



LUCIANA DA SILVA

**DIMORFISMO FLORAL: VIABILIDADE DO PÓLEN,
SEMENTES E MORFOANATOMIA DE PLÂNTULAS DE
Erythroxylum suberosum A. St.-Hil. (ERYTHROXYLACEAE)**

**LAVRAS – MG
2017**

LUCIANA DA SILVA

**DIMORFISMO FLORAL: VIABILIDADE DO PÓLEN, SEMENTES E
MORFOANATOMIA DE PLÂNTULAS DE
Erythroxylum suberosum A. St.-Hil. (ERYTHROXYLACEAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Estrutura e Funcionamento das Plantas, para a obtenção do título de Doutora.

Profa. Dra. Adriana Tiemi Nakamura
Orientadora
Prof. Dr. Edson Simão
Coorientador
Prof. Dr. Manuel Losada Gavilanes
Coorientador

**LAVRAS – MG
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Luciana da.

Dimorfismo floral: viabilidade do pólen, sementes e morfoanatomia de plântulas de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae): Dimorfismo floral em *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae) / Luciana da Silva. - 2017. 70 p. : il.

Orientador(a): Adriana Tiemi Nakamura.

Coorientador(a): Edson Simão, Manuel Losada Gavilanes. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017. Bibliografia.

1. Cerrado. 2. Heterostilia. 3. Estruturas reprodutivas. I. Nakamura, Adriana Tiemi. II. Simão, Edson. III. Gavilanes, Manuel Losada. IV. Título.

LUCIANA DA SILVA

**DIMORFISMO FLORAL: VIABILIDADE DO PÓLEN, SEMENTES E
MORFOANATOMIA DE PLÂNTULAS DE
Erythroxylum suberosum A. St.-Hil. (ERYTHROXYLACEAE)**

**FLORAL DIMORPHISM: VIABILITY OF POLLEN, SEEDS AND SEEDLINGS
MORPHOANATOMY OF *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. (ERYTHROXYLACEAE)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Estrutura e Funcionamento das Plantas, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 04 de agosto de 2017.

| | |
|------------------------------------|-------|
| Dra. Ângela Cristina Bieras Fecchi | UNIRP |
| Dr. José Márcio Rocha Faria | UFLA |
| Dra. Mariana Esteves Mansanares | UFLA |
| Dra. Marinês Ferreira Pires Lira | UFLA |

Dra. Adriana Tiemi Nakamura
Orientadora

**LAVRAS – MG
2017**

Aos meus amados filhos, Raul e Olívia.

Ao meu companheiro Anderson.

Aos meus pais, e vó Lia.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças para chegar até aqui.

À Profa. Dra. Adriana Nakamura, pela orientação, compreensão, paciência e amizade.

Aos Profs. Dr. Edson e Dr. Gavilanes, pelas contribuições a este trabalho, além dos conselhos.

À CAPES, pela bolsa concedida.

Ao Programa de Pós Graduação em Botânica Aplicada da UFLA, em especial o Prof. Dr. Evaristo.

Ao Prof. Dr. Alex Ribeiro pelo auxílio nas análises dos dados estatísticos.

Aos companheiros de mestrado e doutorado, principalmente Alessandra, André, Flávio, Luiz, Raquel, Ray e Suelen.

Aos técnicos Ítalo (DBI) e Olívia (DCF), pelo auxílio nas atividades do laboratório.

Aos membros da banca examinadora.

As amigas Fabíola e Waleska da E.E. Dr. João Batista Hermeto.

À minha família, por todo amor e carinho. Por terem cuidado dos meus filhos na minha ausência.

Ao Anderson, por todo amor, paciência, apoio, companheirismo e colaboração durante este período.

Aos meus filhos, Raul e Olívia, que mesmo sem compreender, souberam aceitar minha ausência. Amo vocês!!!

RESUMO

O Cerrado é um dos hotspots de biodiversidade. No domínio, o gênero *Erythroxylum* está entre os mais ocorrentes e *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil apresenta ampla distribuição. A espécie é distílica, característica que proporciona uma variação na oferta de pólen e na fertilização estabelecida entre os morfotipos. Assim, o presente trabalho foi realizado para avaliar o dimorfismo floral de *Erythroxylum suberosum* em relação à viabilidade polínica, características morfológicas do fruto, semente, germinação e desenvolvimento inicial da plântula, além de verificar se há alteração no padrão de respostas entre fitofisionomias de Cerrado. Grãos de pólen, frutos e plântulas dos dois morfotipos foram avaliados com o auxílio de microscopia de luz, acrescida da germinação de sementes. A viabilidade de sementes produzidas foi realizada a partir de frutos em diferentes fases de maturação. Os resultados demonstraram diferenças na viabilidade polínica entre os morfotipos e fitofisionomias. Os frutos não apresentaram diferenças estruturais entre padrões de coloração estudados. A germinação das sementes iniciou seis dias após a semeadura. A plântula é fanerocotiledonar, epígea e armazenadora (PER), exibindo cotilédones semi fotossintéticos. Diferenças significativas na taxa germinativa entre os morfotipos foram observadas e também entre as fitofisionomias. As características apresentadas por *E. suberosum* são requisitos necessários para seu estabelecimento e desenvolvimento no Cerrado e permitem sua representatividade no domínio.

Palavras-chave: Cerrado. Heterostilia. Estruturas reprodutivas. Desenvolvimento pós-seminal.

ABSTRACT

The Cerrado is one of the biodiversity hotspots. In the domain, the genus *Erythroxylum* is among the most occurring and *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil has a wide distribution. The species exhibit distyly, characteristic gives a variation in the pollen supply and in the fertilization established among the morphotypes. Thus, the present work was carried out to evaluate the floral dimorphism of *Erythroxylum suberosum* in relation to pollen viability, morphological characteristics of the fruit, seed, germination and initial seedling development in addition to identify if there is an alteration in the response pattern among physiognomies of Cerrado. Pollen grains, fruits and seedlings of the two morphotypes were evaluated with the aid of light microscopy, plus seed germination. The seeds viability produced were conducted from fruits in maturation different stage. The results demonstrated differences in pollen viability among the morphotypes and physiognomies. The fruits did not present structural differences among the studied coloration patterns. Seed germination started six days after sowing. The seedling is phanerocotylar, epigeal and of reserve (PER), exhibiting semi-photosynthetic cotyledons. Significant differences in the germination rate among the morphotypes and physiognomies were found. The characteristics presented by *E. suberosum* are necessary requirements for its establishment and development on the Cerrado and allows its representativeness in the domain.

Keywords: Cerrado. Heterostyly. Reproductive structures. Post-seminal development.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

- Figura 1 - Localização da área de estudo em Campo Rupestre, Lavras, MG..... 17
Figura 2 - Localização da área de estudo em Cerrado sentido restrito, Monte Carmelo, MG..... 18

SEGUNDA PARTE

ARTIGO 1

- Figura 1 - Climograma do Município de Lavras – MG, para o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016. 27
Figura 2 - Climograma do Município de Monte Carmelo - MG, para o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016..... 28
Figura 3 - Médias (%) dos grãos de pólen viáveis dos morfotipos brevistilado e longistilado de *Erythroxylum suberosum* de Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. (Barras: desvio padrão)..... 32
Figura 4 - Secções transversais do fruto de *Erythroxylum suberosum*. A, B, C - Fruto do morfotipo brevistilado, verde, laranja e vermelho, respectivamente. D, E, F - Fruto morfotipo longistilado, verde, laranja e vermelho. G, H - Fruto dos morfotipos brevistilado e longistilado. I-J: Detalhe dos cotilédones do embrião dos morfotipos longistilado e brevistilado. (ed: endosperma, em: embrião, ex: exocarpo, li: lóculo infértil, me: mesocarpo externo, mi: mesocarpo interno, mm: mesocarpo médio). Barras: 50 μ m (A-F, I-J) e 1mm (G-H)..... 34
Figura 5 - Grau de umidade das sementes oriundas dos morfotipos brevistilado e longistilado de *Erythroxylum suberosum* em três estágios de maturação, avaliadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Letras maiúsculas indicam maturação e minúsculas morfotipo 35
Figura 6 - Taxa de germinação dos dois morfotipos (brevistilado e longistilado) e das diferentes fases de maturação (verde, laranja e vermelho) de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Letras maiúsculas indicam maturação e minúsculas morfotipo. 36
Figura 7 - Índice de Velocidade de Germinação dos morfotipos brevistilado e longistilado e das diferentes fases de maturação (verde, laranja e vermelho) de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre. Letras maiúsculas indicam maturação e minúsculas morfotipo. 37

ARTIGO 2

- Figura 1 - Morfologia da plântula de *E. suberosum*. A. Protrusão da raiz primária, 6 dias. B. Plântula de 7 dias. C. Plântula de 10 dias, alongamento do hipocótilo. D. Desenvolvimento da raiz secundária, fissura do envoltório seminal e pericarpo, 12 dias. E. Plântula de 15 dias, alongamento do hipocótilo e raízes secundárias. F. Liberação dos cotilédones do envoltório seminal e parte do pericarpo, 17 dias. G. Cotilédones expandidos, exposição dos eofilos, 19 dias. H. Detalhe dos cotilédones. I: Cotilédones em ângulo agudo, eofilos convolutos, 21 dias. J. Expansão dos eofilos, finalizando a fase de plântula, 23 dias. K. Final da fase

- de plântula, eofilos expostos e expandidos, 24 dias. Planta jovem (L,M,N). L. Estípulas. M. Detalhe da estípula. (EC: epicótilo, ES: estípula, HP: hipocótilo, RP: raiz primária, RS: raiz secundária, seta: região do coleto). Brevistilado (A,C,F,G,H,I,J,L). Longistilado (B, D, E, K, M, N). Barras = 0,5 mm (L, M) e 1 mm (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K).66
- Figura 2 - Raiz primária da plântula de *E. suberosum*. A,B. Corte longitudinal do ápice evidenciando promeristema e zona meristemática, respectivamente. C. Corte transversal da raiz em estrutura primária. D. Detalhe da epiderme e do córtex. E. Detalhe do cilindro vascular. (CF: coifa, CT: córtex, EN: endoderme, EP: epiderme, EX: exoderme, FL: floema, MF: meristema fundamental, PC: procâmbio, PM: promeristema, PT: protoderme, PX: protoxilema). Brevistilado (C, D, E). Longistilado (A, B). Barras = 50 μ m (A, C, D, E) e 100 μ m (B)......67
- Figura 3 - Cortes transversais de hipocótilo (A-C) e epicótilo (D-F). A. Aspecto geral. B. Detalhe da epiderme e córtex. C. Detalhe do sistema vascular e medula. D. Aspecto geral. E. Detalhe da epiderme, sistema fundamental e vascular. F. Detalhe do feixe vascular que irrigará um dos eofilos. (CT: córtex, EP: epiderme, ES: estômato, EX: exoderme, FB: fibras perivasculares, FV: feixe vascular, ME: medula, XI: xilema). Brevistilado (C, D, E, F). Longistilado (A, B). Barras = 30 μ m (B, C, E, F) e 50 μ m (A, D)......68
- Figura 4 - Cotilédone. Cortes transversais (A-D). Cortes paradérmicos (E, F). Diafanização (G). A. Visão geral do cotilédone. B. Detalhe da face adaxial, evidenciando epiderme e parênquima clorofiliano regular, mas que também apresenta reserva de amido. C. Detalhe da face abaxial, evidenciando epiderme e parênquima clorofiliano regular, idioblastos fenólicos. D. Detalhe do feixe vascular. E, F. Esquema das células epidérmicas da face adaxial e abaxial, respectivamente. G. Vascularização do cotilédone. (AD: epiderme da face adaxial, AB: epiderme da face abaxial, CF: conteúdo fenólico, FX: feixe vascular, MS: mesofilo, PO: parênquima regular clorofiliano, PP: parênquima clorofiliano tendendo a paliçádico). Barras = 30 μ m (B, C, D), 50 μ m (E, F), 100 μ m (A) e 0,5 mm (G).69
- Figura 5 - Eofilo. Cortes transversais (A-C). Cortes paradérmicos (D,E). Diafanização (F, H). A, B, C. Aspecto geral do limbo eofilar na região mediana, nervura central e borda, respectivamente. D. Epiderme da face adaxial. E. Epiderme da face abaxial. F. Aspecto geral do padrão de venação. G. Detalhe do ápice. H. Detalhe da base. (CO: colênquima, EB: epiderme da face abaxial, ED: epiderme da face adaxial, ES: estômato, FB: fibras perivasculares, FL: floema, FV: feixe vascular, PL: parênquima clorofiliano lacunoso, PP: parênquima clorofiliano paliçádico, XI: xilema). Brevistilado (A, C, G, J, K). Longistilado (B, D, E, F, H, I). Barras = 20 μ m (A, B, C), 30 μ m (D, E), 0.3 mm (G, H) e 0.5 mm (F)......70

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE: ARTIGOS

ARTIGO 1

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Porcentagem de sementes dos morfotipos brevistilado e longistilado de <i>E. suberosum</i> (Campo Rupestre) que não germinaram e foram submetidas ao teste de Tetrazólio..... | 38 |
|---|----|

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|-----------|
| | PRIMEIRA PARTE..... | 12 |
| 1 | INTRODUÇÃO GERAL..... | 12 |
| 2 | CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO..... | 17 |
| 2.1 | Campo Rupestre..... | 17 |
| 2.2 | Cerrado sentido restrito..... | 17 |
| | REFERÊNCIAS..... | 19 |
| | SEGUNDA PARTE: ARTIGOS..... | 23 |
| | ARTIGO 1 - Viabilidade polínica e caracterização morfofisiológica de sementes oriundas dos morfotipos florais de <i>Erythroxylum suberosum</i> A. St.-Hil (Erythroxylaceae) coletadas em duas fitofisionomias de Cerrado..... | 23 |
| | ARTIGO 2 - Morfoanatomia da plântula de <i>Erythroxylum suberosum</i> A. St.-Hil (Erythroxylaceae)..... | 48 |

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado, savana tropical, ocupa 23% do território nacional, localizando-se nos estados de Minas Gerais, Goiás, Tocantins, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (EITEN, 1972; RATTER et al., 1997). Além da região central, o Cerrado estende-se ao norte, cobrindo o sul do Maranhão, Pará e norte do Piauí, a oeste em Rondônia, a leste na Bahia e ao sul em áreas dispersas no estado de São Paulo, ocorrendo também na transição com os domínios da Caatinga, Floresta Amazônica, Floresta Atlântica, Pantanal e Chaco, e em pequenas áreas da Bolívia e Paraguai (EITEN, 1972; RATTER et al., 1997).

O domínio exibe diferentes fitofisionomias, Ribeiro e Walter (2008) enumeraram onze principais, incluídas em três formações vegetais: formações florestais (Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca, Cerradão); formações savânicas (Cerrado sentido restrito, Parque de Cerrado, Veredas, Palmeiral) e formações campestres (Campo Sujo, Campo Limpo, Campo Rupestre).

É caracterizado por apresentar o clima estacional, com um período chuvoso, que dura de outubro a março, seguido por um período seco, de abril a setembro, apresentando precipitação média anual de 1500 mm e temperaturas amenas ao longo do ano, entre 22°C e 27°C em média (KLINK; MACHADO, 2005). Os remanescentes de Cerrado existentes desenvolveram-se sobre solos muito antigos, intemperizados, ácidos, deficientes em nutrientes (distróficos), e com elevadas concentrações de alumínio (EITEN, 1972; GOODLAND, 1979). O fogo é um importante fator do domínio (RATTER et al., 1997; LEHMANN et al., 2014) e o solo está sujeito a um déficit hídrico sazonal nas camadas superficiais (RIZZINI, 1965; ROSSATTO et al., 2012; ROSSATTO et al., 2014).

Para sobreviver nestas condições bastante limitantes, a vegetação do Cerrado apresenta adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas. Dentre as estratégias adaptativas estão a forte suberização de troncos, raízes profundas, xilopódios, frutos com capacidade de proteção das sementes e grande capacidade de rebrota da copa (RIZZINI, 1965; RATTER et al., 1997; LADYN; HAY, 1995; LENZA; KLINK, 2006).

O Cerrado é considerado um dos mais importantes *hotspots* para preservação (MYERS et al., 2000), ocupando a posição da mais diversificada savana tropical do mundo (KLINK; MACHADO, 2005). Cerca de metade dos 2 milhões de km² originais do domínio foram transformados em pastagens plantadas, culturas anuais e outros tipos de uso

(MACHADO et al., 2004), ocorrendo sua destruição de forma acelerada. Os remanescentes contam ainda com os efeitos de borda e contaminações biológicas que acabam competindo pelo espaço e restringindo a perpetuação das espécies por descaracterizar as condições edafoclimáticas. Este fator é fortemente danoso para as áreas de Cerrado. Áreas muito perturbadas são dominadas por gramíneas exóticas e áreas muito preservadas recebem indivíduos de fisionomias florestais que acabam sufocando as plantas pela competição dos recursos, alterando as condições edafoclimáticas e a constituição de espécies (PINHEIRO; DURIGAN, 2009; ALMEIDA et al., 2014). Neste contexto, várias espécies podem estar em perigo de extinção sem nem mesmo serem estudadas.

O gênero *Erythroxylum* P. Browne está entre os mais abundantes do Cerrado (GOODLAND, 1979), apresentando ampla distribuição (SOUZA; LORENZI, 2012), sendo facilmente identificado nas suas diferentes fitofisionomias (ASSUNÇÃO; FELFILI, 2004). Os representantes do gênero são encontrados nos quatro continentes, principalmente na América tropical, e está incluso na família Erythroxylaceae em conjunto com outros três: *Aneulophus* Benth, *Nectaropetalum* Engl. e *Pinacopodium* Exell & Mendonça (DALY, 2004).

Erythroxylum apresenta espécies arbóreas, arbustivas ou subarbustivas, com folhas e ramos alternos ou opostos. As folhas são glabras, inteiras, membranáceas, cartáceas ou coriáceas e possuem estípulas interpeciolares, persistentes ou caducas, de tamanho e consistência variável (AMARAL JR, 1980). As flores são monóclinas, diclamídeas, pentâmeras e apresentam androceu composto por dez estames. O gineceu é súpero, tricarpelar, trilocular e uniovulado. O fruto é drupoide, apresentando coloração que varia do vermelho à púrpura (NAKAMURA, 2003), cuja dispersão é realizada por aves (BITTRICH, 2014).

Uma característica notável para o gênero é a heterostilia, quando as flores apresentam diferenças na sua morfologia, apresentando dois morfotipos: brevistilado (estilete curto) e longistilado (estilete longo). Essa diferença morfológica entre as flores ocorre também na morfologia do estigma e do grão de pólen (GANDERS, 1979; VÁZQUEZ-SANTANA et al., 1996; BARROS, 1998; MACHADO et al., 2010; SILVA et al., 2016), como também nos frutos e sementes (CONTRERAS; ORNELAS, 1999; VALOIS-CUESTA et al., 2011). A heterostilia é um sistema heteromórfico de auto-incompatibilidade genética, conhecido em aproximadamente 28 famílias (BARRETT; SHORE, 2008). A reprodução das espécies heterostílicas ocorre pela polinização cruzada entre os morfotipos, embora cruzamentos intermorfotipos também possam ocorrer facultativamente (GANDERS, 1979).

Erythroxylum suberosum A. St.-Hil é uma espécie cuja reprodução só ocorre por meio da polinização entre os morfotipos, segundo Barros (1998). A espécie aparece, ainda, como a

árvore de mais alto valor médio de importância (VI) e a segunda mais comum nos Cerrados nos estudos de Goodland (1979) e destaca-se também nos trabalhos de Felfili et al. (2002) entre as espécies de maior frequência relativa do domínio, mesmo com as pressões estabelecidas pelo ambiente. Apresenta uma ampla distribuição, ocorrendo nos estados do Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Bahia, Alagoas, Amazonas, Acre, Pernambuco, Ceará, Maranhão, e também no Paraguai, Bolívia e Venezuela (MENDONÇA et al., 1998).

A ampla distribuição das espécies provavelmente está ligada ao sucesso reprodutivo, que pode estar vinculada à estação mais favorável ao iniciar seu desenvolvimento (AUSÍN et al., 2005). Para a espécie *E. suberosum* os processos de floração e dispersão das sementes ocorre na estação chuvosa (LENZA; KLINK, 2006), período com disponibilidade de água superficial, fator que favorece a germinação.

