblastos secretores interrompendo a epiderme adaxial projetado para o parênquima paliçádico em *C. tricolor* (mft. 1); idioblastos secretores na epiderme abaxial

e no parênquima paliçádico e ausência de esclereídes em *C. sacaquinha*; margem denteada e idioblastos secretores entre o parênquima paliçádico e lacunoso em *C. compressus*; e ausência de feixes acessórios no pecíolo em *C. limae*. Os dois morfotipos de *Croton tricolor* diferem, o morfotipo 1 possui tricomas glandulares na face abaxial e idioblastos secretores interrompendo a epiderme adaxial se projetando para o parênquima paliçádico. O morfotipo 2 possui tricomas glandulares em ambas as faces e não ocorre idioblastos secretores. *Croton argyrophyllus* e *C. tricolor* (mft. 2) não diferem anatomicamente.

Croton sacaquinha (seção *Lasiogyne*) possui características que diferem das seções *Heptallon* e *Julocroton* (Fig. 5). São elas, os idioblastos secretores presentes na epiderme abaxial (característica compartilhada com *C. laceratoglandulosus* e *C. tetradenius*); ausência de esclereídes; os tricomas do tipo estrelados estão restritos a região das nervuras com tricomas simples ausentes na face adaxial da lâmina foliar.

Nas espécies do grupo externo não ocorrem tricomas glandulares na folha (exceto *C. pedicellatus*), característica compartilhada apenas com *C. curranii* (seção *Lasiogyne*). Além disso, nas espécies do grupo externo, não ocorrem esclereídes atravessando o mesofilo (exceto *C. pedicellatus*), característica compartilhada com *C. sacaquinha* (seção *Lasiogyne*). *Croton luetzelburgii* diferiu das demais espécies das seções (incluindo as espécies das seções *Geiseleria*, *Adenophylli* e do Grupo 1) por apresentar NEFs na margem foliar e não possuir coléteres na folha.

Croton lundianus (seção *Geiseleria*), *C. pulegiodorus* e *C. tetradenius* (nova seção) são similares anatomicamente ($\leq 0,8$), e a presença de nectários basilaminares/acropécioles é exclusiva nessas espécies (Fig. 5). Além disso, elas possuem lâmina foliar anfiestomática e margem denteada, diferenciando-se de *C. laceratoglandulosus* (seção *Adenophylli*) (Fig. 5). *Croton pulegiodorus* e *C. tetradenius* apresentam alto índice de similaridade ($< 0,9$), e se diferenciam apenas pela presença de idioblastos secretores na epiderme abaxial em *C. tetradenius* (Fig. 5).

Discussão

Caracteres foliares potencialmente úteis para a sistemática de Euphorbiaceae

Neste estudo, demonstrou-se que não houve características morfoanatômicas e micromorfológicas exclusivas que delimitassem cada uma das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*. Da mesma forma, não foram encontrados caracteres anatômicos que apoiem

exclusivamente o clado formado pelas três seções. Segundo van Ee et al. (2011), as grandes seções de *Croton* são circunscritas por um conjunto de características morfológicas que se sobrepõe com outras seções, sendo denominadas de caracteres homoplásicos. Adicionalmente, caracteres relevantes do ponto de vista anatômico foram comuns a grupos de espécies, demonstrando afinidades anatômicas entre elas que apoiam a posição das seções do presente estudo (*Lasiogyne*, *Julocroton* e *Heptallon*) como linhagens filogeneticamente relacionadas formando parte de um mesmo clado (van Ee et al. 2011).

Feixes vasculares bicolaterais no pecíolo e nervura central da lâmina foliar, são característicos nas espécies das seções *Heptallon*, *Lasiogyne* e *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II) e foi compartilhada com outras espécies do grupo externo. Contudo, este atributo permitiu distinguir a espécie da seção *Adenophylli* e de *C. pulegioidorus* e *C. tetradenius* (Grupo1), que possuem feixes colaterais, o que está de acordo com os registros das espécies analisadas de *Adenophylli* por Feio et al. (2018). Entretanto, na seção *Adenophylli* essa característica não é constante, já que a ocorrência de feixes vasculares bicolaterais no pecíolo foi uma característica utilizada para distinguir *Croton subvillosus* Müll. Arg. de outras quatro espécies estudadas da seção *Adenophylli* que possuem feixes colaterais (Sodré et al. 2022).

A organização do sistema vascular do pecíolo em arco aberto e arco fechado, não foi constante no clado que corresponde as seções *Heptallon*, *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II) e *Lasiogyne* da filogenia de van Ee et al. (2011), mas houve uma predominância na ocorrência de arco fechado foi maior. Entre as espécies da seção *Julocroton* estudadas por Silva (2023, capítulo II), ocorrência do sistema vascular em arco aberto foi diagnóstico para *Croton didrichsenii* G.L. Webster. A caracterização do sistema vascular do pecíolo tem sido avaliada para diferentes seções de *Croton*, e a presença de arco fechado e arco aberto também variou nas diferentes espécies estudadas da seção *Barhamia* (Miranda et al., em preparação). De forma similar, a ausência de feixes acessórios no pecíolo foi diagnóstico para separar *C. maranonensis* dentro da seção *Julocroton* (Martín-Muñoz et al. em revisão, capítulo I; Silva 2023, capítulo II), característica compartilhada apenas com duas espécies da seção *Heptallon* e uma espécie da seção *Lasiogyne*. Embora, a nossa amostragem não seja completa para nenhuma das seções, pode ser que esse estado de caractere esteja mais distribuído entre as espécies não amostradas das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*.

Caracteres da lâmina foliar como a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa no mesofilo, epiderme uniestratificada com células tabulares e estômatos paracíticos são caracteres anatômicos típicos nas espécies de *Croton* incluídas até agora em estudos anatômicos

(Metcalf e Chalk 1979; Sá-Haiad et al. 2009; Soares 2013; Riina et al. 2015; Feio et al. 2018; Sodré et al. 2022; Miranda et al. em preparação; Silva 2023, capítulo II), o que demonstraram ter baixo potencial para taxonomia ao nível de espécies ou seção.

A presença de extensão de bainha parenquimática nos feixes vasculares foi uma das características que agrupou *C. alamosanus*, *C. floribundus* e *C. limae* (seção *Lasiogyne*). Esse caractere já foi relatado nas espécies das seções *Cyclostigma* (Sá-Haiad 2009; Feio et al. 2018), *Cupreati* (Feio et al. 2018) e em algumas espécies de *Astraea* (Souza 2018), e foi importante para o diagnóstico de *Croton megalodendron* Müll. Arg. (seção *Luntia*) (Soares 2013). Portanto, a presença de extensão de bainha parenquimática nos feixes vasculares pode ser uma plesiomorfia para a seção *Lasiogyne*.

Folhas hipoestomáticas predominou nas espécies da seção *Lasiogyne*, porém, nas espécies da seção *Heptallon* as folhas são anfiestomáticas. Folhas anfiestomáticas também ocorre nas espécies da seção *Julocroton*, com exceção de *C. aff. fuscescens*, em que a presença de folhas hipoestomáticas foi um caractere exclusivo (Silva 2023, capítulo II). De forma similar, a posição dos estômatos foi importante para diferenciar quatro espécies de *C. seção Adenophylli* (Sodré et al. 2022). Estômatos restritos na superfície abaxial estão mais distantes da luz solar direta, portanto, reduz a perda de água por transpiração (Dickson 2000). Por outro lado, o maior número de estômatos, por ocorrerem em ambas as superfícies foliares, pode diminuir a temperatura foliar pelo aumento da taxa de transpiração (Dickson 2000). As espécies das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* ocorrem predominantemente em ambientes secos a áridos (van Ee et al. 2011). Consequentemente, essas espécies de *Croton* estão expostas a alta luminosidade e a presença de folhas anfiestomáticas ou hipoestomáticas é uma vantagem adaptativa para o grupo.

Dentre as espécies analisadas, a margem foliar denteada é exclusiva para *C. compressus* (seção *Lasiogyne*). Ao contrário do reportado para *C. seção Julocroton*, em que a margem foliar denteada é recorrente e a presença de margem inteira foi diagnóstico para *C. maranonensis* (Martín-Muñoz et al. em preparação, capítulo I; Silva 2023, capítulo II) e *C. rutilus* (Silva 2023, capítulo II). Portanto, o tipo de margem foliar pode ter utilidade na delimitação taxonômica de algumas espécies dentro das seções estudadas.

Em nossos estudos, foi denominado de emergências os apêndices não secretores associados às esclereídes do mesofilo, como mostrado nos estudos de Vitarelli et al. (2016). Já os tricomas, correspondem aos apêncides epidérmicos não secretores que não estão associados

às esclereídes, como descrito na literatura de Vitarelli et al. (2021). Contudo, para os tricomas não secretores, falta estudos ontogenéticos que demonstrem a origem desses apêndices. Em nossos estudos, ocorrem tanto emergências quanto tricomas não secretores.

As emergências e os tricomas do tipo simples e estrelados estão presentes nas espécies das seções *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II), *Heptallon* e *Lasiogyne* (exceto em *C. sacaquinha*, que não ocorrem emergências). Em geral, as espécies dessas três seções de *Croton* são de ambientes abertos e secos (van Ee et al. 2011). Segundo Vitarelli et al. (2016; 2021), as emergências estão associadas a absorção de umidade atmosférica e sua associação com as esclereídes contribui na distribuição de água para o mesófilo e parece ser um atributo selecionado em resposta às condições de baixa disponibilidade de água típica dos locais de ocorrência dessas espécies. Adicionalmente, as emergências e os tricomas na superfície foliar podem refletir a luz solar direta e diminuir a taxa de transpiração (Dickison 2000). Assim, a presença emergências e de tricomas nas espécies analisadas proporcionam uma vantagem adaptativa para as espécies com restrição hídrica. A ausência de esclereídes em *C. sacaquinha* também foi observada por Vitarelli (2013) e é interessante notar que, essa espécie ocorre em ambientes úmidos, sendo encontrada próximo a margens de rios (Rossine et al. 2023), o que corrobora a nossa interpretação.

Segundo Vitarelli et al. (2013), os gêneros *Croton*, *Brasilicroton* e *Astraea* evoluíram de um ancestral comum que não tinham esclereídes compondo as emergências. Essas esclereídes ocorrem em grande parte das espécies das seções *Geiseleria* (Sodré et al. 2019; Miranda et al., em preparação), *Lamprocroton*, *Cyclostigma* (subseção *Spruceani*) (Vitarelli 2013), *Julocroton* (Silva 2013, capítulo II), *Heptallon*, *Lasiogyne* e *Pedicellate*, e pode ser considerada como uma sinapomorfia em *Croton*. Essa sinapomorfia também foi observada por Vitarelli (2013). Contudo, a presença de esclereídes compondo as emergências é um caráter que ocorre em linhagens que não estão necessariamente relacionadas na filogenia de van Ee et al. (2011), a excessão está nas seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*, onde as três seções juntas formam um clado nas análises genéticas combinadas (ITS, EMB2765, trnL-F e rps3), nuclear ITS, cloroplastidial trnL e mitocondrial rps3 (van Ee et al. 2011). Nosso estudo é o primeiro a registrar a ocorrência de esclereídes compondo as emergências, amplamente distribuídas em três clados com uma amostragem taxonômica representativa.

A presença de emergências do tipo dendríticos na seção *Lasiogyne* é registrada pela primeira vez neste estudo. Esse tipo de emergência tem sido citado nos trabalhos de Webster (1996) e Pinto-Silva et al. (2023) para as seções *Adenophylli*, *Barhamia*, *Cleodora*, *Cyclostigma*

e *Sampatik*. Em nosso trabalho, observamos que as emergências do tipo *pin-cushion*, encontrados em *C. pulegiodoris* e *C. tetradenius* (Grupo 1), pode ter várias células ou apenas uma célula do raio, o que amplia a caracterização dos tricomas do tipo *pin-cushion* descrito no trabalho de Pinto-Silva (2023). A presença de emergências e tricomas do tipo simples, além do tipo de mesofilo, foi importante para separar duas espécies de *C.* seção *Heptallon*. De forma semelhante, a posição das emergências e dos tricomas do tipo simples diferenciaram anatomicamente quatro espécies da seção *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II).

Diversidade das estruturas secretoras

A diversidade das estruturas secretoras e os seus distintos padrões de distribuição em *Crotoneae* são importantes para a sistemática, pois constituem marcadores morfológicos para separar grupos e diagnosticar espécies (Vitarelli et al. 2015). Adicionalmente, a presença ou ausência dessas estruturas são muito úteis na taxonomia do gênero quando combinadas com outros caracteres, especialmente para delimitar seções ou clados (van Ee et al. 2011).

Nas espécies analisadas, os coléteres da margem foliar, das estípulas e da região basilaminar/acropiolar, são anatomicamente semelhantes e são do tipo padrão, como classificado por Lersten (1974) e Thomas (1991). O mesmo foi observado nos coléteres marginais e nas estípulas de *Sapium glandulosum* (L.) Morong (Meira et al. 2020). Além das espécies analisadas no presente trabalho, os coléteres na margem da lâmina foliar também ocorrem nas espécies das seções *Adenophylli* (Feio et al. 2018; Sodré et al. 2022), *Alabamenses*, *Cleodora*, *Lamprocroton* (Vitarelli et al. 2015), *Ciclostygma* (Feio et al. 2016; 2018), *Cuneati*, *Luntia* (Soares 2013), *Cupreati*, *Sampatik* (Feio et al. 2018) e *Geiseleria* (Sodré et al. 2019; Vitarelli et al. 2021; Riina et al. 2021; Miranda et al., em preparação). Adicionalmente, os coléteres foliares foram descritos para *Brasiliocroton mamoinha* P.E. Berry & Cordeiro (Soares 2013; Vitarelli et al. 2015) e para diversas espécies de *Astraea* (Souza 2018). Por outro lado, não ocorre coléteres foliares nas espécies das seções *Barhamia* e *Luetzelburgiorum*, mas ocorre nectários marginais em muitas espécies da seção *Barhamia* e em *C. luetzelburgii* (Miranta et al., em preparação). Portanto, coléteres na margem foliar pode ser uma característica plesiomórfica para *Croton*, e que foi perdida nas linhagens de *Barhamia* e *Luetzelburgiorum*.

As espécies de *Croton* seção *Heptallon* possuem coléteres marginais, e quando não encontrados, ocorrem cicatrizes na margem foliar. Foster (1955) descreveu as glândulas foliares de *C. capitatus* (seção *Heptallon*) como inconspícuas, embora não tenha mencionado o tipo de glândula, esse resultado corrobora nossas observações. Por outro lado, van Ee e Berry (2010)

descrevem as folhas das espécies de *C.* seção *Heptallon* como eglandulares, o que tem sido comum em espécies que possuem coléteres caducos, quando as avaliações são feitas em folhas totalmente expandidas. Os coléteres geralmente são ativos nos primórdios foliares e em folhas jovens, nas folhas completamente expandidas, eles podem senescer e deixar cicatrizes (Fernandes et al. 2016; Ribeiro et al. 2017; Meira et al. 2020). Aparentemente existe uma relação entre a presença de vascularização e a manutenção dos coléteres na margem de folhas completamente expandidas, como foi observado nas espécies da seção *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II), em que os coléteres foram persistentes, embora com aspecto não mais ativo em secreção.

Nas espécies da seção *Lasiogyne*, não houve uma uniformidade quanto a presença de vascularização dos coléteres. A função da vascularização dos coléteres ainda não foi esclarecida, pois aparentemente não interfere na atividade secretora dessa estrutura. Em Apocynaceae, por exemplo, a presença ou ausência da vascularização pode se manter ao nível de subfamília (Simões et al. 2006; Ribeiro et al. 2017). Registro semelhante foi observado no presente trabalho para os táxons da seção *Lasiogyne*. Em *Croton*, os coléteres foram vascularizados nas espécies descritas da seção *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II), avascularizados nas espécies de *Astrea* (Souza 2018) e da seção *Cyclostigma* (Feio et al. 2018) e podem ou não ser vascularizados nas espécies das seções *Lamprocroton* e *Cleodora* (Vitarelli et al. 2015). Assim, a vascularização dos coléteres em Crotonaeae é variável, sendo um dado potencialmente útil para a circunscrição de algumas espécies.

