



MESTRADO PROFISSIONAL
USO SUSTENTÁVEL DE RECURSOS NATURAIS EM REGIÕES
TROPICAIS

KEILA JAMILLE ALVES COSTA

**CARACTERIZAÇÃO BIOMÉTRICA DE FRUTOS E
SEMENTES E ESTUDO ANATÔMICO DE SEMENTES DE
Stephanopodium engleri BAILL., ESPÉCIE ENDÊMICA DO
QUADRILÁTERO FERRÍFERO - MG**

Belém / PA

2022



INSTITUTO
TECNOLÓGICO
VALE

KEILA JAMILLE ALVES COSTA

**CARACTERIZAÇÃO BIOMÉTRICA DE FRUTOS E
SEMENTES E ESTUDO ANATÔMICO DE SEMENTES DE
Stephanopodium engleri BAILL., ESPÉCIE ENDÊMICA DO
QUADRILÁTERO FERRÍFERO - MG**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, do Programa de Mestrado Profissional em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais, do Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável (ITV DS).

Orientador: Cecílio Frois Caldeira Júnior, Dr.

Belém / PA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C837 Costa, Keila Jamille Alves

Caracterização morfológica e anatômica de frutos e sementes de *stephanopodium engleri* Baill., espécie endêmica do quadrilátero ferrífero – MG. / Keila Jamille Alves Costa ... [et al.]. - Belém: ITV, 2022.

28 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais) - Instituto Tecnológico Vale, 2022.

Orientação: Dr. Cecílio Frois Caldeira Júnior

1. Frutos – Morfologia. 2. Frutos – Anatomia. 3. Frutos e sementes. 4. Quadrilátero ferrífero – Minas Gerais. I. Caldeira Júnior, Cecílio Frois. II. Título.

CDD 23. ed. 622.752098115

KEILA JAMILLE ALVES COSTA

**CARACTERIZAÇÃO BIOMÉTRICA DE FRUTOS E
SEMENTES E ESTUDO ANATÔMICO DE SEMENTES DE
Stephanopodium engleri BAILL., ESPÉCIE ENDÊMICA DO
QUADRILÁTERO FERRÍFERO - MG**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, do Programa de Mestrado Profissional em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais, do Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável (ITV DS).

Data de aprovação:

Banca examinadora:

Cecílio Frois Caldeira Júnior, Dr.
Orientador - Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável (ITV DS)

Mauricio Takashi Coutinho Watanabe, Dr.
Membro interno - Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável (ITV DS)

Marcelo Murad Magalhães, Dr.
Membro externo – Embrapa Amazônia Oriental

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à Deus, por toda a força imensurável que ele me deu para que eu pudesse concluir esse ciclo em minha vida.

Quero agradecer grandemente minha Mãe Sonia Oliveira e minha irmã Karina Samille que são minha família, minha base e que nunca mediram esforços para apoiar e para me ajudar a conquistar todos os meus objetivos de vida até aqui.

Meu companheiro de vida Paulo Henrique, te agradeço imensamente por sempre estar ao meu lado me dando todo o suporte necessário para que eu pudesse finalizar esse ciclo e por deixar essa trajetória mais leve. Obrigada por tudo.

Meu orientador Dr. Cecílio Caldeira obrigada por tudo, pela compartilhamento de conhecimento pela compreensão nos momentos delicados e por todo suporte possível para que eu pudesse alcançar este objetivo. Agradeço imensamente a oportunidade de poder amadurecer como profissional.

Aos meus colegas e amigos que conheci no Laboratório de cultivo de plantas do ITV. Meu muito obrigada. Cinthia Abranches, Manoel Lopes e Keyvilla Aguiar obrigada por todo auxílio com as atividades de laboratório, e por serem pessoas que inicialmente pude conversar, ter apoio e aprender bastante com vocês. Daniela Boaneres e Breno Serrão agradeço infinitamente, porque vocês me deram uma enorme e fundamental ajuda para que eu pudesse concluir esse ciclo em minha vida, obrigada por tudo. Agradeço muitíssimo a Raquel Chiavegatto e Joyce Cristine, por todo apoio, conversas, aprendizagem, pelo companheirismo e pela amizade nessa jornada. Amanda Reis, Fernanda Penner, Neto Palhares, Kléber Resende, meu muito obrigada por todas as conversas, por todo compartilhamento de experiência e de vivência. Todos vocês fazem parte direta ou indiretamente dessa dissertação. Muito obrigada !

Por fim, meu muito obrigada ao Programa de Mestrado Profissional em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais do ITV e toda a equipe de professores, administrativos, colaboradores pela oportunidade de viver essa experiência de profissional de mestrado, onde pude evoluir profissionalmente e aprimorar meus conhecimentos.

Muito obrigada !

RESUMO

O Quadrilátero Ferrífero é reconhecido como uma região de “importância biológica extrema”, pela presença dos campos rupestres ferruginosos, e a presença de espécies endêmicas e ameaçadas. Dentre essas espécies está *Stephanopodium engleri*, uma arbórea endêmica do Quadrilátero Ferrífero/Estado de Minas Gerais. A espécie consta na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. O conhecimento sobre a propagação, crescimento, necessidades de nutrientes e adaptações funcionais de espécies endêmicas, são escassos e imprescindíveis para conservação dessa espécie. Apesar de sua importância para estabelecimento de programas de conservação, não são encontrados estudos com a espécie relacionados à caracterização biométrica, anatomia e histoquímica de seus frutos e sementes. O objetivo deste estudo foi descrever os aspectos morfológicos e anatômicos de frutos e sementes de *S. engleri* visando fornecer subsídios para propagação e conservação desta espécie. *Stephanopodium engleri* apresenta frutos do tipo drupa pouca carnosa, geralmente bilocular, ausência de endosperma, com mesocarpo pouco polposo, endocarpo semelhante a pergaminho, indeiscentes, coloração varia com o grau de maturação, variando de uma coloração amarelada quando maduro até uma coloração mais escura após a maturação. Apesar da estrutura bilocular, somente metade dos frutos produzem duas sementes, enquanto a outra metade uma semente. As sementes possuem tegumento constituído pela testa, mais externa, de coloração uniforme em tom de castanho, apresenta hilo em depressão, pequeno e oblongo. O envoltório seminal demonstra que a estrutura externa é fibrosa e composta por uma a duas camadas de fibras libriformes com pontuações simples, consistindo em uma interrupção da parede secundária sobre a parede primária. O cotilédone e o endosperma são predominantemente ricos em reserva, reagindo positivamente para os testes histoquímicos que detectam a presença de grãos de amido, lipídios e proteínas totais no interior das células. Os testes histoquímicos demonstraram, a presença de metabólitos que podem estar relacionados com a dormência da semente de *S. engleri*. Os dados morfológicos, biométricos e anatômicos contribuirão na caracterização da capacidade germinativa de *S. engleri* para auxiliar no maior entendimento para fins de conservação e propagação desta espécie.

Palavras-chave: Campos rupestres. Morfometria. Cangas. Dichapetalaceae. Conservação.

ABSTRACT

The "Quadrilátero Ferrífero" is recognized as a region of "extreme biological importance", due to the presence of the ferruginous rocky fields, and the presence of endemic and threatened species. Among these species is *Stephanopodium engleri*, a tree endemic to the Iron Quadrangle region of Minas Gerais. The species is on the Official List of Endangered Species of the Brazilian Flora. Knowledge about propagation, growth, nutrient requirements and functional adaptations of endemic species is scarce and essential for the conservation of this species. Despite its importance for establishing conservation programs, there are no studies of the species related to the biometric characterization, anatomy and histochemistry of its fruits and seeds. The objective of this study was to describe the morphological and anatomical aspects of fruits and seeds of *S. engleri*, aiming to provide subsidies for the propagation and conservation of this species. *Stephanopodium engleri* presents fruits that are not very fleshy, usually bilocular, absence of endosperm, with little pulpy mesocarp, parchment-like endocarp, indehiscent, with coloration that varies with the degree of maturity, ranging from a yellowish color when ripe to a darker color after maturity. Despite the bilocular structure, only half of the fruits produce two seeds, while the other half produce one seed. The seeds have a tegument consisting of the outermost forehead, uniformly colored in brown, with a small, oblong, depressed hilum. The seed coat shows that the external structure is fibrous and composed of one to two layers of libriform fibers with simple stitching, consisting of an interruption of the secondary wall over the primary wall. The cotyledon and endosperm are predominantly reserve-rich, reacting positively to histochemical tests that detect the presence of starch grains, lipids, and total proteins inside the cells. The histochemical tests demonstrated, the presence of metabolites that may be related to the seed dormancy of *S. engleri*. The morphological, biometric and anatomical data will contribute to the characterization of the germination capacity of *S. engleri* to aid in the greater understanding for conservation and propagation purposes of this species.

Keywords: Rock fields. Morphometry. Cangas. Dichapetalaceae. Conservation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Paisagem e vegetação típica do Campo Rupestre. (A) Plano geral do planalto do Campo Rupestre mostrando comunidades mistas lenhosas e herbáceas em habitat rochoso. (B) Vastos campos com afloramentos rochosos dominados pela floração de *Actinocephalus bongardii*. (C) Habitat de solo de cascalho quartzítico imerso em uma matriz de campos arenosos e rochosos. (D) Entre os afloramentos rochosos, algumas espécies maiores se desenvolvem, como *Vellozia gigantea*.....**13**

Figura 2: Distribuição das formações rupestres no quadrilátero ferrífero (Quadrilátero Ferrífero) conforme previsto a partir de classificação automática usando imagens de alta resolução RapidEye e IKONOS.....**14**

Figura 3: Ramos de *S. Engleri* com presença de frutos e folhas.....**15**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 QUADRILÁTERO FERRÍFERO	12
2.2 ASPECTOS GERAIS DA ESPÉCIE <i>Stephanopodium engleri</i> Baill	14
2.3 BIOMETRIA DE FRUTOS E SEMENTES	16
2.4 TEOR DE UMIDADE	17
2.5 ANATOMIA DAS SEMENTES	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 MATERIAL VEGETAL	18
3.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA	18
3.3 TEOR DE UMIDADE	19
3.4 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA	19
3.5 ANÁLISES DE DADOS.....	20
4 RESULTADOS.....	20
5 CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS.....	22

1. INTRODUÇÃO

No estado de Minas Gerais é identificado uma geodiversidade expressada por diversos tipos de solos e relevo, possibilitando assim, uma complexidade de fitofisionomias, como: formações florestais, savânicas e rupestres (VIANA, 2008). Os campos rupestres são formações herbáceo-arbustivas relacionados a afloramentos rochosos hematíticos comumente situados acima de 900 m (EITEN, 1983). Também são caracterizados como uma unidade florísticas, entretanto, possuem heterogeneidade de habitats, definido por fatores edafoclimáticos como: natureza do substrato, topografia, profundidade do solo e microclima (CONCEIÇÃO; GIULIETTI, 2002; CONCEIÇÃO; PIRANI, 2007). O campo rupestre sobre a canga é classificado por meio da vegetação associada a afloramentos hematíticos, comuns no Quadrilátero Ferrífero no estado de Minas Gerais e nas Serras de Carajás, no Pará (VIANA; LOMBARDI, 2007; FERNANDES et al., 2018).