A germinação de sementes envolve uma sequência de eventos que inicia com a embebição, intensa respiração, mobilização e utilização de reservas até o aparecimento da raiz primária (BEWLEY; BLACK, 1994). Entretanto, a germinação só ocorre quando há condições favoráveis de disponibilidade de água, luz, temperatura e oxigênio (BEWLEY; BLACK, 1994; BRANCALION et al., 2010).

Existem inúmeros trabalhos de germinação, dada a importância desta fase do ciclo de vida da planta para a sobrevivência das espécies. No entanto, especialmente para plantas nativas do Cerrado, os estudos precisam ser ampliados. Em função das especificidades edafoclimáticas estabelecidas nas diferentes fitofisionomias deste bioma, conhecer as respostas que as espécies apresentam relacionadas a sua sobrevivência e estabelecimento em sítios específicos torna-se fundamental.

A fase inicial do ciclo de vida de um vegetal é um período crítico, pois apresenta grande fragilidade estrutural (OLIVEIRA, 1999). Assim, a sobrevivência a essa fase é fundamental para garantir a manutenção e perpetuação da espécie, influenciando toda a dinâmica de regeneração (OLIVEIRA, 2000). Para ter sucesso, a plântula depende de fatores como sua morfologia funcional, pois após já instalada, as condições e exigências do ambiente é que tomarão o controle do processo de estabelecimento (RESSEL et al., 2004). Neste caso, a formação da semente, a dispersão e a germinação precisam estar sincronizadas com condições ideais para garantir um adequado desenvolvimento pós-seminal.

Os trabalhos sobre o período inicial do desenvolvimento das plantas têm merecido atenção há algum tempo, abordando estudos descritivos, morfológicos, anatômicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos, como também embasando a sistemática, taxonomia e

filogenia, além de fornecer dados para germinação e silvicultura (OLIVEIRA, 1993). A medida que novos estudos são apresentados, percebe-se a necessidade de ampliação das pesquisas com espécies do Cerrado voltadas a germinação e desenvolvimento pós-seminal. Informações básicas indispensáveis para elaboração de propostas de manejo e conservação de espécies e unidades de conservação.

Dentre os trabalhos sobre germinação e desenvolvimento pós-seminal de *Erythroxylum*, destacam-se as publicações de Chung e Brink (1999) com a propagação e plantio de *Erythroxylum coca* Lam. e *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron. e Silva e Silva et al. (2008) com a germinação e armazenamento de sementes de coca (*Erythroxylum ligustrinum* DC.). Outras publicações também envolveram o gênero, como Rizzini (1976) com *Erythroxylum pruinosum* O. E. Schulz e *Erythroxylum tortuosum* Mart. avaliando a influência da temperatura sobre a germinação de sementes de plantas do Cerrado; Salazar et al. (2011) que analisaram as características, dispersão e dormência das sementes, além da dinâmica dos banco de sementes das savanas neotropicais; Duke (1965; 1969) com *Erythroxylum areolatum* Vell., que descreveu a morfologia de aproximadamente 200 espécies florestais e caracterizou as diferentes famílias, além de definir termos e citar características relevantes para serem observadas em plântulas e Ressel et al. (2004) com *Erythroxylum deciduum* A. St. Hil., que verificaram uma relação positiva entre a morfologia das plântulas e características ecológicas.

Em função de sua importância e representatividade nos Cerrados as pesquisas com *Erythroxylum*, embora amplas, ainda apresentam lacunas que precisam ser preenchidas com novos estudos. As repostas reprodutivas para plantas apresentando dimorfismo floral em termos adaptativos de formação de sementes, germinação e desenvolvimento pós-seminal precisam ser ampliados. Diante da intensa exploração do Cerrado, cujas áreas nativas encontram-se fragmentadas e reduzidas, são fundamentais os trabalhos que enfoquem o conhecimento da flora.

Os estudos dos grupos representativos do domínio que proporcionam um melhor entendimento das estratégias tanto vegetativas quanto reprodutivas (BASKIN; BASKIN, 2014) e principalmente, os estudos relacionados às fases iniciais de desenvolvimento podem contribuir com informações consistentes para o conhecimento da dinâmica das espécies neste ambiente (RESSEL et al., 2004). Tudo isso levaria à compreensão dos processos que regulam a estabilidade, bem como poderia auxiliar na reconstituição e na criação de medidas conservacionistas.

Considerando-se que *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae) é uma das espécies mais abundantes do Cerrado, o presente trabalho avaliou e caracterizou nos dois morfotipos estruturas reprodutivas e vegetativas em estágios iniciais, relacionando com o ambiente, visando contribuir com o conhecimento anatômico, morfológico, ecológico e germinativo da espécie. Assim, os seguintes objetivos foram propostos:

- a) avaliar se o dimorfismo floral de *E. suberosum* altera a viabilidade polínica, características do fruto e semente em diferentes momentos de maturação e suas respostas fisiológicas em termos de viabilidade e germinação;
- b) avaliar se o padrão de resposta de viabilidade do grão de pólen, maturação dos frutos e germinação das sementes se alteram em duas fitofisionomias diferentes do Cerrado;
- c) analisar e descrever morfoanatomicamente o desenvolvimento das plântulas de *E. suberosum*;
- d) avaliar se a espécie, apresenta características, na fase inicial, relevantes para o seu estabelecimento e adaptação ao ambiente Cerrado.

2 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO

As coletas foram realizadas em duas fitofisionomias do Cerrado, conforme descritas a seguir.

2.1 Campo Rupestre

Foram realizadas coletas em duas áreas de Campo Rupestre localizadas próximo ao Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, município de Lavras, na Mesorregião Campos das Vertentes, Minas Gerais, sob as coordenadas geográficas 21°19'53.4" S e 44°58'08.2" W, com altitude de 1024 m, e 21°20'59,7" S e 44°59'08,8" W, com altitude de 1070 (figura 1). O solo é predominantemente Litólico álico e Cambissolo (CURI et al., 1990). O clima da região é do tipo Cwb, segundo o mapa da classificação de Köppen para o Brasil, proposto por Alvares et al. (2013), contendo verões brandos e invernos secos. A precipitação anual média é de cerca de 1500 mm, com temperatura anual média de 19,6°C (BRASIL, 1992).

Figura 1 - Localização da área de estudo em Campo Rupestre, Lavras, MG.



Fonte: Google Earth (Imagens obtidas em 03/08/2017).

2.2 Cerrado sentido restrito

A área de Cerrado sentido restrito está localizada na reserva legal da Fazenda Juliana, Município de Monte Carmelo, Minas Gerais. A área está situada no Cerrado mineiro a 890 m de altitude, sob as coordenadas geográficas 18°42'25" S e 47°33'33" W (figura 2). O solo, de acordo com o SiBCS (Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos) se enquadra na classe Latossolo Vermelho Distrófico.

De acordo com valores de precipitação e temperatura disponibilizados pela Estação Meteorológica de Monte Carmelo, a região apresenta clima sazonal, com duas estações bem definidas, uma com verão quente e chuvoso, e outra com inverno frio e seco. A temperatura e

o índice pluviométrico médio anual são de 20,7°C, e 1569,1 mm, respectivamente, condizendo com o clima do tipo Aw.

Figura 2 - Localização da área de estudo em Cerrado sentido restrito, Monte Carmelo, MG.



Fonte: Google Earth (Imagens obtidas em 03/08/2017).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. F. et al. Mudanças florísticas e estruturais no cerrado *sensu stricto* ao longo de 27 anos (1985-2012) na Fazenda Água Limpa, Brasília, DF. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 65, n. 1, p. 1-19, 2014.
- ALVARES, A. C. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- AMARAL JÚNIOR, A. Erythroxylláceas. In: R. Reitz, ed. **Flora Ilustrada Catarinense, parte I**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí. 1980. p. 3-64.
- ASSUNÇÃO, S. L.; FELFILI, J. M. Fitossociologia de um fragmento de cerrado *sensu stricto* na APA do Paranoá, DF, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n. 4, p. 903-909, 2004.
- AUSÍN, I.; ALONSO-BLANCO, C.; MATINEZ-ZAPATER, J. M. Environmental regulation of flowering. **The International Journal of Developmental Biology**, Espanha, v. 49, p. 689-705, 2005.
- BARRETT, S. C. H.; SHORE, J. S. New Insights on Heterostyly: Comparative Biology, Ecology and Genetics. FRANKLIN-TONG, V. E. (ed.) **Self-Incompatibility in Flowering Plants – Evolution, Diversity, and Mechanisms**. Berlin, Springer, 2008. Pp. 3-32.
- BARROS, M. G. Sistemas reprodutivos e polinização em espécies simpátricas de *Erythroxylum* P. Br. (Erythroxyllaceae) do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 159-166, 1998.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. 2 ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2014. 1586 p.
- BEWLEY, J. D., BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BITTRICH, V. Erythroxyllaceae. In: KUBITZKI, K. (ed.). **Flowering Plants. Eudicots, The Families and Genera of Vascular Plants 11**. Berlin, Springer, 2014. Pp. 43-49.
- BRANCALION, P. H. S.; NOVENBRE, A. D. L. C.; RODRIGUES, R. R. Temperatura ótima de germinação de sementes de espécies arbóreas brasileiras. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 015-021, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normas Climatológicas: 1961-1990**. Brasília, 1992. 84 p.
- CHUNG, R. C. K.; BRINK, M. *Erythroxylum* P. Browne. In: PADUA, L. S.; BUNYAPRAPHATSARA, N.; LEMMENS, R. H. M. J. **Plant Resources of South-East Asia. Medicinal and poisonous plants 1**. n.12. Leiden: Backhuys Publishers, 1999. Pp. 258-262.

- CONTRERAS, O. S.; ORNELAS, J. F. Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a distylous shrub of a tropical cloud forest in Mexico. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 219, p. 225-241, 1999.
- CURI, N.; LIMA, J. M.; ANDRADE, H.; GUALBERTO, V. Geomorfologia, física, química e mineralogia dos principais solos da região de Lavras (MG). **Ciência e Prática**, Bebedouro, v. 14, n. 2, p. 297-307, 1990.
- DALY, D. Erythroxylaceae. In: SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A. *et al.* (eds.). **Flowering Plants of Neotropics**. USA: Princeton University Press, 2004. Pp.143-145.
- DUKE, J. A. On tropical tree seedlings I. Seeds, seedlings, systems, and systematics. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 56, n. 2, p. 125-161, 1969.
- DUKE, J. A. Keys for the identification of seedling of some prominent Woody species in eight Forest types in Puerto Rico. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 52, n. 3, p. 314-350, 1965.
- EITEN, G. The Cerrado Vegetation of Brazil. **The Botanical Review**, Bronx, v. 38, n. 2, p. 201-341, 1972.
- FELFILI, J. M. et al. Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa – MT. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 103-112, 2002.
- GANDERS, F. R. Biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany**, Wellington, v. 17, p. 607-635, 1979.
- GOODLAND, R. Análise ecológica da vegetação do cerrado. In: GOODLAND, R.; FERRI, M.G. **Ecologia do Cerrado**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1979. Pp. 61-161.
- KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.
- LANDIM, M. F.; HAY, J. D. Impacto do fogo sobre alguns aspectos da biologia reprodutiva de *Kielmeyera coriacea* Mart. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 56, n. 1, p. 127-134. 1995.
- LEHMANN, C. E. R. et al. Savanna Vegetation-Fire-Climate Relationships Differ Among Continents. **SCIENCE**, Washington, v. 343, p. 548 – 552, 2014.
- LENZA, E.; KLINK, C. A. Comportamento fenológico de espécies lenhosas em um cerrado sentido restrito de Brasília, DF. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 627-638, 2006.
- MACHADO, A. O. et al. Breeding biology and distyly in *Palicourearigida* H. B. & K. (Rubiaceae) in the cerrados of central Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 686-696, 2010.

MACHADO, R.B. et al. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. Conservação Internacional, Brasília, DF. Jul. 2004.

MENDONÇA, J. O.; CERVI, A. C.; GUIMARÃES, A. O. O gênero *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae) do estado do Paraná, Brasil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 41, n. 3, 1998.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, Reino Unido, v. 403, p. 853-858, 2000.

NAKAMURA, A. T. Morfologia e anatomia dos frutos e sementes de três espécies de *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae). **Biota Neotropica**, Campinas, v. 5, p. 1, p.s.p, 2003.

OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 85-97, 2000.

OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia de plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de Leguminosae. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 263-269, 1999.

OLIVEIRA, E. C. Morfologia de plântulas florestais. In: Aguiar, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (eds). **Sementes florestais tropicais**. Brasília, Abrates, 1993. Pp. 175-214.

PINHEIRO, E. S.; DURIGAN, G. Dinâmica espaço-temporal (1962-2006) das fitofisionomias em unidade de conservação do Cerrado no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 441-454, 2009.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. **Annals of Botany**, Oxford, v. 80, p. 223-230, 1997.

RESSEL, K. et al. Ecologia morfofuncional de plântulas de espécies arbóreas da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 311-323, 2004.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. (eds.). **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2008. Pp. 151-212.

RIZZINI, C. T. Experimental studies on seedling development of cerrado woody plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 52, n. 3, p. 410-426, 1965.

RIZZINI, C. T. Influência da temperatura sobre a germinação de diásporos do Cerrado. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 41, p. 341-383, 1976.

ROSSATTO, D. R. et al. Do woody and herbaceous species compete for soil water across topographic gradients? Evidence for niche partitioning in a Neotropical savanna. **South African Journal of Botany**, South Africa, v. 91, p. 14 -18, 2014.

ROSSATTO, D.R. et al. Depth of water uptake in woody plants relates to groundwater level and vegetation structure along a topographic gradient in a neotropical savanna.

Environmental and Experimental Botany, v. 77, p. 259 - 266, 2012.

SALAZAR, A. et al. Timing of seed-banks, control seedling recruitment of Woody plants in Neotropical savannas. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 21, p. 103-116, 2011.

SILVA E SILVA, B. M. et al. Germinação e armazenamento de sementes de COCA (*Erythroxylum ligustrinum* DC. Erythroxylaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 25-29, 2008.

SILVA, L. et al. Development of anthers and pollen in brazilian heterostylic species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae): an ecological approach. **Pakistan Journal Botany**, Karachi, v. 48, n. 5, p. 2047-2055, 2016.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3. ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 2012. 768 p.

VALOIS-CUESTA, H.; SORIANO, P. J.; ORNELAS, J. F. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 124, p. 137-146, 2011.

VÁZQUEZ-SANTANA, S.; DOMÍNGUEZ, C. A.; MÁRQUEZ-GUZMÁN, Y. Embriología de *Erythroxylum havanense* Jacq. (Erythroxylaceae). **Boletín de la Sociedad Botánica de México**, Mexico, v. 59, p. 25-33, 1996.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS**ARTIGO 1**

Viabilidade polínica e caracterização morfofisiológica de sementes oriundas dos morfotipos florais de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil (Erythroxylaceae) coletadas em duas fitofisionomias de Cerrado

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar se o dimorfismo floral de *E. suberosum* altera a viabilidade polínica, as características anatômicas do fruto e da semente e a germinação. Também foi avaliado se as fitofisionomias do Cerrado podem afetar os parâmetros estudados. Pólen, frutos de coloração verde, laranja e vermelho, e sementes dos dois morfotipos foram analisados sob microscopia de luz e as respostas de germinação e viabilidade das sementes avaliadas utilizando-se germinadores tipo B.O.D. com temperatura de 25 °C e luz contínua. A viabilidade polínica não diferiu entre os morfotipos no Cerrado sentido restrito. No Campo Rupestre, o morfotipo brevistilado exibiu alta porcentagem de pólen inviáveis. Não foram observadas diferenças anatômicas entre os morfotipos e nem entre as diferentes colorações dos frutos avaliados. No Cerrado sentido restrito, observaram-se taxas de germinação acima de 80%. No Campo Rupestre a maior porcentagem de germinação foi de 39%. As características analisadas permitem concluir que no Cerrado sentido restrito o número de grãos de pólen viáveis foi maior para flores brevistiladas e as sementes apresentaram maior uniformidade de resposta de germinação neste morfotipo, refletindo em altas taxas germinativas. Respostas que contrastam com as características do Campo Rupestre.

Palavras-chave: Heterostilia, estruturas reprodutivas, germinação, pólen.

Abstract

The objective in this study was to evaluate if the floral dimorphism of *E. suberosum* alters the pollen viability, the anatomical characteristics of the fruit, seed and germination. It was also evaluated if the physiognomies of Cerrado can affect the studied parameters. Pollen, fruits of green, orange and red coloring, and seeds of the two morphotypes were analyzed under light microscopy and the germination and viability responses of the seeds evaluated using germinators type B.O.D with temperature 25 °C and continuous light. The pollen viability did not differ among the morphotypes in the Cerrado *sensu stricto*. In the Rupestrian Field, the thrum morphotype showed a high percentage of nonviable pollen. No anatomical differences were observed among the morphotypes and nor among the different colorations of the evaluated fruits. In the Cerrado *sensu stricto*, germination rates over 80% were observed. In the Rupestrian Field the highest germination percentage was 39%. The analyzed characteristics allow to conclude that in the Cerrado *sensu stricto* the number of viable pollen grains was higher for thrum flowers and the seeds showed a higher uniformity of germination response in this morphotype, reflecting in high germination rates. Answers that contrast with the characteristics of the Rupestrian Field.

Keywords: Heterostyly, reproductive structures, germination, pollen.

Introdução

O Cerrado é um dos *hostspots* mundiais de biodiversidade (Myers *et al.* 2000) e está ameaçado devido à pressão causada pela expansão das fronteiras agrícolas e a intensa atividade antrópica em seus domínios. Cerca de 80% de sua área original está ocupada com pastagens, culturas anuais e perenes, ou simplesmente degradada sem utilidade agrícola (Machado *et al.* 2004) em função de práticas de manejo inadequado. A remoção da vegetação nativa e o uso inadequado contribuíram para constituição de solos mais frágeis, compactados e erodidos, com a presença de espécies exóticas. Estas contribuem para alterações nos regimes de queimadas, desequilíbrios no ciclo do carbono e possivelmente modificações microclimáticas regionais (Klink & Machado 2005).

Ainda assim, e diante das características marcantes do domínio Cerrado como a sazonalidade na temperatura e precipitação, definindo dois períodos climáticos distintos: um quente e úmido e outro frio e seco (Eiten 1972) e o solo sujeito a déficit hídrico nas camadas superficiais (Rizzini 1965), os remanescentes do Cerrado preservam uma grande diversidade de espécies vegetais (Ratter *et al.* 1997).

Nos estudos de Felfili *et al.* (2002) que apresentam as espécies de maior frequência relativa do Cerrado, *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil (Erythroxylaceae) se destaca. A espécie aparece também nos trabalhos de fitossociologia de Goodland (1979), a qual apresenta o mais alto valor médio de importância (VI), dentre as espécies do domínio.

O gênero *Erythroxylum* apresenta a heterostilia como uma característica reprodutiva marcante, em que ocorre um tipo de polimorfismo floral, controlado geneticamente, representado pela formação de dois (distilia) ou três (tristilia) tipos florais. Este, geralmente, acompanhado de um sistema de heteromórfico de auto-incompatibilidade que impede a auto fecundação (Barret 1990). O gênero *Erythroxylum* apresenta flores hermafroditas de dois morfotipos estabelecidos em plantas catalogadas como brevistiladas e longistiladas, com estilete curto e filete longo, e estilete longo e filete curto, respectivamente (Darwin 1877; Vuilleumier 1967; Ganders 1979).

A variação morfológica das flores é também observada na morfologia do estigma e do grão de pólen, na quantidade e tamanho dos grãos (Darwin 1877; Vuilleumier 1967; Ganders 1979; Barros 1998; Machado *et al.* 2010; Silva *et al.* 2016), como também na morfologia de frutos e sementes (Contreras & Ornelas 1999; Valois-Cuesta *et al.* 2011).