Coléteres com pedúnculo longo são descritos aqui pela primeira vez em *Croton* para a seção *Heptallon*. Ademais, sugerimos uma análise dos coléteres nos primórdios foliares e em folhas jovens nas demais espécies da seção *Heptallon*, a fim de observar se o pedúnculo alongado pode ser uma sinapomorfia para a seção.

Embora não tenha sido possível analisar as estípulas de todas as espécies estudadas, observamos um padrão na distribuição dos coléteres em sete espécies de *Lasiogyne*. Já nas espécies de *Julocroton*, os coléteres nas estípulas ocorrem apenas na base (como um aglomerado) e um no ápice (Silva 2023, capítulo II). A distribuição e o tipo de estruturas secretoras nas estípulas, podem ser importantes como caracteres taxonômicos. Em todas as espécies da seção *Barhamia* (Miranda et al., em preparação), as estípulas são modificadas em coléteres, característica que contribuiu para diferenciar *Croton catariae* Baill. das demais espécies da seção, e apoiar a hipótese de que *C. catariae* pertence à seção *Geiseleria* (Riina et al. 2021) ao invés da seção *Barhamia* segundo a filogenia de van Ee et al. (2011).

Os idioblastos secretores são comuns nas espécies de *Croton* e variam quanto a distribuição na lâmina foliar. Até o momento, os idioblastos secretores têm sido encontrados em muitas espécies das seções *Adenophylli*, *Cupreati*, *Sampatik* (Feio et al. 2018), *Barhamia*, *Luetzelburgiorum* (Miranda et al., em preparação), *Cleodora*, *Lamprocroton* (Vitarelli et al. 2015), *Cuneati*, *Luntia* (Soares 2013), *Cyclostigma* (Sá-Haiad et al. 2009; Riina et al. 2015; Feio et al. 2016; 2018) e *Geiseleria* (Sodré et al. 2019; Vitarelli et al. 2021; Miranda et al., em preparação). Além disso, os idioblastos secretores ocorrem em *Brasiliocroton mamoninha* (Soares 2013; Vitarelli et al. 2015) e em diversas espécies de *Astraea* (Souza 2018). Em nossos estudos, embora os idioblastos não tenham sido significativos para a taxonomia ao nível de seção, a presença/ausência e sua distribuição foram características importantes para distinguir espécies das seções *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II) e *Lasiogyne*. A presença de idioblasto no mesofilo, também foi utilizada para separar duas espécies morfológicamente silimares dentro da seção *Geiseleria* (Sodré et al. 2019). Para as espécies da seção *Cleodora*, os idioblastos secretores variam quanto a sua distribuição na lâmina foliar, na subseção *Spruceani* eles ocorrem apenas na epiderme abaxial, enquanto na subseção *Sphaerogyni*, a sua posição varia entre as espécies (Vitarelli et al. 2015).

Idioblastos secretores se estendendo no mesofilo projetando-se para o exterior da superfície foliar, não é uma novidade para *Croton*, tendo sido relatado em duas espécies da seção *Cleodora* (Vitarelli et al. 2015) e em uma espécie da seção *Geiseleria* (Vitarelli et al. 2021). Para as espécies da seção *Cleodora* a secreção produzida pelos idioblastos possui natureza lipofílica (Vitarelli et al. 2015). Estudos para elucidar a origem dessas células, o mecanismo de síntese da secreção e de exsudação estão em curso.

A presença/ausência de idioblastos secretores e a ocorrência dos tricomas glandulares, diferenciou *C. tricolor* mft. 1 de *C. tricolor* mft. 2. Embora nas demais características anatômicas, esses morfotipos tenham sido similares, a presença dos idioblastos e a posição dos tricomas são relevantes e devem ser consideradas em futuros trabalhos taxonômicos a fim de confirmar a identidade desses espécimes. Além disso, *C. tricolor* mft 2 resultou idêntico a *C. argyrophyllus* nas nossas análises anatômicas, o que também pode ser considerado para confirmar a identidade taxonômica de ambos os morfotipos de *C. tricolor*.

A presença de idioblastos secretores nas emergências e nos tricomas do tipo estrelados, localizados na inserção dos braços com o pedúnculo, foi reportado para sete espécies da seção *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II), duas espécies da seção *Cyclostigma* (Feio et al. 2016), uma espécie de *Geiseleria* (Miranda et al., em preparação) e em *B. mamoninha* (Vitarelli et al. 2015).

Já os idioblastos secretores no pedúnculo das emergências e dos tricomas estrelados é uma característica que foi encontrada em algumas espécies das seções *Cyclostigma* (Sá-Haiad et al. 2009; Feio et al. 2018), *Adenophylli* (Feio et al. 2018; Sodré et al. 2022) *Cupreati* e *Sampatik* (Feio et al. 2018). Também foi observado idioblastos secretores no pedúnculo dos NEFs em *Croton amentiformis* Riina (*Cyclostigma*) (Riina et al. 2015) e no pedúnculo dos coléteres em algumas espécies da se o *Cleodora* e *Lamprocroton* e em *Astraea lobata* (L.) Klotzsch (Vitarelli et al. 2015). As espécies analisadas de *Julocroton* que possuem idioblastos secretores na base do raio das emergências e dos tricomas, não possuem idioblastos no mesofilo ou nas demais células epidérmicas (Silva 2023, capítulo II). Também, nas espécies analisadas de *Lasiogyne* (exceto *C. curranii* e *C. sacaquinha*) que ocorrem idioblastos secretores nas emergências e nos tricomas, não ocorrem idioblastos nas demais localidades da folha.

Laticíferos ocorrem em todas as espécies analisadas, como descrito para Crotonoideae (Rudall 1994). De fato, os estudos anatômicos de *Croton* feitos até o momento, têm encontrado laticíferos em todas as espécies das se es *Adenophylli* (Feio et al. 2018; Sodré et al. 2022), *Barhamia*, *Luetzelburgiorum* (Miranda et al., em prepara o), *Cleodora*, *Lamprocroton* (Vitarelli et al. 2015), *Cupreati*, *Sampatik* (Feio et al. 2018), *Cuneati* (Soares 2013), *Cyclostigma* (S -Haiad 2009; Riina et al. 2015; Feio et al. 2016; 2018), *Geiseleria* (Soares 2013; Sodré et al. 2019; Vitarelli 2021); *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II), *Luntia* (Soares 2013) e nas espécies de *B. mamoninha* (S -Haiad 2009; Soares 2013; Vitarelli et al. 2015) e *Astrea* (Souza 2018). A única exce o da ausência de laticíferos até o momento, é na se o monoespecífica *Alabamenses*, porém ocorrem células parenquimáticas de conteúdo denso na mesma região de ocorrência dos laticíferos (próximo ao floema) (Vitarelli et al. 2015). Os laticíferos também são estruturas comuns em Euphorbiodeae, mas raros em Acalyphoideae (Rudall 1994). Mesmo que em campo não se observe a exsuda o de látex (Vitarelli et al. 2021; Martín-Mu oz et al. em revisão, capítulo I), não significa que os laticíferos estejam ausentes, pois a quantidade de látex pode ser imperceptível ou a sua cor, em muitos casos, transparente. Segundo Prado & Demarco (2018), os laticíferos ocorrem em cerca de 10% das famílias de Angiospermas e, provavelmente,   uma característica filogenética que evoluiu independentemente. Portanto, parecem ter uma grande relevância evolutiva nas intera es ecológicas das plantas.

Não foi possível identificar o tipo de laticífero de todas as espécies estudadas, uma vez que   necessário analisar o seu desenvolvimento inicial para sua classifica o, como recomendado (Fanh 1979). Portanto, esse estado de caractere não foi utilizado em nossas

análises de similaridades. Como em nossos estudos, nas espécies da seção *Julocroton*, em que foi possível classificar os laticíferos, eles também se originam do procâmbio, são articulados, não anastomosados e com ramificações em “Y” (Silva 2023, capítulo II). O que pode ser uma característica comum entre as espécies das seções *Lasiogyne* e *Julocroton*. Laticíferos articulados e não anastomosados também foram observados em espécies da seção *Lamprocroton*, em três espécies de *Cleodora* (Vitarelli et al. 2015) e em *B. mamoinha*, os articulados e anastomosados ocorrem em nove espécies de *Cleodora* e em *A. lobata* (Vitarelli et al. 2015). Por outro lado, os laticíferos não articulados ramificados foram observados em espécies da seção *Cyclostigma* (Sá-Haiad et al. 2009; Wiedenhoef et al. 2009; Riina et al. 2015; Feio et al. 2016). Também parecem ser laticíferos não articulados ramificados nas espécies das seções *Adenophylli*, *Cyclostigma*, *Cupreati* e *Sampatik* estudadas por Feio et al. (2018), embora os autores afirmam que as amostras herborizadas das espécies analisadas não permitiram uma clara visualização do tipo de laticífero. Até o momento, não encontramos uma classificação quanto ao tipo de laticíferos nos estudos anatômicos das espécies de *Barhamia* (Miranda et al., em preparação), *Cuneati*, *Luntia* (Soares 2013) e *Geiseleria* (Sodré et al. 2019).

A presença de nectários extraflorais (NEFs) não é uma característica presente nas espécies estudadas das seções proximamente relacionadas de *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II), *Heptallon* e *Lasiogyne*. Em nossos estudos, observamos que os NEFs estão presentes apenas em algumas *C. pulegioidorus*, *C. tedradenius* (Grupo 1), em *C. lundianus* (*Geiseleria*) e *C. luetzelburgii*. A presença de NEFs são comuns nas espécies de *Croton* e podem variar quando a localização, número e características anatômicas. Nos estudos anatômicos das espécies de *Croton*, essa glandula já foi descrita nas seções *Adenophylli*, *Cupreati*, *Sampatik* (Feio et al. 2018), *Barhamia* (Miranda et al., em preparação), *Cleodora* (Vitarelli et al. 2015), *Cuneati* (Soares 2013), *Cyclostigma* (Sá-Haiad et al. 2009; Riina et al. 2015; Feio et al. 2016; 2018), *Geiseleria* (Sodré et al. 2019; Vitarelli et al. 2021; Riina et al. 2021; Miranda et al., em preparação) e *Luntia* (Soares 2013). Além disso, a ocorrência de NEFs foi relatada para *B. mamoinha* (Sá-Haiad et al. 2019; Vitarelli et al. 2015; Soares 2013). Nectários extraflorais, provavelmente ocorreu no ancestral comum de *Brasiliocroton* e *Croton*, onde ambos os gêneros são proximamente relacionados na filogenia molecular de van Ee et al. (2011). Entretanto, algumas linhagens de *Croton* parecem ter perdido essa estrutura, como é o caso das espécies estudadas de *Lamprocroton* (exceto *Croton imbricatus* L.R.Lima & Pirani), *Alabamenses* (Vitarelli et al. 2015), *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II), *Heptallon*, *Lasiogyne* e *Pedicellati*.

A presença de tricomas glandulares na lâmina foliar é uma característica que ocorre nas espécies analisadas das seções *Julocroton* (Silva 2023, capítulo II) *Heptallon* e *Lasiogyne* (exceto em *C. curranii*) e *C. pedicellatus*. Nas descrições anatômicas de diversas seções de *Croton* (Sá-Haiad et al. 2009; Sodré et al. 2019; 2022; Soares 2013; Riina et al. 2015; Souza 2018; Feio et al. 2016; 2018; Vitarelli et al. 2015; 2021; Pinto-Silva et al. 2023; Miranda et al., em prepara o), os tricomas glandulares foram reportados apenas em espécies das se es *Geiseleria* (Sodré et al. 2019; Vitarelli et al. 2021; Miranda et al., em prepara o), *Alabamenses*, *Lamprocroton* (exceto *C. imbricatus*) (Soares 2013; Vitarelli et al. 2015) e em poucas espécies da se o *Barhamia* (Miranda et al., em prepara o) e *Adenophylli* (Pinto-Silva et al. 2023). Assim, pode ser que a presença de tricomas glandulares seja uma característica que surgiu em linhagens mais recentes de *Croton* e que surgiu várias vezes ao longo da evolu o. Uma vez que a presença de tricomas glandulares não foram observadas em *B. mamoninha* e em espécies de *Astraea* (S -Haiad et al. 2009; Vitarelli et al. 2015; Souza 2018). As espécies das se es *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* variam de herbáceas a arbustivas (em *Lasiogyne* ocorre hábito arbóreo em algumas espécies) e geralmente ocorrem em áreas abertas e secas (van Ee et al. 2011). Adicionalmente, as se es que não ocorrem tricomas glandulares, são, em sua maioria, árvores de florestas  midas (Soares 2013; Vitarelli et al. 2015; Feio et al. 2016; 2018). Portanto, a presença dos tricomas glandulares pode ter sido selecionada pelo hábito e pelos ambientes abertos e extremos (secos e/ou frios) das plantas.

Na lâmina foliar de *C. tricolor* mft. 1, ocorre tricomas glandulares na face abaxial, enquanto na face adaxial ocorre idioblasto secretor interrompendo a epiderme. Já em *C. tricolor* mft. 2, não ocorre idioblasto secretor, mas ocorrem tricomas glandulares em ambas as faces. Vitarelli et al. (2015), sugerem que os tricomas glandulares e os idioblastos secretores são mutuamente exclusivos. O que foi observado em nossos estudos em *C. tricolor*. No entanto, em *C. sacaquinha* e *C. pedicellatus* as duas estruturas (tricoma glandular e idioblasto secretor) ocorrem na mesma face da epiderme.

Análise de similaridades

Em hipóteses baseadas em dados moleculares, as se es *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne* emergiram juntas como grupos monofiléticos, porém em uma tricotomia não resolvida na análise nuclear ITS (van Ee et al. 2011). Além disso, para alguns dos marcadores genéticos utilizados (i.e., EMB2765, trnL-F, rps3; Fig. 3, 4 e 5 em van Ee et al. 2011), as três

seções individualmente não são recuperadas como monofiléticas. Nossos dados morfoanatômicos e micromorfológicos corroboram a interpretação do agrupamento de espécies nas seções *Heptallon* e *Julocroton*. A maioria das espécies da seção *Lasiogyne* permaneceu similares, no entanto, elas não se organizaram em um único grupo, apresentando espécies reunidas (mais similares anatomicamente) com *Julocroton*. A falta de consenso das análises filogenéticas de van Ee et al. (2011) com as diferentes regiões moleculares, ainda mostram uma incerteza na monofilia das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*, mas especialmente na monofilia da seção *Lasiogyne*. Assim, uma amostragem maior de espécies das três seções para filogenia molecular, pode ajudar a compreender a relação das espécies de *Julocroton* e *Lasiogyne* e a distribuição das espécies entre as duas seções. Adicionalmente, uma filogenia mais completa permitiria uma melhor interpretação e utilização dos nossos dados morfoanatômicos e micromorfológicos para a taxonomia.

Na seção *Heptallon*, ocorre maior similaridades entre *C. lindheimeri* e *C. capitatus*, diferindo apenas quanto a conformação do sistema vascular do pecíolo. *Croton lindheimeri* já foi tida como uma variedade de *C. capitatus* através de análises morfológicas (Johnston 1958). Entretanto, através de análises moleculares, são consideradas espécies distintas (van Ee e Berry 2010). As espécies da seção *Heptallon* são mais similares anatomicamente a *C. pecicellatus* (seção *Pedicellati*) que as demais espécies analisadas das seções *Julocroton* e *Lasiogyne*. Segundo van Ee et al. (2011), mesmo que as espécies das seções *Heptallon* e *Pedicellati* ocorram em áreas geográficas distintas, elas são morfológicamente semelhantes.

Na seção *Julocroton*, os dois grupos *C. ackermannianus* e *C. triqueter*; *C. flavispicatus* e *C. abutilopsis*, permaneceram agrupadas, mas a posição das emergências e dos tricomas do tipo simples diferenciou cada uma das espécies. O mesmo foi observado na seção *Julocroton* para *C. ackermannianus* e *C. triqueter* (Silva 2023, capítulo II).

Croton sacaquinha (seção *Lasiogyne*) foi a espécie que mais apresentou diferenças morfoanatômicas e micromorfológicas comparada as demais espécies amostradas da seção *Lasiogyne*. *Croton sacaquinha* é uma das espécies que diverge das demais espécies de sua seção quanto ao habitat, ocorrendo em ambientes úmidos e próximo a margens de rios (Rossine et al. 2023), enquanto as demais espécies ocorrem em ambientes secos.