O Quadrilátero Ferrífero (QF) cobre aproximadamente 7.200 km² com as crostas superficiais de ferro distribuídas nos topos das montanhas em altitudes que variam de 1000 a 2000 m acima do nível do mar (SKIRYCZ et al., 2014). Os campos ferruginosos inseridos no QF, constituem um mosaico de comunidades vegetais relacionados e regulados por filtros ambientais, como solos privados de nutrientes, sazonalidade hídrica pronunciada e variabilidade climática relacionada a amplos gradientes altitudinais e latitudinais, originando elevados níveis de diversidade e endemismo (FERNANDES et al. 2014; NEGREIROS et al. 2014). Associado a este endemismo, a espécie *Stephanopodium engleri* Baill, pertencente à família Dichapetalaceae, é uma árvore que em 1997 foi classificada como "provavelmente extinta" (MARTINELLI; MORAES, 2013). Porém, no ano de 2010, alguns indivíduos desta espécie foram coletados em localidade próxima à capital do estado de Minas Gerais (MARTINELLI; MORAES, 2013). Segundo o Centro Nacional de Conservação da Flora a espécie é classificada na categoria "Em perigo" (EN), por apresentar habitat fragmentado e afetados pela urbanização.

Estudos sobre a flora de campos rupestres tem sido ampliado para a compreensão dos serviços ecológicos dessas comunidades, assim como sua conservação (CONCEIÇÃO; PIRANI, 2007). Uma ferramenta importante para

contribuir na conservação de espécies, principalmente para auxiliar na compreensão de processos como adaptabilidade, estabelecimento de plântulas e viabilidade de populações, é o conhecimento da biologia de sementes. Além disso, são importantes para propagação de plantas nativas e para conservação de espécies ameaçadas (BAUMGÄRTNER; HARTMANN, 2000; ZAMITH; SCARANO 2004). Dessa maneira, a germinação das sementes é crucial para o estabelecimento de plântulas e consequentemente a distribuição espacial apresentada pela espécie (LECK et al. 2008). Entretanto, são escassas as informações sobre a propagação, crescimento, necessidades de nutrientes e adaptações funcionais de espécies vegetais endêmicas dos campos rupestres (OLIVEIRA et al., 2015; CARVALHO et al., 2018). A obtenção de sementes viáveis constitui o modo mais indicado e econômico de propagação e conservação de espécies (DÜRR et al., 2015). Diante disso, é de grande importância a compreensão da qualidade da semente para poder realizar germinação e produção de mudas de qualidade de forma otimizada, etapa primordial para a conservação da espécie (SALAZAR et al., 2015).

Estudos sobre a caracterização biométrica de frutos e sementes são etapas iniciais e fundamentais neste processo, pois essas informações contribuem para conservação e manutenção da diversidade genética das espécies, auxiliam no reconhecimento da forma de dispersão do táxon e a maneira em que se estabelecem suas plântulas (FENNER, 1993). Além do mais, para o planejamento de produção de mudas é fundamental conhecer a tolerância à dessecação e possibilidade de armazenamento da semente (HAY; PROBERT, 2013). Análises complementares, como as anatômicas e histoquímicas também são ferramentas importantes para verificar e localizar barreiras mecânicas e/ou químicas nas sementes, assim como permitir a visualização das alterações celulares e de tecidos relacionados com o processo germinativo (OLIVEIRA et al., 2011; LOUREIRO et al., 2013).

Portanto, esse estudo busca gerar informações sobre frutos e sementes de *S. engleri* que possam subsidiar a propagação e armazenamento de **órgãos desta espécie**. Desse modo, o objetivo do estudo é caracterizar morfológicamente os frutos e sementes de *S. engleri* e verificar a ocorrência e distribuição de metabólitos nas sementes. Os resultados estão apresentados no Relatório Técnico (RT) que compõe essa dissertação, conforme disposto no Regulamento Interno do Programa de Pós-Graduação em Uso Sustentável de Recursos Naturais em Regiões Tropicais do ITV

DS. O RT foi intitulado de “Caracterização morfológica e anatômica de sementes de *Stephanopodium engleri* Baill., espécie endêmica do Quadrilátero Ferrífero – MG”, disponível no Apêndice.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

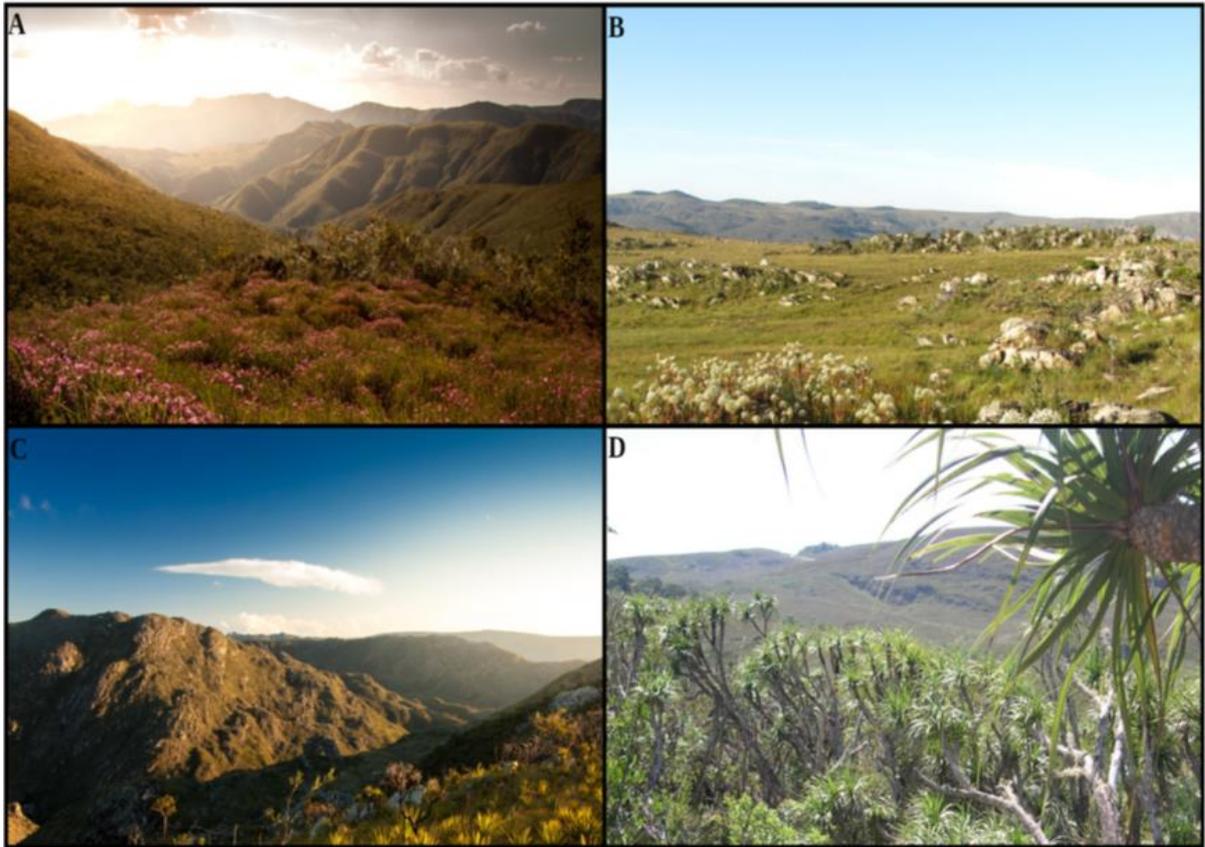
2.1 QUADRILÁTERO FERRÍFERO

O Quadrilátero Ferrífero (QF) está localizado na porção centro-oeste do Estado de Minas Gerais, limitado ao norte pelas serras do Curral del Rei, da Piedade e do Cipó, ao sul pelas serras de Ouro branco e Itatiaia, a leste pela serra do Caraça e a oeste pelo rio Paraopeba, junto às cabeceiras dos rios São Francisco e Doce (COSTA, 2003). Caracteriza-se pela elevada geodiversidade e por uma complexa evolução geocológica da paisagem (RUCHKYS et al., 2007; CASTRO, 2008), fatores estes que favorecem o desenvolvimento e a manutenção da biodiversidade local (MARTINS, 2000; GRAY, 2005).

O QF apresenta relevo estruturalmente controlado, e demonstra variação em função da diversidade litológica, da deformação das rochas durante os eventos tectônicos e da resistência relativa aos processos intempéricos e erosivos ao longo de milhares de anos (CASTRO, 2008). Assim, diversas características primárias dos sedimentos originais do conjunto de rochas do QF, são modificadas pelo intenso metamorfismo e deformação, fornecendo um aspecto único em comparação com outras regiões ferríferas (ROSIÈRE; CHEMALE JR, 2000).

Diversas fitofisionomias ocorrem no QF tais como formações florestais (Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila), savânicas (Cerrado sensu stricto, campos sujo, campos limpos) e rupestre (Campo Rupestre sobre Quartzito, Campo Rupestre sobre a canga, Campos sobre afloramentos granítico) integrando um mosaico em função da geodiversidade, tipos de solos, gradientes altitudinais e climatológicos (VIANA, 2008; JACOBI; CARMO, 2008c; VINCENT; MEGURO, 2008).

Figura 1: Paisagem e vegetação típica do Campo Rupestre. (A) Plano geral do planalto do Campo Rupestre mostrando comunidades mistas lenhosas e herbáceas em habitat rochoso. (B) Vastos campos com afloramentos rochosos dominados pela floração de *Actinocephalus bongardii*. (C) Habitat de solo de cascalho quartzítico imerso em uma matriz de campos arenosos e rochosos. (D) Entre os afloramentos rochosos, algumas espécies maiores se desenvolvem, como *Vellozia gigantea*.