Barros (1998) ao avaliar os sistemas reprodutivos e a polinização em *Erythroxylum campestre* A. St.-Hil, *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil e *Erythroxylum tortuosum* Mart., sugere que o dimorfismo floral promove o fluxo de pólen, incrementa a polinização, além de

atuar como uma barreira para a autofertilização das espécies. Estudos com *Erythroxylum havanense* Jacq. enfocam a esterilidade masculina em plantas que apresentam flores brevistiladas, demonstrando que a espécie pode estar evoluindo para a dioícia (Vázquez-Santana *et al.* 1996; Ávila-Sakar & Dominguez 2000; Cuevas *et al.* 2005; Dominguez *et al.* 1997; Rosas & Dominguez 2009; Rosas *et al.* 2005).

Del-Carlo & Buzato (2006) ao estudarem o grau de esterilidade masculina em *E. suberosum* observam que não há diferença de sucesso reprodutivo entre os morfotipos brevistilado e logistilado. Resposta corroborada por Silva *et al.* (2016) que sugerem a distilia como um caráter estável na espécie.

Os grãos de pólen são essenciais para a formação da semente, assim, avaliar a viabilidade polínica se torna de grande interesse para os estudos de biologia da polinização, armazenamento, interação pólen-estigma, incompatibilidade, fertilidade, avaliação da germinabilidade dos grãos, dispersão e fluxo de genes (Dafni & Firmage 2000). Pacini *et al.* (1997) descrevem que a viabilidade polínica altera de acordo com a polinização, entomófila ou anemófila, entretanto outros fatores também devem ser considerados, tais como: forma de vida, expressão sexual, número de indivíduos na área e o teor de hidratação ou desidratação dos grãos.

Em relação à semente, dois comportamentos podem ser observados: as ortodoxas, em que há redução considerável do teor de água, e as recalcitrantes, em que o teor de água mantém-se elevado (Bewley *et al.* 2013). Assim, as sementes recalcitrantes em um ambiente com umidade e luz adequadas, culminam rapidamente com o processo germinativo (Davide *et al.* 2003). A dispersão de *E. suberosum* ocorre na estação chuvosa (Lenza & Klink 2006), período adequado à germinação. Janzen (1967) descreve que a seleção natural favorece as espécies que produzem frutos quando as condições são propícias a sua dispersão e posterior estabelecimento das plântulas.

As descrições morfofisiológicas dos órgãos reprodutivos proporcionam um melhor entendimento das respostas adaptativas, reprodutivas e evolutivas das espécies (Baskin & Baskin 2014). Este conhecimento pode contribuir para o estabelecimento de estratégias de conservação e preservação das espécies.

Dessa forma, o objetivo da pesquisa foi avaliar se o dimorfismo floral de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil altera a viabilidade polínica, características morfológicas do fruto e da semente em diferentes momentos da maturação e suas repostas fisiológicas em termos de viabilidade e germinação. Além disso, avaliar se estes parâmetros são alterados quando avaliados em duas fitofisionomias do Cerrado.

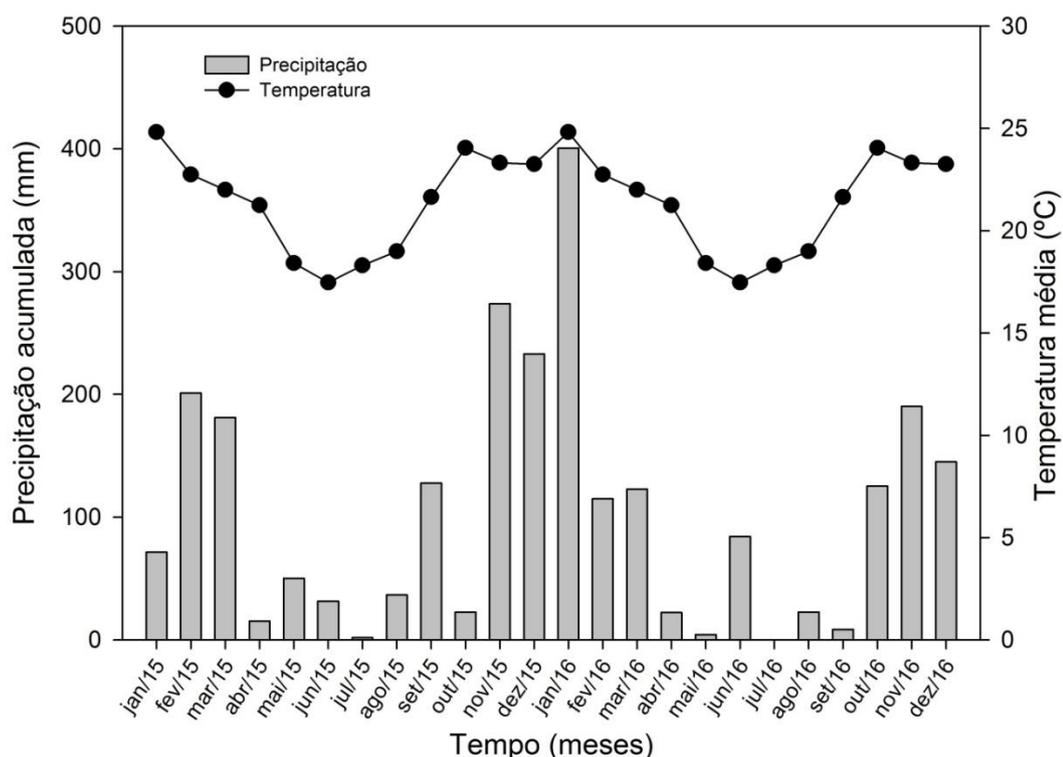
Material e métodos

1. Espécie selecionada e local de coleta

Foram coletados primórdios de botões florais, flores e frutos em diferentes estádios de maturação, estes caracterizados pela coloração do pericarpo: verde (início de maturação), laranja (imaturo) e vermelho (maturo), para extração de sementes de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil.

As coletas foram efetuadas em duas fitofisionomias de Cerrado. A primeira área de coleta estabelecida consistiu de duas áreas de Campo Rupestre, localizadas próximas ao Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, município de Lavras, na Mesorregião Campos das Vertentes, Minas Gerais, sob as coordenadas geográficas 21°19'53.4'' S e 44°58'08.2'' W, com altitude de 1024 m, e 21°20'59,7'' S e 44°59'08,8'' W, com altitude de 1070 m. O solo é predominantemente Litólico álico e Cambissolo (Curi *et al.* 1990). O clima da região é do tipo Cwb, segundo o mapa da classificação de Köppen para o Brasil, proposto por Alvares *et al.* (2013), contendo verões brandos e invernos secos. A precipitação anual média é de cerca de 1500 mm, com temperatura anual média de 19,6°C (Brasil 1992). A Figura 1 exibe o climograma para os anos de 2015 a 2016, com dados oriundos da estação Meteorológica de Lavras (a mais próxima da área de estudo).

Figura 1 - Climograma do Município de Lavras – MG, para o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016.

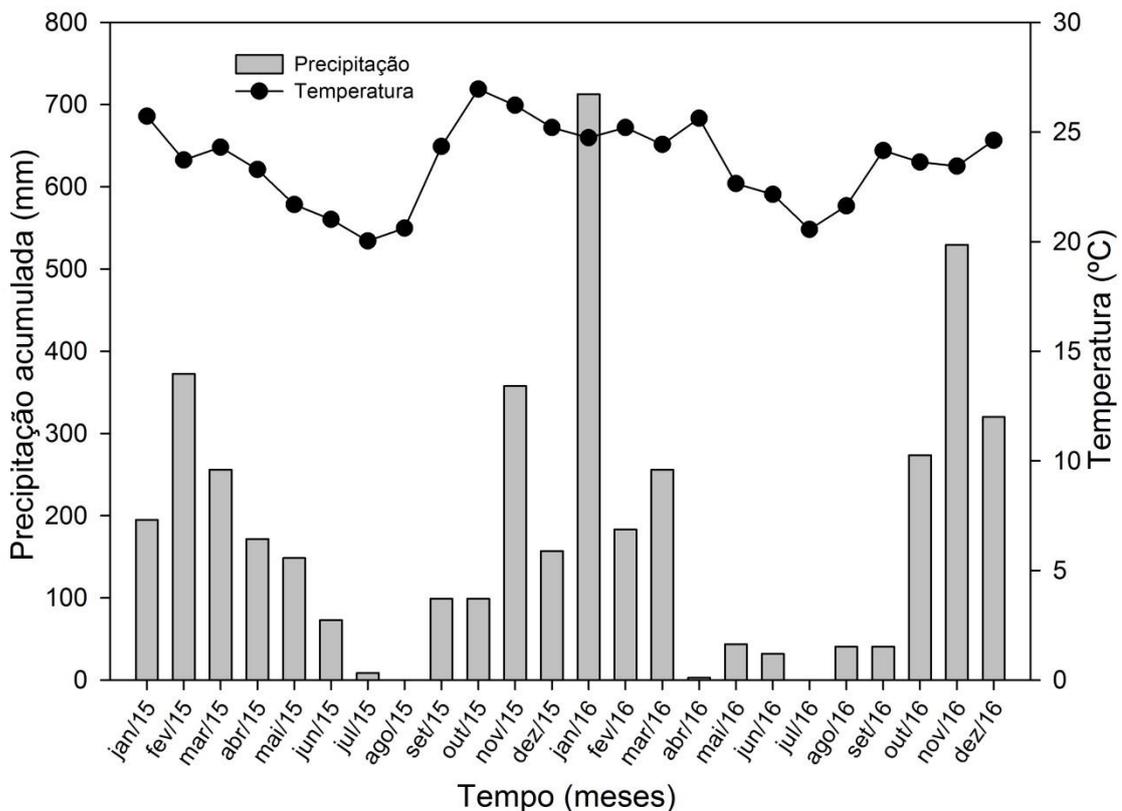


Fonte: Estação Meteorológica de Lavras (Dados obtidos em 2017).

A segunda área de coleta foi estabelecida em uma área de Cerrado sentido restrito, localizado na reserva legal da Fazenda Juliana, Município de Monte Carmelo, Minas Gerais. A área está situada no Cerrado mineiro a 890 m de altitude, sob as coordenadas geográficas 18°42'25" S e 47°33'33" W. O solo, de acordo com o SiBCS (Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos) se enquadra na classe Latossolo Vermelho Distrófico.

De acordo com valores de precipitação e temperatura disponibilizados pela Estação Meteorológica de Monte Carmelo, a região apresenta clima sazonal, com duas estações bem definidas, uma com verão quente e chuvoso, e outra com inverno frio e seco. A temperatura e o índice pluviométrico médio anual são de 20,7°C, e 1569,1 mm, respectivamente, condizendo com o clima do tipo Aw. A Figura 2 exibe o climograma para os anos de 2015 a 2016, com dados oriundos da estação Meteorológica de Monte Carmelo (a mais próxima da área de estudo).

Figura 2 - Climograma do Município de Monte Carmelo - MG, para o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016.



Fonte: Estação Meteorológica de Monte Carmelo (Dados obtidos em 2017).

Em cada uma das áreas, os indivíduos de *Erythroxylum suberosum* foram identificados e diferenciados em campo, na fase de floração, entre os dois morfotipos (brevistilado e longistilado). Ramos férteis foram coletados e herborizados. Exsiccatas de material coletado foram depositadas no Herbário ESAL (Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG) sob os registros 27323 e 27324.

As coletas de material vegetal foram realizadas observando o maior número de plantas possível e respeitando o mínimo de 12 plantas com distância superior a 50 metros entre os indivíduos.

2. Procedimentos experimentais

2.1. Viabilidade Polínica

Para avaliar a viabilidade do pólen, foram analisadas amostras de flores em antese coletadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito, nos meses de setembro e outubro de 2016. As análises foram conduzidas por meio da técnica de coloração do protoplasma em solução de Alexander (Alexander 1980). As amostras foram coletadas pela manhã e consistiram de cinco flores com coloração creme, de cinco plantas dos morfotipos brevi e longistilados, totalizando 25 flores por morfotipo. A partir da homogeneização das coletas de cada morfotipo foram confeccionadas cinco lâminas semi-permanentes para proceder a contagem dos grãos de pólen viáveis. Em cada lâmina foram contabilizados 200 pólenes, sob objetiva de aumento de 40X. A viabilidade foi estabelecida, considerado-se os grãos de pólen corados de púrpura e a inviabilidade para aqueles corados em verde ou sem coloração. Os valores foram expressos pela porcentagem das médias.

2.2. Pericarpo e Semente

Para verificar a anatomia do pericarpo e do embrião, foram estabelecidas coletas de frutos em fase de maturação, considerando-se a coloração do pericarpo: verde (início de maturação), laranja (imaturo) e vermelho (maturo), todos com o tamanho final do fruto já alcançados. Os frutos foram coletados separadamente para os dois morfotipos, fixados em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965) e conservados em etanol 70% (Johansen 1940). Para a produção de lâminas permanentes, amostras dos frutos foram desidratadas em série etílica, infiltradas e incluídas em hidroxietilmetacrilato Leica®. O material foi seccionado em séries transversais com cerca de 5 µm em micrótomo de deslize, coradas com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964) e montadas em verniz vitral incolor Acrilex®, seguindo as técnicas propostas por Paiva *et al.* (2006). O laminário produzido foi examinado em microscópio de

luz (LM) e as imagens foram registradas com auxílio de microscópio trinocular (Zeiss Lab. A1) acoplado ao captador de imagens (AxioCamERc5s).

2.3. Grau de umidade das sementes

O beneficiamento consistiu na retirada da parte carnosa do pericarpo procedendo-se a maceração dos frutos em peneira sob água corrente. Posteriormente as sementes foram colocadas em becker com água, isolando-se as sementes sobrenadantes (sementes predadas e com ausência de embrião viável). As coletas e o beneficiamento foram individualizados para cada coloração do pericarpo e constituíram três lotes de semente caracterizadas como verde (início de maturação), laranja (imaturado) e vermelho (maturo).

O procedimento foi estabelecido para cada morfotipo e áreas de coleta: Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Neste estudo, optou-se por chamar de semente o conjunto formado pela semente acrescida do pirênio, uma vez que a retirada da última era inviável. As sementes beneficiadas foram colocadas em papel filtro para eliminar o excesso de água.

O grau de umidade foi determinado pela secagem do material em estufa a 105° por 24 horas (Brasil 2009), com quatro repetições de 2 g de sementes, pesadas em balança de precisão. Os resultados foram calculados com base no peso das sementes úmidas e sementes secas.

2.4. Capacidade de germinação

Nos meses de dezembro de 2015 e janeiro de 2016, frutos em diferentes estádios de maturação apresentando coloração verde (início de maturação), laranja (imaturado) e vermelho (maturo) foram coletados em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. O beneficiamento e constituição dos lotes de sementes seguiram os mesmos procedimentos utilizados para o experimento de grau de umidade das sementes.

Montou-se o ensaio de germinação segundo Brasil (2009), com cinco repetições de 20 sementes. As sementes foram colocadas em gerbox transparente forrado com dupla folha de papel filtro e umedecido com água destilada. O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), MG, em germinadores do tipo B.O.D. sob temperatura constante de 25° C (Brancalion *et al.* 2010) e luz contínua estabelecida com lâmpadas fluorescentes e também no Laboratório de Pesquisa em Anatomia, Sistemática e Fisiologia Vegetal (LASEV) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus de Monte Carmelo, MG, com as mesmas características. Os tratamentos foram monitorados diariamente (procedimento desenvolvido em Lavras-MG) e semanalmente

(procedimento desenvolvido em Monte Carmelo-MG). As sementes consideradas germinadas, com emissão de raiz primária e com curvatura geotrópica, foram removidas e transferidas para bandeja com areia.

O monitoramento dos experimentos ocorreu por 30 dias e o número de sementes germinadas para cada tratamento foi anotado. Durante o período, realizou-se o reumedecimento do substrato com água destilada, quando necessário.

Ao final, foram calculados as porcentagens de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) de cada tratamento, segundo Labouriau & Agudo (1987).

2.5. Teste de Tetrazólio

Aplicou-se o teste de tetrazólio para determinar a viabilidade das sementes não germinadas segundo Brasil (2009) para o tratamento envolvendo sementes provenientes de frutos vermelhos, do Campo Rupestre. Realizou-se um corte longitudinal nas sementes para exposição dos tecidos do embrião, e logo após foram colocadas em solução de tetrazólio. Aquelas que tiveram reação positiva ao tetrazólio foram consideradas viáveis, as que não reagiram, mortas e outras por não apresentarem conteúdo, foram contabilizadas como vazias. Os resultados foram apresentados em porcentagem. Para as sementes não germinadas nos ensaios do Cerrado sentido restrito não foram aplicados o teste, pois ao final dos 30 dias as sementes não germinadas apresentavam-se deterioradas.

2.6. Análises estatísticas

Os resultados foram avaliados pelo teste de Shapiro-Wilk e seguindo uma normal, foram submetidos à Análise de Variância. Para Viabilidade Polínica, as médias foram comparadas pelo Teste t de Student e para os tratamentos de Grau de umidade, IVG e Taxa de Germinação aplicou-se Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial com 2 fatores (morfotipo e maturação) e Teste de média Scott-Knott, todos com nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software estatístico SISVAR (Ferreira 2011).

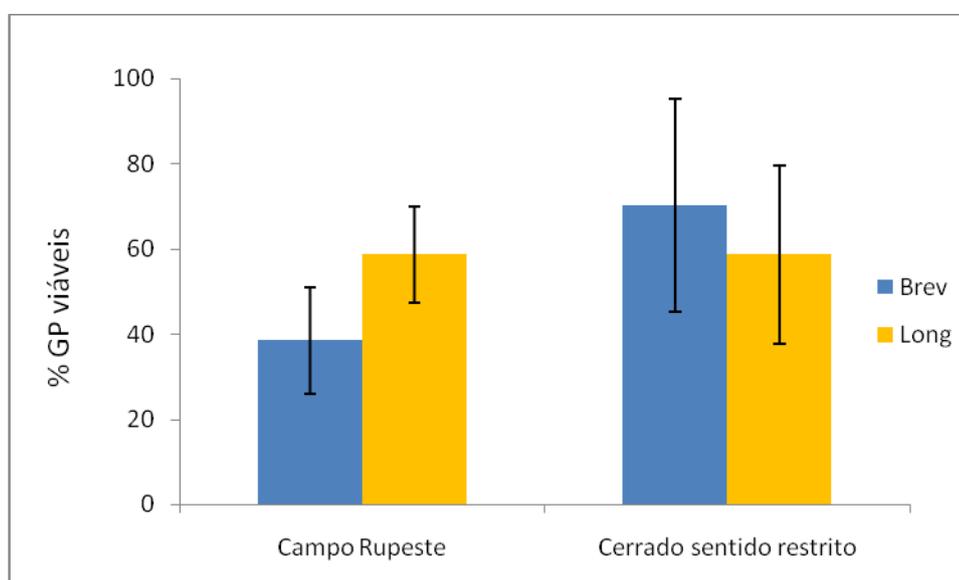
Resultados

1. Viabilidade Polínica

Para os grãos de pólen de *Erythroxylum suberosum* avaliados para coletas realizadas Cerrado sentido restrito, os pólenes provenientes de flores brevistiladas e longistiladas exibiram 70,18% e 58,60% de média de viabilidade, respectivamente, não havendo diferença

significativa entre os morfotipos. No Campo Rupestre foram observadas médias de viabilidade polínica de 38,60% para flores brevistiladas e para as longistiladas, 58,80%. Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os morfotipos. É possível verificar que a viabilidade do pólen provenientes de flores do morfotipo longistilado de Cerrado sentido restrito e Campo Rupestre exibiram médias bem próximas (figura 3) e que pólen provenientes de flores brevistiladas apresentaram maior viabilidade na área de Cerrado sentido restrito.

Figura 3 - Médias (%) dos grãos de pólen viáveis dos morfotipos brevistilado e longistilado de *Erythroxylum suberosum* de Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. (Barras: desvio padrão).