No grupo externo, nossos resultados mostram que *Croton pulegiodorus* e *C. tetradenius* (Grupo 1) são mais similares a *C. lundianus* (seção *Geiseleria*), se comparado a *C. laceratoglandulosus* (seção *Adenophylli*). *Croton pulegiodorus* e *C. tetradenius* já foram tidas

na seção *Geiseleria* por apresentarem características morfológicas parecidas (van Ee et al. 2011). Contudo, elas foram recuperadas dentro de um clado irmão, porém divergente, da seção *Adenophylli* (Riina et al. 2021). O que é apoiado por nossos resultados morfoanatômicos e micromorfológicos.

Conclusões

Não houve características morfoanatômicas exclusivas que delimitassem cada uma das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*. Essas seções foram circunscritas por um conjunto de caracteres que se sobrepôs entre os grupos.

Os caracteres morfoanatômicos foram importantes para o diagnóstico e agrupamento das espécies dentro de cada uma das seções. Dentre esses caracteres estão, os feixes acessórios do pecíolo, as descrições gerais da nervura central, a extensão de bainha parenquimática, o tipo de mesofilo, a caracterização da margem foliar, o tipo e a posição das emergências e dos tricomas não secretores e a ocorrência de esclereídes associada às emergências.

Nas três seções (*Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*) ocorreu uma diversidade de estruturas secretoras que também foram importantes para o diagnóstico e agrupamento das espécies. Essas características foram a presença e distribuição dos coléteres, dos idioblastos secretores e dos tricomas glandulares. Os laticíferos foram comuns em todas as espécies e ocorrem associados ao floema no sistema vascular. Ademais, a ausência de nectários na folha foi uma característica comum que reuniu as seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*, apoiando o clado formado por essas seções na filogenia de *Croton*.

Referências

- Berry PE, Hipp AL, Wurdack K J, van EeB, Riina R (2005) Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotoneae (Euphorbiaceae *sensu stricto*) using ITS and trnL-trnF DNA sequence data. *Am J Bot* 92: 1520-1534. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.9.1520>
- Berry PE, Kainulainen K, Van Ee B (2017) A Nomenclator of *Croton* (Euphorbiaceae) in Madagascar, the Comoros Archipelago, and the Mascarene Islands. *PhytoKeys* 90: 1-87. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.90.20586>
- Caruzo MBR, Secco RS, Medeiros D, Riina R, Torres DSC, Santos RFD, Pereira APN, Rossine Y, Lima LR, Muniz Filho E, Valduga E (Acesso em: 21 mar. 2023) *Croton* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17497>>.
- Cordeiro I (1990) Aspectos taxonômicos e distribuição geográfica de *Julocroton* Mart. (Euphorbiaceae). *Acta Bot Bras* 4:83-90. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061990000100006>
- Dickison WC (2000) *Integrative Plant Anatomy*. Academic Press.
- Fahn A (1979) *Secretory tissues in plants*. Academic Press Inc. London. 302p.
- Feio AC, Riina R, Meira RMSA (2016) Secretory structures in leaves and flowers of two dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae): new evidence and interpretations. *Int J Plant Sci* 177: 511-522. <https://doi.org/10.1086/685705>
- Feio AC, Riina R, Meira RMSA (2018) Leaf anatomical features and their implications for the systematics of dragon's blood *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Bot J Linn Soc* 187: 614-632. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy038>
- Fernandes VF, Thadeo M, Dalvi VC, Marquete R, Meira RMS. 2016. Colleters in Casearia (Salicaceae): a new interpretation for the theoid teeth. *Bot J of the Linn Soc* 181: 682-691. <https://doi.org/10.1111/boj.12432>
- Foster AS (1955) Plant idioblasts: remarkable examples of cell specialization. *Protoplasma* 46: 184:193. <https://doi.org/10.1007/BF01248877>
- Govaerts RDG, Frodin, Radcliffe-Smith A (2000) *World checklist and bibliography of Euphorbiaceae*, 4 vols. Royal Botanic Garden, Kew, UK.
- Johnston MC (1958) The Texas species of *Croton* (Euphorbiaceae). *Southwest Nat* 3: 175-203. <https://doi.org/10.2307/3669050>
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York, USA.

- Lersten NR (1974) Morphology and distribution of colleters and crystals in Relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). *Am J Bot* 61: 973-981. <https://doi.org/10.2307/2441988>
- Meira RMSA, Miranda JD, Coutinho IAC (2020) Anatomical Reevaluation and novelties on the leaf marginal tooth glands in *Sapium glandulosum* (L.) Morong. (Euphorbiaceae): The importance of distinguishing colleters from nectaries. In: Demarco D (ed.) *Plant Ontogeny: Studies, analyses and evolutionary implications*. Nova, Science Publishers, New York Inc. pp. 63-82.
- Metcalf CR, Chalk L (1957) *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Vol. I. Clarendon Press. Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L (1979) *Anatomy of the Dicotyledons: Systematic Anatomy of Leaf and Stem with a Brief History of the Subject*. 2nd. Vol. I. Clarendon Press. Oxford.
- O'Brien TP, McCully ME (1981) *The study of plant structure principles and selected methods*. Termarcaphi Pty, Melbourne, Australia.
- Pinto-Silva N, Souza K, Silva OLM, Vitarelli NC, Pereira M, Soares D, Sodré RC, Medeiros D, Caruzo MB, Carneiro-Torres DS, Silva M, Meira RMSA, Riina R, Feio AC (2023) Trichomes in the megadiverse genus *Croton* (Euphorbiaceae): a revised classification, identification parameters and standardized terminology. *Bot J of the Linn Soc* 20:1-13. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boad008>
- Prado E, Demarco D (2018) Laticifers and secretory ducts: similarities and differences. In: Hufnagel L (ed) *Ecosystem services and global ecology*. IntechOpen, pp 103-123. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75705>
- Ribeiro JC, Ferreira MJP, Demarco D (2017) Colleters in Asclepiadoideae (Apocynaceae): protection of meristems against desiccation and new functions assigned. *Int J Plant Sci* 178: 000-000. <https://doi.org/10.1086/692295>
- Riina R, Cumbicus N, Feio AC, Cerón CE, Meira RMSA, Berry PE (2015) A new species of dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae) from South America with singular inflorescences. *J Plant Taxon Geogr* 70:187-192. <https://doi.org/10.1080/00837792.2015.1020129>
- Riina R, van Ee BW, Caruzo MBR, Carneiro-Torres DS, Santos RF (2021) The Neotropical *Croton* sect. *Geiseleria* (Euphorbiaceae): Classification Update, Phylogenetic Framework, and Seven New Species from South America. *Ann Mo Bot Gard* 106: 111-166. <https://doi.org/10.3417/2021669>

- Rossine Y, Melo AL, Athiê-Souza SM, Sales MF. 2023. Understanding the “Marmeleiros”: a taxonomic treatment of *Croton* sect. *Lasiogyne* (Euphorbiaceae) in Brazil. *Phytotaxa* 584: 219-250. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.584.4.1>
- Rudall P (1994) Laticifers in Crotonoideae (Euphorbiaceae): homology and evolution. *Ann Mo Bot Gard* 81: 270-282. <https://doi.org/10.2307/2992097>
- Sá-Haiad B, Serpa-Ribeiro ACC, Barbosa CN, Pizzini D, Leal DO, Senna-Valle L, Santiago-Fernandes LDR (2009) Leaf structure of species from three closely related genera from tribe Crotonae Dumort. (Euphorbiaceae s.s., Malpighiales). *Plant Syst Evol* 283:179-202. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0229-x>
- Simões AO, Castro MM, Kinoshita LS (2006) Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. *Bot J Linn Soc* 152: 387–398. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2006.00572.x>
- Smith FH, Smith EC (1942) Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *Am J Bot* 29: 464 – 471. <https://doi.org/10.2307/2437312>
- Soares DA (2013) Morfoanatomia foliar de espécies de *Croton* sect. *Luntia* (Euphorbiaceae) como contribuição para a taxonomia do gênero. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa. 44p.
- Sodré RC, Alonso AA, Silva MJ (2022) Revised delimitation of *Croton campestris* (Euphorbiaceae), including description of two new species, molecular phylogenetic, anatomical and micromorphological data. *Acta Bot Bras* 36:1-35. <https://doi.org/10.1590/0102-33062021abb0163>
- Sodré RC, Souza AO, Alonso AA, Silva MJ (2019a) Molecular, morphological, and anatomical data support a new species of *Croton* sect. *Geiseleria* (Crotonoideae, Euphorbiaceae). *Plant Syst Evol* 305:223-246. <https://doi.org/10.1007/s00606-019-1566-z>
- Souza KF (2018) Contribuições da anatomia foliar para a taxonomia da tribo Crotonae Dumort. (Euphorbiaceae). Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa. 62p.
- Thomas V (1991) Structural, functional and phylogenetic aspects of the coléter. *Ann Bot* 68: 287-305. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088256>
- van Ee BW, Berry PE (2010) Taxonomy and phylogeny of *Croton* section *Heptallon* (Euphorbiaceae). *Syst Bot* 35: 151-167. <https://doi.org/10.1600/036364410790862461>
- van Ee BW, Riina R, Berry PE (2011) A revised infrageneric classification and molecular phylogeny of new world *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 60: 1-33. <https://doi.org/10.1002/tax.603013>

- Vitarelli NC (2013) Anatomia foliar como subsídio para a sistemática de *Croton* L. (seções *Cleodora* e *Lamprocroton*), Euphorbiaceae. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação, Universidade Federal de Viçosa. 155p.
- Vitarelli NC, Riina R, Caruzo MB, Cordeiro I, Aguilar JF, Meira RMSA (2015) Foliar secretory structures in Crotonaeae (Euphorbiaceae): Diversity, anatomy, and evolutionary significance. *Am J Bot* 102: 1-15. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500017>
- Vitarelli NC, Riina R, Cassino MF, Meira RMSA (2016) Trichome-like emergences in *Croton* of Brazilian highland rock outcrops: evidences for atmospheric water uptake. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 22: 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2016.07.002>
- Vitarelli NC, Somavilla N, Ferrari FB, Silva MR, Soares EM, Silva OLM, Riina R (2021) The Amazonian *Croton mollis* (Euphorbiaceae): morphology and leaf anatomy help to understand its preference for the extreme igapó habitat. *Flora* 281:1-12. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151878>
- Webster GL (1967) The genera of Euphorbiaceae in the Southeastern United States. *J Arnold Arbor* 48: 303-361. <https://doi.org/10.5962/p.67869>
- Webster GL (1993) A provisional synopsis of the sections of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 42: 793-823. <https://doi.org/10.2307/1223265>
- Webster GL, Del-Arco-Aguilar MJ, Smith BA (1996) Systematic distribution of foliar trichome types in *Croton* (Euphorbiaceae). *Bot J Linn Soc* 121: 41-57. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1996.tb00744.x>
- Wiedenhoeft AC, Riina R, Berry PE (2009) “Ray-intrusive” laticifers in species of *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Iawa Journal* 30:135-148. [10.1163/22941932-90000209](https://doi.org/10.1163/22941932-90000209)
- Wurdack KJ, Hoffmann P, Chase MW (2005) Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae *Sensu Stricto*) using plastid *rbcL* and *trnL-F* DNA sequences. *Am J Bot* 92: 1397-1420. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.8.1397>

Figuras e tabelas

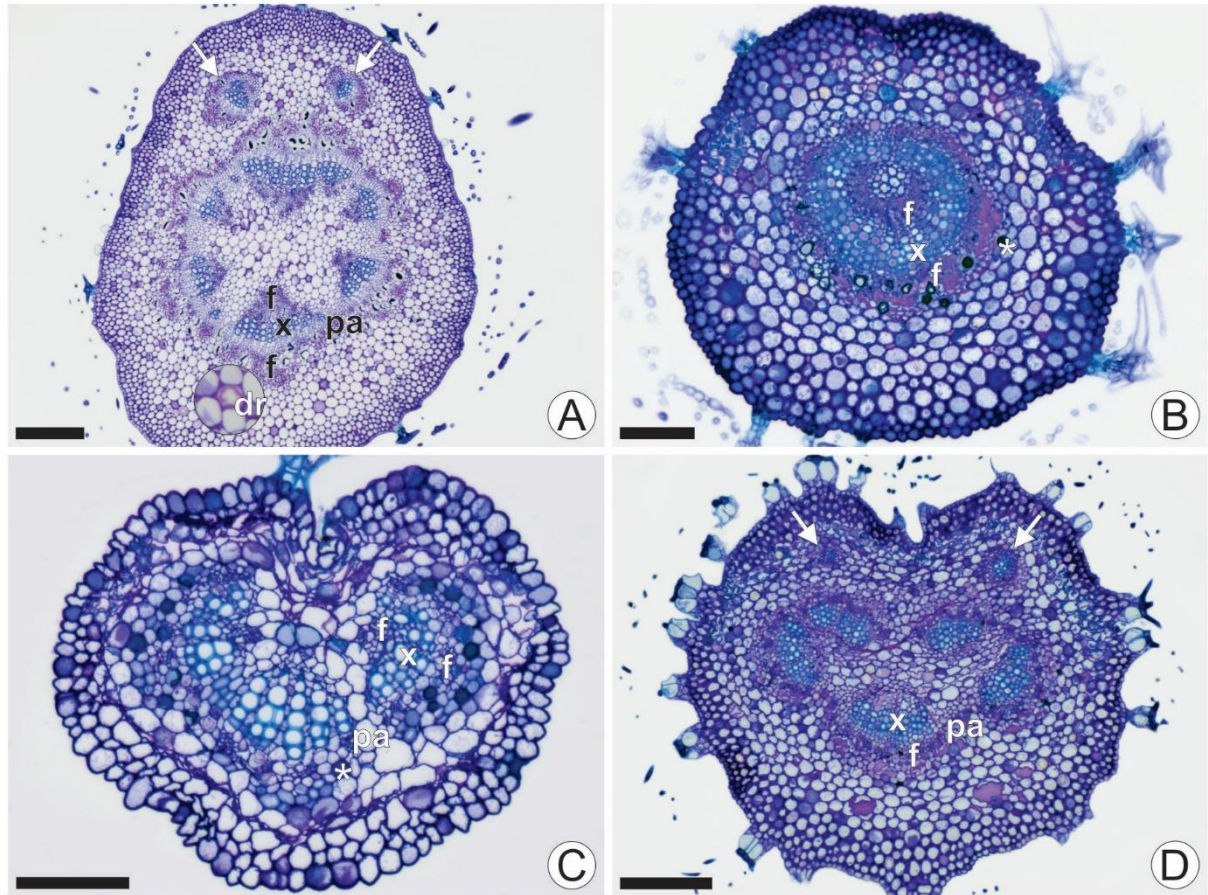


Figura 1. Caracterização anatômica do pecíolo de *Croton anomalus* (A), *C. pottsii* (B), *C. monanthogynus* (C) e *C. tetradenius* (D) avaliando cortes transversais da região distal. A. Feixes bicolaterais em arco fechado com parênquima entre os feixes e um par de feixes acessórios (seta). B. Feixes bicolaterais em arco fechado. C. Feixes bicolaterais em arco aberto. D. Feixes colaterais em arco fechado com parênquima entre os feixes e feixes acessórios (seta). Barras de escala: A, D = 200 μm ; B, C = 100 μm . Abreviações: dr = drusa, f = floema, pa = parênquima, x = xilema, asterisco indica laticíferos.