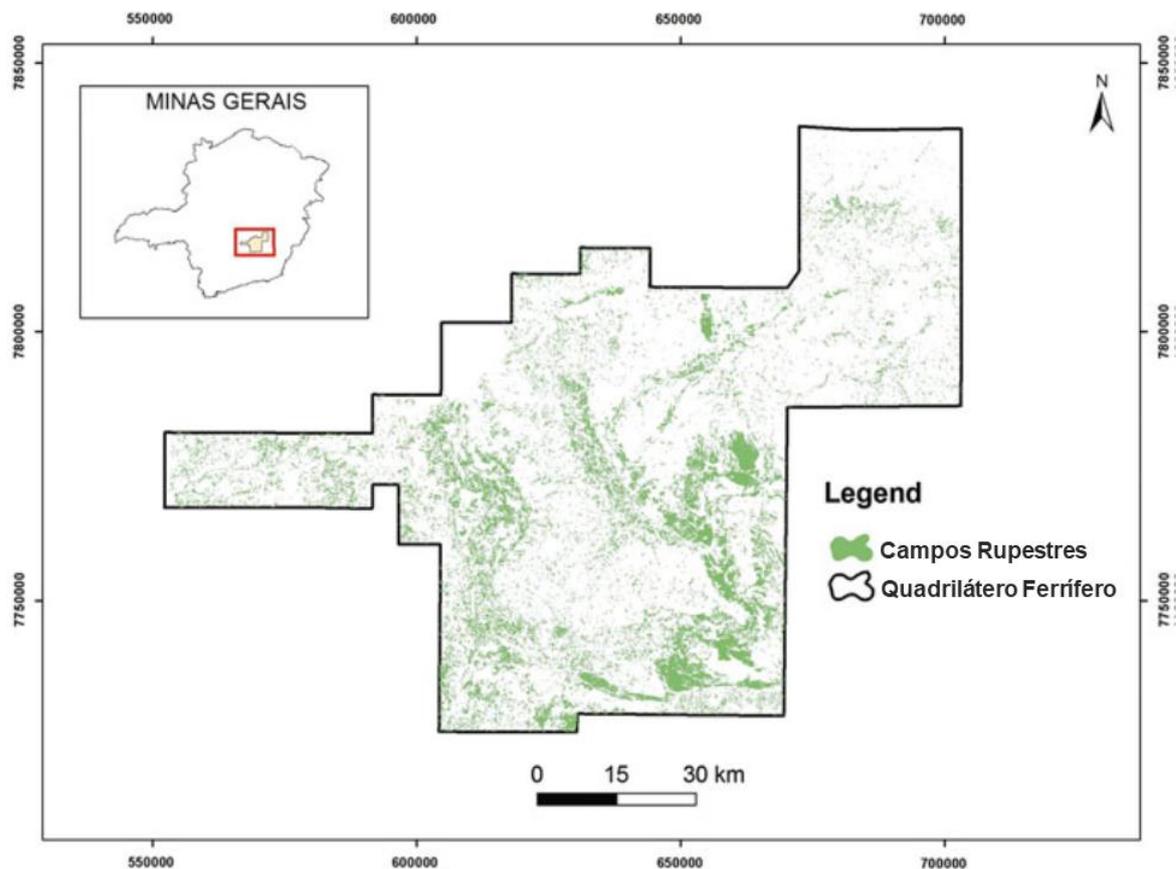


Fonte: A. Gomes (A, C) e G.W. Fernandes (B, D), (2020).

Uma das maiores ocorrências de cangas do Brasil e uma das maiores ocorrências mundiais das formações ferríferas bandadas estão no Quadrilátero Ferrífero (CASTRO, 2008). A formação das cangas no Quadrilátero é influenciada por diversos fatores, entre eles a topografia, a composição e a estrutura mineralógica dos itabiritos – formações ferríferas bandadas (CASTRO, 2008). Os solos desenvolvidos sobre as cangas do Quadrilátero Ferrífero refletem a diversidade geoambiental das áreas ferríferas, sendo considerados solos endêmicos (SCHAEFER et al., 2008). Dessa forma, as cangas encontradas no QF formam áreas de alto valor para a conservação, sendo classificadas em escala regional, como áreas de extrema prioridade para a conservação, conforme a raridade e o endemismo de plantas (CARMO, 2010). Por ser um ambiente complexo e bastante heterogêneo há uma conciliação de aspectos adaptativos relacionados à fisiologia, morfologia e características reprodutivas da vegetação campestre, com as adaptações para o seu estabelecimento em um substrato rico em metais pesados (JACOBI; CARMO, 2008a).

No estado de Minas Geras existem 36 Áreas-Chave para a Conservação da Biodiversidade – ACBs – que contêm títulos minerários de ferro representando 32% de todas as ACBs do estado. Das 36 ACBs, 21 contêm, além dos títulos minerários, as cangas, onde 12 ACBs estão situadas na região do Quadrilátero, correspondendo 11% do total de ACBs do estado (GIULIETTI et al., 2009; CARMO, 2010). Dessa maneira, o Quadrilátero Ferrífero é identificado como uma das áreas mais cruciais do Brasil para a conservação de plantas (GIULIETTI et al., 2009).

Figura 2: Distribuição das formações rupestres no quadrilátero ferrífero (Quadrilátero Ferrífero) conforme previsto a partir de classificação automática usando imagens de alta resolução RapidEye e IKONOS.



Fonte: Schaefer et al., 2016 (Adaptado).

2.2 ASPECTOS GERAIS DA ESPÉCIE *Stephanopodium engleri* Baill

A família Dichapetalaceae contém três gêneros (*Dichapetalum* Thouars., *Stephanopodium* Poepp. & Endl., *Tapura* Aubl.) e cerca de 220 espécies. Apresenta

distribuição tropical, comumente encontradas em florestas de terras baixas ou submontanas (PRANCE, 2004), também estão presentes nos domínios fitogeográficos brasileiros como Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica (FIACHI; MARINHO; AMORIM, 2020) . No Brasil são encontradas 26 espécies, onde 13 são consideradas endêmicas (AMORIM; PRANCE; MEDEIROS, 2013). O *Stephanopodium* Poepp. é um gênero neotropical que ocorre nas florestas úmidas ao norte da América do Sul e na costa leste do Brasil, englobando 15 espécies, dentre elas, destaca-se *Stephanopodium engleri* Baill. uma espécie endêmica do estado de Minas Gerais (MG) (PRANCE, 1995; FIASCHI; AMORIM, 2012).

Figura 3: Ramos de *S. Engleri* com presença de Frutos e Folhas.



Fonte: Fiaschi; Folli (2020).

A espécie *S. engleri* apresenta características morfológicas botânicas de uma árvore, os ramos jovens são esparsamente pubescentes, tornando-se glabrescentes com o envelhecimento. Suas folhas são do tipo oblongas a lanceoladas, comprimento do pecíolo maior que 5 mm, nervura-central na face adaxial impressa, indumento da face abaxial esparsamente pilosa, nervura-central na face abaxial proeminente. A posição da inflorescência é na região central do pecíolo. Suas flores são bissexuais carregadas em glomérulos subsésseis de flores densas inseridos em pecíolos, com pedicelos muito curtos menores que 2 mm comprimento e com articulações basais. Os cálices contêm lobos desiguais, seu indumento na face abaxial é piloso. A corola é maior que o cálice, se estende bem além dos lobos do cálice, de um tubo longo e com indumento internamente lanoso. Ovários bilocular com 2 óvulos em cada lóculo, tomentoso no exterior e com indumento piloso. Seus frutos são de forma irregular elipsoide, com cerca de 1,5 cm de comprimento; epicarpo velutino-ferruginoso; mesocarpo fino; endocarpo fino, bastante macio, glabro no interior (PRANCE, 1972; FIASCHI; MARINHO; AMORIM, 2020).

Atualmente *S. engleri* situa-se na categoria "Em perigo" (EN) decorrência de sua limitada extensão de ocorrência estimada em menos de 5.000 km² e a sua área de ocupação inferior a 500 km² (CNCFlora, 2012). Já foi avaliada como "provavelmente extinta" no ano de 1997, mas em 2010, houve coleta botânica de alguns indivíduos em localidade próxima à capital de MG. Além disso, a espécie é restrita aos campos rupestres do Quadrilátero Ferrífero, tendo a qualidade de habitat bastante afetado e reduzido pelas atividades de urbanização e mineração (CNCFlora, 2012; MARTINELLI; MORAES, 2013).

2.3 BIOMETRIA DE FRUTOS E SEMENTES

O estudo biométrico de frutos e sementes constitui uma ferramenta fundamental para identificação da variabilidade genética fenotípica em populações da mesma espécie, e as relações entre esta variabilidade e os fatores ambientais. Nesta perspectiva, as informações adquiridas pela biometria podem auxiliar na conservação de espécies, já que atribui relevantes informações para a caracterização de aspectos ecológicos como o tipo de dispersão, agentes dispersores e estabelecimento das plântulas (MACEDO et al. 2009; OLIVEIRA-BENTO, 2012).

Sobre a avaliação da biometria de frutos e sementes, é possível apresentar diferenças fenotípicas definidas pelas variações ambientais, em virtude de a procedência desses frutos serem de diferentes localidades, assim, a expressão de determinadas características podem se manifestar conforme a adaptação do meio (BOTEZELLI et al., 2000; SOUTO et al., 2008). Além disso, por meio do conhecimento dos padrões morfológicos das sementes é possível elaborar estratégia para potencializar a uniformização de emergência das plântulas, favorecendo a obtenção de mudas de tamanho semelhante ou de maior vigor (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

2.4 TEOR DE UMIDADE

As sementes apresentam comportamento higroscópico, pois a água contida em suas estruturas, sofre alterações conforme as variações de umidade relativa do ar no ambiente e em função da temperatura (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Apesar de que nem toda água presente na semente pode ser eliminada com facilidade, a remoção da parcela de água presente nas sementes se torna importante para o armazenamento, para que a perda da viabilidade não seja de forma acelerada (ROBERTS, 1973; MOLINA et al., 2006). O gradiente de potencial hídrico entre as sementes e o ar atmosférico define a predominância do fluxo de água, assim que cessa o processo de transferência de água, as sementes tendem a entrar em equilíbrio higroscópico com o meio (GARCIA et al., 2004, SOBRINHO, 2014).

As sementes possuem variação quanto à tolerância à redução do teor de água, sendo assim, são agrupadas em recalcitrantes e ortodoxas (JOSÉ et al., 2007; ELLIS et al., 1990). Para sementes ortodoxas, ocorre uma rápida redução do teor de água (até 2-5%) não havendo danos estruturais. Por esse fato a germinação é restringida sendo importante para evitar a viviparidade, com condições ideais para o armazenamento por longos períodos (PAULINO et al., 2011). Para as sementes recalcitrantes, além de apresentar um elevado teor de água, há fortes alterações na viabilidade das sementes com limites de tolerância à dessecação variável entre espécies (XIA et al., 2012). Dispondo de metabolismo ativo precisando ser mantidas úmidas e com possibilidade de trocas gasosas para permanecer a respiração (SOBRINHO, 2014). Dessa forma, apresentam viabilidade por um período limitado, dificultando o manejo e o armazenamento das mesmas (LAN et al. 2012).