2 - Morfologia e Anatomia do Pericarpo e Semente

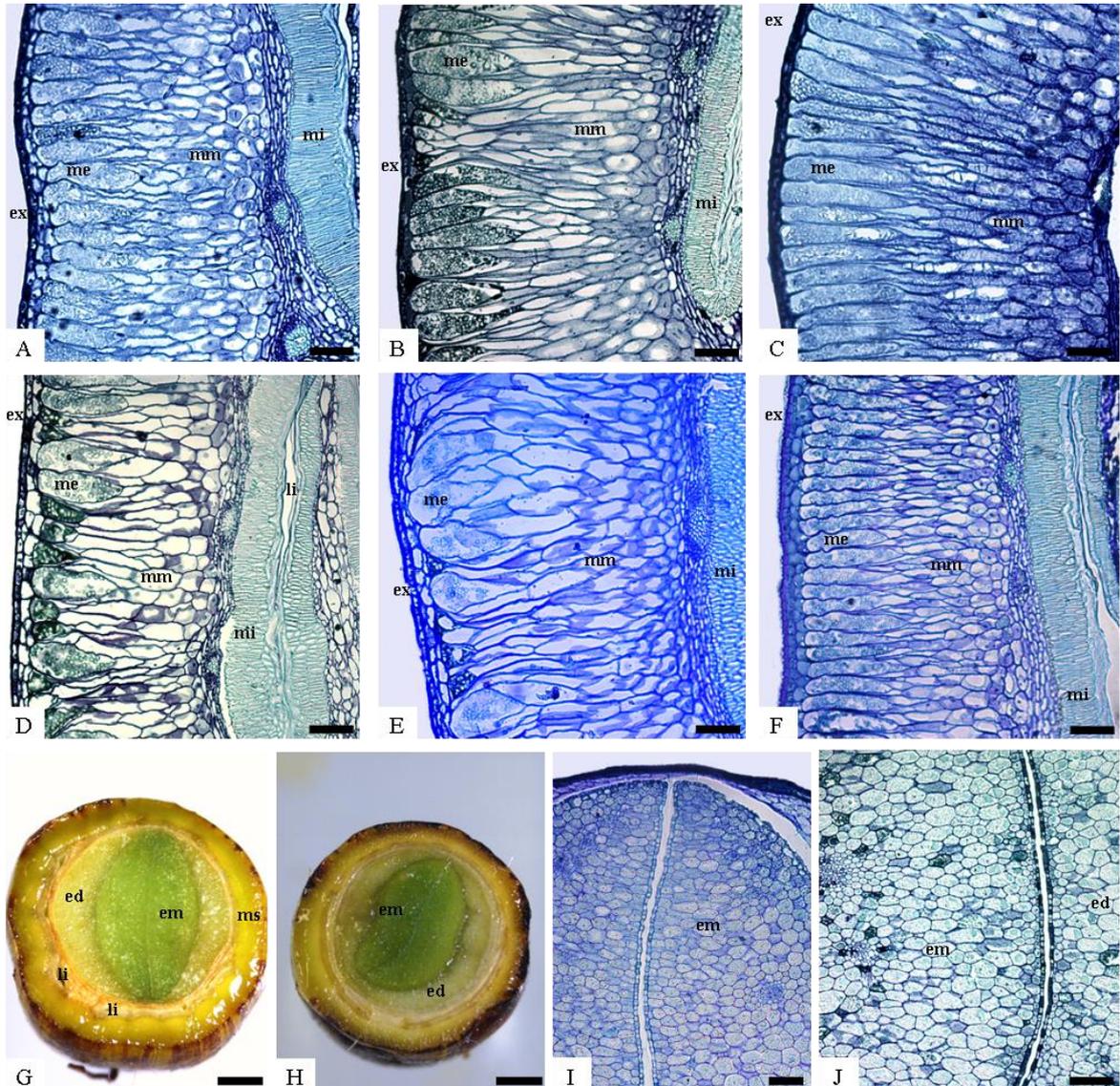
O pericarpo de *E. suberosum* (figuras 4A-F) apresenta exocarpo uni (figura 4C) a multisseriado (figuras 4 A, B, D-F), com presença de cutícula. O mesocarpo pode ser dividido em três regiões: mesocarpo externo, médio e interno (figura 4A-F). O mesocarpo externo (figura 4A-F) é formado por uma camada de células alongadas radialmente de tamanho avantajado e citoplasma de conteúdo granular, com capacidade meristemática que acrescentam células ao mesocarpo médio. O mesocarpo médio (figura 4A-F) é formado por células parenquimáticas típicas de paredes delgadas e formato alongado radialmente a isodiamétrico, este de tamanhos variados, maiores externamente e menores junto ao mesocarpo interno. Os feixes vasculares são observados nessa porção interna do mesocarpo médio. O mesocarpo interno (figura 4A-F) é constituído por esclereídes, que envolvem os três

lóculos do gineceu, um fértil e dois inférteis, juntamente com o endocarpo, este exhibe apenas uma camada de células de parede lignificada.

A semente é bitegumentada, albuminosa, com endosperma rico em amido e possui embrião axial, verde, com o eixo hipocótilo-radícula curto (figura 4G-H). Os cotilédones são carnosos, com reserva de amido (figura 4I-J).

Diferenças anatômicas no pericarpo e na semente dos morfotipos brevistilado e longistilado não são observadas, e nem entre frutos de diferentes estágios de maturação caracterizadas pela coloração verde, laranja e vermelho.

Figura 4 - Secções transversais do fruto de *Erythroxylum suberosum*. A, B, C - Fruto do morfortipo brevistilado, verde, laranja e vermelho, respectivamente. D, E, F - Fruto morfortipo longistilado, verde, laranja e vermelho. G, H - Fruto dos morfortipos brevistilado e longistilado. I-J: Detalhe dos cotilédones do embrião dos morfortipos longistilado e brevistilado. (ed: endosperma, em: embrião, ex: exocarpo, li: lóculo infértil, me: mesocarpo externo, mi: mesocarpo interno, mm: mesocarpo médio). Barras: 50 μ m (A-F, I-J) e 1mm (G-H).



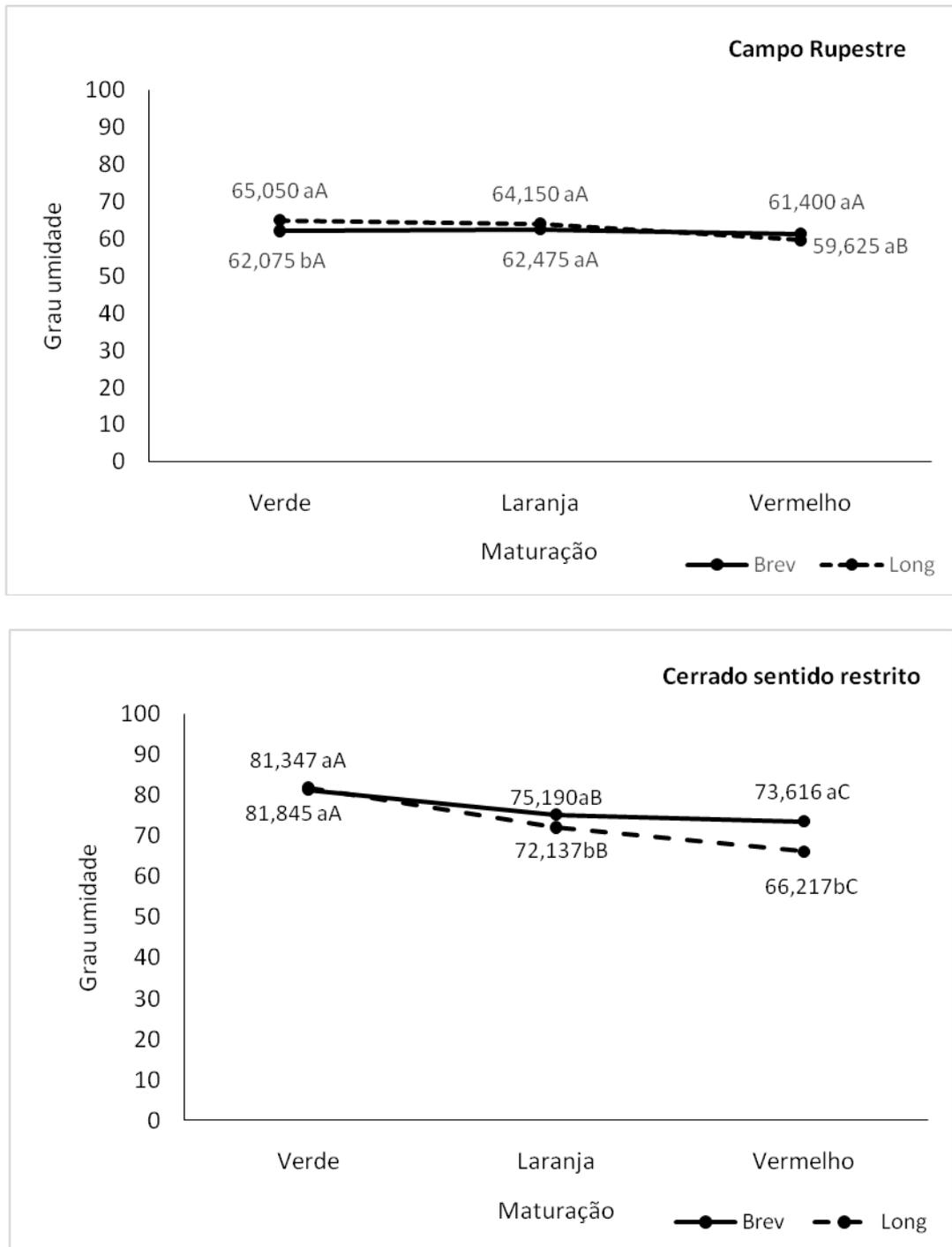
3. Grau de umidade

Houve interação significativa ($P < 0,05$) em relação ao grau de umidade entre os dois morfortipos, brevistilado e longistilado e maturação em *E. suberosum* de ambas fitofisionomias de coleta.

As sementes coletadas no Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito dos dois morfortipos, obtidas dos frutos vermelhos apresentaram os menores graus de umidade (figura

5). O grau de umidade da semente no início da dispersão (fruto de coloração vermelha) variou entre 59,6 % (Campo Rupestre) a 73,6 (Cerrado sentido restrito).

Figura 5 - Grau de umidade das sementes oriundas dos morfotipos brevistilado e longistilado de *Erythroxylum suberosum* em três estágios de maturação, avaliadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Letras maiúsculas indicam maturação e minúsculas morfotipo.



4. Germinação de sementes

A germinação das sementes de *E. suberosum* iniciou no sexto dia, em ambas fitofisionomias avaliadas.

Para a Taxa de Germinação de sementes de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre, não houve diferença significativa entre as fases de maturação dos frutos verde, laranja e vermelho, mas a diferença foi significativa ($P < 0,05$) entre os morfotipos, sendo que o longistilado exibiu uma maior taxa (figura 6).

Já para a Taxa de Germinação de sementes avaliadas em Cerrado sentido restrito houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre as médias dos dois morfotipos, e também entre frutos de coloração verde, laranja e vermelho (figura 6). O morfotipo brevistilado apresentou o maior índice de germinação, e as maiores médias de sementes germinadas foram provenientes dos frutos laranja e vermelho. No morfotipo longistilado, o maior índice germinativo foi da fase de maturação do fruto vermelho.

Figura 6 - Taxa de germinação dos dois morfotipos (brevistilado e longistilado) e das diferentes fases de maturação (verde, laranja e vermelho) de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Letras maiúsculas indicam maturação e minúsculas morfotipo. (Continua)

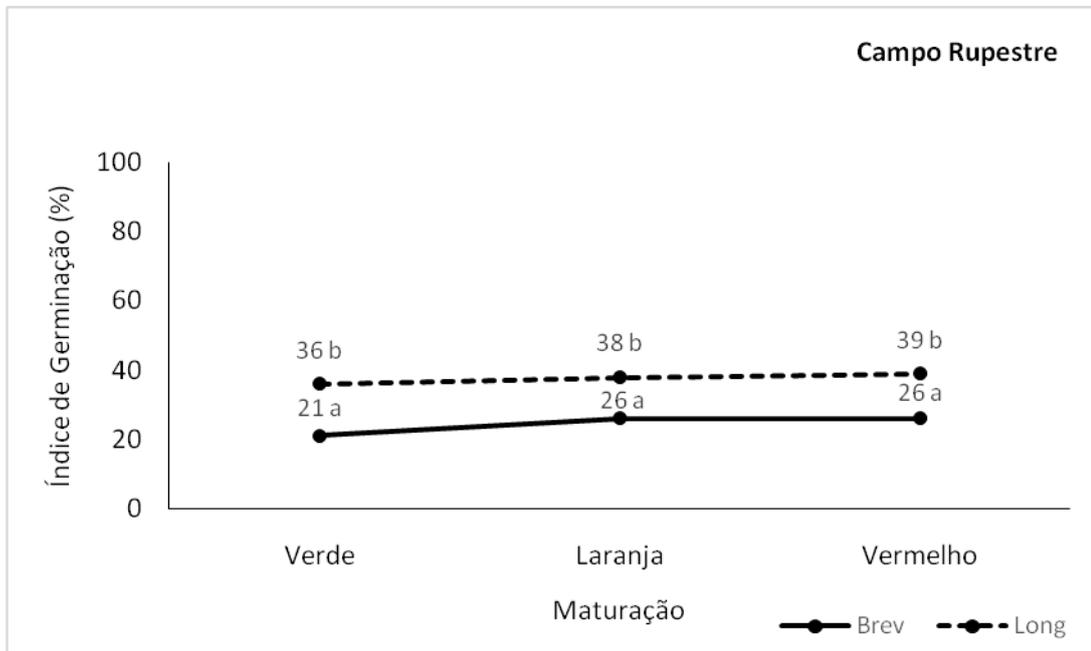
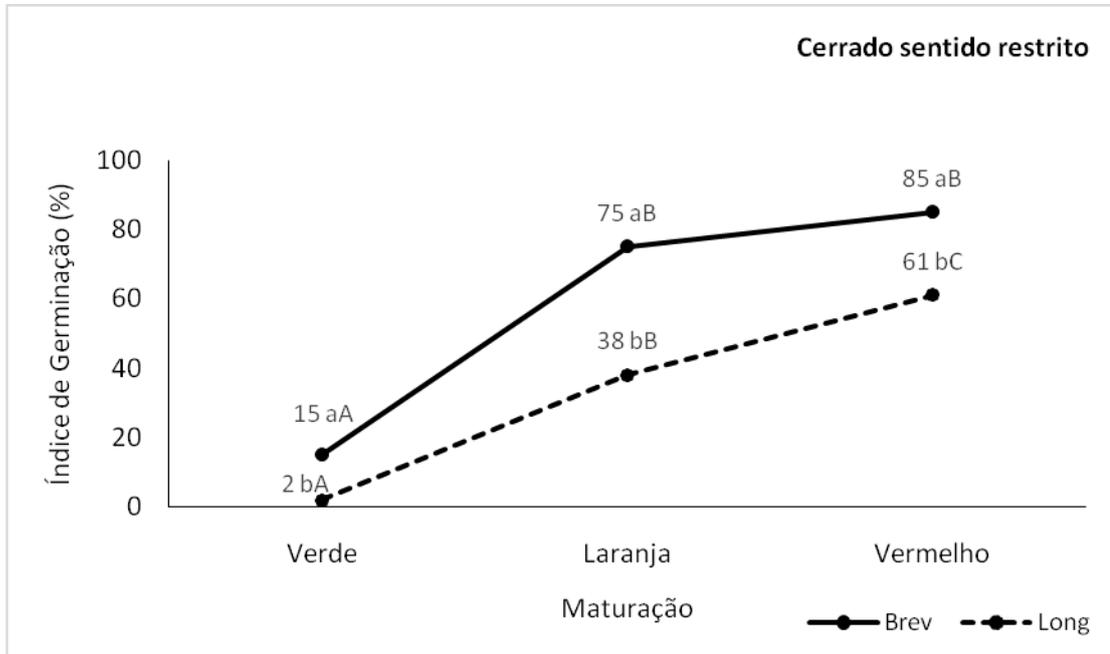
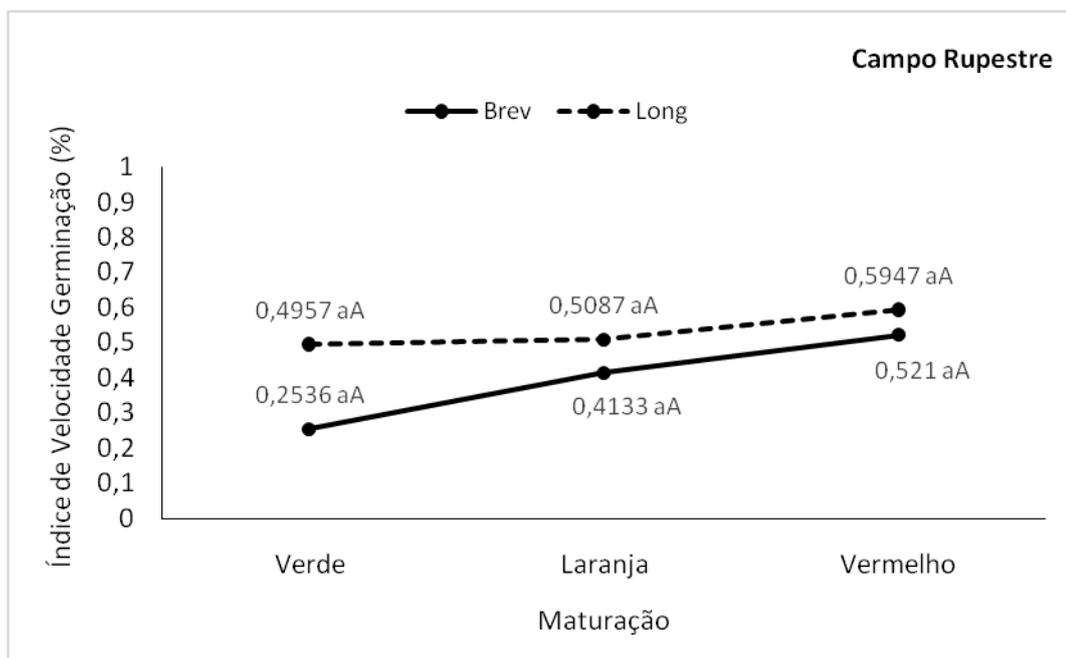


Figura 6 - Taxa de germinação dos dois morfotipos (brevistilado e longistilado) e das diferentes fases de maturação (verde, laranja e vermelho) de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Letras maiúsculas indicam maturação e minúsculas morfotipo.



Para o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de *E. suberosum* avaliado em Campo Rupestre, não foram detectadas diferenças significativas entre os morfotipos, e nem entre os frutos de diferentes colorações (figura 7).

Figura 7 - Índice de Velocidade de Germinação dos morfotipos brevistilado e longistilado e das diferentes fases de maturação (verde, laranja e vermelho) de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre. Letras maiúsculas indicam maturação e minúsculas morfotipo.



5. Teste do Tetrazólio

As sementes não germinadas provenientes de frutos vermelhos colhidas no Campo Rupestre, foram analisadas posteriormente, sendo verificadas a porcentagem de sementes vazias, mortas e viáveis (tabela 1). É importante ressaltar que inicialmente, as sementes que boiaram durante o processo de despolpa, foram retiradas do experimento, e ainda assim, foi encontrado um número relativamente alto de ausência de embrião. Observa-se que, mesmo somando as sementes viáveis não germinadas com as germinadas, o potencial para germinação do lote de sementes produzidas no Campo Rupestre de 2015/2016 foi de aproximadamente 50%.

Tabela 1 - Porcentagem de sementes dos morfotipos brevistilado e longistilado de *E. suberosum* (Campo Rupestre) que não germinaram e foram submetidas ao teste de Tetrazólio.

| Morfotipo | Sementes não germinadas | Sementes vazias | Sementes mortas | Sementes viáveis |
|--------------|-------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Brevistilado | 74 | 27 (36,48%) | 35 (47,29%) | 12 (16,21%) |
| Longistilado | 61 | 15 (24,59%) | 37 (60,65%) | 9 (14,75%) |

Discussão

Os resultados permitiram verificar uma grande quantidade de grãos de pólen inviáveis no morfotipo brevistilado de *Erythroxylum suberosum*, para coletas provenientes de Campo Rupestre. Já as coletas provenientes do Cerrado sentido restrito não apresentaram diferença significativa no número de pólenes viáveis entre os morfotipos. Outro dado intrigante foi que a porcentagem de pólenes viáveis do morfotipo longistilado se manteve semelhante entre as localidades e a diferença ocorreu somente no brevistilado.