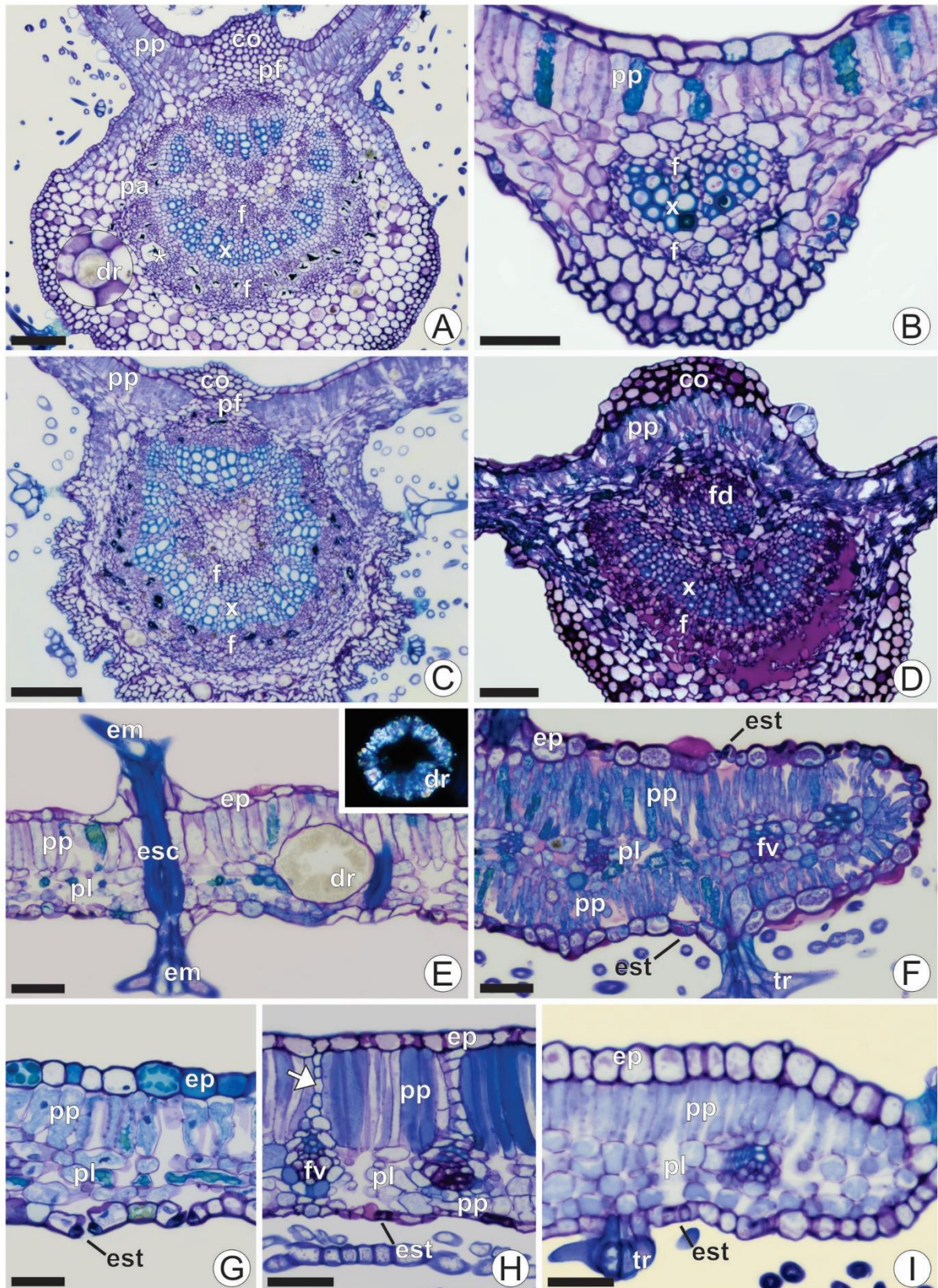


Figura 2. Caracterização anatômica da lâmina foliar de *Croton anomalus* (A, I), *C. monanthogynus* (B, E), *C. scaber* (C), *C. tetradenius* (D), *C. pottsii* (F), *C. lundianus* (G), *C. floribundus* (H), em cortes transversais da região mediana e da margem. A. Nervura central biconvexa com sistema vascular em arco fechado com feixes separados por parênquima, o parênquima paliçádico é interrompido por células do parênquima fundamental, em detalhe idioblasto cristalífero com drusa. B. Nervura central plano-convexa com sistema vascular em arco aberto, o parênquima paliçádico é contínuo. C. Nervura central biconvexa com arco fechado, o parênquima paliçádico é

interrompido por células do parênquima fundamental. **D.** Nervura central biconvexa com sistema vascular em arco aberto com feixes colaterais e um feixe dorsal, o parênquima paliçádico é contínuo. **E.** Mesofilo dorsiventral com drusa, esclereíde atravessando o mesofilo, em detalhe drusa em luz polarizada. **F.** Lâmina foliar anfiestomática com mesofilo isobilateral e parênquima paliçádico contínuo na margem. **G.** Mesofilo dorsiventral e epiderme com compostos fenólicos. **H.** Mesofilo isobilateral e feixes vasculares com extensão de bainha parenquimática. **I.** Lâmina foliar com mesofilo dorsiventral e margem com parênquima paliçádico interrompido, a epiderme adaxial possui células colunares. Barras de escala: **A, C, D, F** = 100 μm ; **B, E, G, H** = 50 μm ; **I** = 30 μm . Abreviações: co = colênquima, dr = drusa, em = emergências, ep = epiderme, esc = esclereíde, est = estômato, f = floema, fd = feixe dorsal, fv = feixe vascular, pe = pedúnculo, pf = parênquima fundamental, pl = parênquima lacunoso, pp = parênquima paliçádico, tr = tricoma, x = xilema. Asterisco indica laticíferos, seta indica extensão de bainha parenquimática.

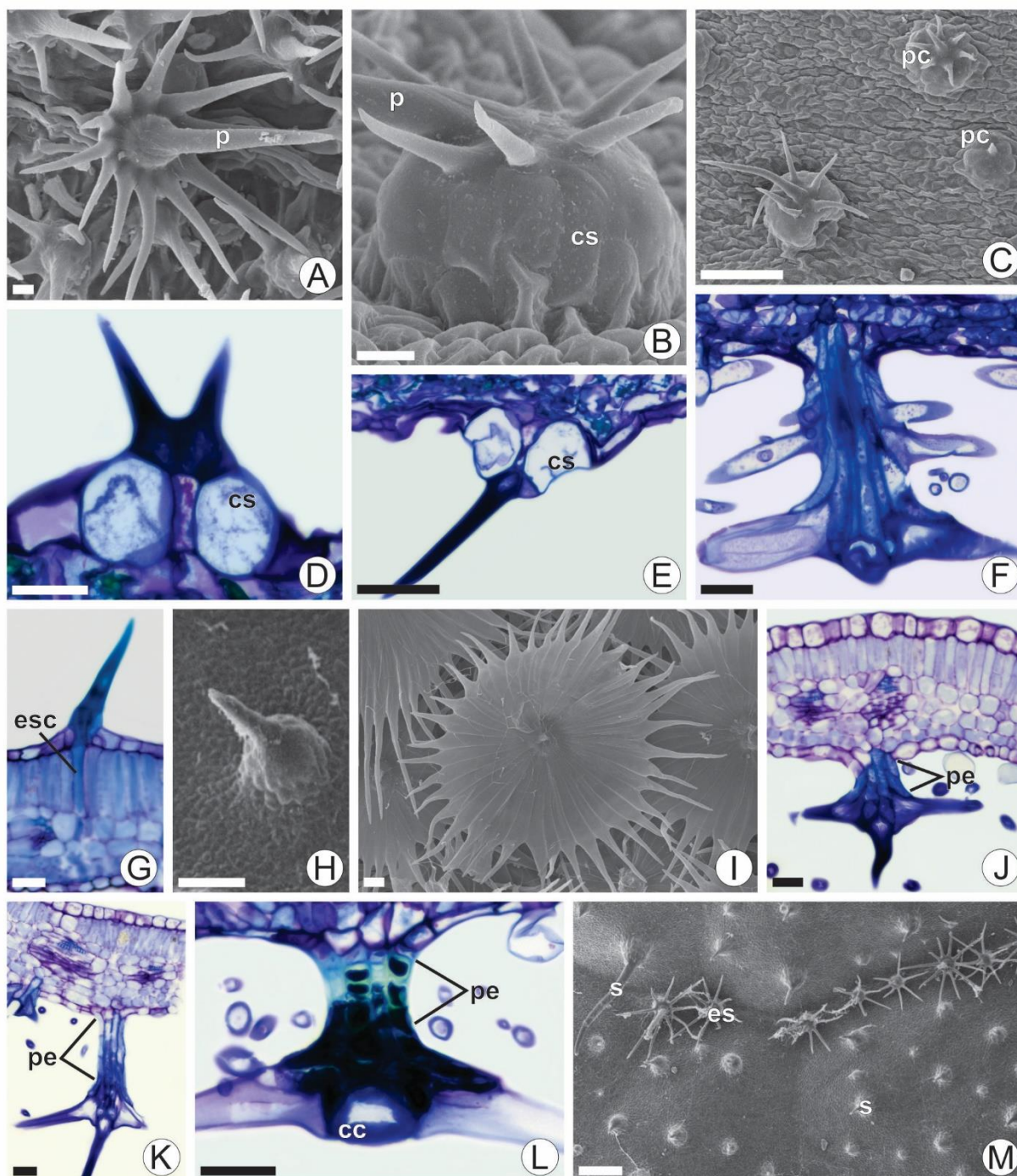


Figura 3. Descrição das emergências dos tricomas presentes na lâmina foliar de *Croton floribundus* (A, F), *C. tetradenius* (B-E), *C. compressus* (G). *C. anomalus* (H, J, K, M). *C. argyrophyllus* (I) e *C. tricolor* (L), em microscopia eletrônica de varredura (A-C, H, I, M) e corte transversal em microscopia de luz (D-G, J-L). Faces adaxial (H, M) e abaxial (A-C, I). A. Tricoma estrelado porrecto. B. Emergência *pin-cushion* com várias células do raio. C. Emergências *pin-cushion* com várias células e com uma célula do raio. D. Emergência *pin-cushion* evidenciando as células secretoras. E. Emergência *pin-cushion* com uma célula do raio e células secretoras. F. Tricoma dendrítico. G. Emergência simples na mesma altura das demais células epidérmicas. H. Tricoma simples com as células vizinhas elevando o tricoma. I. Tricoma buplepidoto. J. Tricoma estrelado porrecto com pedúnculo curto. K. Tricoma estrelado porrecto com pedúnculo longo. L. Detalhe do tricoma sublepidoto. M. Tricomas estrelados porrecto restritos às nervuras e tricomas simples restritos à região intercostal. Barras de escala: A, B, G, I, K = 20 µm; C = 100 µm; D-F, H, J = 50 µm; L = 30 µm; M = 200 µm. Abreviações: cc = célula central, cs = célula secretora, es = estrelado, esc = esclereide, p = braço porrecto, pc = *pin-cushion*, pe = pedúnculo, s = simples.

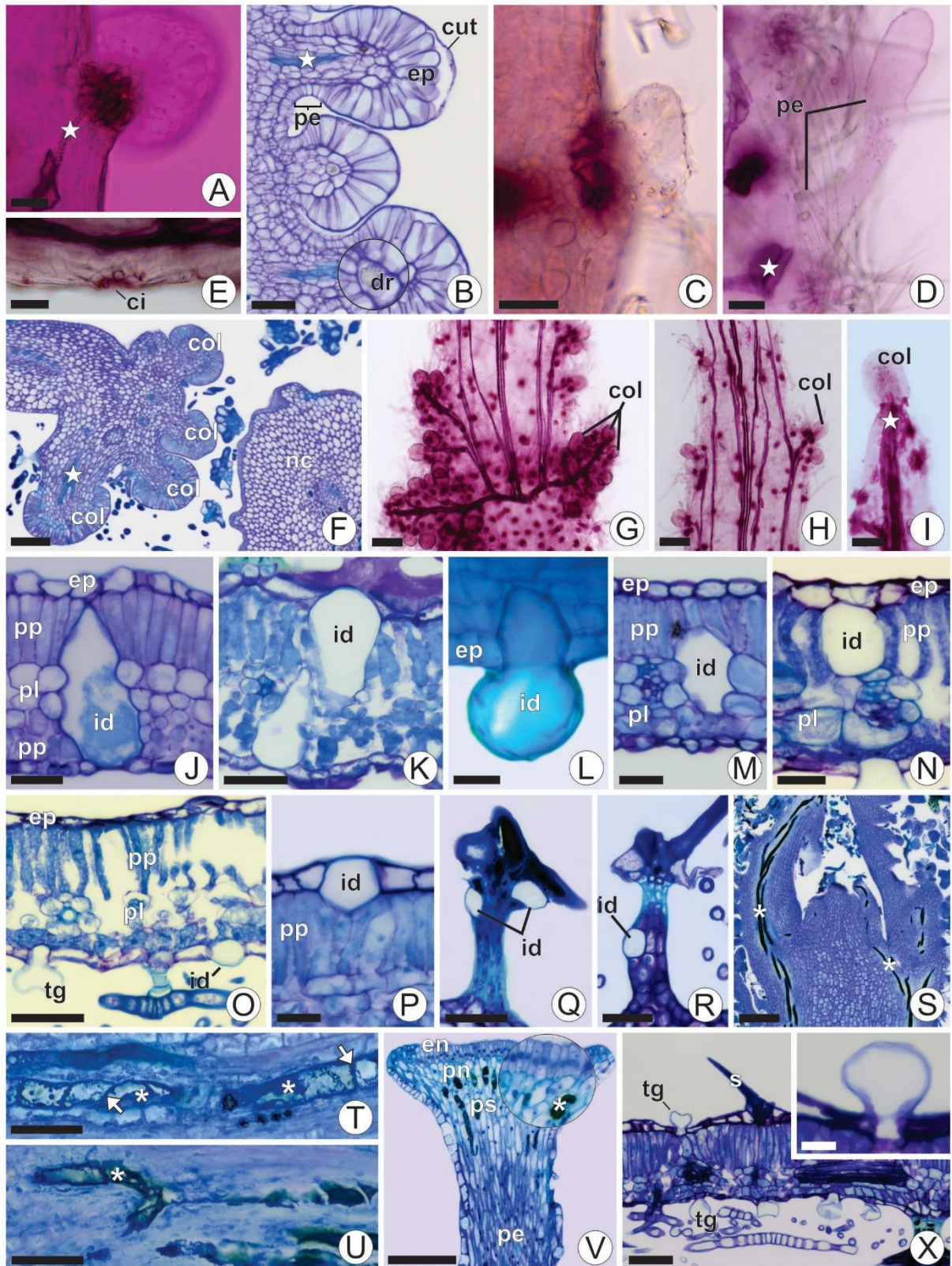


Figura 4. Diversidade das estruturas secretoras na lâmina foliar em diafanização (A, C-E, G-I), corte longitudinal (B, S-V) e transversal (F, J-R, X). *C. compressus* (A, M), *C. anomalus* (B), *C. tricolor* morfotipo 1 (C, P), *C. lindheimeri* (D), *C. sacaquinha* (E, N, O), *C. curranii* (F, J, L, Q), *C. laceratoglandulosus* (G, H, I, R), *C. luetzelburgii* (K), *C. jacobinensis* (S), *C. sucrensis* (T, U), *C. lundianus* (V), *C. tricolor* morfotipo 2 (X). A. Coléter vascularizado na margem. B. Coléteres no primórdio foliar com pedúnculo curto e detalhe da drusa no parênquima do eixo axial. C. Coléter não vascularizado na margem. D. Coléter com pedúnculo longo na margem. E. Cicatriz de coléter na margem. F. Região basilaminar/acropiolar com aglomerado de coléteres. G. Base da estípula com

aglomerado de coléteres. **H.** Região mediana da estípula com coléteres marginais. **I.** Ápice da estípula com um coléter. **J.** Idioblasto secretor na extensão do mesofilo e interrompendo a epiderme abaxial. **K.** Idioblastos secretor na extensão do mesofilo e interrompendo a epiderme adaxial e abaxial. **L.** Idioblasto secretor acima do nível das células epidérmicas na lâmina foliar jovem. **M.** Idioblasto secretor imerso entre o parênquima paliçádico e lacunoso. **N.** Idioblasto secretor no parênquima paliçádico. **O.** Idioblasto secretor e tricoma glandular na face abaxial. **P.** Idioblasto secretor interrompendo a epiderme adaxial com parte no parênquima paliçádico. **Q.** Idioblasto secretor na inserção do raio com o pedúnculo no tricoma estrelado. **R.** Idioblasto secretor no pedúnculo do tricoma estrelado. **S.** Laticíferos de origem procambial. **T.** Laticíferos articulados e não anastomosados. **U.** Laticíferos com ramificação em “Y”. **V.** Nectário extrafloral. **X.** Tricomas glandulares em ambas as faces da lâmina foliar e detalhe do tricoma glandular. Barras de escala: **A, C, F, S, U** = 100 μm ; **B, J** = 30 μm ; **D, E, K, O, Q, R, T, X** = 50 μm ; **G-I, V** = 200 μm ; **J** = 30 μm ; **M, N, P** = 20 μm . Abreviações: ci = cicatriz, col = coléter, cut = cutícula, dr = drusa, en = epiderme nectarífera, ep = epiderme, id = idioblasto, pe = pedúnculo, pl = parênquima lacunoso, pn = parênquima nectarífero, pp = parênquima paliçádico, ps = parênquima subnectarífero, nc = nervura central, s = simples, tg = tricoma glandular. Estrela indica vascularização, asterisco indica laticífero, seta indica parece celular.