2.5 ANATOMIA DAS SEMENTES

Aspectos anatômicos de sementes têm sido investigados em diversas espécies. Durante o desenvolvimento das sementes, alguns de seus componentes principais como testa, embrião e endosperma, conseguem se manter desprovidos de crescimento aparente, se modificando em detrimento do aumento do número de estratos celulares ou se reduzindo até serem reabsorvidos completamente. Destaca-se que de forma simultânea ao desenvolvimento desses principais componentes, acontecem inúmeros processos que originam organizações estruturais dos tecidos, como a síntese e deposição de substâncias de reserva (CUTTER; CATENA, 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

Foram coletados frutos maduros de *S. engleri* em diferentes áreas de ocorrência natural da espécie no Quadrilátero Ferrífero/MG. Posteriormente foram encaminhados ao Laboratório de Cultivo de Plantas do Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável em Belém/PA. As avaliações morfológicas e biométricas foram realizadas em frutos maduros e em sementes recém despulpadas.

3.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA

Para as análises biométricas de frutos e sementes foram mensuradas comprimento (C) aferido da base até o ápice; largura (L), aferido da maior extremidade horizontal; e espessura (E) medida na linha mediana central. As sementes e frutos foram pesados em balança analítica com precisão de 0,0001 g para obtenção da massa fresca.

A descrição morfológica foi realizada em frutos maduros, observando estruturas e características visuais como coloração, dimensões, textura, deiscência e indumento. Em sementes foram observadas dimensões, cor e superfície do tegumento; forma, posição do hilo, micrópila e outras estruturas, quando presentes. Os aspectos morfológicos de frutos e sementes foram fotografados em microscopia clara.

3.3 TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade foi determinado em laboratório de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Durante 36 dias foram realizadas pesagens periódicas. Devido a estabilidade da umidade após esse período, as sementes foram armazenadas por 90 dias. Logo após esse período de armazenamento, foi efetuada nova pesagem das sementes para verificação de variação no teor de umidade. Em seguida, o teor de umidade remanescente nas sementes foi efetuado por meio da diferença de massa antes e após secagem em estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. A pesagem das sementes foi realizada em balança analítica de precisão 0,0001 g.

3.4 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA

A caracterização anatômica das sementes foi realizada por meio de cortes transversais e longitudinais de sementes fixadas em FAA 70 (Formaldeído:ácido acético: álcool etílico 70% 1:1:18) por 48 horas (JOHANSEN, 1940). Após as 48 horas, as sementes foram desidratadas e estocadas em solução de álcool etílico 70%. Para o amolecimento das sementes, foram adicionadas 10 sementes em água destilada fervente durante cinco minutos. Outras 10 sementes foram inseridas em glicerina 50% durante 24 horas. Logo após, as sementes passaram por uma desidratação etílica e infiltradas em resina e emblocados em historesina (Historesin - Leica®/3875) de acordo com o protocolo do fabricante. Em seguida, os blocos foram polimerizados durante 24 horas em estufa a 60°C . Os blocos foram cortados em secções de 5-7 μm de espessura em micrótomo rotativo de avanço manual (RM 2145 – Leica).

Para a caracterização anatômica, os cortes foram corados com azul de toluidina (O'BRIEN et al. 1964) durante 10 minutos e as lâminas foram montadas em meio aquoso. Para os testes histoquímicos os cortes foram montados com glicerina aquosa 50%. Os reagentes e corantes utilizados foram: Lugol para detectar amido (JOHANSEN, 1940), Azul Brilhante de Coomassie (FISHER, 1968) para visualizar proteínas, Sudan III para detectar lipídios (JOHANSEN, 1940), Cloreto Férrico para visualização de compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940), e reagente de Dragendorf (SVEDSEN; VERPOORTE, 1983) para detectar alcaloides. As observações e registros fotográficos para os testes histoquímicos e anatômicos foram realizados em microscópio ótico (Zeiss Scope A.1) acoplado a uma câmera digital AxioCam TCc 5.

3.5 ANÁLISES DE DADOS

As análises de dados biométricos dos frutos e das sementes foram realizadas por meio de frequência, sendo elaborados histogramas com as classes de dimensões. As análises foram realizadas utilizando o pacote Microsoft Office Excel. Para avaliar a normalidade dos dados foram efetuados Testes de Shapiro-Wilk. As comparações entre as dimensões de frutos e sementes oriundas de frutos com uma ou duas sementes foram realizadas por meio do teste t de Student ($P < 0,05$).

Os procedimentos encontram-se descritos de forma aprimorada no Apêndice sob forma de Relatório Técnico.

4 RESULTADOS

A espécie *S. engleri* apresenta frutos do tipo drupa, pouco carnosa, geralmente bilocular, mesocarpo pouco polposo, endocarpo fino semelhante a pergaminho, indeiscentes. As sementes possuem tegumento constituído pela testa, mais externa, de coloração uniforme em tom de castanho; hilo em depressão, pequeno e oblongo; micrópila mostra-se como um orifício circular pequeno, visível com lupa. Apesar de possuir frutos com estrutura bilocular, após avaliação de 300 frutos maduros, observou-se que aproximadamente metade dos frutos produziram duas sementes enquanto a outra metade somente uma semente. Não foram observadas diferenças significativas entre as variáveis de tamanho (comprimento, largura e espessura) para frutos com uma ou duas sementes. No entanto, sementes mais largas foram observadas em frutos com somente uma semente.

As sementes de *S. engleri* apresentaram elevado teor de umidade (cerca de 20%) mesmo após secagem por longo período (até 90 dias) em ambiente arejado. Esse alto teor de umidade é típico de sementes de comportamento recalcitrantes, onde a umidade é mantida ao longo da maturação e permanece nas sementes já maduras em elevadas quantidades.

Sementes de *S. engleri* possuem envoltório seminal com estrutura externa fibrosa com composição de uma a duas camadas de fibras libriiformes com pontoações simples. No cotilédone observou-se a presença de epiderme unisseriada.

O mesofilo cotiledonar é predominantemente parenquimático, com células justapostas, heterodimensionais e parede variando de lisa a levemente sinuosa. O endosperma dispõe de células parenquimáticas justapostas, parede celular lisa e com conteúdo evidente no lúmen. A região hilar, possui protusões do envoltório seminal externo e, no seu interior, apresenta células parenquimáticas.

As células da região do envoltório seminal reagiram positivamente para os testes que detectam a presença de alcaloides, compostos fenólicos e lipídios. O cotilédono e o endosperma apresentam reservas ricas em grãos de amido, lipídios e proteínas totais.

5 CONCLUSÃO

A espécie *S. engleri* apresenta mais da metade de seus frutos com duas sementes. Sementes mais largas são encontradas em frutos com uma semente. O elevado teor de umidade nas sementes armazenadas, é uma grande dificuldade para o armazenamento prolongado de *S. engleri*, pois sementes recalcitrantes não toleram dessecação. As principais substâncias encontradas nas estruturas da semente, como amido, lipídios e proteínas, podem contribuir para o entendimento do vigor e do desenvolvimento das plantas de *S. engleri*.

REFERÊNCIAS

- BARTH, F. **Anatomie comparée de la tige et de la feuille des trigoniacées et des chailletiacées (dichapétalées): extrait.** Tese de Doutorado. University of Geneva. 1896.
- BAUMGÄRTNER, J.; HARTMANN, J. The use of phenology models in plant conservation programmes: the establishment of the earliest cutting date for the wild daffodil *Narcissus radiiflorus*. **Biological Conservation**, v. 93, n. 2, p. 155-161, 2000.
- BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). **Cerne**, v.6, n.1, p. 9-18, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária**. Brasília: Mapa/ACS, 399 p. 2009.
- CARMO, F. F DO. Importância ambiental e estado de conservação dos ecossistemas de cangas no Quadrilátero Ferrífero e proposta de áreas-alvo para a investigação e proteção da biodiversidade em Minas Gerais. **Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais**, 2010.
- CARMO, F. F. do; JACOBI, C. M. A vegetação de canga no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais: caracterização e contexto fitogeográfico. **Rodriguésia**, v. 64, n. 3, p. 527-541, 2013.
- CARVALHO, J. M. et al. Influence of nutrient management on growth and nutrient use efficiency of two plant species for mineland revegetation. **Restoration Ecology**, v. 26, n. 2, p. 303-310, 2018.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 590p. 2012.
- CASTRO, P. T. A. Cangas: a influência da geodiversidade na biodiversidade. **Simpósio Afloramentos Ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero: Biodiversidade, Conservação e Perspectivas de Sustentabilidade. Belo Horizonte**, p. 30-51, 2008.
- CNCFlora. *Stephanopodium engleri* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Stephanopodium engleri](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Stephanopodium_engleri)>. Acesso em 20 novembro 2021.
- CONCEIÇÃO, A. A.; GIULIETTI, A. M. Composição florística e aspectos estruturais de campo rupestre em dois platôs do Morro do Pai Inácio, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Hoehnea**, v. 29, n. 1, p. 37-48, 2002.

CONCEIÇÃO, A. A.; PIRANI, J. R. Diversidade em quatro áreas de campos rupestres na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil: espécies distintas, mas riquezas similares. **Rodriguésia**, v. 58, p. 193-206, 2007.

COSTA, C. G. et al. In: APEZZATO-DA-GLORIA, B; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia Vegetal**. 2 ed. Viçosa: Editora UFV, p. 129-154. 2006.

COSTA, S. Â. D. da. **Caracterização química, física, mineralógica e classificação de solos ricos em ferro do Quadrilátero Ferrífero**. Universidade Federal de Viçosa, MG. 71 p. Dissertação (Solos e Nutrição de Plantas) 2003.

CUNHA, Maria do Carmo Learth et al. Teor de umidade e perda de viabilidade de sementes de *Cynophalla flexuosa* (L) J. Presl. **Advances in Forestry Science**, v. 6, n. 2, p. 575-581, 2019.

CUTTER, E. G.; CATENA, G. V. M. C. **Anatomia vegetal**. 2. edição: Roca, 2017. ISBN 978-85-7241-902-4. Disponível em: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat06476a&AN=ufp.775868&lang=pt-br&site=eds-live>. Acesso em: 20 fev. 2022.

DORR, J. V. N. **Physiographic, stratigraphic, and structural development of the Quadrilatero Ferrifero, Minas Gerais, Brazil**. US Government Printing Office, 1969. DÜRR, C., et al. Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: contribution to a seed trait database. **Agricultural and forest meteorology**, v. 200, p. 222-232, 2015.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, v.41, n.9, p.1167-1174, 1990.

ENGLER, A.; KRAUSE, K. Dichapetalaceae *In*: E. & P. **Nat. Pflanzenfam. 2e Aufl. 19c**, v. 1, n. 11, 1931.

FERNANDES, G. W, SANTOS, J. C. Neotropical insect galls. **Springer, Netherlands**. 2014.

FERNANDES, G. W. et al. (Ed.). **Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil**. Switzerland: Springer International Publishing, 2016.

FERNANDES, G. W. et al. The deadly route to collapse and the uncertain fate of Brazilian rupestrian grasslands. **Biodiversity and Conservation**, v. 27, n. 10, p. 2587-2603, 2018.

FERNANDES, G. W. et al. Biodiversity and ecosystem services in the Campo Rupestre: A road map for the sustainability of the hottest Brazilian biodiversity hotspot. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 18, n. 4, p. 213-222, 2020.