Assim, como observado em *E. suberosum* para coletas de Campo Rupestre, Vázquez-Santana *et al.* (1996) também relataram grande quantidade de grãos de pólenes inviáveis no morfotipo brevistilado em *E. havanense*, relacionando o fato à perda de fertilidade masculina neste morfotipo. Para a espécie estudada, acredita-se que a ocorrência de uma maior ou menor taxa de pólenes inviáveis em cada morfotipo variou de acordo com as fitofisionomias em que a planta se desenvolveu. O morfotipo brevistilado evidenciou ser mais afetado por apresentar uma menor produção de grãos de pólen quando comparado ao longistilado (Barros 1998).

Futuyma (2002) afirmou que qualquer característica do ambiente, física ou biológica, que atua sobre os indivíduos de uma determinada espécie pode afetar seu curso de adaptação. Estas variações são muito marcantes em ambientes de Cerrado onde predominam sazonalidade edafoclimáticas (Eiten 1972) e mesmo assim é um dos biomas mais ricos em

espécies vegetais, demonstrando adaptação das espécies (Ratter *et al.* 1997; Klink & Machado 2005).

Em relação aos frutos, considerando as características anatômicas, não é possível distinguir entre os dois morfotipos da espécie, entretanto, a distinção se torna possível pelo formato curto arredondado no morfotipo brevistilado e alongado no longistilado (dados não publicados). O fruto é drupoide conforme descrição de Barroso *et al.* (1999) e apresenta três lóculos, um fértil e dois inférteis. A única semente é albuminosa e possui um embrião verde, o qual, de acordo com Baskin & Baskin (2014) se desenvolve de frutos planos, cilíndricos ou arredondados, como observado para a espécie.

O menor teor de água contido nas sementes de *E. suberosum* foi verificado em frutos vermelhos, em ambas as localidades, porém, com grau de umidade superior para sementes provenientes do Cerrado sentido restrito. Esses dados estão de acordo com Castro *et al.* (2004) que ressaltaram que o processo de maturação de frutos caracteriza-se pela diminuição da água, a qual é substituída nas células por matéria seca. O elevado grau de umidade das sementes na fase final de maturação de *E. suberosum*, a pronta germinação ao serem semeadas sem passar por dessecação evidenciados nesta pesquisa e o fato de serem dispersas durante a estação de chuvas (Lenza & Klink 2006) são bons indicativos de que as sementes da espécie apresentam algum nível de recalcitrância.

Salazar *et al.* (2011) também relataram um alto grau de umidade nas sementes de *E. suberosum*, em torno de 66,14%. Segundo o mesmo autor, o período de dispersão das sementes tem efeito significativo no grau de umidade das mesmas. Esse grau de umidade pode ser explicado pelo maior período de se manterem atraentes aos dispersores (Batalha & Mantovani 2000). Ausin *et al.* (2005) afirmaram que a luz e a temperatura, assim como a disponibilidade de nutrientes e água são relevantes em termos de seleção para iniciar o desenvolvimento reprodutivo, e assim alcançar o sucesso. Além deste estudo, o de Lenza & Klink (2006) e Pirani *et al.* (2009) sugeriram a precipitação como um fator marcante para a produção e dispersão de frutos zoocóricos das plantas de Cerrado.

O alto grau de umidade das sementes da espécie é característico de sementes recalcitrantes. Segundo Carvalho & Nakagawa (2000), sementes recalcitrantes não toleram dessecação acentuada durante a maturação, sendo dispersas com elevado grau de umidade e assim, permanecem metabolicamente ativas, podendo germinar logo após ou até antes da dispersão. Silva *et al.* (2008) ao avaliarem o armazenamento de sementes de *Erythroxylum ligustrinum* DC., concluíram que são recalcitrantes. Apesar do alto índice de umidade, Salazar

et al. (2011) relataram que *E. suberosum* exibiu uma alta longevidade estimada de suas sementes, podendo permanecer viáveis no ambiente por meses.

Os frutos de *E. suberosum*, nas áreas avaliadas, são dispersos durante a estação das chuvas e apresentam alto teor de umidade ao serem dispersos. A presença do embrião clorofilado é característica de sementes que apresentam sensibilidade à dessecação excessiva. Desta forma, a possibilidade de permanência da semente sem germinação e viável no ambiente seria mínima.

A germinação de *E. suberosum* iniciou em seis dias, um processo rápido de acordo com a classificação de Ng (1978) que separa as espécies pela velocidade de germinação em três categorias: rápida, intermediária e tardia. A rápida germinação é um indicativo que as sementes da espécie não apresentam dormência, ou esta foi quebrada num curto período de tempo (Ng 1978). Neste trabalho fica claro que a germinação da espécie ocorre em um período muito curto e aparentemente não exibem dormência ao serem dispersas.

No entanto, Salazar *et al.* (2011) relataram a presença de dormência morfofisiológica para *E. suberosum*, destacando também o tegumento permeável, com o embrião pouco desenvolvido, levando 30 dias ou mais para germinar. Já Baskin & Baskin (2014) relacionaram as sementes de *Erythroxylum pruinatum* O. E. Schulz e *Erythroxylum tortuosum* Mart. como apresentando dormência fisiológica. A respectiva classificação ocorreu através do trabalho de Rizzini (1976) que verificou a germinação de espécies do Cerrado.

Nesse trabalho, retiramos o pericarpo carnoso, permanecendo apenas o pirênio (parte lenhosa), assim, a semente embebeu mais rápido, e provavelmente por esse motivo a germinação ocorreu de forma mais acelerada. Os resultados observados nesta pesquisa permitem sugerir que ao iniciar a dispersão apresentando níveis de umidade acima de 50% não se verifica dormência, assim, as sementes germinam prontamente ao encontrar condições favoráveis, contrastando com os resultados apresentados por Salazar *et al.* (2011).

Apesar dos maiores índices de germinação serem provenientes das sementes oriundas de frutos vermelhos e laranjas, verifica-se capacidade de germinação, embora baixa, em sementes extraídas do fruto com coloração verde. Segundo Carvalho & Nakagawa (2000) sementes que não concluíram a maturação completa também podem germinar, porém, a taxa germinativa é menor. O aspecto morfológico do fruto, como a coloração, tem sido utilizado para diversas culturas e espécies nativas brasileiras (Pinã-Rodrigues & Aguiar 1993) relacionando com o ponto de maturidade fisiológica, em que a semente atinge o máximo poder germinativo. No presente estudo, observa-se que para ambos os morfotipos não

ocorreram alterações anatômicas distintas no fruto e semente na fase de maturação coletada com a separação apenas pela coloração do fruto.

Ao comparar a germinação em relação aos dois morfotipos, verifica-se que para a área de Campo Rupestre, o morfotipo longistilado apresentou maior índice de germinação, já para sementes colhidas em Cerrado sentido restrito, o maior índice de germinação foi observado para o brevistilado. Não foi possível concluir o motivo da inversão entre as duas fitofisionomias.

Existem relatos de diferenças nas taxas germinativas de espécies heterostílicas a exemplo de *Lythrum salicaria*, uma espécie tristílica (Anderson & Ascher 2000). Estes autores relataram que, para a espécie, houve maior taxa germinativa no morfotipo brevistilado, sendo significativamente diferente dos medistilado e longistilado. Anderson e Ascher (2000) relacionaram a resposta a uma provável compensação de fecundidade reduzida no morfotipo brevistilado, devido a menor produção de sementes, quando comparado aos outros dois e também à menor frequência do morfotipo brevistilado nas populações. Contudo, outros resultados também foram encontrados para a espécie *L. salicaria* em que a maior taxa germinativa de sementes ocorreu no morfotipo medistilado (Nichols 1987).

Analisando a germinação de *E. suberosum* das diferentes fitofisionomias, é possível verificar que ocorreu um maior índice de germinação das sementes no Cerrado sentido restrito, nos dois morfotipos. De acordo com Baskin & Baskin (2014) a genética e o ambiente da planta mãe durante o período de maturação das sementes, são fatores que controlam a taxa germinativa, entretanto, eles não atuam independentemente. O Campo Rupestre de acordo com Walter & Ribeiro (2008) é caracterizado por apresentar dias quentes e noites frias, acredita-se que a baixa taxa germinativa nesta fitofisionomia foi devido a ausência de alternância de temperatura.

Em conclusão, verificamos que houve diferença em termos de viabilidade polínica no morfotipo brevistilado entre as duas fitofisionomias. Em ambas fitofisionomias a porcentagem de pólenes viáveis do morfotipo longistilado se manteve próximo a 60%.

As características anatômicas de frutos e sementes foram mantidas entre os morfotipos, embora seja possível a identificação pelo formato do fruto: fruto do morfotipo longistilado é longilíneo enquanto que o brevistilado é curto arredondado.

Quanto às respostas de germinação à 25°C e na presença de luz, o Cerrado sentido restrito exibiu alta taxa germinativa, já no Campo Rupestre, verificou-se que a esta taxa foi baixa. As diferenças na germinação apresentadas por *E. suberosum* ajudam a caracterizar fisiofisionomicamente o Cerrado.

Referências Bibliográficas

- Alexander MP. 1980. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. *Stain Technology* 55: 13-18.
- Alvares AC, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JLM, Sparove G. Köppen's climate classification map for Brazil. 2013. *Meteorologische Zeitschrift* 22(6): 711-728.
- Anderson NO, Ascher PD. 2000. Fecundity and fitness in cross-compatible pollinations of tristylous North American *Lythrum salicaria* populations. *Theoretical Applied Genetics* 101: 830-843.
- Ávila-Sakar G, Domínguez, CA. 2000. Parental effects and gender specialization in a tropical heterostylous shrub. *Evolution* 54: 866-877.
- Ausín I, Alonso-Blanco C, Matinez-Zapater JM. 2005. Environmental regulation of flowering. *The International Journal of Developmental Biology* 49: 689-705.
- Batalha MA, Mantovani W. 2000. Reproductive phenological patterns of Cerrado plant species at the Pé-de-Gigante Reserve (Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil): a comparison between the herbaceous and woody floras. *Revista Brasileira de Biologia* 60(1): 129-145.
- Barret SCH. 1990. The evolution and adaptive significance of heterostyly. *Tree* 5(5): 144-148.
- Barros MG. 1998. Sistemas reprodutivos e polinização em espécies simpátricas de *Erythroxylum* P. Br. (Erythroxylaceae) do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 21 (2): 159-166.
- Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF. 1999. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: UFV.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014. *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press.
- Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM, Nonogaki H. 2013. *Seeds. Physiology of development, germination and dormancy*. 3rd ed. New York: Springer.
- Brancalion PHS, Novembre ADLC, Rodrigues RR. 2010. Temperatura ótima de germinação de sementes de espécies arbóreas brasileiras. *Revista Brasileira de Sementes* 32(4): 15-21.
- Brasil. 1992. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. Normas Climatológicas: 1961-1990. Brasília, 84 p.
- Brasil. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: Mapa/ACS. 399 p.

- Carvalho NM, Nakagawa J. 2000. Semente: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP.
- Castro RD, Bradford KJ, Hilhorst HWM. 2004. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: Ferreira AG, Borghetti F. (eds.). Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed. p. 51-67.
- Contreras OS, Ornelas, JF. 1999. Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a distylous shrub of a tropical cloud forest in Mexico. *Plant Systematics and Evolution* 219: 225-241.
- Cuevas E, Molina-Freaner F, Eguiarte LE, Domínguez CA. 2005. Patterns of male sterility within and among populations of the distylous shrub *Erythroxylum havanense* (Erythroxylaceae). *Plant Ecology* 176: 165-172.
- Curi N, Lima JM, Andrade H, Gualberto V. 1990. Geomorfologia, física, química e mineralogia dos principais solos da região de Lavras (MG). *Ciência e Prática* 14(2): 297-307.
- Dafni A, Firmage D. 2000. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution* 222: 113-132.
- Darwin C. 1877. The different forms of flowers on plants of the same species. London: Murray.
- Davide AC, Carvalho LR, Carvalho MLM, Guimarães RM. 2003. Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais pertencentes à família Lauraceae quanto à capacidade de armazenamento. *Cerne* 9(1): 29-35.
- Del-Carlo S, Buzato S. 2006. Male sterility and reproductive output in distylous *Erythroxylum suberosum* (Erythroxylaceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 88: 465-474.
- Domínguez CA, Ávila-Sakar G, Vázquez-Santana S, Márquez-Guzmán J. 1997. Morph-biased male sterility in the tropical distylous shrub *Erythroxylum havanense* (Erythroxylaceae). *American Journal of Botany* 84: 626-632.
- Eiten G. 1972. The Cerrado Vegetation of Brazil. *Botanical Review* 38(2): 201-341.
- Felfili JM, Nogueira PE, Silva Jr MC, Marimon BS, Delitti WBC. 2002. Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa - MT. *Acta Botanica Brasilica* 16(1): 103-112.
- Ferreira DF. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35: 1039-1042.
- Futuyma D J. 2002. *Biologia Evolutiva*. Ribeirão Preto: FUNPEC-RP.
- Ganders FR. 1979. Biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.

- Goodland R, Ferri MG. 1979. Ecologia do Cerrado. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo.
- Janzen DH. 1967. Synchronization of sexual reproduction of trees during the dry season in Central America. *Oecologia* 67: 40-43.
- Johansen DA. 1940. Plant microtechnique. New York: McGraw- Hill.
- Karnovsky MJ. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biolology* 27: 137-138.
- Klink CA, Machado RB. 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* 1(1): 147-155.
- Labouriau LG, Agudo M. 1987. On the physiology of seed germination in *Salvia hispânica* L. I Temperature Effects. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 59(1): 37-56.
- Lenza E, Klink CA. 2006. Comportamento fenológico de espécies lenhosas em um cerrado sentido restrito de Brasília, DF. *Revista Brasileira de Botânica* 29(4): 627-638.
- Machado RB, Ramos Neto MB, Pereira PGP, Caldas EF, Gonçalves DA, Santos NS, Tabor K, Steininger M. 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. *Conservação Internacional*, Brasília, DF.
- Machado AO, Silva AP, Consolaro H, Barros MAG, Oliveira PE. 2010. Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* H. B. & K. (Rubiaceae) in the cerrados of central Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 24 (3): 686-696.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kents J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Ng FSP. 1978. Strategies of establishment in Malayan forest trees. In: Tomlinson PB, Zimmermann MH. (eds) *Tropical trees as living systems*. Cambridge, University Press. p. 129-162.
- Nicholls M. 1987. Pollen flow, self pollination and gender specialization: factors affecting seed set in the tristylous species *Lythrum salicaria* (Lythraceae). *Plant Systematics Evolution* 156:151–157.
- O'Brien TP, Feder N, Mccully ME. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O. *Protoplasma* 59(2): 368-373.
- Pacini E, Franchi GG, Lisci M, Nepi M. 1997. Pollen viability related to type of pollination in six angiosperm species. *Annals of Botany* 80: 83-87.
- Paiva JGA, Fank-de-Carvalho SM, Magalhães MP, Graciano-Ribeiro D. 2006. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasilica* 20(2): 257-264.

- Piña-Rodrigues FCM, Aguiar IB. 1993. Colheita de sementes. In: Aguiar IB, Pinã-Rodrigues FCM, Figliolia MB (eds). Sementes Florestais Tropicais. Brasília: Abrates.
- Pirani FR, Sanchez M, Pedroni F. 2009. Fenologia de uma comunidade arbórea em cerrado sentido restrito, Barra do Garças, MT, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 23(4): 1096-1109.
- Ratter JA, Ribeiro JF, Bridgewater S. 1997. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. *Annals of Botany* 80: 223-230.
- Rizzini CT. 1965. Experimental studies on seedling development of cerrado woody plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 52(3): 410-426.
- Rizzini CT. 1976. Influência da temperatura sobre a germinação de diásporos do Cerrado. *Rodriguésia* 41: 341-383.
- Rosas LF, Dominguez CA. 2009. Male sterility, fitness gain curves and the evolution of gender specialization from distyly in *Erythroxylum havanense*. *Journal of Evolutionary Biology* 22: 50-59.
- Rosas LF, Perez-Alquicira J, Dominguez CA. 2005. Environmentally induced variation in fecundity compensation in the morph-biased male-sterile distylous shrub *Erythroxylum havanense* (Erythroxylaceae). *American Journal of Botany* 92: 116–122.
- Salazar A, Goldstein G, Franco AC, Miralles-Wilhelm F. 2011. Timing of seed-banks, control seedling recruitment of Woody plants in Neotropical savannas. *Seed Science Research* 21: 103-116.
- Silva BMS, Cesarino F, Sader R, Lima JD. 2008. Germinação e armazenamento de sementes de coca (*Erythroxylum ligustrinum* DC. - Erythroxylaceae). *Revista Brasileira de Sementes* 30(3): 25-27.
- Silva L, Fernandes CL, Simão E, Nakamura AT. 2016. Development of anthers and pollen in Brazilian heterostylic species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae): an ecological approach. *Pakistan Journal of Botany* 48(5): 2047-2055.
- Valois-Cuesta H, Soriano PJ, Ornelas JF. 2011. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output. *Journal of Plant Research* 124: 137-146.
- Vázquez-Santana S, Domínguez CA, Márquez-Guzmán Y. 1996. Embriología de *Erythroxylum havanense* Jacq. (Erythroxylaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 59: 25-33.
- Vuilleumier BS. 1967. The origin and evolutionary development of heterostyly in the angiosperms. *Evolution* 21: 210-226.

Anexos

Tabela 1 - Valores do teste de Shapiro-Wilk (normalidade) para dados de grau de umidade, nº de grãos de pólen viáveis (%) e IVG.

| Tratamentos | n | Shapiro-Wilk | |
|--|----|--------------|-------------|
| | | W | Valor p |
| Umidade | 24 | 0,96797 | 0,6174 (NS) |
| Grão de Pólen Campo Rupestre | 10 | 0,95629 | 0,7429 (NS) |
| Grão de Pólen Cerrado sentido restrito | 10 | 0,90979 | 0,2796 (NS) |
| IVG | 30 | 0,94582 | 0,1305 (NS) |

NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade. Normalidade dos dados.

Tabela 2 - Proporção de grãos de pólen viáveis entre os morfotipos brevistilado e longistilado de *E. suberosum* de Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Estatística descritiva e teste t de Student.

| Variável | Morfo | Média (%) | Desvio Padrão (%) | Teste t Valor p |
|--|-------|-----------|-------------------|-----------------|
| <i>E. suberosum</i> Cerrado sentido restrito | Breve | 70,18 | 24,92 | 0,448 (NS) |
| | Long | 58,60 | 20,85 | |
| <i>E. suberosum</i> Campo Rupestre | Breve | 38,60 | 12,48 | 0,028 * |
| | Long | 58,80 | 11,30 | |

* Teste significativo a 5% de probabilidade. NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 3 - Análise de Variância do Grau de Umidade das sementes avaliadas em Campo Rupestre.

| Fontes de Variação | QM | F | Valor p |
|--------------------------|--------|--------|-------------|
| Tipo de Flor | 5,510 | 3,226 | 0,0893 (NS) |
| Maturação | 22,940 | 13,432 | 0,0003 * |
| Tipo de Flor * Maturação | 12,052 | 7,056 | 0,0055 * |

* Teste significativo a 5% de probabilidade. NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 4 - Análise de Variância do Grau de Umidade das sementes avaliadas em Cerrado sentido restrito.

| Fontes de Variação | QM | F | Valor p |
|--------------------------|---------|---------|----------|
| Tipo de Flor | 52,838 | 32,406 | < 0,01 * |
| Maturação | 227,591 | 139,584 | < 0,01 * |
| Tipo de Flor * Maturação | 25,032 | 15,353 | < 0,01 * |

* Teste significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 5 - Taxa de germinação de sementes de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito. Teste de Shapiro-Wilk (normalidade).

| Tratamentos | N | Shapiro-Wilk | |
|--------------------------|----|--------------|--------------|
| | | W | Valor p |
| Cerrado sentido restrito | 30 | 0,90981 | 0,01471* |
| Campo Rupestre | 30 | 0,93472 | 0,06562 (NS) |

* Teste significativo a 5% de probabilidade. Ausência de normalidade.

NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade. Normalidade dos dados.

Tabela 6 - Taxa de germinação de sementes de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre e Cerrado sentido restrito após transformação arcoseno dos dados com ausência de normalidade. Teste de Shapiro-Wilk (normalidade).

| Tratamentos | N | Shapiro-Wilk | |
|--------------------------|----|--------------|--------------|
| | | W | Valor p |
| Cerrado sentido restrito | 30 | 0,93999 | 0,09096 (NS) |
| Campo Rupestre | 30 | 0,67757 | <0,01* |

* Teste significativo a 5% de probabilidade. Ausência de normalidade.

NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade. Normalidade dos dados.

Tabela 7 - Análise de Variância da Taxa de Germinação das sementes de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre.

| Fontes de Variação | QM | F | Valor p |
|--------------------------|---------|-------|-------------|
| Tipo de Flor | 1080,00 | 6,803 | 0,0154 * |
| Maturação | 30,83 | 0,194 | 0,8248 (NS) |
| Tipo de Flor * Maturação | 22,50 | 0,142 | 0,8686 (NS) |

* Teste significativo a 5% de probabilidade. NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Análise de Variância do Índice de Germinação das sementes de *E. suberosum* avaliadas em Cerrado sentido restrito. (Dados Transformados)

| Fontes de Variação | QM | F | Valor p |
|--------------------------|--------|---------|-------------|
| Tipo de Flor | 0,7709 | 49,111 | <0,01 * |
| Maturação | 1,7883 | 113,926 | <0,01 * |
| Tipo de Flor * Maturação | 0,0077 | 0,488 | 0,6197 (NS) |

* Teste significativo a 5% de probabilidade. NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade.

Tabela 9 - Análise de Variância do IVG de *E. suberosum* avaliadas em Campo Rupestre.

| Fontes de Variação | QM | F | Valor p |
|--------------------------|--------|-------|-------------|
| Tipo de Flor | 0,0579 | 1,150 | 0,2943 (NS) |
| Maturação | 0,0839 | 1,665 | 0,2103 (NS) |
| Tipo de Flor * Maturação | 0,0624 | 1,238 | 0,3080 (NS) |

NS: Teste não significativo a 5% de probabilidade.

ARTIGO 2**Morfoanatomia da plântula de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil (Erythroxylaceae)**

Resumo

A espécie *Erythroxylum suberosum* é uma das mais abundantes nos Cerrados brasileiros. É caracterizada por apresentar distília, uma característica controlada geneticamente, em que as flores apresentam dois morfotipos. O objetivo desse trabalho foi descrever morfoanatomicamente o desenvolvimento das plântulas de ambos os morfotipos de *E. suberosum*, relacionando suas características com o Cerrado. Sementes da espécie foram semeadas em gerbox com papel filtro e colocadas em germinadores tipo B.O.D., sob luz constante e temperatura de 25 °C. Após a emissão da radícula, a plântula foi colocada nas bandejas com areia, em germinadores. O material foi fixado em FAA 50 e processado segundo técnicas usuais em anatomia vegetal. As características morfoanatômicas não variaram entre os morfotipos brevistilado e longistilado. As plântulas são fanerocotiledonares, epíguas e armazenadoras (PER), com cotilédones semi fotossintéticos. A filotaxia dos cotilédones é oposta, assim como dos eofilos. O limbo eofilar exibe maior complexidade estrutural quando comparado ao cotiledonar, entretanto, as duas estruturas são hipostomáticas. A raiz primária é longa, bem desenvolvida em relação ao corpo aéreo da planta. Compostos fenólicos estão presentes em todos os órgãos estudados. Os resultados obtidos nos permitem concluir que, apesar do estágio inicial de vida dos vegetais ser um estágio bastante vulnerável, *E. suberosum* se mostra bem adaptada, exibindo características essenciais para promover seu estabelecimento e propiciar sua abundância no Cerrado.

Palavras-chave: Cerrado, fase inicial, adaptação, morfologia, anatomia.

Abstract

The species *Erythroxylum suberosum* is one of the most abundant in the Brazilian Cerrados. It is characterized by presenting distyly, a genetically controlled characteristic, in which flowers have two morphotypes. The objective in this work was to describe morphoanatomically the development of the seedlings of both morphotypes of *E. suberosum*, relating their characteristics to the Cerrado. Seeds of the species were sown in gerbox with filter paper and placed in germinators type B.O.D, under constant light and temperature 25 ° C. After the radicle emission, the seedlings were placed in the trays with sand, in germinators. The material was fixed in FAA 50 and processed according to usual techniques in plant anatomy. The morphoanatomic characteristics did not vary between the thrum and pin morphotypes. The seedlings are phanerocotylar, epigeal and of reserve (PER), with semi photosynthetic cotyledons. The cotyledons phyllotaxis is opposite, as the eophylls. The eophyll lamina exhibits greater structural complexity when compared to the cotyledonar, however, the two

structures are hypostomatic. The primary root is long, well developed in relation to the aerial body of the plant. Phenolic compounds are present in all organs studied. The results obtained allow us to conclude that, although the initial stage of plants life is a very vulnerable stage, *E. suberosum* is well adapted, exhibiting characteristics essential to promote its establishment and propitiate its abundance in the Cerrado.

Keywords: Cerrado, initial phase, adaptation, morphology, anatomy.

Introdução

Um dos gêneros mais ocorrentes nos Cerrados brasileiros é *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae) de acordo com Souza & Lorenzi (2012), e *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. aparece como a espécie de mais alto valor médio de importância (VI) nos estudos fitossociológicos realizados por Goodland (1979). A espécie se destacou também nos estudos de Felfili *et al.* (2002) estando presente entre aquelas de maior frequência relativa do domínio.

No gênero ocorre a heterostilia, uma característica controlada geneticamente que origina um tipo de polimorfismo floral, no qual flores hermafroditas exibem diferenças no comprimento do estilete e filete, apresentando morfotipos distintos (Darwin 1877; Vuilleumier 1967; Ganders, 1979). Os representantes de *Erythroxylum* são considerados distílicos, pois apresentam os morfotipos brevistilado (estilete curto e filete longo) e longistilado (estilete longo e filete curto).

Entre brevistilado e longistilado os genótipos são diferentes (Barret & Shore 2008), entretanto, os dois morfotipos não diferem em apenas um loco, mas em dois, ligados muito estreitamente, os quais estão sempre associados e são herdados juntos como se fosse um loco, ou seja, um supergene, que raramente é quebrado por recombinação cromossômica (Futuyma 2002). Quando ocorre a rara recombinação cromossômica, a partir da distilia surge a homostilia, ou seja, indivíduos que apresentam a mesma altura de estilete e filete (Ganders 1979). A heterostilia atua como um mecanismo que promove a polinização cruzada, cujas polinizações legítimas ocorrem entre as anteras e estigmas de alturas equivalentes (Darwin 1877) favorecendo o fluxo de pólen e incrementando a polinização (Barros 1998).

A diferença entre os morfotipos é verificada não somente na altura diferencial que as anteras e estigmas alcançam, mas na morfologia do estigma (Darwin 1877; Vuilleumier 1967; Ganders 1979; Machado *et al.* 2010), na morfologia do grão de pólen (Ganders 1979; Vázquez-Santana *et al.* 1996; Barros 1998; Santos & Machado 1998; Silva *et al.* 2016) e pode ocorrer também como verificado por Contreras & Ornelas (1999) e Valois-Cuesta *et al.* (2011) na morfologia de frutos e sementes, mas sem relatos para as plântulas.

Plântula é a fase inicial de desenvolvimento da planta (Souza *et al.* 2009). Não há uma classificação definitiva sobre plântula, sabe-se que inicia na germinação da semente, entretanto, há divergências em relação ao período de seu término. De acordo com Souza (2003) uma possível solução seria utilizar o termo até o aparecimento e completa expansão do primeiro eofilo.

Os trabalhos sobre plântulas têm merecido atenção há algum tempo, abordando estudos descritivos, morfológicos, anatômicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos, como também embasando a sistemática, taxonomia e filogenia, além de fornecer dados para germinação e silvicultura (Oliveira 1993). Entretanto, ainda são poucos os estudos sobre plântulas de espécies nativas do Cerrado, com ressalva para Rizzini (1965), Ferreira *et al.* (1998), Oliveira (1999), Botelho *et al.* (2000), Davide *et al.* (2000), Oliveira (2001), Ressel *et al.* (2004), Souza & Oliveira (2004) e Paulino *et al.* (2010).

Com relação ao estudo de plântulas incluindo o gênero *Erythroxylum*, podemos citar os trabalhos de Duke (1965) com *E. areolatum*. Neste estudo, o autor descreveu a morfologia de 182 espécies florestais de diferentes famílias, além de definir termos como criptocotiledonar e fanerocotiledonar e apresentar características relevantes para serem observadas em plântulas, como a exposição dos cotilédones e a filotaxia do eofilo; e Ressel *et al.* (2004) com *E. deciduum*, no qual os autores classificaram 122 espécies arbóreas utilizando-se da ecologia morfofuncional de plântulas. Entretanto, nenhum dos estudos diferencia os dois morfotipos das espécies.

Há diferenças marcantes nas estruturas reprodutivas de plantas heterostílicas as quais possibilitam diferenciar entre brevistilada e longistilada. É de grande importância para o conhecimento da espécie, analisar se também é possível distinguir os dois morfotipos em fase juvenil, já que nesta fase é possível encontrar estruturas transitórias, as quais podem desaparecer ou serem substituídas com o desenvolvimento do indivíduo (Ricardi *et al.* 1977).

Oliveira (1993) relata que os estudos com plântulas permitem o reconhecimento e identificação de espécies de uma certa região, e auxiliam na interpretação de respostas adaptativas ao ambiente, dentro de um enfoque ecológico.

Estudos que visam grupos representativos no Cerrado, principalmente relacionados às fases juvenis, podem contribuir com informações mais consistentes para o conhecimento da dinâmica das espécies neste ambiente (Silva *et al.* 1988; Davide *et al.* 2000), bem como auxiliar na reconstituição e na criação de medidas conservacionistas do domínio (Ng 1973).

Assim, este trabalho tem por objetivo analisar e descrever morfoanatomicamente o desenvolvimento das plântulas de *Erythroxylum suberosum* (Erythroxylaceae), dos morfotipos brevistilado e longistilado, relacionando suas características com o ambiente Cerrado, uma

vez que a espécie está entre as mais abundantes do domínio. A partir dos resultados procura-se responder a seguinte pergunta: Quais características a espécie apresenta nesta fase inicial que são importantes para o seu estabelecimento e adaptação ao ambiente Cerrado?

Material e Métodos

1. Espécie e local de coleta

Foram estudados indivíduos de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil (Erythroxylaceae) ocorrentes em áreas de Cerrado próximas do Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, município de Lavras, Mesorregião Campos das Vertentes, Minas Gerais, sob as coordenadas geográficas 21°19'53.4" S e 44°58'08.2"; 21°20'59.7" S e 44°59'08,8 e também indivíduos ocorrentes na Fazenda Juliana, município de Monte Carmelo, Triângulo Mineiro, Minas Gerais, sob as coordenadas 18°42'25" S e 47°33'33".

2. Procedimentos

Para o desenvolvimento das plântulas foram coletados frutos maduros de indivíduos brevi e longistilados, separadamente, da referida espécie. Foram selecionados 200 frutos bem formados de cada morfotipo, os quais tiveram o pericarpo carnoso removido por meio de atrito e lavagem em peneira, tendo o pirênio (parte lenhosa) mantido. Portanto, foram colocados para germinação pirênio + semente (diásporo) em gerbox transparente com papel filtro umedecido com água destilada dentro de câmara tipo B.O.D., com temperatura de 25° C \pm 1, mantidas sob luz fluorescente contínua. Foram colocados 20 diásporos por gerbox, recebendo água constantemente. Após a protusão da raiz primária, os diásporos foram retirados do gerbox e colocados para continuar o desenvolvimento em bandejas de plástico, distribuídos de maneira uniforme sobre areia, em germinador, umedecidas diariamente.

As plântulas foram observadas diariamente, e seu crescimento foi acompanhado até a expansão dos eofilos. Trinta plântulas de cada morfotipo, de todas as fases (desde a protusão da raiz até expansão dos eofilos) e partes de plantas jovens foram coletadas, fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) e conservadas em álcool etílico 70% (Jensen 1962), as quais foram posteriormente analisadas e fotografadas em estereomicroscópio Nikon SMZ 745T acoplado com câmara digital Infinity 1 ou/e câmara digital Canon PowerShot SX 400 IS 16.0 MP.

A terminologia referente ao desenvolvimento das plântulas foi baseada nos trabalhos de Duke (1965; 1969). Para a descrição dos eofilos, utilizaram-se folhas provenientes de plantas jovens.

A análise anatômica dos tipos foliares foi feita a partir de amostras da região mediana de cotilédones e eofilos, coletados quando estes se encontraram completamente expandidos. A análise foi realizada também no caule (epicótilo e hipocótilo, na região mediana) e raiz, no ápice e também na estrutura primária, aproximadamente 4 mm distante do ápice.

Para o laminário permanente, as amostras foram desidratadas em série etílica, infiltradas e incluídas em hidróxi-etil-metacrilato Leica® - segundo protocolo do fabricante. Todo o material foi seccionado transversalmente, com exceção do ápice radicular que foi seccionado longitudinalmente, em micrótomo rotativo semiautomático com cerca de 2-5 µm de espessura, corado com azul de toluidina O (O'Brien *et al.* 1964) e montado em verniz vitral incolor 500® (Paiva *et al.* 2006).

Para a análise da epiderme, foram produzidas lâminas semipermanentes com secções paradérmicas com auxílio de lâmina de aço e dissociação epidérmica (Franklin 1945), montados entre lâmina e lamínula com água glicerinada 50%.

Para a análise da venação de eofilos e cotilédones, os mesmos foram diafanizados segundo a metodologia de Fuchs (1963) e classificadas de acordo com Metcalfe & Chalk (1979).

O material preparado pelas técnicas referidas foi analisado ao microscópio trinocular ZEISS Axio acoplado com câmara digital AxioCam ERc5s, sendo os resultados descritos e comparados com os disponíveis na literatura levantada. Todos os resultados foram registrados por meio de fotomicrografias e desenhos em câmara clara.

Resultados

1- Morfologia da plântula

A plântula de *Erythroxylum suberosum* é fanerocotiledonar e epígea. A morfologia das plântulas e o seu desenvolvimento, sendo eles de origem de diásporos brevistilados e longistilado, não variou. Dessa forma, uma única descrição morfológica e anatômica foi realizada para ambos os morfotipos.

A raiz primária da plântula de *E. suberosum* rompe o pirênio 6 dias após a sementeira (figura 1A). A raiz primária surge curva, cilíndrica (figura 1 B), de coloração verde claro e se alonga, concomitantemente ao hipocótilo, sendo a primeira mais delgada, exibindo o ápice afilado (figura 1C). Em fase posterior, com aproximadamente 12 dias, a região do coleto torna-se perceptível (figura 1D), a raiz exibe coloração esbranquiçada e diâmetro menor quando comparada ao hipocótilo, este apresenta coloração esverdeada. Neste estágio, as raízes secundárias iniciam seu desenvolvimento.

O hipocótilo inicialmente é curvado, formando a alça hipocotilar, posteriormente torna-se ereto elevando os cotilédones para fora do solo, ainda recobertos pelo pirênio (figura 1D, E).

O início da exposição dos cotilédones ocorre aproximadamente aos 17 dias após a sementeira (figura 1F). Os cotilédones mostram-se carnosos, glabros, sésseis, elípticos, com ápice arredondado, base truncada e margem inteira, de coloração verde (figura 1G, H, I, J).

O epicótilo é curto, cerca de 5 mm, com secção transversal elíptico, apresentando coloração verde (figura 1I, J, K).

Após os cotilédones se libertarem do pirênio, com aproximadamente 19 dias, observa-se o início do desenvolvimento dos eofilos que exibem morfologia convoluta (figura 1H, I), e se expandem completamente aos 23 dias após a germinação (figura 1J). A filotaxia dos eofilos é oposta (figura L). O pecíolo é curto, com aproximadamente 1 mm e coloração verde clara, exhibe base larga e protuberante. As estípulas são persistentes, foliáceas, intrapeciolares, com ápice em fenda bífida (figura 1L, M).

2- Anatomia das plântulas

2.1- Raiz

O ápice radicular é recoberto pela coifa (figura 2A). O promeristema tem organização apical do tipo aberto (figura 2A). Na região da zona meristemática, em secção longitudinal, verifica-se que a protoderme é unisseriada, o meristema fundamental é preenchido por aproximadamente quatro a seis camadas de células de formato retangular e internamente, dispõem-se as células procambiais, que formam um cilindro maciço, central e único (figura 2B).

A raiz primária, em secção transversal, apresenta epiderme unisseriada com células de formato irregular e muitas mostram-se colapsadas (figura 2C, D).

Adjacente à epiderme, a região cortical é constituída por uma camada de exoderme, com células que exibem paredes espessadas. As demais três ou quatro camadas celulares de parênquima fundamental apresentam-se vacuoladas e com formato isodiamétrico (figura 2D). Delimitando internamente o córtex, observa-se a endoderme, cujas células são justapostas e armazenam compostos fenólicos (figura 2D, E).

O cilindro vascular é delimitado externamente pelo periciclo, uma única camada de células de parênquima, além dos tecidos vasculares. Observam-se dois pólos de protoxilema, alternados com cordões de floema (figura 2E).

2.2- Hipocótilo

O hipocótilo apresenta o tecido epidérmico com uma camada de células de formato irregular, que tendem ao formato globoso e acumulam conteúdo fenólico (figura 3A), verifica-se a presença de cutícula delgada (figura 3B).

A região cortical é caracterizada pela presença da exoderme indiferenciada, entretanto, algumas dessas células armazenam substâncias fenólicas. As demais células corticais também são parenquimáticas, sendo a camada mais interna delimitada pela endoderme, também indiferenciada (figura 3B).

O sistema vascular é constituído pelo periciclo e tecidos vasculares organizados em sifonostelo, delimitado externamente por uma a duas camadas de fibras perivasculares (figuras 3B, C).

2.3- Epicótilo

No epicótilo, chama a atenção o seu formato elíptico, em secção transversal (figura 3D). A epiderme do primeiro entrenó do caule exhibe células com cutícula delgada, de formato globoso e numa pequena porção do caule, na região lateral do órgão, as células apresentam parede periclinal externa côncava. A maioria das células epidérmicas, com poucas exceções, apresentam reserva de conteúdo fenólico (figuras 3D, E). Estômatos podem ser observados nesse caule (figura 3E).

No córtex, a exoderme apresenta células justapostas e podem conter conteúdo fenólico (figura 3D). Internamente à exoderme, observam-se algumas camadas de parênquima clorofiliano e na porção mais interna, junto à endoderme, parênquima fundamental, cujas células apresentam tamanho avantajando e vacúolo bem desenvolvido (figura 3E).

Na região central, verifica-se a formação de um anel contínuo de xilema interno e floema externo, delimitado externamente por fibras. Esse anel vascular delimita a medula, internamente (figuras 3D, F).

2.4- Cotilédones

Os cotilédones são carnosos e ricos em amido. Em secção transversal, a face adaxial mostra-se plana e pouco convexa, já a face abaxial é côncava (figura 4A). A epiderme é unisseriada. Na face adaxial exhibe células de diversos tamanhos, com formato tabular, algumas tendendo ao formato cuboide, com cutícula delgada (figura 4B). Já na face abaxial, as células exibem diversos tamanhos, mas menores que as da face adaxial e diferentes formatos, de cubóides a tabulares e também está recoberta por cutícula delgada (figura 4C).

Comparando as duas faces da epiderme em vista paradérmica, nota-se que há variação no formato (figuras 4E, F). As células da face adaxial exibem formato retangular de paredes

retas (figura 4E) e as da abaxial, na maioria são retangulares, com algumas células tendendo ao formato irregular, exibindo paredes sinuosas (figura 4F). Os cotilédones são hipoestomáticos, com aparelho estomático do tipo paracítico (figura 4F).

O mesofilo é parenquimático, constituído por uma a duas camadas de parênquima clorofiliano que tende ao formato paliçádico e várias de parênquima clorofiliano regular, mas que também apresenta reserva de amido (figura 4A). Internamente à epiderme da face abaxial, observa-se uma camada de células não contínua com conteúdo fenólico (figura C). Alguns idioblastos fenólicos também são observados dispersos no mesofilo (figura 4A), além de pequenos feixes vasculares do tipo colateral (figura 4D).

Com relação à venação, o padrão pode ser classificado como broquidódromo-camptódromo (figura 4G), em que as nervuras secundárias não terminam na margem do cotilédone. A nervura mediana é reta e de maior calibre, já as secundárias, formam arcos, e se ramificam em direção ao bordo, porém não o alcançando (figura 4G).