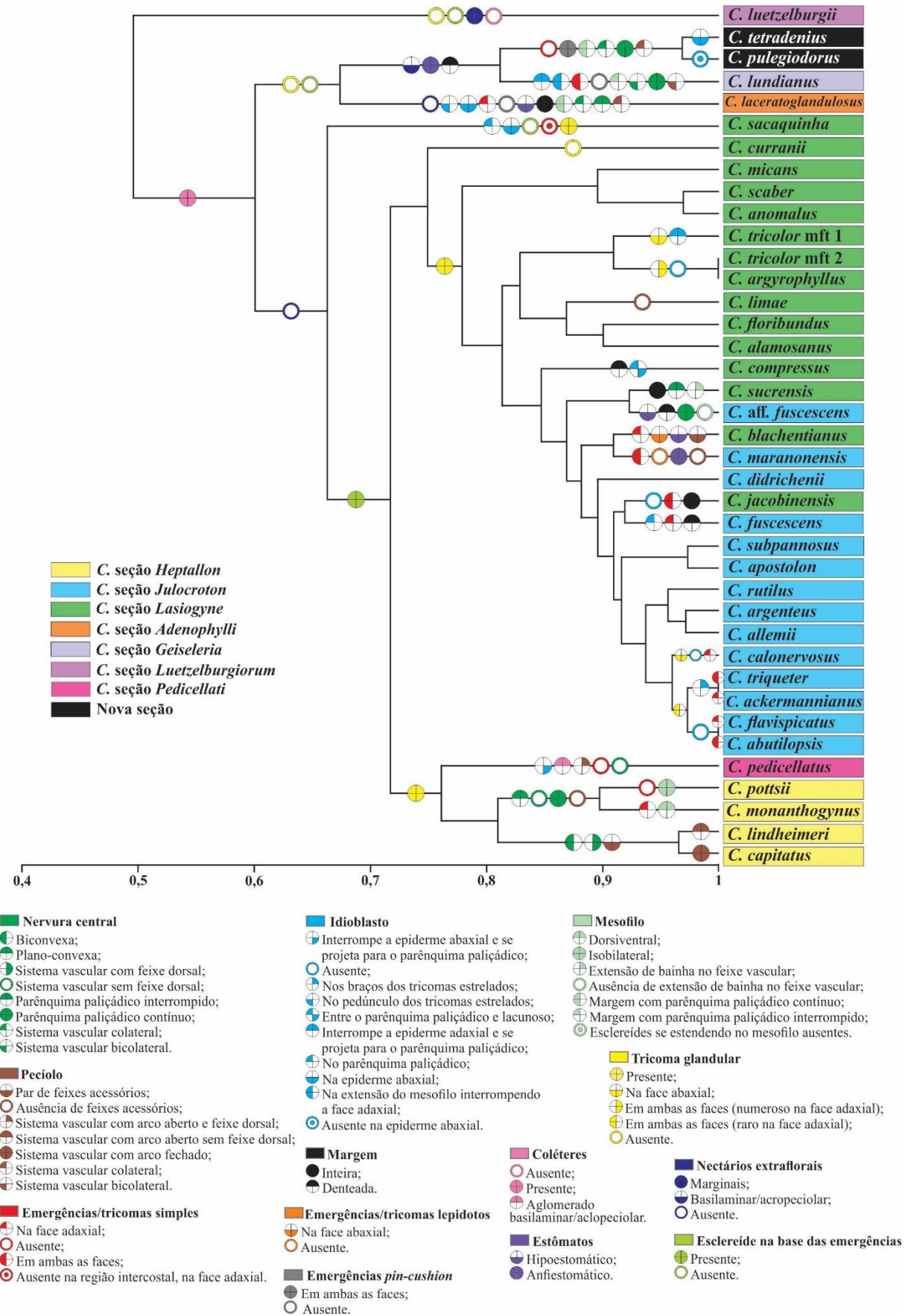


Figura 5. Dendrograma resultado da análise de agrupamento realizada no programa MVSP versão 3.22 (Multi Variate Statistical Package, software) utilizando Sorensen's Coefficient.

Apêndice 1. Lista dos caracteres morfoanatômicos e micromorfológicos analisados nas espécies de *Croton* seções *Heptallon*, *Julocroton*, *Lasyogine* e grupo externo (seções *Adenophylli*, *Geiseleria*, *Luetzelburgiorum* e *Pedicellati*)

Nº	Caracteres
1	Coléteres: (0) ausente; (1) presente
2	Coléteres marginais: (0) ausente; (1) presente
3	Aglomerado de coléteres basilaminar/acropeciolar: (0) ausente; (1) presente
4	Coléteres vascularizados: (0) ausente; (1) presente – não aplicável
5	Nectários extraflorais (NEFs): (0) ausente; (1) presente
6	NEFs marginais: (0) ausente; (1) presente
7	NEFs basilaminar/acropeciolar: (0) ausente; (1) presente
8	Tricomas glandulares: (0) ausente; (1) presente
9	Tricomas glandulares, posição na lâmina foliar: (0) adaxial; (1) abaxial – não aplicável
10	Tricomas glandulares na face adaxial, ocorrência: (0) rara; (1) numerosa – Não aplicável
11	Idioblastos: (0) ausente; (1) presente
12	Idioblastos secretores nos tricomas/emergências estrelados: (0) na inserção dos braços com o pedúnculo; (1) no pedúnculo – não aplicável
13	Idioblastos secretores na epiderme abaxial: (0) ausente; (1) presente
14	Idioblastos secretores interrompendo a epiderme com parte no parênquima: (0) adaxial; (1) abaxial – não aplicável
15	Idioblastos no parênquima paliçádico: (0) ausente; (1) presente
16	Idioblastos na extensão do mesofilo interrompendo a epiderme: (0) face abaxial; (1) ambas as faces – não aplicável
17	Idioblastos imersos entre o parênquima paliçádico e o parênquima lacunoso: (0) ausente; (1) presente
18	Laticíferos: (0) ausente; (1) presente
19	Tricomas/emergências simples: (0) ausente; (1) presente
20	Tricomas/emergências simples, ocorrência: (0) adaxial; (1) abaxial – não aplicável
21	Tricomas/emergências estrelado porrecto em ambas as faces: (0) ausente; (1) presente
22	Tricomas/emergências estrelados na face adaxial, distribuição: (0) restritos às nervuras; (1) aleatoriamente
23	Tricomas/emergências estrelados na face adaxial, se restritos: (0) tricomas simples ausentes; (1) tricomas simples na região intercostal – não aplicável
24	Emergências <i>pin-cushion</i> em ambas as faces: (0) ausente; (1) presente
25	Emergências do tipo dendrítico na face abaxial: (0) ausente; (1) presente

-
- 26 Emergências/tricomas lepidoto na face abaxial: **(0)** ausente; **(1)** presente
- 27 Posição dos estômatos na lâmina foliar: **(0)** hipoestomática; **(1)** anfiestomática
- 28 Tipo de mesofilo: **(0)** dorsiventral; **(1)** isobilateral
- 29 Extensão de bainha parenquimática nos feixes de menor calibre: **(0)** ausente; **(1)** presente
- 30 Esclereídes na base das emergências atravessando o mesofilo: **(0)** ausente; **(1)** presente
- 31 Margem: **(0)** inteira; **(1)** denteada
- 32 Margem foliar com parênquima paliçádico: **(0)** contínuo; **(1)** descontínuo
- 33 Contorno da nervura central: **(0)** biconvexa; **(1)** plano-convexa
- 34 Sistema vascular da nervura central: **(0)** colateral; **(1)** bicolateral
- 35 Conformação do sistema vascular da nervura central: **(0)** arco aberto; **(1)** arco fechado
- 36 Nervura central em arco aberto com um feixe dorsal: **(0)** ausente; **(1)** presente – não aplicável
- 37 Nervura central com parênquima paliçádico contínuo: **(0)** ausente; **(1)** presente
- 38 Sistema vascular do pecíolo: **(0)** colateral; **(1)** bicolateral
- 39 Conformação do sistema vascular do pecíolo: **(0)** arco aberto; **(1)** arco fechado
- 40 Pecíolo em arco aberto com feixes dorsais: **(0)** ausente; **(1)** presente – não aplicável
- 41 Pecíolo com um par de feixes acessórios: **(0)** ausente; **(1)** presente
-

Apêndice 2. Matriz binária com 39 espécies e 41 caracteres. (0) Ausência; (1) presença; (0/1) ambas as características; (?) não aplicável.

Caracteres	Espécies																																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39					
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0				
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0			
3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0			
4	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	?					
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1		
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1			
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0		
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0			
9	1	1	1	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1	0/1	1	0/1	1	1	0/1	0/1	0/1	0/1	1	1	0/1	0/1	1	?	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0/1	?	?	?	?	?			
10	?	?	?	?	0	0	0	0	0	?	0	?	0	?	?	0	0	1	0	?	?	1	0	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	1	?	?	?	?	?		
11	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1			
12	?	?	?	?	?	0	0	?	0	?	?	0	?	?	0	?	0	?	?	?	?	?	?	?	0	?	?	?	?	?	0	?	0	?	?	?	?	1	?	?	?	?		
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0			
14	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	1	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?		
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
16	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0	?	?	?	?	?	0	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0	?	?	?	1
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
18	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
19	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0		
20	?	?	0	?	0/1	0	0	0/1	0	0	0	0	0	?	0/1	0	0/1	0/1	0/1	0	0	0	0	0/1	?	0	0/1	0	0	?	0	0	0	0	0	0	0	0/1	?	?	?	?		
21	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1		
22	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
23	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	1	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0	1	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?		
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	

27	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0					
28	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1					
29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
30	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0				
31	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1			
32	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0		
33	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
34	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
36	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	?	1	1	?	?	1	1	1	?	0	?	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
37	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
38	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1
39	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
40	?	0	0	0	?	?	?	?	?	1	?	?	?	1	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	0
41	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

Legenda do nome das espécies: 1 - *C. capitatus*; 2 - *C. lindheimeri*; 3 - *C. monanthogynus*; 4 - *C. pottsii*; 5 - *C. abutilopsis*; 6 - *C. ackermannianus*; 7 - *C. allemii*; 8 - *C. apostolon*; 9 - *C. argenteus*; 10 - *C. calonervosus*; 11 - *C. didrichsenii*; 12 - *C. aff. fuscescens*; 13 - *C. flavispicatus*; 14 - *C. fuscescens*; 15 - *C. pedicellatus*; 16 - *C. maranonensis*; 17 - *C. rutilus*; 18 - *C. subpannosus*; 19 - *C. triqueter*; 20 - *C. alamosanus*; 21 - *C. anomalus*; 22 - *C. argyrophyllus*; 23 - *C. blanchetianus*; 24 - *C. compressus*; 25 - *C. curranii*; 26 - *C. floribundus*; 27 - *C. jacobinensis*; 28 - *C. limae*; 29 - *C. micans*; 30 - *C. sacaquinha*; 31 - *C. scaber*; 32 - *C. sucrensis*; 33 - *C. tricolor* mft 1; 34 - *C. tricolor* mft 2; 35 - *C. laceratoglandulosus*; 36 - *C. lundianus*; 37 - *C. pulegiodoris*; 38 - *C. tetradenius*; 39 - *C. luetzelburgii*.

CAPÍTULO IV

Revelando o desenvolvimento incomum do idioblasto secretor de óleo-resina de *Croton rottlerifolius*, uma árvore de mata seca

(A ser submetido no periódico *Protoplasma*)

Resumo

Este estudo objetivou descrever a origem e o desenvolvimento dos idioblastos secretores incomuns que ocorrem nas folhas de *Croton rottlerifolius* Baill (Euphorbiaceae, Crotonoideae). As amostras foram processadas para análise em microscopia de luz e eletromicroscopia de varredura e de transmissão. Testes histoquímicos foram aplicados para detecção de diferentes classes de substâncias químicas. Os idioblastos secretores se originam de uma inicial protodérmica, a qual se destaca dentre as demais células meristemáticas pelo maior volume e por se projetar acima da superfície foliar. Esta célula tem crescimento intrusivo, penetrando no mesofilo por entre as células do meristema fundamental. Ao final do desenvolvimento, o idioblasto secretor pode se estender por quase todo o mesofilo. A secreção contida no citoplasma do idioblasto é hidrofóbica, composta por óleo-resinas. No citoplasma do idioblasto o retículo endoplasmático agranular e os leucoplastos estão de acordo com a síntese dos compostos lipofílicos (óleo-resinas) evidenciados pelos testes histoquímicos. A presença de fissuras na superfície que recobre o idioblasto pode estar evolvida com a eliminação da porção não volátil, enquanto a porção volátil da óleo-resina detectada nos testes histoquímicos pode ser liberada pela volatilização. Os resultados obtidos demonstram que estes idioblastos são homólogos e análogos aos tricomas secretores unicelulares de *Croton*, pois são comuns em sua origem e composição da secreção.

Palavras-chave: Anatomia. Crotonoideae. Histoquímica. Micromorfologia. Ontogenia. Ultraestrutura.

Introdução

Idioblastos secretores são células isoladas que diferem das suas circunvizinhas em forma, tamanho e natureza química da secreção (Foster 1956; Evert 2013). Podem sintetizar mucilagens, óleos essenciais, resinas e taninos, os quais são mantidos no interior da célula (Fahn 1979). De acordo com Fahn (1988), as estruturas secretoras evoluíram a partir de idioblastos secretores distribuídos entre os tecidos das plantas, os quais se agruparam em estruturas mais complexas e deram origem aos ductos e cavidades em tecidos internos e aos tricomas secretores na epiderme. Entretanto, a confirmação dessa hipótese carece de dados experimentais.

Em Euphorbiaceae, idioblastos secretores de taninos, resinas e óleos são comuns (Metcalf e Chalk 1950). Nas espécies de *Croton*, eles podem conter compostos fenólicos, alcaloides, proteínas (Feio et al. 2016) e compostos de natureza lipofílica, e sua localização pode variar na lâmina foliar, algumas vezes representando caracteres típicos ao nível de seções (Vitarelli et al. 2015; Feio et al. 2016). Idioblastos secretores que se estendem do mesofilo até a epiderme, se projetando para a superfície externa da lâmina foliar foram observados em *Croton fragrans* Kunth e *Croton rotterifolius* Baill., espécies circunscritas na seção *Cleodora*, subseção *Spruceani* (Vitarelli et al. 2015) e de *Croton curranii* S.F. Blake da seção *Lasiogyne* (Silva 2023, capítulo III). Esse padrão de externalização não é usual para idioblastos secretores e intriga quanto a sua origem que pode ser pela atividade do meristema fundamental ou da protoderme. Estudos ontogenéticos e ultraestruturais desses idioblastos secretores não usuais são necessários para esclarecer a sua origem, e assim assegurar uma classificação mais clara, o que pode resultar em um marcador micromorfológico importante para a taxonomia do grupo.

Em Euphorbiaceae, muitas espécies são reconhecidas como medicinais (Di Stasi e Hiruma-Lima 2002; Feio et al. 2016). Dentre elas, incluem-se diferentes espécies de *Croton* que são utilizadas na medicina tradicional (Di Stasi e Hiruma-Lima 2002; Salatino et al. 2007). Nas folhas das espécies de *Croton*, são reconhecidas estruturas secretoras como coléteres, idioblastos secretores, laticíferos, nectários extraflorais (NEFs) e tricomas glandulares (Sá-Haiad et al. 2009; Vitarelli et al. 2015; 2021; Riina et al. 2015; Feio et al. 2016; 2018; Miranda et al., em preparação), mas nem sempre o sítio de síntese dos compostos de interesse medicinal são identificados.