FENNER, M. Seed ecology. London: **Chapman e Hall**, 151 p. 1993.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FIASCHI, P.; MARINHO, L.C.; AMORIM, A.M.A. 2020. Dichapetalaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB7328>>. Acesso em: 23 fev. 2022.

FISHER, D. B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v. 16, n. 1, p. 92-96, 1968.

GARCIA, D.C.; BARROS, A.C.S.A.; PESKE, S.T. et al. A secagem de sementes. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p.603-608, 2004.

GIULIETTI, A.M.; RAPINI, A.; ANDRADE, M.J.G; QUEIROZ, L.P.; SILVA, J.M.C. (Org.). Plantas Raras do Brasil. Belo Horizonte, MG. **Conservation International**, 496 p. 2009.

GOMES, Mauro. **Caracterização da paisagem no entorno de cavidades naturais subterrâneas em geossistemas ferruginosos do Quadrilátero Ferrífero**. Universidade Federal de Minas Gerais. 2017.

GRAY, M. Geodiversity and geoconservation: what, why, and how? In: **The George Wright Forum**. George Wright Society, p. 4-12. 2005.

HAY, F. R.; PROBERT, R. J. Advances in seed conservation of wild plant species: a review of recent research. **Conservation physiology**, v. 1, n. 1, 2013.

JACOBI, C. M. et al. Plant communities on ironstone outcrops: a diverse and endangered Brazilian ecosystem. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, n. 7, p. 2185-2200, 2007.

JACOBI, C. M.; CARMO, F. F do. Diversidade dos campos rupestres ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero, MG. **Revista Megadiversidade**, v. 4, n. 1-2, p. 24-32, 2008a.

JACOBI, C.M.; CARMO, F.F. Patrimônio Ecológico: Biodiversidade, Espécies Endêmicas e Ameaçadas, 59-70 p. In: **Patrimônio Natural-Cultural e Zoneamento Ecológico-Econômico da Serra da Moeda: Uma Contribuição para sua Conservação**. 2008.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 523p. 1940.

JOSÉ, A.C.; SILVA, E.A.; DAVIDE, A.C. Classificação fisiológica de sementes de cinco espécies arbóreas de mata ciliar quanto a tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.171-178, 2007.

LAN, Q. Y. et al. Development and storage of recalcitrant seeds of *Hopea hainanensis*. **Seed Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 200-208, 2012.

- LARIZZATTI, J. H.; MARQUES, E. D.; SILVEIRA, F. V. **Mapeamento Geoquímico do Quadrilátero Ferrífero e seu entorno**. 1 ed. Rio de Janeiro: Serviço Geológico Do Brasil- CPRM. 2014.
- LECK, M.A.; SIMPSON, R. L. PARKER, V.T. Why seedlings? In: LECK, M.A.; PARKER, V.T.; SIMPSON, R. L. (Eds.). Seedling ecology and evolution. New York, **Cambridge University Press**. p. 3-15, 2008.
- LOUREIRO, M. B., et al. Caracterização morfoanatômica e fisiológica de sementes e plântulas de *Jatropha curcas* L.(Euphorbiaceae). **Revista árvore**, v. 37, n. 6, p. 1093-1101, 2013.
- MACEDO, M. C. et al. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Magonia pubescens* ST.Hil Sapindaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v.31, n.2, p. 202 - 211, 2009.
- MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1 ed. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.
- MARTINS, C. S. Caracterização física e fitogeográfica de Minas Gerais. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da Flora de Minas Gerais. Fundação Biodiversitas, Zoo-Botânica, Belo-Horizonte**, p. 35-43, 2000.
- MEDINA, A. I.; DANTAS, M. E.; SAADI, A. Projeto APA SUL RMBH-Estudos do Meio Físico. **Belo Horizonte: CPRM/SEMAD/CEMIG**, v. 6, 2005.
- METCALFE, C. F.; CHALK, L. Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. **Oxford: Clarendon Press**, v. 1, p. 724, 1950.
- MOLINA, T.F.; TILLMANN, M.A.A.; DODE, L.B. et al. Crioconservação em sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p. 72 - 81, 2006.
- NUNES, J. A. et al. Soil-vegetation relationships on a banded ironstone 'island', Carajás Plateau, Brazilian Eastern Amazonia. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 4, p. 2097-2110, 2015.
- NEGREIROS, D., et al. CSR analysis of plant functional types in highly diverse tropical grasslands of harsh environments. **Plant ecology**, v. 215, n. 4, p. 379-388, 2014.
- OLIVEIRA, A. B., DE et al. Avaliação citoquímica durante a germinação de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob salinidade. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 223-231, 2011.
- OLIVEIRA-BENTO, Silvia Regina Silva de et al. Biometria de frutos e sementes, germinação e armazenamento de sementes de flor-de-seda [*Calotropis procera* (Aiton) WT Aiton]. Universidade Federal Rural do Semiárido, 2012.

OLIVEIRA, R. S. et al. Mineral nutrition of campos rupestres plant species on contrasting nutrient-impooverished soil types. **New Phytologist**, v. 205, n. 3, p. 1183-1194, 2015.

PAULINO, R. DA CRUZ, et al. Sementes de *Capparis flexuosa* L. são recalcitrantes? **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 2, p. 40, 2011.

POTIGUARA, R. C. V. **A diversidade amazônica sob o olhar da anatomia vegetal. Simpósio: Anatomia como contribuição ao conhecimento de diversidade florística.** 61º Congresso Nacional de Botânica. Diversidade Vegetal Brasileira: Conhecimento, conservação e uso. Sociedade Botânica do Brasil. p. 281-284. 2010.

PRANCE, G. T. Dichapetalaceae. **Flora Neotropica**, New York Botanical Garden Press v. 10, p. 1-84, 1972.

PRANCE, Ghilleen T. Dichapetalaceae. **Flora Neotropica**, v. 10, p. 1-84, 1972.
ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, v.1, n.1, p. 499-514, 1973.

RIZZINI, C.T. Tratado de Fitogeografia do Brasil. **Aspectos Sociológicos e Florísticos.** HUCITEC/EDUSP, São Paulo, 374p. 1979.

ROSIÈRE, C. A.; CHEMALE JR, F. Itabiritos e minérios de ferro de alto teor do Quadrilátero Ferrífero—uma visão geral e discussão. **Geonomos**, 2000.

RUCHKYS, U.A. et al. Serra da Piedade, Quadrilátero Ferrífero, MG - da lenda do Sabarabuçu ao patrimônio histórico, geológico, paisagístico e religioso. **In:** Winge, M.; Schobbenhaus, C.; Berbert-Born, M.; Queiroz, E.T.; Campos, D.A.; Souza, C.R.G.; Fernandes, A.C.S. (Edit.) *Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil*. 2007.

SANTOS, R. P. **Características morfoanatômicas, fisiológicas e bioquímicas de sementes de *Parkia multijuga* Benth. e *Parkia pendula* (Willd.) Benth (Fabaceae-Mimosoideae) submetidas a diferentes temperaturas.** Tese de Doutorado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2012.

SALAZAR, A. et al. Chemical scarification improves seed germination of *Trema lamarckiana* (Cannabaceae), a potential tree species to restore South Florida endangered ecosystems. **Seed Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 291-296, 2015.

SCHAEFER, C. E. G. R.; MENDONÇA, B. A. F.; RIBEIRO, A. S. Solos desenvolvidos sobre canga ferruginosa no Quadrilátero Ferrífero, Minas Gerais. **Simpósio Afloramentos Ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero: Biodiversidade, Conservação e Perspectivas de Sustentabilidade.** UFMG/ICB, Belo Horizonte, 2008.

SCHAEFER, C. E.G. R. et al. The Physical Environment of Rupestrian Grasslands (Campos Rupestres) in Brazil: Geological, Geomorphological and Pedological Characteristics, and Interplays. *In*: FERNANDES, Geraldo Wilson et al. (Ed.). **Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil**. Switzerland: Springer International Publishing, 2016.

SOBRINHO, S. DE P. **Biometria de frutos e sementes, e tolerância à dessecação e ao criocongelamento de sementes de três espécies arbóreas**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Mato Grosso. Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical. 103 p. 2014.

SOLEREDER, H. Systematic anatomy of the dicotyledons. **Oxford: Clarendon Press**, v. 2, p. 1182, 1908.

SOUTO, P. C.; SALES, S. C. V.; SOUTO, J. S.; SANTOS, R. V.; SOUSA, A. A. Biometria de Frutos e Número de Sementes de *Calotropis procera* (Ait.) R. Br no Semiárido da Paraíba. **Revista Verde**, Mossoró, n. 3, p.108-113, 2008.

SKIRYCYZ, A., et al. Canga biodiversity, a matter of mining. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 653, 2014.

SVEDSEN, A.B.; VERPOORTE, R. Chromatography of alkaloids. **Elsevier Scientific Publish Company**, New York. 1983.

VIANA, P. L.; LOMBARDI, J. A. Florística e caracterização dos campos rupestres sobre canga na Serra da Calçada, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 58, n. 1, p. 157-177, 2007.

VIANA, P. L. A flora dos campos rupestres sobre canga no Quadrilátero Ferrífero. **Simpósio sobre afloramentos ferruginosos no Quadrilátero Ferrífero: biodiversidade, conservação e perspectivas de sustentabilidade**. Belo Horizonte, **Anais**, p. 15-29, 2008.

VINCENT, R. de C.; MEGURO, M. Influence of soil properties on the abundance of plant species in ferruginous rocky soils vegetation, southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, p. 377-388, 2008.

XIA, K. et al. A comparative study of desiccation responses of seeds of Asian Evergreen Oaks, *Quercus* subgenus *Cyclobalanopsis* and *Quercus* subgenus *Quercus*. **South African Journal of Botany**, v. 78, p. 47-54, 2012.

ZAMITH, L. R.; SCARANO, F. R. Produção de mudas de espécies das Restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 1, p. 161-176, 2004

APÉNDICE



PROD. TEC. ITV DS - N008/2022
DOI 10.29223/PROD.TEC.ITV.DS.2022.08.Costa

RELATÓRIO TÉCNICO ITV DS

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANATÔMICA DE FRUTOS E SEMENTES DE *Stephanopodium engleri* BAILL., ESPÉCIE ENDÊMICA DO QUADRILÁTERO FERRÍFERO - MG

RELATÓRIO FINAL DO PROJETO

Keila Jamille Alves Costa

Daniela Boaneres de Souza

Breno Ricardo Serrão da Silva

Cecílio Frois Caldeira Júnior

Belém / PA

Março / 2022

Título: Caracterização morfológica e anatômica de frutos e sementes de <i>stephanopodium engleri</i> Baill., espécie endêmica do quadrilátero ferrífero – MG.	
PROD. TEC. ITV DS N008/2022	Revisão
Classificação: () Confidencial () Restrita () Uso Interno (x) Pública	00

Informações Confidenciais - Informações estratégicas para o Instituto e sua Mantenedora. Seu manuseio é restrito a usuários previamente autorizados pelo Gestor da Informação.