2.5- Eofilos

O eofilo apresenta células epidérmicas comuns similares nas duas faces (figuras 5A, B, C). Em secção paradérmica (figuras 5D, E) verifica-se que as células apresentam paredes anticlinais sinuosas nas duas faces. A presença de estômatos é verificada somente na face abaxial, sendo a maioria do tipo paracítico e alguns do tipo anisocítico (figura 5E).

Em secção transversal do limbo eofilar, a epiderme da face adaxial apresenta células tabulares com diversos tamanhos, sendo recobertas por cutícula delgada (figura 5A, C). Na epiderme da face abaxial, as células exibem formato tabular e na região da nervura central são de formato irregular, tendendo ao formato globoso, nota-se a presença de conteúdo fenólico (figura 5A, B).

A lâmina eofilar é dorsiventral, composta por uma camada de parênquima clorofiliano paliçádico e de duas a três camadas de parênquima clorofiliano lacunoso, com células que variam na forma, podendo ser isodiamétricas ou alongadas e com grandes espaços intercelulares (figuras 5A, C). Na região da borda, observa-se a epiderme contínua, com células tabulares e cuboides, e transição do parênquima clorofiliano paliçádico ao lacunoso (figura 5C).

A região da nervura central apresenta colênquima cujas paredes primárias são pouco espessas em ambas as faces, células de parênquima clorofiliano paliçádico na face adaxial e parênquima fundamental na face abaxial e feixe vascular do tipo colateral (figura 5B). Os feixes vasculares secundários, também são colaterais e ambos exibem bainha perivascular fibrosa evidente (figuras 5A, C).

Os eofilos são folhas completas, com limbo simples, de formato obovado, margem inteira, com ápice mucronado e base atenuada (figuras 5F, G, H). O padrão de venação é broquidódromo-camptódromo (figura 5F), cujas nervuras secundárias formam arcos que se unem, não terminando na margem. A nervura mediana é reta, as secundárias são de menor calibre, mas bem destacadas, apresenta ainda, nervuras de terceira, quarta e quinta ordens (figuras 5G, H).

Discussão

As características morfológicas encontradas na espécie tais como, germinação epígea, desenvolvimento fanerocotiledonar e presença de cotilédones carnosos a classifica como fanero-epígeo-armazenadora (PER) segundo a classificação de Miquel (1987). Já as características como a presença de germinação fanerocotiledonar, cotilédones oblongos, eofilos supracotiledonares, peninerves, convolutos e usualmente estipulados encontrados em *E. suberosum*, corrobora com a descrição realizada por Duke (1969) para a família Erythroxylaceae.

Como registrado em *E. suberosum*, os trabalhos com plântulas de Cerrado de Rizzini (1965) descrevem que a germinação epígea é o tipo mais ocorrente e Ressel *et al.* (2004) demonstraram que a grande maioria das espécies exibiram germinação fanerocotiledonar, as quais liberam seus cotilédones do envoltório seminal, contudo, as plântulas fanero-epígeo-foliáceas (PEF) foram as mais expressivas. Na espécie desse estudo, que exhibe cotilédones armazenadores, estes foram totalmente expostos com cerca de 19 dias. Leonhardt *et al.* (2008) descreveram que em *Erythroxylum argentinum* O. E. Schulz os cotilédones foliáceos foram expostos com 7 dias, ainda exibindo pouca expansão. Como observado, não há um período uniforme para a exposição dos cotilédones, mas provavelmente, os foliáceos são liberados mais cedo, pois tem função exclusivamente fotossintética.

As características das plântulas estão correlacionadas diretamente ao ambiente em que estão inseridas, Ressel *et al.* (2004) concluíram que para o estabelecimento inicial da plântula, sua morfologia funcional é essencial, após já instalada, as condições ambientais e as exigências dos habitats é que tomarão o controle do processo de estabelecimento. Assim, os cotilédones se apresentam como estruturas essenciais para o desenvolvimento do vegetal em sua fase inicial. Kitajima (2003) enfatiza ainda mais a importância dessas estruturas quando demonstra que sua remoção reduz a sobrevivência das plântulas.

Os cotilédones de *E. suberosum* são carnosos e ricos em amido. Ao verificar estudos com plântulas do Cerrado é possível verificar que *Dipteryx alata* Vogel (Ferreira *et al.* 1998),

Eremanthus incanus Less (Davide *et al.* 2000) e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Botelho *et al.* 2000) são espécies que também apresentam cotilédones carnosos. A abundância de amido auxilia no crescimento pós-germinativo, uma vez que sua degradação disponibiliza energia para as plântulas até que sejam completamente autotróficas (Corte *et al.* 2008). Contudo, além de armazenadores, os cotilédones de *E. suberosum* também apresentam a função fotossintética, como demonstra suas características observadas: verdes, elevados do solo, presença de parênquima clorofiliano e estômatos na face abaxial. Katajima (1996) classifica os cotilédones PER como semi fotossintético, e ainda concluiu que a produção de novos assimilados contribui significativamente para o fornecimento de energia ao transporte rápido de nutrientes armazenados para o desenvolvimento de brotos e raízes (Katajima 1992).

É importante ressaltar que as plântulas estudadas estão presentes no Cerrado, ambiente com alta luminosidade, portanto, sua função fotossintética é de grande relevância, já que o ambiente é propício, elevando assim, as chances de sobrevivência nesta fase inicial. Vogel (1980) e Ressel *et al.* (2004) descreveram que os cotilédones fotossintetizantes possibilitam um rápido estabelecimento da plântula em ambientes com alta incidência de luz, como acredita-se ocorrer com as plântulas de *E. suberosum* no Cerrado, já que de acordo com Souza & Lorenzi (2012) a espécie apresenta ampla distribuição e o gênero, é considerado um dos mais ocorrentes no ambiente.

A espécie deste estudo exhibe cotilédones sésseis, porém Duke (1969) relatou que pode haver variação na presença ou ausência de pecíolo (cotilédones sésseis ou peciolados) em nível de gênero ou família. O autor relata ainda que os cotilédones apresentam tendência a serem sésseis quando são apoiados por um hipocótilo longo, como é o caso de *E. suberosum*.

Ao comparar os cotilédones e os eofilos, verifica-se que são folhas diferentes, pois os eofilos apresentam o limbo com maior complexidade estrutural. Esau (1974) descreveu que o mesófilo das primeiras folhas apresenta-se menos diferenciado que o das folhas subsequentes. É possível verificar que o feixe vascular do cotilédone é estruturalmente mais simples, quando comparado ao do eofilo, indicando um menor investimento na fase inicial, o que pode ser explicado pela disposição de poucos recursos energéticos, além de ser efêmero. Entretanto, as duas estruturas são hipoestomáticas, assim como Bieras & Sajo (2004) descreveram para as folhas adultas de *Erythroxylum*. As autoras relataram ainda que devido ao acúmulo de ceras e a espessura da cutícula, os estômatos não são facilmente visíveis, mas há fendas que demonstram onde essas estruturas estão ali alojadas.

A presença de estômatos apenas na face abaxial ocorre na espécie desde os estágios iniciais de desenvolvimento. Esta dentre outras características, como a presença de compostos

fenólicos, é uma característica comum para os representantes do Cerrado. As folhas são órgãos estruturados anatomicamente para maximizar os processos de produção de alimento e energia, assim como a captação de radiação, minimizando a perda de água por evapotranspiração e danos da radiação excessiva (Taiz *et al.* 2017).

Quanto à sinuosidade das paredes anticlinais das células epidérmicas, verificamos que nos cotilédones as células ordinárias são pouco sinuosas quando comparadas às eofilares. Moreira-Coneglian & Oliveira (2006) também descreveram essa característica para as plântulas das espécies de Leguminosae estudadas e sugeriram que as linhas retas nas paredes anticlinais dos cotilédones estão relacionadas ao menor tempo de permanência destes na plântula. A presença de linhas retas diminui a resistência e aumenta a eficiência na transferência de substâncias entre as células. Metcalfe (1979) menciona que a sinuosidade é muito mais acentuada na face abaxial que na adaxial, característica claramente visível na epiderme cotiledonar desta espécie.

A filotaxia oposta dos eofilos na espécie deste estudo corrobora com os dados de Rizzini (1976), que relatou que as primeiras folhas de *E. pruinatum* O. E. Schulz e *E. tortuosum* Mart. são opostas, embora Duke (1969) tenha descrito a filotaxia alterna para as plântulas da família. A filotaxia oposta permite que os eofilos se disponham de forma estratégica a não gerar sombreamento sobre os cotilédones, o qual podem exercer eficazmente sua atividade fotossintética. Acredita-se que esta seja uma característica adaptativa da espécie para utilização da luz, de acordo com suas necessidades iniciais.

O hipocótilo de *E. suberosum* é longo, verde e glabro. A espécie *E. pruinatum* exibe as mesmas características e em *E. tortuosum* a coloração desse caule é rosada (Rizzini 1976). O epicótilo, entretanto, apresenta caracteres homogêneos entre as espécies, sendo observado curto e glabro, assim como nas outras duas espécies estudadas por Rizzini (1976). Segundo Souza *et al.* (2009) em plântulas epigeas, com hipocótilo longo, o epicótilo pode ser curto, provavelmente pelo fato das estruturas aéreas já estarem a uma altura adequada para a absorção da luz. Anatomicamente, o cilindro vascular destes caules apresentam fibras perivasculares, assim como nos feixes vasculares dos eofilos. De acordo com Alvarez-Clare & Kitajima (2007) as fibras fornecem resistência estrutural aos órgãos e também contra os patógenos, portanto, são associados positivamente à sobrevivência das plântulas.

A espécie estudada apresenta raiz diarca e exibe estrutura básica, como relatado por Souza *et al.* (2009) em plântulas de diversas espécies. Duke (1969) relatou que o cilindro vascular de plântulas é comumente diarco e tetraarco, sendo considerado o tetraarco o caráter ancestral, por estarem associados com plantas lenhosas.

O sistema radicular da espécie é desenvolvido em relação à parte aérea da plântula. A raiz primária longa, tem maior área do solo para explorar, podendo buscar água e solutos em regiões mais profundas, já que o Cerrado é um ambiente que apresenta restrição hídrica na superfície do solo. Rizzini (1965) relatou que nas plantas jovens de Cerrado, as raízes atingem 1 m de comprimento apenas com cerca de 1-2 anos, assim, sobrevivem com suas raízes dispostas na região seca do solo durante sua fase inicial. Contudo, o período de dispersão dos frutos de *E. suberosum* ocorre no mês de dezembro, período de altos índices de chuva, portanto, durante a germinação e o desenvolvimento da plântula, o vegetal tem água disponível no solo, o que favorece o crescimento das suas raízes.

Rizzini (1965) relatou ainda que as raízes resistem em solos secos e quentes por exibirem paredes celulares intensamente lignificadas e suberizadas, como também coifa rica em pectina, que confere a alta capacidade de retenção de água. As espécies desde o início de seu desenvolvimento estabelecem características adequadas ao habitat, fator que facilita o seu estabelecimento. Apesar da grande importância da raiz para a plântula, por vezes o órgão não vem sendo abordado detalhadamente.

Merece destaque ainda a presença de conteúdo fenólico presente em todos os órgãos estudados. Estes compostos estão normalmente presentes em plantas de Cerrado, nas estruturas vegetativas (Bieras & Sajo 2009) atuando na defesa contra herbivoria, raios UV e patógenos (Werker 1997; Beckman 2000). Barros & Teixeira (2014) constataram que estes compostos ocorrem desde as fases jovens de *Dimorphandra mollis* e *Stryphnodendron adstringens*, na protoderme e meristema fundamental, como também, na epiderme, córtex e periciclo da raiz, e na epiderme, córtex e medula do epicótilo. As autoras enfatizam a presença desses compostos nos tecidos exteriores dos órgãos, certamente nos locais estratégicos de defesa, e também ao redor do xilema da raiz, como na presente espécie, atuando na proteção do sistema vascular contra agentes patogênicos.

De acordo com Oliveira (1993) é de fundamental importância o conhecimento da germinação, crescimento e estabelecimento da plântula para compreender o ciclo biológico da espécie e regeneração natural do ambiente, assim, tornam-se relevantes as características apresentadas de *E. suberosum* aqui neste estudo.

Apesar das plântulas serem um estágio vulnerável no ciclo de vida das plantas, *E. suberosum* tem demonstrado ter sucesso nesta fase inicial, principalmente por apresentar caracteres como a germinação rápida, epígea e fanerocotiledonar, cotilédones com função armazenadora e semi fotossintética, e sistema radicular desenvolvido. Sugere-se que estas

podem ser consideradas características estratégicas que promoveram o estabelecimento da espécie e propiciaram sua representatividade no Cerrado.

Referências Bibliográficas

- Alvarez-Clare S, Kitajima K. 2007. Physical defence traits enhance seedling survival of neotropical tree species. *Functional Ecology* 21: 1044-1050.
- Barret SCH, Shore, JS. 2008. New Insights on Heterostyly: Comparative Biology, Ecology and Genetics. In: Franklin-Tong VE. (ed.) *Self-Incompatibility in Flowering Plants – Evolution, Diversity and Mechanisms*. Berlin, Springer-Verlag. p. 3-7.
- Barros MG. 1998. Sistemas reprodutivos e polinização em espécies simpátricas de *Erythroxylum* P. Br. (Erythroxylaceae) do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 21(2): 159-166.
- Barros TC, Teixeira SP. 2014. Morphology and ontogeny of tannin-producing structures in two tropical legume trees. *Botany* 92: 513-521.
- Beckman CH. 2000. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57: 101-110.
- Bieras AC, Sajo MG. 2009. Leaf structure of the cerrado (Brazilian savana) woody plants. *Trees* 23: 451-471.
- Bieras AC, Sajo MG. 2004. Anatomia foliar de *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae) do Cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 18(3): 601-612.
- Botelho SA, Ferreira RA, Malavasi MM, Davide AC. 2000. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne) - Fabaceae. *Revista Brasileira de Sementes* 22(1): 144-152.
- Contreras OS, Ornelas JF. 1999. Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a distylous shrub of a tropical cloud forest in Mexico. *Plant Systematics and Evolution* 219: 225-241.
- Corte VB, Lima e Borges EE, Ventrella MC, Leite ITA, Braga AJT. 2008. Histochemical aspects of reserves mobilization of *Caesalpinia peltophoroides* (Leguminosae) seeds during germination and seedlings early growth. *Revista Árvore* 32(4): 641-650.
- Darwin C. 1877. *The different forms of flowers on plants of the same species*. London, Murray.

- Davide AC, Ferreira RA, Botelho AS, Malavasi MM. 2000. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de candeinha (*Eremanthus incanus* Less.) – Asteraceae. *Revista Brasileira de Sementes* 22(1): 127-133.
- Duke JA. 1969. On tropical tree seedlings I. Seeds, seedlings, systems, and systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 56(2): 125-161.
- Duke JA. 1965. Keys for the identification of seedling of some prominent Woody species in eight Forest types in Puerto Rico. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 52(3): 314-350.
- Esau K. 1974. Anatomia das plantas com sementes. São Paulo, E. Blucher.
- Felfili JM, Nogueira PE, Silva Júnior MC, Marimon BS, Delitti WBC. 2002. Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa – MT. *Acta Botanica Brasilica* 16(1): 103-112.
- Ferreira RA, Botelho AS, Davide AC, Malavasi, MM. 1998. Caracterização morfológica de fruto, semente, plântula e muda de *Dipteryx alata* Vogel - baru (Leguminosae Papilionoideae). *Cerne* 4(1): 73-87.
- Franklin GL. 1945 - Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating meethod for wood. *Nature* 155: 51.
- Fuchs CH. 1963. Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. *Stain Technology* 38: 141-144.
- Futuyma DJ. 2002. *Biologia Evolutiva*. Ribeirão Preto, Funpec-RP.
- Ganders FR. 1979. Biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.
- Goodland R. 1979. Análise ecológica da vegetação do cerrado. In: Goodland R, Ferri MG. *Ecologia do Cerrado*. São Paulo, Universidade de São Paulo. p. 61-161.
- Jensen, WA. 1962. *Botanical Histochemistry. Principles and practices*. San Francisco, Freeman.
- Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw- Hill.
- Katajima K. 2003. Impact of cotyledon and leaf removal on seedling survival in three tree species with contrasting cotyledon functions. *Biotropica* 35(3): 429-434.
- Katajima K. 1996. Cotyledon functional morphology, patterns of seed reserve utilization and regeneration niches of tropical tree seedlings. In: Swaine M D. (ed.) *The ecology of tropical forest tree seedlings*. Carnforth, England, Parthenon. p. 193–210.
- Katajima K. 1992. Relationship between photosynthesis and thickness of cotyledons for tropical tree species. *Function Ecology* 6: 582–599.

- Leonhardt C, Bueno OL, Calil AC, Busnello A, Rosa R. Morfologia e desenvolvimento de plântulas de 29 espécies arbóreas nativas da área da Bacia Hidrográfica do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia* 63(1): 5-14.
- Machado AO, Silva AP, Consolaro H, Barros MAG, Oliveira PE. 2010. Breeding biology and distyly in *Palicourearigida* H. B. & K. (Rubiaceae) in the cerrados of central Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 24(3): 686-696.
- Metcalf CR, Chalk L. 1979. *Anatomy of Dicotyledons: Systematic Anatomy of the Leaf and Stem*. 2nd edn. Oxford, Clarendon Press.
- Metcalf CR. 1979. The leaf: general topography and ontogeny of the tissues. In: Metcalf CR, Chalk L. (eds) *Anatomy of Dicotyledons: Systematic Anatomy of the Leaf and Stem*. 2nd. edn. Oxford, Clarendon Press.
- Miquel S. 1987. Morphologie fonctionnelle de plantules d'especes forestières du Gabon. *Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle, Section B. Adansonia, Botanique Phytochimie* 9: 101-121.
- Moreira-Coneglian IR, Oliveira DMT. 2006. Anatomia comparada dos limbos cotiledonares e eofilares de dez espécies de Caesalpinioideae (Fabaceae). *Revista Brasileira Botânica* 29(2): 193-207.
- Ng FSP. 1973. Germination of fresh *seeds* of Malaysian trees. *The Malaysian Forester* 36(2): 54-65.
- O'Brien TP, Feder N, Mccully ME. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O. *Protoplasma* 59(2): 368-373.
- Oliveira DMT. 1999. Morfologia de plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de Leguminosae. *Acta Botanica Brasilica* 13(3): 263-269.
- Oliveira DMT. 2001. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. *Revista Brasileira Botânica* 24(1): 85-97.
- Oliveira EC. 1993. Morfologia de plântulas florestais. In: Aguiar IB, Piña-Rodrigues FCM, Figliolia MB. (eds) *Sementes florestais tropicais*. Brasília, Abrates. p. 175-214.
- Paiva JGA, Fank-de-Carvalho SM, Magalhães MP, Graciano-Ribeiro D. 2006. Verniz vitral incolor 500[®]: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasilica* 20(2): 257-264.
- Paulino JV, Pessine E, Teixeira SP. 2010. Estudos morfoanatômicos da semente e da plântula de espécies de Anileiras (*Indigofera* L., Leguminosae). *Acta Botanica Brasilica* 24 (1): 1-7.
- Ressel K, Guilherme FAG, Schiavini I, Oliveira PE. 2004. Ecologia morfofuncional de

- plântulas de espécies arbóreas da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Botânica* 27(2): 311-323.
- Ricardi M, Torres F, Hernández C, Quintero R. 1977. Morfologia de plântulas de arboles venezolanos. *Revista Florestal Venezolana* 27: 15-56.
- Rizzini CT. 1965. Experimental studies on seedling development of cerrado woody plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 52(3): 410-426.
- Rizzini CT. 1976. Influência da temperatura sobre a germinação de diásporos do Cerrado. *Rodriguésia* 41: 341-383.
- Santos MJL, Machado IC. 1998. Biologia floral e heterostilia em *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy (Clusiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 12: 451-464.
- Silva L, Fernandes CL, Simão E, Nakamura AT. 2016. Development of anthers and pollen in brazilian heterostylic species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae): an ecological approach. *Pakistan Journal Botany* 48(5): 2047-2055.
- Silva MF, Goldman GH, Magalhães FM, Moreira FW. 1988. Germinação natural de 10 espécies arbóreas da Amazônia - I. *Acta Amazonica* 18(1-2): 9-26.
- Souza LA, Moscheta IS, Mourão KSM, Albiero ALM, Montanher DR, Paoli AAS. 2009. Morfologia da plântula e do tirodendro. In: Souza LA. (ed) Sementes e plântulas. Germinação, estrutura e adaptação. Ponta Grossa, Todapalavra. p. 119-189.
- Souza LA, Oliveira JHG. 2004. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. Ex Dc.) Standl. (Bignoniaceae). *Acta Scientiarum Biological Sciences* 26(2): 217-226.
- Souza LA. 2003. Morfologia e anatomia vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântula. 1nd. edn. Ponta Grossa, UEPG.
- Souza VC, Lorenzi H. 2012. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3nd. edn. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Taiz L, Zeiger E, Moller IM, Murphy A. 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6nd. edn. Porto Alegre, Artmed.
- Valois-Cuesta H, Soriano PJ, Ornelas JF. 2011. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output. *Journal of Plant Research* 124: 137-146.
- Vázquez-Santana S, Domínguez CA, Márquez-Guzmán Y. 1996. Embriología de *Erythroxylum havanense* Jacq. (Erythroxylaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 59: 25-33.