Nas plantas, as estruturas secretoras são complexas devido às características morfológicas, citológicas e quanto a sua função nas plantas (Lüttge 1971). As diversas classes de compostos químicos sintetizados podem ser acumuladas no interior do vacúolo ou em outros

compartimentos celulares, ou exsudadas para o exterior do protoplasto (Fahn 1979). A mesma estrutura secretora pode conter diferentes tipos de compostos químicos, assim como o mesmo composto químico também pode ser secretado por estruturas secretoras diferentes (Fahn 1979). As estruturas secretoras podem ser classificadas como internas, inseridas nos diferentes tecidos, e externas, encontradas na superfície das plantas (Evert 2013). O secretado possui várias funções ecológicas, como atração de polinizadores, dispersores de sementes e proteção contra ação de patógenos e herbívoros (Fahn 1988). Em *C. rottlerifolius*, foi descrito um idioblasto que ocupa posição intermediária entre o interior da folha (parte fica no mesofilo) e o exterior (parte se projeta para fora da epiderme). Assim, os estudos ontogenéticos esclarecem se esse idioblasto é uma estrutura interna que pertence ao mesofilo por ser originado do meristema fundamental, ou se é uma célula especializada da epiderme, formada pela atividade da protoderme, exibindo um crescimento para o interior da folha. Já, o esclarecimento da composição das secreções produzidas ampliam o conhecimento da diversidade química das estruturas secretoras no gênero *Croton*, com potenciais implicações para a taxonomia e sistemática do grupo.

Croton rottlerifolius é uma espécie nativa, arbustiva ou arbórea que atinge até 6 m de altura e pode ser encontrada em florestas sazonalmente secas. Ocorre no Brasil, nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Bahia (Santos et al. 2017; Caruzo et al. 2023). Trata-se de uma espécie potencialmente importante para investigações futuras sobre a atividade biológica dos produtos secretados pelos idioblastos foliares.

Este estudo objetivou analisar o desenvolvimento dos idioblastos secretores não usuais na lâmina foliar de *C. rottlerifolius*, visando esclarecer a sua origem ontogenética. Além disso, as classes de compostos químicos presentes e a ultraestrutura da célula secretora foi descrita.

Material e métodos

Material vegetal

Amostras foliares de três espécimes de *Croton rottlerifolius* foram coletadas no entorno do Parte Nacional da Serra do Cipó, em Santana do Riacho, Minas Gerais, Brasil. Uma muda da planta também foi coletada e cultivada no Horto Botânico do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Amostras do material vegetal está em processo de indexação no Herbário da UFV (Herbário VIC).

Microscopia de luz

Para os estudos ontogenéticos, foram coletadas e fixadas amostras de ápices caulinares, de folhas jovens (primeiro e segundo nó, após o ápice caulinar) e de folhas completamente expandidas (terceiro e quarto nó, após o ápice caulinar). As amostras foram fixadas em FNT (formalina neutra tamponada) por 72h, lavadas em água destilada e estocadas em etanol 70%. Em seguida, as amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em resina metacrilato (Historresina, Leica), seguindo as recomendações do fabricante. Foram realizados cortes longitudinais e transversais dos primórdios foliares em diferentes etapas do desenvolvimento. Os cortes foram obtidos em micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM2265, Deerfield, IL, US) a 5-6 μm de espessura, corados com azul de Toluidina em pH 4.4 (O'Brien et al. 1964) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética *Permount* (Fisher[®]).

Os testes histoquímicos foram realizados nos cortes obtidos das amostras de folhas jovens e folhas completamente expandidas. Para isso, os seguintes reagentes foram utilizados: Sudan black B (Pearse 1972) e Sudan red B (Brundrett et al. 1991) para lipídios totais; reagente de Nadi (David e Carde 1964) para óleos essenciais e oleorresinas; Lugol (Johansen 1940) para amido; e PAS (reagente de Schiff/ácido periódico) (O'Brien e McCully 1981), vermelho de rutênio (Johansen 1940) para verificar a mucilagem e pectinas da parede celular; XP (*xilidine Ponceau*) (Vidal 1970) para proteínas; cloreto férrico para compostos fenólicos (Johansen 1940); e reagente de Wagner para alcaloides (Furr e Mahlberg 1981). Para os testes com Nadi, Sudan red B e reagente de Wagner, os cortes foram realizados em amostras obtidas da planta cultivada no Horto Botânico da UFV. Para os demais testes, foram utilizados cortes de amostras incluídas em resina metacrilato.

Os resultados foram documentados em microscópio de luz (AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan) com câmera fotográfica digital acoplada (AxioCam HRc, Göttinger, Germany).

Microscopia eletrônica de varredura

Foram utilizadas amostras da região mediana da lâmina foliar completamente desenvolvidas. Essas amostras foram fixadas em FNT por 72h e desidratadas em série etanólica. Em seguida, foram submetidas ao Ponto Crítico com CO₂ (030 CPD Bal-Tee; Liechtenstein) cobertas com ouro no Metalizador (Sputter Coater, Quorum Q150RS) e montadas em *stubs* (Bozzola e Russel 1991). Para a obtenção das imagens, foi utilizado o Microscópio Eletrônico

de Varredura Leo, 1430VP (Zeiss, Cambridge, United Kingdom) do Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (NMM-UFV).

Microscopia eletrônica de transmissão

Fragmentos de aproximadamente 1 mm² do ápice caulinar, de folhas jovens e de folhas completamente expandidas foram coletados. As amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio (0,1M, pH 7,2) por 12h, lavadas no mesmo tampão e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% por 2h. Em seguida, as amostras foram lavadas em água destilada e contrastadas em bloco em solução aquosa de acetato de uranila a 0,5% *overnight* (Bozzola e Russell 1991). As amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em resina LR White (Sigma[®]), seguindo as recomendações do fabricante. Para inclusão, utilizou-se cápsulas de gelatina (Polysciences[®]) e o material incluído foi polimerizado em estufa a 60°C por 24h.

Os cortes ultrafinos (60 nm) foram realizados em ultramicrotomo Leica EM UC7 e coletados em telas de cobre (Electron Microscopy Sciences[®]). As telas contendo os cortes ultrafinos foram contrastadas em acetato de uranila a 5% por 20-30 min. e em citrato de chumbo por 5 min. As análises ultraestruturais foram realizadas no microscópio eletrônico de transmissão Jeol, JEM-2100, no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e no Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV.

Resultados

Ontogenia e histoquímica do idioblasto secretor

Nos primórdios foliares de aproximadamente 1 cm de comprimento, é possível observar o procâmbio e a protoderme em diferentes fases da divisão celular (Fig. 1A). Nesse estágio de desenvolvimento foliar, ocorrem células protodérmicas especializadas que originam os idioblastos secretores (Fig. 1A-G). O desenvolvimento desses idioblastos é precoce e assincrônico.

No início da diferenciação do idioblasto secretor nos primórdios foliares, observa-se uma célula protodérmica mais volumosa, comparada às demais células meristemáticas que são pequenas, possuem citoplasma denso, paredes finas e algumas delas encontram-se divisão celular (Fig. 1B). O núcleo e nucléolo da célula inicial do idioblasto tornam-se proeminentes e

numerosos e diminutos vacúolos são formados (Fig. 1B). No estágio seguinte, maior quantidade de vacúolos se forma, e observa-se fusão entre eles (Fig. 1C), originando um único vacúolo mais volumoso, o qual se posiciona na extremidade apical da célula, formando um domo acima da superfície foliar (Fig. 1D). Concomitantemente, o núcleo é deslocado para a porção basal da célula (Fig. 1E). O vacúolo torna-se cada vez mais volumoso, e exerce uma pressão, que promove o deslocamento das organelas citoplasmáticas e do núcleo em direção ao mesofilo (Fig. 1F). Nesse estágio é possível observar as células do meristema fundamental na etapa de metáfase da divisão celular (Fig. 1F). A atividade metabólica intensa na célula induz uma força contrária, que promove o aumento do vacúolo e sua expansão para o exterior da superfície epidérmica, se projetando ainda mais acima do nível da superfície foliar (Fig. 1F). A força exercida pelo aumento do volume vacuolar que pressiona o citoplasma do idioblasto secretor no sentido oposto, determina o crescimento intrusivo desta célula, que se insere por entre as células do meristema fundamental subepidérmico voltado apenas para a face abaxial (Fig. 1F, G). Ao final do desenvolvimento, o idioblasto ocupa grande parte do mesofilo (Fig. 1H) e, na folha completamente expandida, o idioblasto ainda pode ser observado se estendendo acima da superfície foliar (Fig. 1I).

A secreção reagiu positivamente para o teste com Sudan black B e Sudan red B, revelando a presença de lipídios totais na célula secretora de folhas jovens (Fig. 2A) e completamente expandidas (Fig. 2B). O reagente de Nadi corou em violeta as gotas de secreção no citoplasma, o que evidencia a presença de óleo-resinas em ambos os estágios de desenvolvimento da folha (Fig. 2C, D). Contudo, nas folhas completamente expandidas, poucas células reagiram positivamente ao Nadi, diferentemente dos idioblastos de folhas jovens.

O teste com o lugol, detectou a presença de grãos de amido no citoplasma do idioblasto secretor de folhas jovens (Fig. 2E), enquanto, nos idioblastos secretores das folhas completamente expandidas (Fig. 2F) o resultado foi negativo. Grãos de amido também foram evidenciados pelo reagente Schiff/ácido periódico para a detecção de grão de amido (Fig. 2G, H). Proteínas ocuparam a maior parte do citoplasma dos idioblastos nas folhas jovens (Fig. 2I), diferentemente da folha completamente expandida que possui menor área de reação para o reagente de *Xilidine Ponceau* (Fig. 2J), em consequência do aumento do vacúolo. A parede das células secretoras, de ambos os estágios de desenvolvimento foliar, revelou a presença de polissacarídeos neutros (Fig. 2G, H), e pectinas evidenciadas pelo vermelho de rutênio (Fig. 2K, L). A célula secretora reagiu negativamente aos testes para detecção de compostos fenólicos e alcaloides.

Ultraestrutura e micromorfologia do idioblasto secretor

Durante o desenvolvimento do idioblasto secretor, que ocorre nos primórdios foliares, é possível observar pequenos vacúolos coalescendo e formando um único vacúolo voltado para a porção apical da célula secretora (Fig. 3A, B). Conseqüentemente, o citoplasma torna-se comprimido junto a parede celular (Fig. 3A) e o núcleo é deslocado para a porção basal da célula (Fig. 3C).

O idioblasto secretor, no início da sua diferenciação, possui núcleo conspícuo com eucromatina no nucleoplasma (Fig. 3D), evidenciando o alto potencial de transcrição de uma célula secretora metabolicamente ativa. O nucléolo é bem desenvolvido e bastante evidente (Fig. 3D). O citoplasma é rico em ribossomos e apresenta uma quantidade significativa de mitocôndrias com cristas conspícuas, plastídios com tilacoides pouco desenvolvido e grande quantidade de grãos de amido, retículo endoplasmático rugoso (RER) e dictiossomos (Fig. 3E, F). Junto aos dictiossomos, localizado próximo ao vacúolo e à membrana plasmática, é possível observar vesículas se fundindo à membrana plasmática do idioblasto secretor (Fig. 3G) e do vacúolo (Fig. 3H). Plasmodesmos foram observados atravessando as paredes do idioblasto secretor e das células protodérmicas vizinhas, interconectando os citoplasmas (Fig. 3C). Na fase secretora, foram observados retículo endoplasmático agranular próximos aos dictiossomos (Fig. 3I, J) e secreção no espaço periplasmático (Fig. 3J). É interessante notar que a parede periclinal externa no domo do idioblasto secretor exhibe aspecto frouxo, evidenciando um desarranjo nessa região (Fig. 3J).

Nas folhas jovens, em uma perspectiva do corte transversal, os idioblastos são vistos com um maior volume externo à superfície foliar (Fig. 1G, H; 2A, E, I, C, G, K). Já nas folhas completamente expandidas, eles são observados com pouco volume externo à superfície foliar (Fig. 1A; 2B, F, J, D, H, L). No entanto, em vista frontal, na microscopia eletrônica de varredura, os idioblastos presentes nas folhas completamente expandidas, estão com diferentes volumes externo à epiderme (Fig. 1B; 4A). Aparentemente, existe uma relação entre a quantidade de secreção acumulada e o aumento no volume do idioblasto. Após a pressão exercida pelo protoplasto devido ao acúmulo de secreção (Fig. 4B), a célula se torna irregular (Fig. 4C) e a parede periclinal externa se rompe (Fig. 4D), eliminando a secreção para o meio externo. Em seguida, o idioblasto secretor diminui o volume localizado externamente à superfície foliar (Fig. 4A).

Discussão

O idioblasto secretor de *Croton rottlerifolius* exibe um desenvolvimento não usual entre os idioblastos secretores, pois essas células não estão restritas ao tecido interno da planta, além de eliminar a secreção sem que ocorra alguma injúria no tecido vegetal. Os idioblastos secretores que podem ocupar todo o mesofilo e se externalizam acima do nível da superfície foliar foram observadas em outras espécies de *Croton*, pertencente a seção *Cleodora* subseção *Spruceani* (Vitarelli et al. 2015) e seção *Lasiogyne* (Silva 2022, cap. III). Entretanto a origem e o desenvolvimento dessas células não havia sido descrita para *Croton*. Em *Piper umbellatum* L. (Piperaceae), idioblastos secretores de origem protodérmica possuem crescimento intrusivo, mas diferentemente do descrito para *C. rottlerifolius*, ele é observado em uma leve depressão ou no mesmo nível das demais células epidérmicas (Marinho et al. 2011), nunca se externalizando.

Os estudos ontogenéticos são imprescindíveis para determinar a origem dos idioblastos secretores, que são diversamente distribuídos na lâmina foliar das espécies de *Croton*. O conhecimento da origem destas estruturas permitirá interpretações adequadas quanto a homologia de estruturas epidérmicas como os idioblastos e tricomas, que pode resultar em uma interpretação sobre a evolução deste atributo em táxons infragenéricos de *Croton*, já que os idioblastos no mesofilo, tanto podem ter origem do meristema fundamental quanto da protoderme. Segundo Fahn (1988), durante o curso da evolução, as estruturas secretoras parecem ter se desenvolvido a partir de idioblastos secretores distribuídos entre os tecidos das plantas. Subsequentemente, ductos e cavidades se desenvolveram e, finalmente tricomas secretores. Entretanto, nossos resultados mostram uma estrutura de origem epidérmica com crescimento intrusivo.

O idioblasto secretor em *C. rottlerifolius* é uma estrutura homóloga aos tricomas glandulares unicelulares presentes nas espécies da seção *Lamprocroton* (exceto *C. imbricatus* L.R.Lima & Pirani) estudadas por Vitarelli et al. (2015). Ambas estruturas são exclusivamente originadas de células protodérmicas, ocorrem voltadas exclusivamente para a face abaxial, secretam a mesma classe de compostos químicos e não coexistem. Além disso, nas espécies da seção *Cleodora* estudadas por Vitarelli et al. (2015), onde não ocorreu tricomas glandulares, ocorreram idioblastos secretores na face abaxial, sendo interpretadas como estruturas mutualmente excludentes.

Segundo Fahn (1979), o mesmo composto químico pode ser secretado por estruturas secretoras diferentes. Os idioblastos secretores em *C. seção Cyclostigma* apresentaram compostos de natureza mista com substâncias lipofílicas e hidrofílicas (Feio et al. 2016). Portanto, tanto os idioblastos quanto os tricomas glandulares podem ser os sítios de síntese dos aromas produzidos por espécies de *Croton*. Durante os trabalhos de campo, foi possível sentir o aroma agradável exalando das plantas coletadas de *C. rottlerifolius*, e os resultados obtidos no presente trabalho indicam ser os idioblastos as estruturas responsáveis pela produção desse aroma

A presença de amido no citoplasma do idioblasto secretor de folhas jovens e sua ausência nas folhas completamente expandidas, revela a utilização desse polissacarídeo como fonte de energia para a síntese de secreção. O consumo de amido na fase secretora foi descrito nos osmóforos de algumas espécies de *Solanum* (Falcão e Stehmann 2018). Proteínas ocupando grande parte da célula secretora em folhas jovens, evidencia a célula com citoplasma denso e em alta atividade metabólica.