Informações Restritas - Informação cujo conhecimento, manuseio e controle de acesso devem estar limitados a um grupo restrito de empregados que necessitam utilizá-la para exercer suas atividades profissionais.

Informações de Uso Interno - São informações destinadas à utilização interna por empregados e prestadores de serviço

Informações Públicas - Informações que podem ser distribuídas ao público externo, o que, usualmente, é feito através dos canais corporativos apropriados

Citar como

COSTA, Keila Jamille Alves, *et al.* **Caracterização morfológica e anatômica de frutos e sementes de *stephanopodium engleri* Baill., espécie endêmica do quadrilátero ferrífero – MG.** Belém: ITV, 2022. (Relatório Técnico N008/2022) DOI 10.29223/PROD.TEC.ITV.DS.2022.08.Costa

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C837 Costa, Keila Jamille Alves.
 Caracterização morfológica e anatômica de frutos e sementes de *stephanopodium engleri* Baill., espécie endêmica do quadrilátero ferrífero – MG. / Keila Jamille Alves Costa ... [et al.]. - Belém: ITV, 2022.
 32 p. : il.
 Relatório Técnico (Instituto Tecnológico Vale) – 2022
 PROD.TEC.ITV.DS – N008/2022
 DOI 10.29223/PROD.TEC.ITV.DS.2022.08.Costa
 1. Conservação. 2. Frutos - Morfologia. 3. Frutos – Anatomia. 4. Quadrilátero ferrífero – Minas Gerais. I. Souza, Daniela Boaneres de. II. Silva, Breno Ricardo Serão da. III. Caldeira Júnior, Cecílio Frois. IV. Título

CDD 23. ed. 622.752098115

RESUMO EXECUTIVO

O Quadrilátero Ferrífero é identificado como uma das áreas mais importantes do Brasil para a conservação de plantas, devido à presença espécies endêmicas e ameaçadas. Dentre essas espécies está *Stephanopodium engleri*, uma arbórea endêmica do Quadrilátero Ferrífero/Estado de Minas Gerais. O conhecimento sobre a propagação, crescimento, necessidades de nutrientes e adaptações funcionais de espécies endêmicas, são imprescindíveis para conservação. Apesar de sua importância para estabelecimento de programas de conservação, não são encontrados estudos com a espécie relacionados à caracterização biométrica, anatomia e histoquímica de seus frutos e sementes. O objetivo deste estudo foi determinar os aspectos morfológicos e anatômicos de frutos e sementes de *S. engleri*. *Stephanopodium engleri* possui frutos do tipo drupa pouca carnosas, geralmente bilocular, ausência de endosperma, com mesocarpo pouco polposos, endocarpo semelhante a pergaminho, indeiscentes, coloração varia com o grau de maturação sendo amarelada quando maduro. Apesar da estrutura bilocular, somente metade dos frutos produzem duas sementes, enquanto a outra metade uma semente. As sementes possuem tegumento constituído pela testa, mais externa, de coloração uniforme em tom de castanho, apresenta hilo em depressão, pequeno e oblongo. Mais da metade dos frutos de *S. engleri* apresentaram tamanhos medianos, variando seu comprimento em torno de 14 a 15 mm (52%), largura em torno de 12 a 15 mm (54%) e espessura em torno de 10 mm (63%). O valor médio para o peso de uma semente recém-colhida de *S. engleri* foi de $0,21 \pm 0,07$ gramas. Após 90 dias nestas mesmas condições, o peso médio alcançou $0,11 \pm 0,01$ gramas. O cotilédone e o endosperma são predominantemente ricos em reserva, reagindo positivamente para os testes histoquímicos que detectam a presença de grãos de amido, lipídios e proteínas totais no interior das células. Os testes histoquímicos demonstraram, a presença de metabólitos que podem estar relacionados com a dormência da semente de *S. engleri*. Os dados morfológicos, biométricos e anatômicos contribuirão na caracterização da capacidade germinativa de *S. engleri*.

Palavras-chave: Conservação. Dichapetalaceae. Compostos de reservas.

ABSTRACT

The “Quadrilátero Ferrífero” is identified as one of the most important areas in Brazil for plant conservation, due to the presence of endemic and threatened species. Among these species is *Stephanopodium engleri*, a tree endemic to the Iron Quadrangle region of Minas Gerais. Knowledge about propagation, growth, nutrient requirements and functional adaptations of endemic species is essential for conservation. Despite its importance for establishing conservation programs, there are no studies of the species related to the biometric characterization, anatomy and histochemistry of its fruits and seeds. The objective of this study was to determine the morphological and anatomical aspects of fruits and seeds of *S. engleri*. *Stephanopodium engleri* has fruits of the sparsely fleshy drupe type, usually bilocular, absence of endosperm, with little pulpy mesocarp, parchment-like endocarp, indehiscent, coloration varies with the degree of maturity being yellowish when ripe. Despite the bilocular structure, only half of the fruits produce two seeds, while the other half produces one seed. The seeds have a tegument composed of the outermost forehead, uniformly colored in brown, with a small, oblong, depressed hilum. More than half of the fruits of *S. engleri* presented medium sizes, varying their length around 14 to 15 mm (52%), width around 12 to 15 mm (54%) and thickness around 10 mm (63%). The average value for the weight of a freshly harvested seed of *S. engleri* was 0.21 ± 0.07 grams. After 90 days in these same conditions, the average weight reached 0.11 ± 0.01 grams. The cotyledon and endosperm are predominantly reserve-rich, reacting positively to the histochemical tests that detect the presence of starch grains, lipids and total proteins inside the cells. The histochemical tests demonstrated, the presence of metabolites that may be related to the seed dormancy of *S. engleri*. The morphological, biometric and anatomical data will contribute to the characterization of the germination capacity of *S. engleri*.

Keywords: Conservation. Dichapetalaceae. Reserve compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Fruto e semente de *Stephanopodium engleri* Baill. A: Fruto. B: Interior do fruto evidenciando o mesocarpo (polpa) e presença de duas sementes. C: Endocarpo. D: Semente. E: detalhe da superfície externa da semente (pergaminho). F: Detalhe da região hilar. Barras: A-D= 2m; E-F= 1mm.14
- Figura 2:** Percentual de sementes por fruto de *Stephanopodium engleri*.....15
- Figura 3:** Classe de tamanhos de frutos e sementes de *Stephanopodium engleri*. A-C: Frutos e D-F: sementes.16
- Figura 4:** Perda de Peso das sementes de *Stephanopodium engleri* durante 90 dias de secagem ao ar livre.18
- Figura 5:** Percentual de Umidade em Lotes de 25 sementes de *Stephanopodium engleri*.....19
- Figura 6:** Anatomia das sementes de *Stephanopodium engleri* Baill. A: Semente em vista longitudinal. B: Envoltório seminal. C: Fibras do envoltório seminal. D: Cotilédones. E: Endosperma. F: Região hilar. Barras: A,B,D,E,F = 100µm; C= 20µm.20
- Figura 7:** Histoquímica das sementes de *Stephanopodium engleri* Baill. A: Alcaloides. B, C: Grãos de amido. D: Compostos fenólicos. E, F: Lipídios totais. G, H: Proteínas. Barras: A-H= 100µm.....21
- Tabela 1:** Características biométricas de frutos de *Stephanopodium engleri* e sementes de acordo com o número de sementes por fruto. Valores médios e (\pm) desvio padrão. Letras diferentes correspondem à diferença significativa (p -valor ≤ 0.05) pelo teste de Tukey.....17
- Tabela 2:** Testes histoquímicos das sementes de *Stephanopodium engleri* Baill. (-) negativo; (+) positivo.21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 OBJETIVOS	10
2 MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA DE FRUTOS E SEMENTES	11
2.2 TEOR DE UMIDADE	11
2.3 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA.....	12
2.4 ANÁLISES DE DADOS.....	13
3 RESULTADOS	13
3.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA DE FRUTOS E SEMENTES	13
3.2 TEOR DE UMIDADE	17
3.3 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA.....	19
4 DISCUSSÃO	23
4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA DE FRUTOS E SEMENTES	23
4.2 TEOR DE UMIDADE	24
4.3 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA.....	25
5 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

O desmatamento de áreas naturais pode mudar os processos físicos entre a atmosfera e os ecossistemas terrestres, levando a alteração nos regimes de chuvas (precipitação), temperatura e na umidade relativa do ar, em escalas local, regional e global (LAWRENCE; VANDECAR, 2015). Uma análise de Lovejoy e Nobre (2018) sugere que fatores como a mudança climática, o desmatamento e o uso generalizado do fogo afetam o ciclo da água e tem conduzido a eventos de secas extremas, com temperaturas mais altas e redução da precipitação, os quais, aliados ao aumento de queimadas, reduz a resiliência da floresta (MARENGO; SOUZA JR, 2018). A flora pode ser afetada por vários fatores, incluindo incompatibilidade fisiológica e adaptativa com as novas condições ambientais (AHUJA et al., 2010), capacidade reduzida ou incapacidade de se dispersar para novos habitats (CORLETT; WESTCOTT, 2013), ou alterações morfológicas e fenológicas desfavoráveis (CLELAND et al., 2007).

Grande parte dos esforços de conservação dos biomas brasileiros têm se concentrado em ecossistemas florestais (OVERBECK et al., 2015; FERNANDES, 2016a). Áreas não florestais, como os campos rupestres permanecem pouco recuperadas, apesar de avanços de atividades antrópicas de degradação das mesmas (FERNANDES, 2016b). Essas áreas abrigam uma diversidade de organismos que competem com as florestas em número de espécies e as supera na proporção de flora ameaçada (FERNANDES et al., 2018). Campos Rupestres ocupam uma área de menos de 0,8% da superfície do Brasil, porém abrigam mais de 15% de sua flora (SILVEIRA et al., 2016). Ao todo, esses dados sugerem que este ecossistema é o *hotspot* mais crítico de biodiversidade no Brasil (FERNANDES et al., 2018).

O campo rupestre ferruginoso é caracterizado por apresentar vegetação típica associada a afloramentos de canga ferrífera (PEREIRA, 2016). Nos estados de Minas Gerais (Quadrilátero Ferrífero - QF) e Pará (Serra de Carajás), são encontradas as cangas, que são ecossistemas associados à crosta superficial de ferro (SKIRYCZ et al., 2014). As cangas podem ser definidas como uma região montanhosa, gramínea-arbustiva, com mosaico de vegetação propenso ao fogo com afloramentos de rochas ferruginosas com faixas como itabiritos e couraças junto com áreas arenosas, pedregosas e alagadas pastagens. Contém um mosaico de ambientes, dentre eles se destacam a superfície rochosa, fendas e depressões, capões, pequenos lagos

temporários e cavernas (JACOBI et al., 2007). As diversas condições ambientais resultaram na evolução de plantas adaptadas a solos rasos, bem drenados e ricos em metais pesados, mas pobre em nutrientes. Devido a canga ser um conglomerado de microhabitats distintos, essa característica contribui efetivamente para sua alta biodiversidade (SKIRYCZ et al., 2014), com a de elevado endemismo edáfico e refúgio de espécies raras (COLLEVATTI et al. 2009; BONATELLI et al. 2014; BARBOSA et al., 2015). Diante disso, regiões como as Serras de Carajás (PA) e o Quadrilátero Ferrífero (MG) são reconhecidas como uma regiões de “importância biológica extrema” (DRUMMOND et al., 2005).