Vogel EF. 1980. Seedlings of dicotyledons. Wagening, Pudoc.

Vuilleumier BS. 1967. The origin and evolutionary development of heterostyly in the angiosperms. *Evolution* 21: 210-226.

Werker E. 1997. Seed Anatomy. Gerbrüder Borntraeger, Berlin.

ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Morfologia da plântula de *E. suberosum*. A. Protrusão da raiz primária, 6 dias. B. Plântula de 7 dias. C. Plântula de 10 dias, alongamento do hipocótilo. D. Desenvolvimento da raiz secundária, fissura do envoltório seminal e pericarpo, 12 dias. E. Plântula de 15 dias, alongamento do hipocótilo e raízes secundárias. F. Liberação dos cotilédones do envoltório seminal e parte do pericarpo, 17 dias. G. Cotilédones expandidos, exposição dos eofilos, 19 dias. H. Detalhe dos cotilédones. I: Cotilédones em ângulo agudo, eofilos convolutos, 21 dias. J. Expansão dos eofilos, finalizando a fase de plântula, 23 dias. K. Final da fase de plântula, eofilos expostos e expandidos, 24 dias. Planta jovem (L,M,N). L. Estípulas. M. Detalhe da estípula. (EC: epicótilo, ES: estípula, HP: hipocótilo, RP: raiz primária, RS: raiz secundária, seta: região do coleto). Brevistilado (A,C,F,G,H,I,J,L). Longistilado (B, D, E, K, M, N). Barras = 0,5 mm (L, M) e 1 mm (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K).

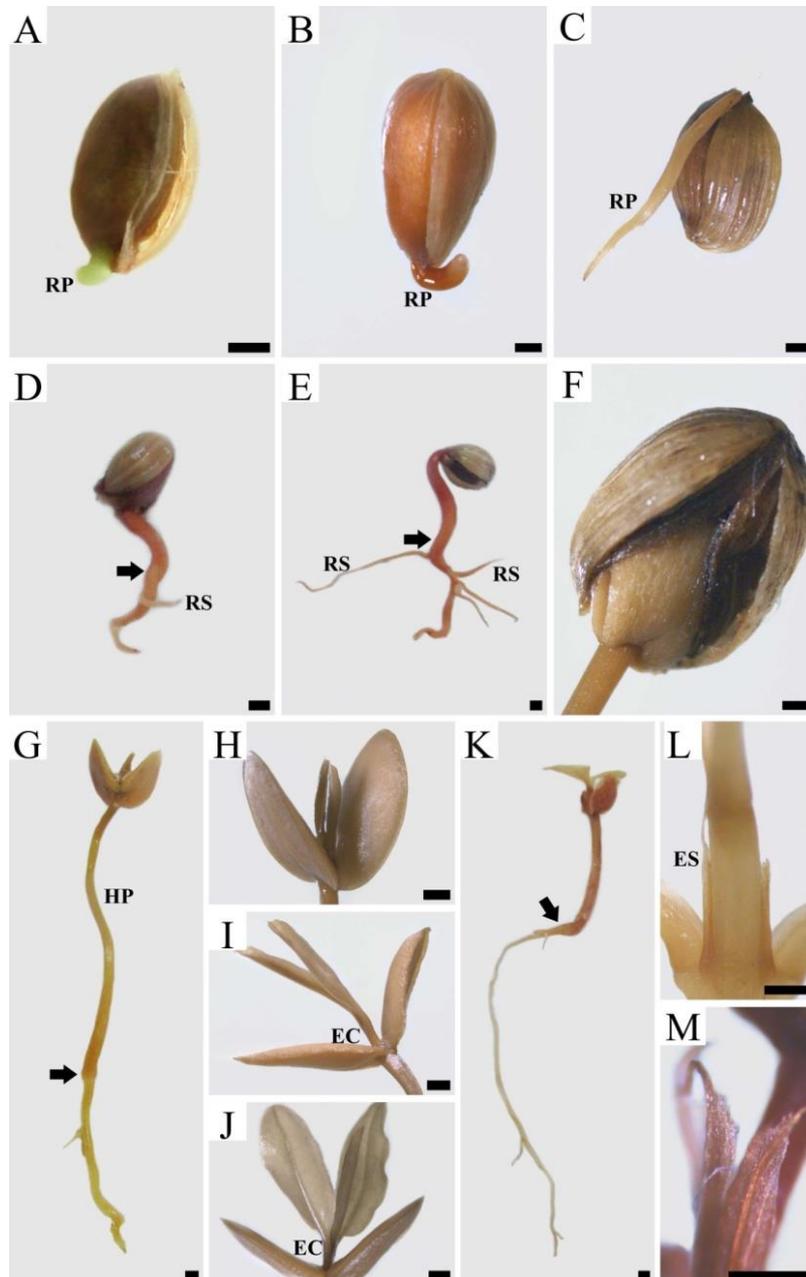


Figura 2 - Raiz primária da plântula de *E. suberosum*. A,B. Corte longitudinal do ápice evidenciando promeristema e zona meristemática, respectivamente. C. Corte transversal da raiz em estrutura primária. D. Detalhe da epiderme e do córtex. E. Detalhe do cilindro vascular. (CF: coifa, CT: córtex, EN: endoderme, EP: epiderme, EX: exoderme, FL: floema, MF: meristema fundamental, PC: procâmbio, PM: promeristema, PT: protoderme, PX: protoxilema). Brevistilado (C, D, E). Longistilado (A, B). Barras = 50 μ m (A, C, D, E) e 100 μ m (B).

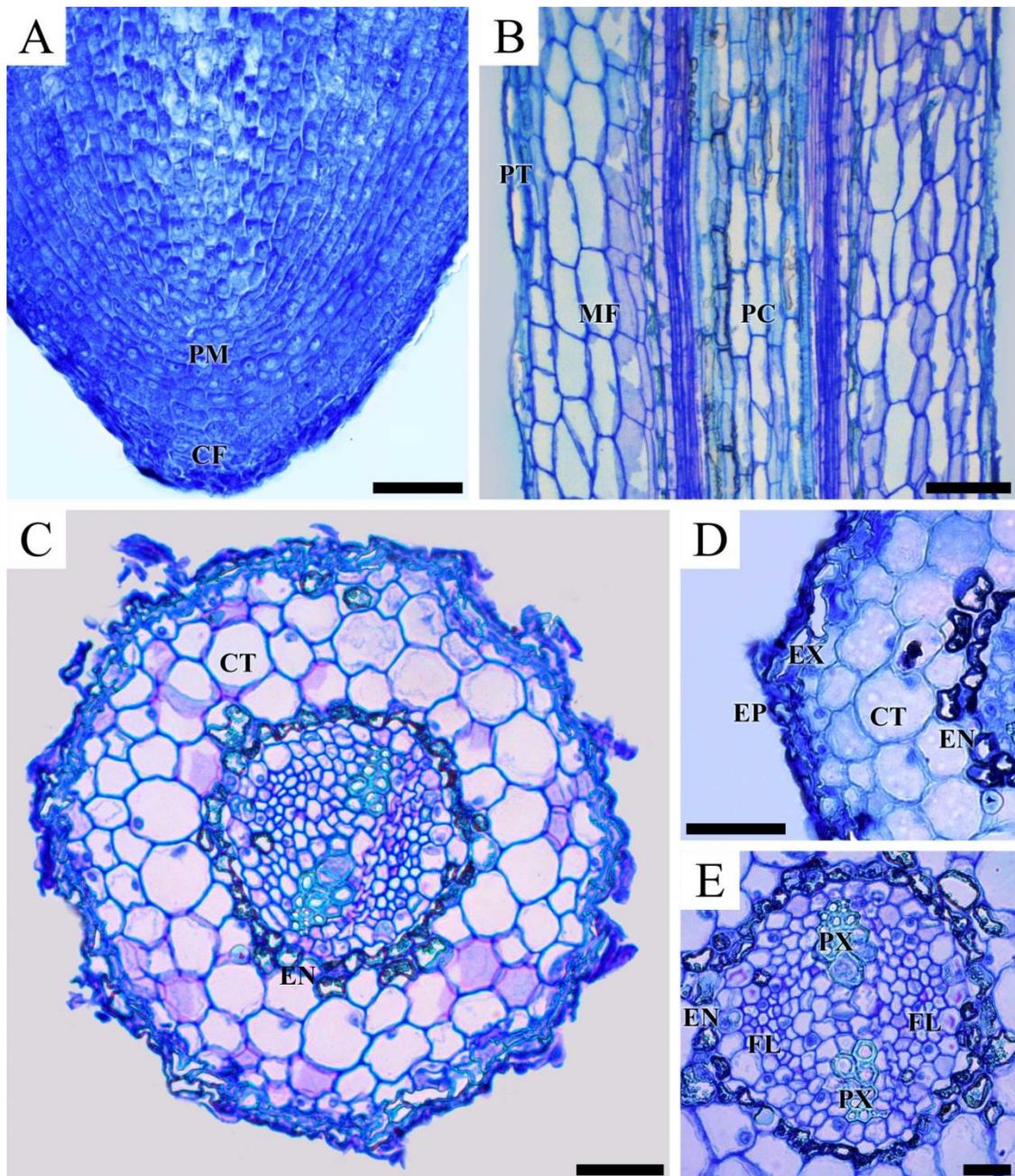


Figura 3 - Cortes transversais de hipocótilo (A-C) e epicótilo (D-F). A. Aspecto geral. B. Detalhe da epiderme e córtex. C. Detalhe do sistema vascular e medula. D. Aspecto geral. E. Detalhe da epiderme, sistema fundamental e vascular. F. Detalhe do feixe vascular que irrigará um dos eofilos. (CT: córtex, EP: epiderme, ES: estômato, EX: exoderme, FB: fibras perivasculares, FV: feixe vascular, ME: medula, XI: xilema). Brevistilado (C, D, E, F). Longistilado (A, B). Barras = 30 μ m (B, C, E, F) e 50 μ m (A, D).

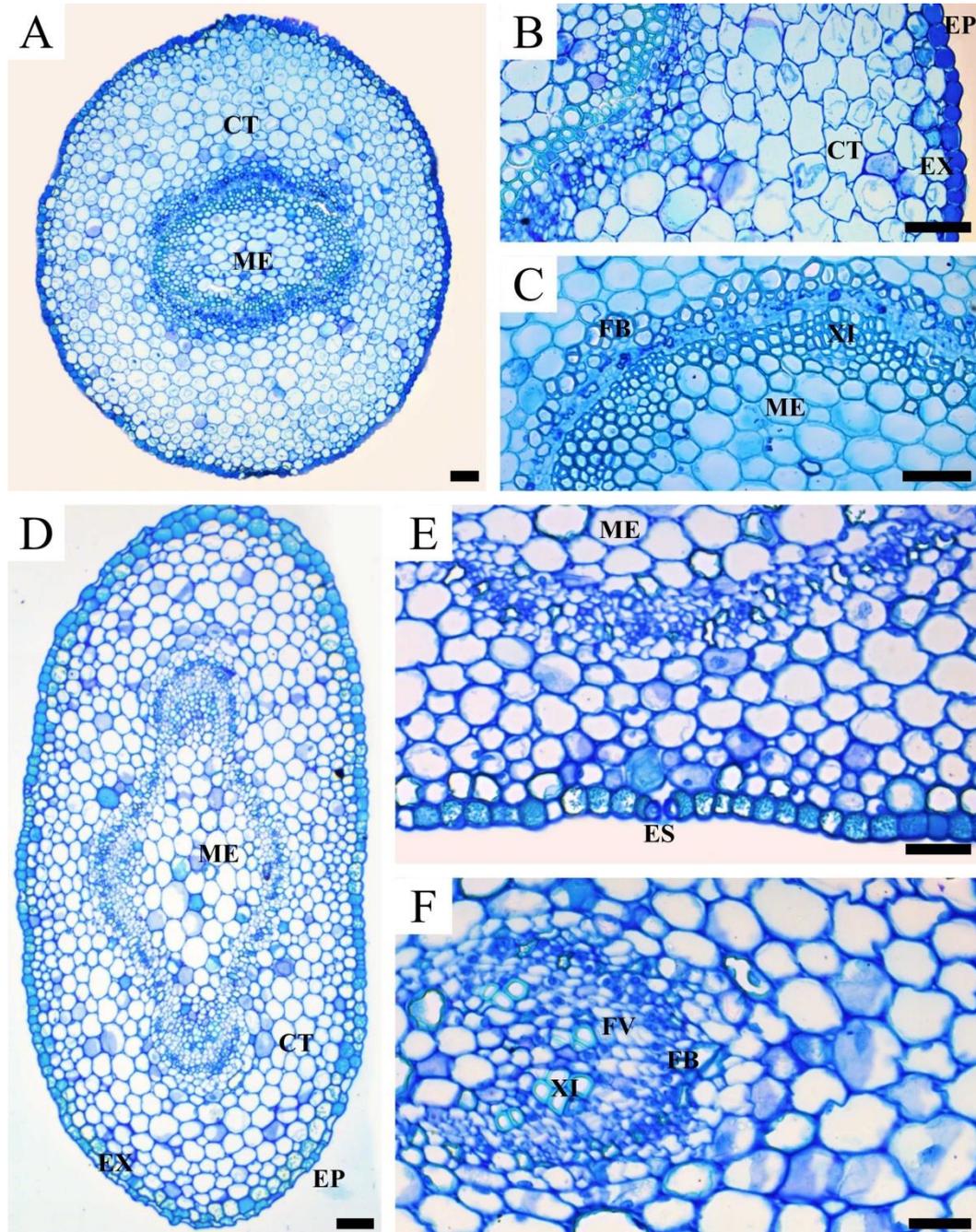


Figura 4 - Cotilédone. Cortes transversais (A-D). Cortes paradérmicos (E, F). Diafanização (G). A. Visão geral do cotilédone. B. Detalhe da face adaxial, evidenciando epiderme e parênquima clorofiliano regular, mas que também apresenta reserva de amido. C. Detalhe da face abaxial, evidenciando epiderme e parênquima clorofiliano regular, idioblastos fenólicos. D. Detalhe do feixe vascular. E, F. Esquema das células epidérmicas da face adaxial e abaxial, respectivamente. G. Vascularização do cotilédone. (AD: epiderme da face adaxial, AB: epiderme da face abaxial, CF: conteúdo fenólico, FX: feixe vascular, MS: mesofilo, PO: parênquima regular clorofiliano, PP: parênquima clorofiliano tendendo a paliçádico). Barras = 30 μ m (B, C, D), 50 μ m (E, F), 100 μ m (A) e 0,5 mm (G).

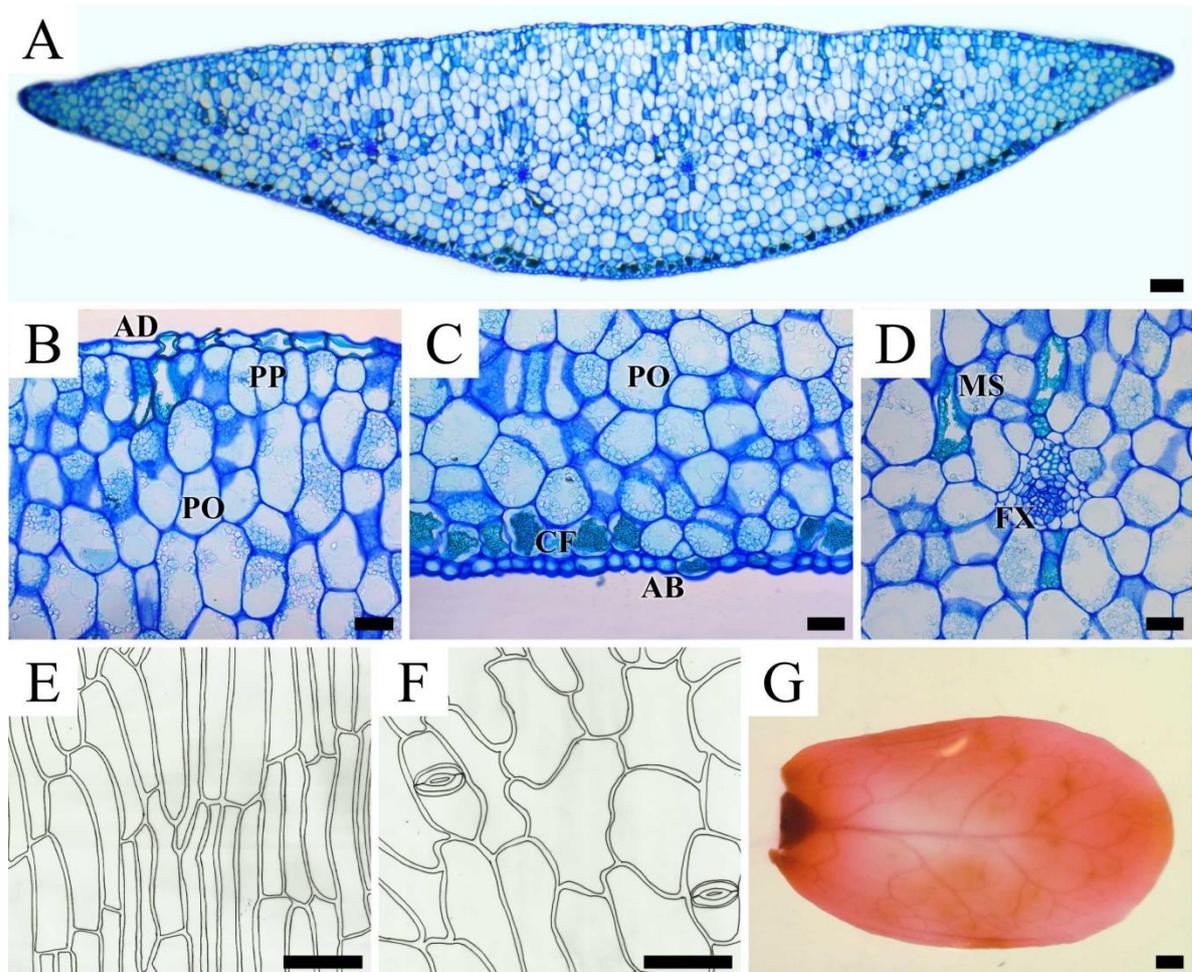


Figura 5 - Eofilo. Cortes transversais (A-C). Cortes paradérmicos (D,E). Diafanização (F, H). A, B, C. Aspecto geral do limbo eofilar na região mediana, nervura central e borda, respectivamente. D. Epiderme da face adaxial. E. Epiderme da face abaxial. F. Aspecto geral do padrão de venação. G. Detalhe do ápice. H. Detalhe da base. (CO: colênquima, EB: epiderme da face abaxial, ED: epiderme da face adaxial, ES: estômato, FB: fibras perivasculares, FL: floema, FV: feixe vascular, PL: parênquima clorofiliano lacunoso, PP: parênquima clorofiliano paliçádico, XI: xilema). Brevistilado (A, C, G, J, K). Longistilado (B, D, E, F, H, I). Barras = 20 μ m (A, B, C), 30 μ m (D, E), 0.3 mm (G, H) e 0.5 mm (F).