A parede celular dos idioblastos secretores é polissacarídica e possui pectinas nas folhas jovens e completamente expandidas. Nas folhas completamente expandidas, a presença de proteínas revelou um citoplasma comprimido, pelo aumento do vacúolo. Essas características ultraestruturais demonstram que, mesmo no final do desenvolvimento, as células permanecem vivas. Diferente do que foi reportado para idioblastos secretores mucilaginosos, nos quais é comum a completa degeneração do protoplasto no estágio final de desenvolvimento (Trachtenberg e Fahn 1981), e os idioblastos secretores de óleo e mucilagem em Laurales e Magnoliales, que são caracterizados pela deposição de suberina na parede celular primária (Bakker et al 1992; Bakker e Baas 1993).

A óleo-resina representa uma mistura de compostos terpênicos voláteis e não voláteis (Fahn 1979). Os compostos voláteis eliminados pelas flores podem ser uma importante estratégia para atração de polinizadores (Tölke et al. 2018) e inibição do crescimento de fungos patogênicos (Marques et al. 2015). Além disso, os compostos secretados pelas plantas podem conferir um mecanismo de defesa contra a ação de animais fitófagos (Fahn 1979). No presente estudo, os idioblastos secretores correspondem ao sítio de síntese do aroma característico da espécie. Esse aroma e a óleo-resina identificada, indica *C. rottlerifolius* como potencial produtora de compostos de interesse farmacológico.

Numerosas mitocôndrias, plastídios contendo grãos de amido, RE granular, RE agranular, dictiossomas bem desenvolvidos e numerosos vacúolos foram observados no idioblasto secretor de *C. rottlerifolius*. As mitocôndrias são sítios de síntese de ATP (Buchanan et al. 2015), conferindo energia necessária para síntese dos compostos secretados (Fahn 1979). Além disso, O RE granular reflete grande atividade metabólica na célula secretora. Os dictiossomas ocupam uma posição central na via secretora, recebe proteínas e lipídeos sintetizados do RE e pode direcioná-los, através de vesículas para eliminar a secreção (Buchanan et al. 2015). Em *C. rottlerifolius*, as vesículas derivadas dos dictiossomas estão participando da formação dos vacúolos (rede TRANS-GOLGI) e no crescimento da célula secretora pela adição de glicolipídios na membrana plasmática (Buchanan et al. 2015).

A síntese das substâncias lipofílicas no idioblasto secretor de *C. rottlerifolius* envolve a participação dos plastídios e do RE agranular, organelas evidentes nas análises ultraestruturais. Fahn (1979) enfatiza que no citoplasma das células secretoras de compostos lipofílicos, as mitocôndrias, os dictiossomas, o retículo endoplasmático e principalmente os plastídios são organelas evidentes e numerosas. Grande quantidade de RE agranular, plastídios com tilacóides pouco desenvolvido e com acúmulo de substâncias osmiofílicas no estroma foram interpretados como organelas envolvidas na síntese e secreção de óleo-resina no ducto secretor de *Artemisia campestris* L. Os autores mostram que provavelmente os plastídios estão envolvidos na síntese de óleo-resina e o RE agranular está envolvido no transporte citoplasmático da secreção até a sua exsudação para o lúmen do ducto (Ascensão e Pais 1988). Evidência semelhante foi revelada pela análise ultraestrutural dos idioblastos secretores de *C. rottlerifolius* no presente trabalho.

Nos idioblastos secretores de *C. rottlerifolius*, a secreção lipofílica é transportada por vesículas do RE agranular e se acumula no espaço periplasmático. O processo de eliminação da secreção, provavelmente ocorre pela volatilização da secreção e por meio de uma fissura na parede periclinal externa do idioblasto e conseqüente exsudação dos compostos não voláteis. Em *Chamaecrista dentata* (Vogel) H.S. Irwin & Barneby o conteúdo do tricoma glandular de óleo-resina é liberado por um poro apical formado pelo rompimento do ápice do tricoma por contato mecânico (Meira et al. 2014). Em *C. rottlerifolius*, a fissura provavelmente ocorre na região em que a parede celular está em contato com o tonoplasto, formando uma área de maior fragilidade.

Conclusões

Este estudo descreve pela primeira vez a origem e o desenvolvimento dos idioblastos secretores não usuais em *Croton rottlerifolius*. A célula secretora se desenvolve a partir de uma inicial protodérmica, mas antes do crescimento intrusivo, ele se projeta acima do nível das demais células protodérmicas, só então cresce intrusivamente. A secreção é composta por substâncias lipídicas como óleo-resinas. A síntese da secreção ocorre nos plastídios e no RE agranular, o qual também está envolvido com o transporte do conteúdo até a membrana, e, posteriormente, para o espaço periplasmático. A eliminação da secreção provavelmente ocorre via desarranjo e rompimento da parede periclinal externa e pela volatilização das substâncias voláteis.

Referências

- Ascensão L, Pais MS (1988) Ultrastructure and histochemistry of secretory ducts in *Artemisia campestris* ssp. *maritima* (Compositae). Nord J Bot 8: 283: 292. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1988.tb01722.x>
- Bakker ME, Gerritsen AF, Van Der Schaaf PJ (1992) Leaf anatomy of *Cinnamomum schaeffer* (Lauraceae) with special reference to oil and mucilage cells. Blumea 37: 1-30.
- Bakker ME, Baas P (1993) Cell walls in oil and mucilage cells. Acta Bot Neerl 42: 133-139. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1993.tb00690.x>
- Bozzola JJ, Russell LD (1991) Electron microscopy: principles and techniques for biologists. Jones and Bartlett Publishers, Boston.
- Brundrett MC, Kendrick B, Peterson CA (1991) Efficient lipid staining in plant material with sudan red 7B or fluoral yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. Biotechnic & Histochemistry 66: 111-116.
- Caruzo MBR, Secco RS, Medeiros D, Riina R, Torres DSC, Santos RFD, Pereira APN, Rossine Y, Lima LR, Muniz Filho E, Valduga E. *Croton in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB35918>>. Acesso em: 02 mar 2023.
- David R, Carde JP (1964) Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academie des Sciences Paris, Série D 258:1338-1340.
- Di Stati LC, Hiruma-Lima CA (2002) Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2ª ed., São Paulo, UNESP.

- Evert RF (2013) Anatomia das Plantas de Esau. Blucher, São Paulo.
- Fahn A (1979) Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- Fahn A (1988) Secretory tissues in vascular plants. *New Phytol* 108: 229-257.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1988.tb04159.x>
- Falcão BF, Stehmann JR (2018) Functional anatomy reveals secretory activity in papillose anthers of a buzz-pollinated *Solanum* species (Cyphomandra clade – Solanaceae). *Plant Biol* 20: 654-661. <https://doi.org/10.1111/plb.12727>
- Feio AC, Riina R, Meira RMSA (2016) Secretory structures in leaves and flowers of two dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae): new evidence and interpretations. *Int J Plant Sci* 177: 511-522. <https://doi.org/10.1086/685705>
- Feio AC, Riina R, Meira RMSA (2018) Leaf anatomical features and their implications for the systematics of dragon's blood *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Bot J Linn Soc* 187: 614-632. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy038>
- Foster AS (1956) Plant idioblasts: remarkable examples of cell specialization. *Protoplasma* 46: 184-193. <https://doi.org/10.1007/BF01248877>
- Furr M, Mahlberg PG (1981) Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *J Nat Prod* 44: 153-159. <https://doi.org/10.1021/np50014a002>
- Johansen DA (1940) Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York, USA.
- Lüttge U (1971) Structure and function of plant glands. *Annu Rev Plant Physiol* 22: 23-44. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.22.060171.000323>
- Marinho CR, Zacaro AA, Ventrela MC (2011) Secretory cells in *Piper umbellatum* (Piperaceae) leaves: a new example for the development of idioblasts. *Flora* 206: 1052-1062. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2011.07.011>
- Marques JPR, Amorim L, Silva-Júnior GJ, Spósito MB, Appezzato-da-Glória B (2015) Structural and biochemical characteristics of citrus flowers associated with defence against a fungal pathogen. *AoB Plants*. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu090>
- Metcalf CR, Chalk L (1950) Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Clarendon Press, Oxford.
- Meira RMSA, Francino DMT, Ascensão L (2014) Oleoresin Trichomes of *Chamaecrista dentata* (Leguminosae): structure, function, and secretory products. *Int J Plant Sci* 175: 336: 345. <https://doi.org/10.1086/673538>
- Meira RMSA, Miranda JD, Coutinho IAC (2020) Anatomical Reevaluation and novelties on the leaf marginal tooth glands in *Sapium glandulosum* (L.) Morong. (Euphorbiaceae): The importance of distinguishing colleters from nectaries. In: Demarco D (ed.) *Plant Ontogeny:*

- Studies, analyses and evolutionary implications. Nova, Science Publishers, New York Inc. pp. 63-82.
- O'Brien TP, McCully ME (1981) The study of plant structure principles and selected methods. Termarcarphi Pty, Melbourne, Australia.
- Pearse AGE (1972) Histochemistry: theoretical and applied. 3edn, the Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Riina R, Cumbicus N, Feio AC, Cerón CE, Meira RMSA, Berry PE (2015) A new species of dragon's blood *Croton* (Euphorbiaceae) from South America with singular inflorescences. J Plant Taxon Geogr 70:187-192. <https://doi.org/10.1080/00837792.2015.1020129>
- Sá-Haiad B, Serpa-Ribeiro ACC, Barbosa CN, Pizzini D, Leal DO, Senna-Valle L, Santiago-Fernandes LDR (2009) Leaf structure of species from three closely related genera from tribe Crotonae Dumort. (Euphorbiaceae s.s., Malpighiales). Plant Syst Evol 283:179-202. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0229-x>
- Salatino A, Salatino MLF, Negri G. 2007. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). Journal of the Brazilian Chemical Society 18: 11-33. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000100002>
- Santos RF, Riina R, Caruzo MBR (2017) Diversity of arborescent lineages of Crotonae (Euphorbiaceae) in the Brazilian Atlantic Rain Forest. Plant Syst Evol 303: 1467-1497. <https://doi.org/10.1007/s00606-017-1441-8>
- Tölke ED, Bachelier JB, Lima EA, Ferreira MJP, Demarco D, Carmello-Guerreiro SM (2018) Osmophores and floral fragrance in *Anacardium humile* and *Mangifera indica* (Anacardiaceae): an overlooked secretory structure in Sapindales. AoB Plants 6. <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply062>
- Trachtenberg S, Fahn A (1981) The mucilage cells of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. – Development, ultrastructure, and mucilage secretion. Bot Gaz 142: 206-213.
- Vidal BC (1970) Dichroism in collagen bundles stained with xyloidine-Ponceau 2R. Annales D'Histochemie 15: 289-296.
- Vitarelli NC, Riina R, Caruzo MB, Cordeiro I, Aguilar JF, Meira RMSA (2015) Foliar secretory structures in Crotonae (Euphorbiaceae): Diversity, anatomy, and evolutionary significance. Am J Bot 102: 1-15. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500017>
- Vitarelli NC, Somavilla N, Ferrari FB, Silva MR, Soares EM, Silva OLM, Riina R (2021) The Amazonian *Croton mollis* (Euphorbiaceae): morphology and leaf anatomy help to understand its preference for the extreme igapó habitat. Flora 281:1-12. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151878>

Figuras

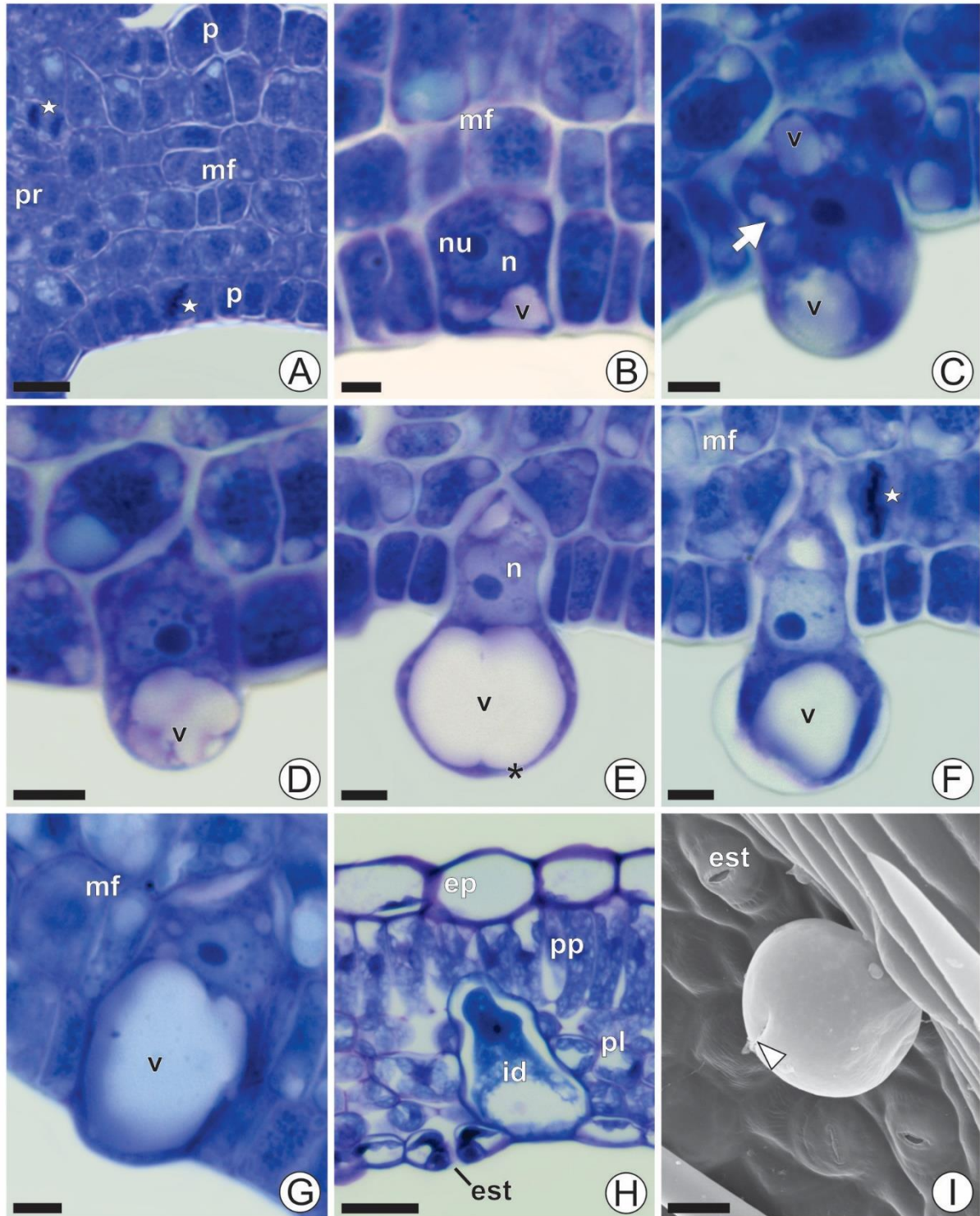


Figura 1 – Desenvolvimento ontogenético dos idioblastos secretores no primórdio foliar (A-G) e em folhas completamente expandidas (H, I) de *Croton rotlerifolius*. Cortes transversais em microscopia de luz (A-H) e eletromicroscopia de varredura em vista frontal (I). A. Primórdio foliar evidenciando o procâmbio e a protoderme em diferentes fases da divisão celular (estrela). B. Idioblasto secretor se diferenciando a partir de uma célula protodérmica. C. Idioblasto secretor em diferenciação com vacúolos se fundindo (seta). D. Idioblasto secretor com um único vacúolo formando um domo acima da superfície foliar. E. Idioblasto secretor com o núcleo na região basal e crescimento do vacúolo na porção apical da célula, a parede periclinal externa fina e o citoplasma comprimido na porção apical (asterisco). F. Idioblasto secretor se projetando para o meristema fundamental, note

a célula meristemática em metáfase (estrela). **G.** Idioblasto secretor com crescimento intrusivo. **H.** Idioblasto secretor ocupando grande parte do mesofilo. **I.** Idioblasto secretor acima do nível da superfície foliar, note a ruptura da parede periclinal externa (cabeça de seta). Barras de escala: 10 μ m. Abreviações: ep = epiderme, est = estômato, id = idioblasto secretor; mf = meristema fundamental, n = núcleo, nu = nucléolo, pl = parênquima lacunoso, pp = parênquima paliçádico, p = protoderme, pr = procâmbio, v = vacúolo.