Dentre as espécies restritas aos campos rupestres do Quadrilátero Ferrífero destaca-se *Stephanopodium engleri* Baill. Esta espécie pertence à Dichapetalaceae, possui porte arbóreo, alcançando até cerca de 6 metros, ocorrendo em florestas estacionais, foi considerada como "provavelmente extinta" em 1997 (MARTINELLI; MORAES, 2013). Entretanto, em 2010, alguns indivíduos desta espécie foram encontrados em localidade próxima ao município de Belo Horizonte-MG (MARTINELLI; MORAES, 2013). Buscas extensivas na região têm levado ao aumento do número de indivíduos, mas ainda reduzidas populações. *Stephanopodium engleri* apresenta reduzida extensão de ocorrência inferior a 5.000 Km² (EOO), e área de ocupação estimada abaixo de 500 Km² (AOO). Além do mais, seu habitat é bastante fragmentado e perturbado por atividades antrópicas, como urbanização e mineração, fazendo com que a espécie seja classificada na categoria "Em perigo" (EN), de acordo com o Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFlora, 2012).

Mitigar a perda dessa espécie por meio da coleta de germoplasma contribui para assegurar sua conservação *ex situ*, além de subsidiar programas de reintrodução de populações extintas ou ameaçadas, favorecendo o estabelecimento de novas comunidades da espécie (SCARIOT et al., 2005). No entanto, o conhecimento sobre a propagação, crescimento, necessidades de nutrientes e adaptações funcionais de espécies endêmicas, imprescindíveis para revegetação e conservação dessas espécies, ainda são escassas (OLIVEIRA et al., 2015; CARVALHO et al., 2018). Os métodos de propagação podem ser por meio de uso de sementes (propagação sexuada), ou por meio de uso de estruturas vegetativas (propagação assexuada) (FACHINELLO et al., 2005). A forma mais pertinente e econômica de conservar e propagar as espécies é por meio da obtenção de sementes viáveis (DÜRR et al.,

2015). Dessa forma, o conhecimento da qualidade da semente e de como otimizar a germinação e produção de mudas de qualidade, etapa fundamental para a conservação da espécie, seja por meio *ex situ* ou introdução em ambiente natural (SALAZAR et al., 2015).

Estudos sobre caracterização biométrica são consideradas ferramentas importantes para a compreensão do processo germinativo (ABREU et al., 2005), identificação botânica das espécies (AMARO et al., 2006) e auxílio no estudo do tipo de disseminação e dos agentes dispersores das espécies (OLIVEIRA et al., 2018). O estabelecimento de classificação de fruto e sementes por meio de variáveis biométricas como o tamanho, possibilita uniformizar a emergência das plântulas, e por conseguinte, formar mudas homogêneas e de qualidade (CARVALHO; NAKAWAGA, 2012). Sementes com variação de tamanho em uma mesma planta podem afetar a qualidade fisiológica das sementes (OLIVEIRA et al., 2009). Sementes maiores tendem a ter mais reservas de energia e nutrientes do que sementes menores, enquanto sementes menores apresentam maior probabilidade de dispersão e possuem a capacidade de formar bancos de sementes no solo (KHURANA; SINGH, 2004; KUMAR et al., 2015).

A tolerância à dessecação e possibilidade de armazenamento é uma característica importante de sementes, sendo fundamental para o planejamento de produção de mudas (HAY; PROBERT, 2013). A tolerância à dessecação das sementes é característica comum em diversas espécies e pode atuar como uma estratégia de adaptação que permite a sobrevivência sob condições estressantes do ambiente, assegura a disseminação da espécie e o armazenamento das sementes por longos períodos em condições controladas (MEDEIROS; EIRA, 2006). O grau de tolerância das sementes à desidratação pode caracterizá-las como tolerantes à dessecação ou ortodoxas; não tolerantes à dessecação ou recalcitrantes e ainda as intermediárias, cujo comportamento durante a secagem e armazenamento apresenta ora características semelhantes às ortodoxas ora às recalcitrantes (MEDEIROS; EIRA, 2006). As sementes ortodoxas podem tolerar o armazenamento de longo prazo em temperaturas ambientes ou baixas temperaturas; enquanto as sementes recalcitrantes ou não ortodoxas geralmente apresentam alto conteúdo de umidade e não toleram armazenamento de longo prazo, dessecação ou baixa temperatura (RAMOS et al., 2019).

Além da umidade remanescente nas sementes, a presença de compostos de reservas e outros compostos presentes na semente, são fundamentais para a compreensão da propagação de espécies. A composição química da semente pode influenciar a taxa e velocidade de germinação, o potencial de armazenamento e o estabelecimento da plântula (MENDES; MENDONÇA, 2020). Análises anatômicas são ferramentas importantes para verificar e localizar barreiras mecânicas e/ou químicas nas sementes. Junto com as análises histoquímicas, permitem a visualização das alterações celulares e de tecidos relacionados com o processo germinativo, bem como a mobilização das reservas para o desenvolvimento da plântula após a germinação (OLIVEIRA et al., 2011; LOUREIRO et al., 2013).

Informações obtidas a partir de análises anatômicas e histológicas podem orientar a escolha mais adequada de métodos de superação de dormência, muitas vezes necessários em várias espécies (FERREIRA; FRANKE; MOÇO, 2011). Afinal, existem dois tipos de dormência: dormência exógena causada por tegumento impermeável, desenvolvido durante a maturação, obstruindo a absorção de água (RAMOS et al., 2019); dormência endógena, compreendendo dormência fisiológica ou morfológica, como embriões subdesenvolvidos ou indiferenciados (BRADBEER, 2013) e inibidores químicos (SHU et al., 2016). Apesar dessas informações serem imprescindíveis para sua conservação, não existem estudos sobre a propagação e armazenamento de sementes para a espécie *S. engleri*.

1.1 OBJETIVOS

Caracterizar morfológicamente os frutos e sementes de *S. engleri* Baill. e verificar a ocorrência e distribuição **por teste histoquímicos** de metabólitos nas sementes. Desta forma, contribuir para os estudos de propagação e conservação da espécie.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos maduros de *S. engleri* foram coletados em diferentes áreas de ocorrência natural da espécie no Quadrilátero Ferrífero/MG. Os frutos recém coletados foram encaminhados ao Laboratório de Cultivo de Plantas do Instituto Tecnológico Vale Desenvolvimento Sustentável em Belém/PA. Foram realizadas

avaliações morfológicas e biométricas de frutos maduros e de sementes recém despolidas. A extração das sementes foi realizada de forma manual, seguida de lavagem em água corrente com auxílio de peneira. Posteriormente, as sementes foram colocadas para secar ao ar livre em bandejas plásticas abertas.

2.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA DE FRUTOS E SEMENTES

Para as análises biométricas foram selecionados aleatoriamente 300 frutos totalmente maduros, dos quais foram extraídas as sementes. As sementes foram mensuradas com auxílio de paquímetro digital, com precisão de 0,01 mm. Foram obtidas as seguintes características: comprimento (C) aferido da base até o ápice; largura (L), aferido da maior extremidade horizontal; e espessura (E) medida na linha mediana central. As sementes foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g para obtenção da massa fresca dos frutos e sementes.

Para a descrição morfológica, utilizaram-se frutos maduros, sadios, inteiros. Foram observadas as estruturas e características visuais dos frutos como coloração, dimensões, textura, deiscência e indumento. Das sementes se observou características externas como: dimensões, cor e superfície do tegumento; forma, posição do hilo, micrópila e outras estruturas, quando presentes. Também foram realizados registos fotográficos dos aspectos morfológicos dos frutos e das sementes, utilizando microscopia clara.

2.2 TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade foi determinado em laboratório de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Inicialmente as sementes foram colocadas para secagem ao ar livre após retiradas dos frutos. Foram realizadas pesagens periódicas durante 36 dias. Após este período, as sementes foram consideradas com teor de umidade estável e levadas para armazenamento. Posteriormente, após 90 dias, foi efetuada nova pesagem das sementes para verificação de variação no teor de umidade. Em seguida, o teor de umidade remanescente nas sementes foi examinado por meio da diferença de massa antes e após secagem em estufa a 105

°C ± 3 °C por 24 horas, sendo utilizadas dois lotes com 25 sementes, contendo cinco repetições para cada lote. A pesagem das sementes foi realizada em balança analítica de precisão 0,0001 g e o teor de água foi calculado na base do peso úmido, conforme mostrado na Eq. 1.

$$\% \text{ de Umidade } (U) = 100 * \left(\frac{P-p}{P}\right) \quad \text{Eq. 1}$$

P = Peso Inicial;

p = Peso Final;

2.3 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

A caracterização anatômica das sementes foi realizada por meio de cortes transversais e longitudinais de sementes fixadas em FAA 70 (Formaldeído: ácido acético: álcool etílico 70% 1:1:18) por 48 horas (JOHANSEN, 1940). Após as 48 horas, as sementes foram desidratadas estocadas em solução de álcool etílico 70%. Para verificar a melhor forma de amolecimento das sementes, foram adicionadas 10 sementes em água destilada fervente durante cinco minutos, permanecendo até a água esfriar totalmente. Outras 10 sementes foram inseridas em glicerina 50% durante 24 horas. Logo após, as sementes dos dois tratamentos de amolecimento, passaram por uma desidratação. A desidratação ocorreu em série etílica crescente (80%, 90%, 95%, P.A) por 1 hora em cada. A pré-infiltração foi realizada com quantidades iguais de álcool etílico 100% e resina durante 24 horas. Posteriormente, as sementes foram infiltradas em resina pura durante 72 horas e emblocados em historesina (Historesin - Leica®/3875) de acordo com o protocolo do fabricante. Em seguida, os blocos foram polimerizados durante 24 horas em estufa a 60°C. Os blocos foram cortados em secções de 5-7 µm de espessura em micrótomo rotativo de avanço manual (RM 2145 – Leica®).

Para a caracterização anatômica, os cortes foram corados com azul de toluidina (O'BRIEN et al. 1964) durante 10 minutos e as lâminas foram montadas em meio aquoso. As observações e registros fotográficos anatômicos foram realizados em microscópio ótico (Zeiss Scope A.1) acoplado a uma câmera digital AxioCam TCc 5.