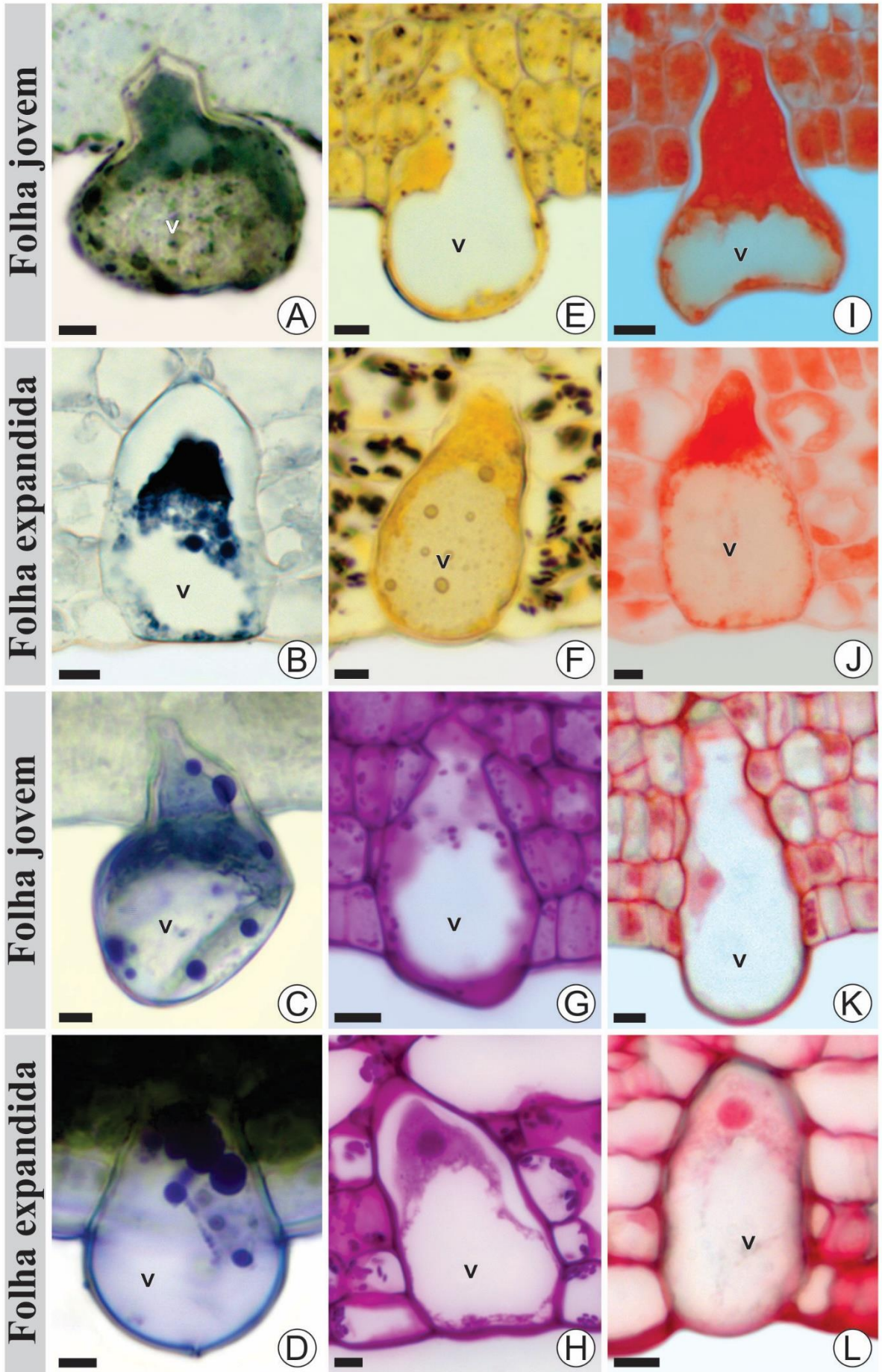


Figura 2 – Resultados dos testes histoquímicos nos idioblastos secretores da lâmina foliar de *Croton rotlerifolius*, visualizados em microscópio de luz. **A, B.** Cortes submetidos ao Sudan Black B evidenciando presença de lipídios totais no citoplasma pela cor preta. **C, D.** Cortes submetidos ao reagente de Nadi evidenciando a presença de óleos-resina pela cor violeta das gotículas no citoplasma. **E.** Corte submetido ao lugol indicando a presença de grãos de amido no citoplasma. **F.** Idioblasto secretor revelando a reação negativa para a presença de grãos de amido. **G, H.** Cortes submetidos ao PAS revelando a presença de polissacarídeos neutros pela cor magenta. **I, J.** Cortes submetidos ao XP revelando a presença de proteínas no citoplasma indicado pela cor alaranjada, no idioblasto da folha jovem o citoplasma está mais denso. **K, L.** Cortes submetidos ao vermelho de rutênio indicando a presença de pectinas na parede celular pela colocação avermelhada. Barras de escala = 5 μm . Abreviação: v = vacúolo.

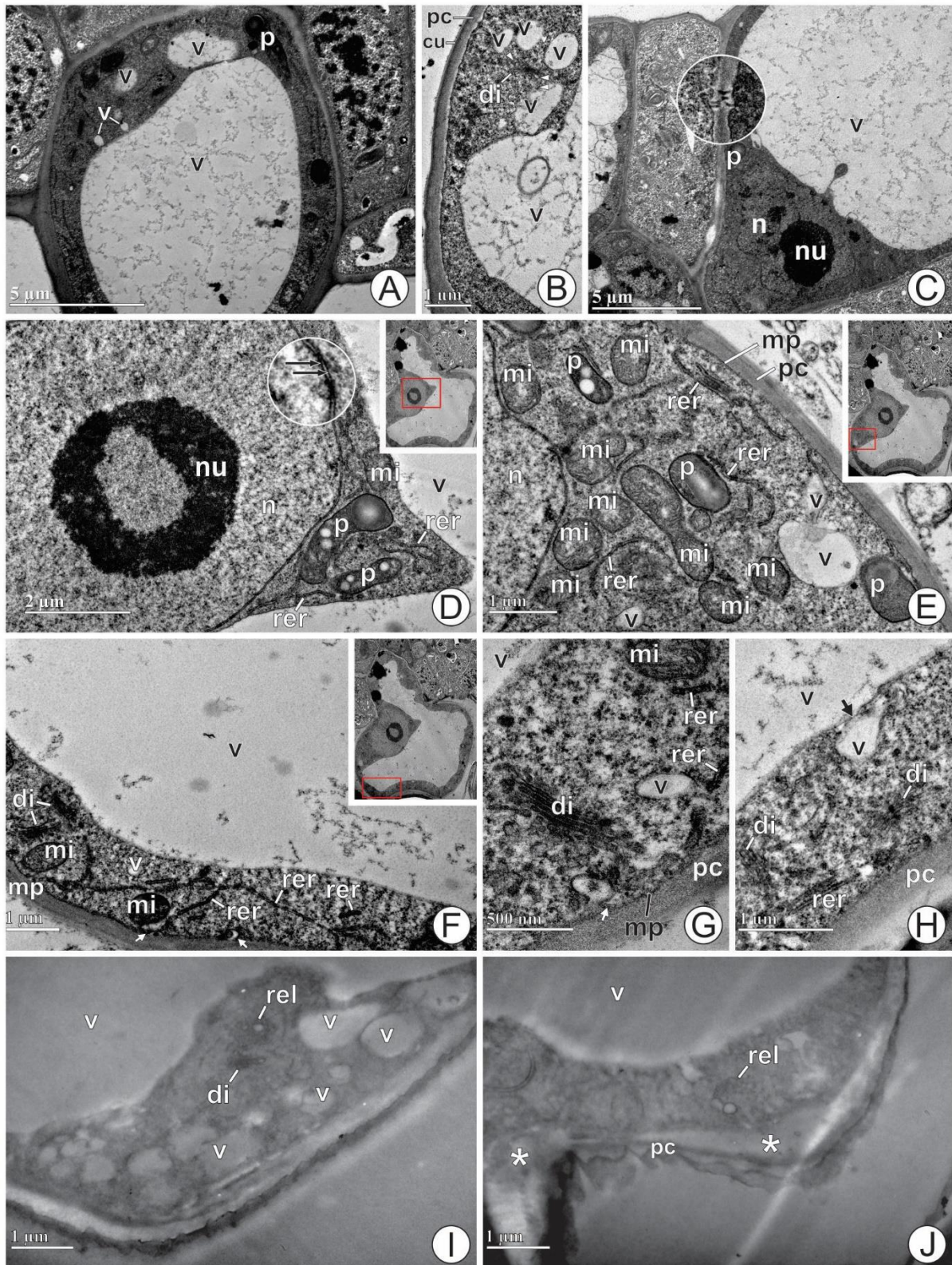


Figura 3 – Descrição dos eventos ultraestruturais do processo secretor do idioblasto no primórdio foliar de *Croton rotterifolius*. **A.** Aspecto geral do idioblasto secretor com o vacúolo voltado para o ápice da célula secretora. **B.** Numerosos vacúolos se fundindo para formar um único vacúolo grande, note a presença de vesículas do Golgi (cabeça de seta). **C.** Núcleo voltado para a região basal da célula secretora e plasmodesmos atravessando as paredes das células. **D.** Núcleo e nucléolo conspícuo, no citoplasma os plastídios com grãos de amido, em detalhe a dupla membrana do núcleo (seta longa). **E.** Presença de citoplasma denso, rico em ribossomos, retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias. **F.** Detalhe do citoplasma evidenciando a grande quantidade de retículo endoplasmático

rugoso e dictiosomos, a seta curta evidencia a fusão de vesículas do Golgi à membrana plasmática. **G.** Citoplasma com vesículas do Golgi se fundindo à membrana plasmática (seta curta). **H.** Citoplasma com vesículas do Golgi se fundindo ao vacúolo. **I.** Citoplasma com numerosos vacúolos e retículo endoplasmático liso. **J.** Secreção acumulada no espaço periplasmático (*) e parede periclinal externa com aspecto frouxo. Abreviações: cu = cutícula, di = dictiosomos, mi = mitocôndria, mp = membrana plasmática, n = núcleo, nu = nucléolo, p = plastídio, pc = parede celular, rel = retículo endoplasmático liso, rer = retículo endoplasmático rugoso, v = vacúolo.

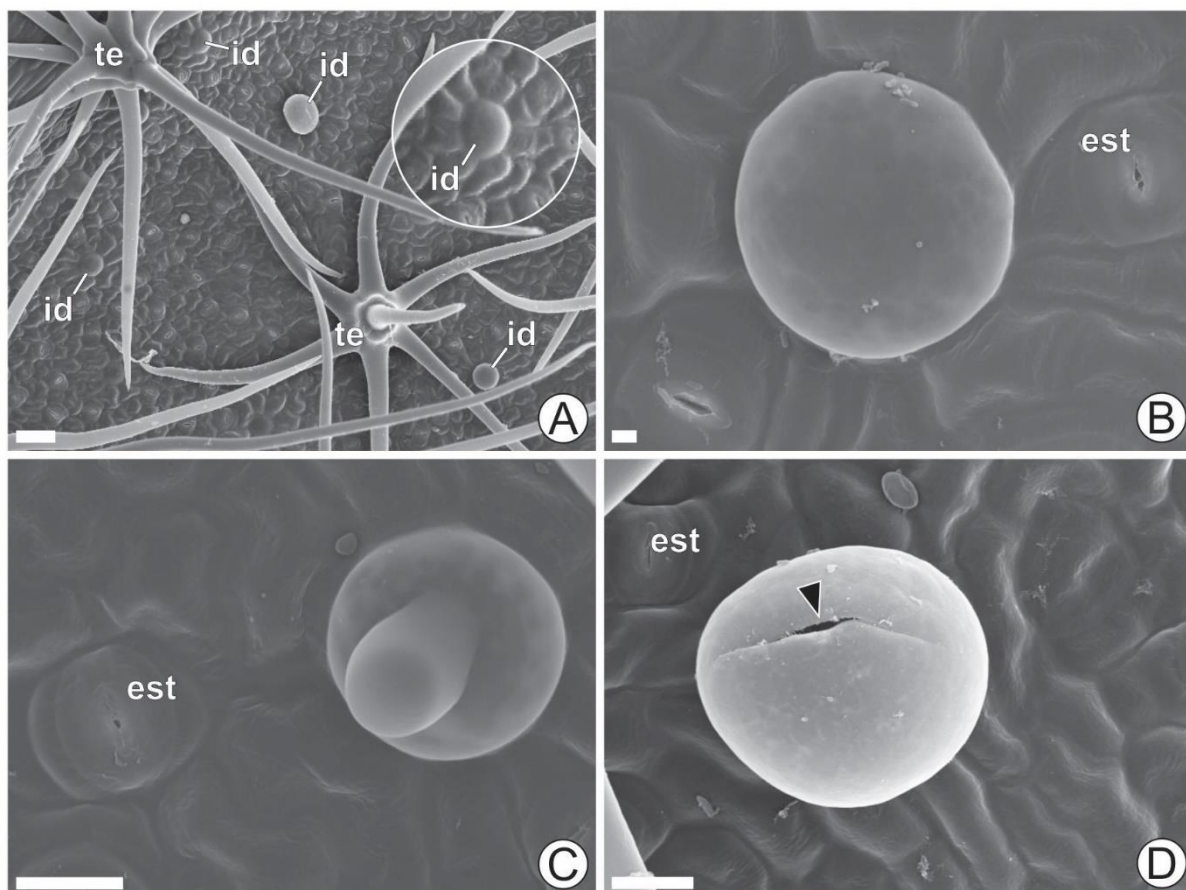


Figura 4 –Descrição micromorfológica da epiderme abaxial da lâmina foliar de *Croton rotlerifolius* em imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura. **A.** Distribuição dos idioblastos secretores, note as células secretoras acima da superfície foliar com diferentes volumes, e os tricomas estrelados porrecto. **B.** Idioblasto secretor volumoso devido a secreção contida na célula, note que o tamanho do idioblasto que chega a 2 vezes a extensão do complexo estomático. **C.** Idioblasto secretor com formato irregular devido a secreção contida na célula. **D.** Idioblasto secretor com superfície externa rompida (cabeça de seta). Barras de escala: A = 30 μm ; B = 2 μm ; C, D = 10 μm . Abreviações: est = estômato, id = idioblasto secretor, te = tricoma estrelado.

Conclusão geral

No presente estudo foi possível descrever uma espécie nova de *Croton* seção *Julocroton*, *Croton maranonensis* sp. nov. Foram reconhecidos caracteres morfoanatômicos e micromorfológicos foliares que distinguem as espécies da seção *Julocroton* analisadas. Não houveram características morfoanatômicas exclusivas que delimitassem cada uma das seções *Heptallon*, *Julocroton* e *Lasiogyne*. Essas seções foram circunscritas por um conjunto de caracteres que se sobrepôs entre os grupos. Os laticíferos foram comuns em todas as espécies, inclusive as pertencentes ao grupo externo (seções *Adenophylli*, *Geiseleria*, *Luetzelgurgiorum* e *Pedicellati*), mas a presença de coléteres, idioblastos secretores, tricomas glandulares e NEFs variaram quanto a presença e distribuição nas folhas. Portanto, a base de dados anatômicos para Crotonoideae foi ampliada, o que auxilia estudos de sistemática para as espécies e seções estudadas.

Idioblastos secretores que se projetam acima da superfície foliar foi observado em uma espécie da seção *Lasiogyne*. Estrutura semelhante a que ocorre em *C. rottlerifolius* (seção *Cleodora*). Nessa última espécie, foi possível elucidar a origem, a composição química da secreção, as organelas envolvidas na síntese e o mecanismo eliminação da secreção desses idioblastos incomuns. O que pode ser utilizado como parâmetro para os idioblastos incomuns que ocorre em outras espécies de *Croton*.