Para os testes histoquímicos foram realizados cortes em secções transversais e longitudinais das sementes emblocadas com auxílio de micrótomo rotativo de avanço manual (RM 2145 – Leica). Também foram utilizados cortes de material fresco. Os cortes foram montados com glicerina aquosa 50%. Os reagentes e corantes utilizados foram: Lugol para detectar amido (JOHANSEN, 1940), Azul Brilhante de Coomassie (FISHER, 1968) para visualizar proteínas, Sudan III para detectar lipídios (JOHANSEN, 1940), Cloreto Férrico para visualização de compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940), e reagente de Dragendorf (SVEDSEN; VERPOORTE, 1983) para detectar alcaloides. Todas as lâminas histológicas geradas foram observadas e fotomicrografadas em microscópio ótico (Zeiss Scope A.1) acoplado a uma câmera digital AxioCam TCc5.

2.4 ANÁLISES DE DADOS

Os dados biométricos dos frutos e das sementes foram analisados em classes de frequência, onde foram realizados histogramas com as classes de dimensões. As análises foram realizadas utilizando o pacote Microsoft Office Excel. Testes de Shapiro-Wilk foram realizados para avaliar a normalidade dos dados. As comparações entre as dimensões de frutos e sementes oriundas de frutos com uma ou duas sementes foram realizadas por meio do teste t de Student ($P < 0,05$) utilizando o software estatístico SISVAR® versão 5.7 (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA DE FRUTOS E SEMENTES

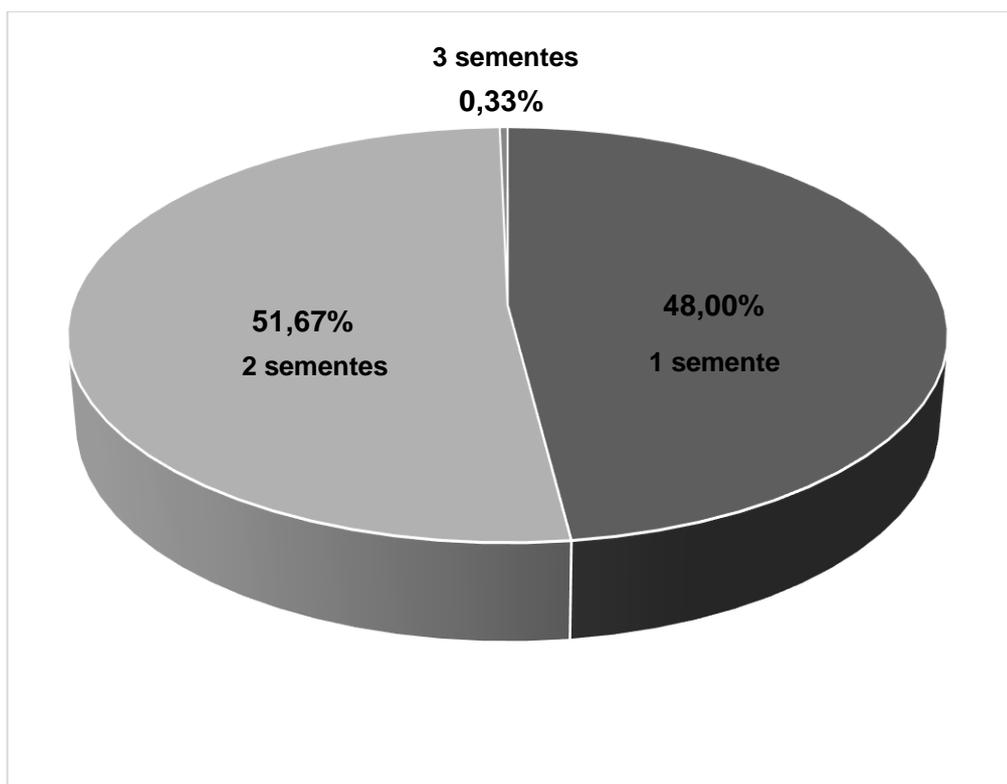
A espécie *Stephanopodium engleri* apresenta frutos do tipo drupa, pouco carnosa, geralmente bilocular, mesocarpo pouco polposo, endocarpo fino semelhante a pergaminho, indeiscentes. A coloração do fruto varia com o grau de maturação, sendo amarelada quando maduro e atingindo coloração mais escura após a maturação (Figura 1A-B). As sementes possuem tegumento constituído pela testa, mais externa, de coloração uniforme em tom de castanho (Figura 1C). Apresenta hilo em depressão, pequeno e oblongo (Figura 1D). A micrópila mostra-se como um orifício circular pequeno, visível com lupa, localizado acima do hilo (Figura 1E-F).

Figura 4: Fruto e semente de *Stephanopodium engleri* Baill. A: Fruto. B: Interior do fruto evidenciando o mesocarpo (polpa) e presença de duas sementes. C: Endocarpo. D: Semente. E: detalhe da superfície externa da semente (pergaminho). F: Detalhe da região hilar. Barras: A-D= 2m; E-F= 1mm.



Apesar de possuir frutos com estrutura bilocular, após avaliação de 300 frutos maduros de *S. engleri*, observou-se que 51,67% dos frutos produziram duas sementes e aproximadamente 48% deles apenas uma semente (Figura 2). Também foi observado a presença de um fruto com 3 sementes (0,33%), mostrando-se com uma ocorrência eventual e rara neste estudo.

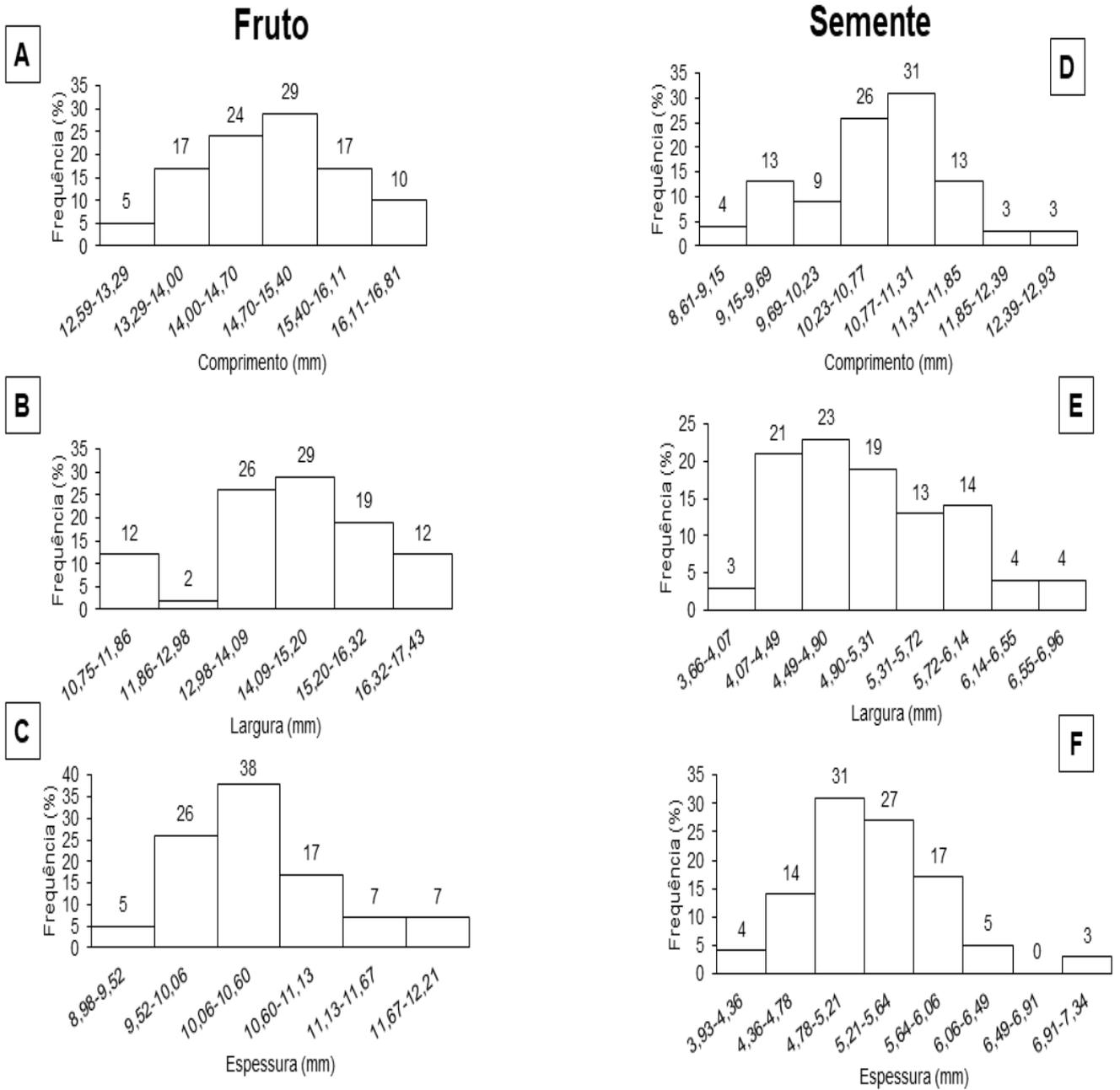
Figura 5: Percentual de sementes por fruto de *Stephanopodium engleri*.



Fonte: Autores, 2022.

Mais da metade dos frutos de *S. engleri* apresentaram uma reduzida variação de comprimento, possuindo em torno de $14,5 \pm 0,5$ mm (52%); largura em torno de $13,5 \pm 1,5$ mm (54%) e espessura de $10 \pm 0,5$ mm (63%). Também foram observadas pequenas variações no tamanho de sementes, sendo o comprimento de $10 \pm 0,5$ mm (56%), largura de $5,5 \pm 1,5$ mm e espessura de $4,5 \pm 0,5$ mm; (56%) (Figura 3).

Figura 6: Classe de tamanhos de frutos e sementes de *Stephanopodium engleri*. A-C: Frutos e D-F: sementes.



Fonte: Autores, 2021.

Não foram observadas diferenças significativas entre as variáveis de tamanho (comprimento, largura e espessura) para frutos com uma ou duas sementes (Tabela 1). De forma similar, não foram observadas diferenças significativas para o comprimento e a espessura de sementes desenvolvidas em frutos com uma ou duas sementes. No entanto, sementes mais largas foram observadas em frutos com somente uma semente. Esta diferença também foi observada na massa seca de frutos e sementes (Tabela 1). Enquanto os frutos com duas sementes apresentaram valores mais altos de massa, sementes mais pesadas foram observadas nos frutos que desenvolveram somente uma semente, demonstrando que a largura pode afetar a deposição de reservas.

Tabela 1: Características biométricas de frutos de *Stephanopodium engleri* e sementes de acordo com o número de sementes por fruto. Valores médios e (\pm) desvio padrão. Letras diferentes correspondem à diferença significativa (p -valor ≤ 0.05) pelo teste de Tukey.

		Uma Semente	Duas Sementes
Fruto	Comprimento (mm)	14.76 \pm 1.4 a	14.58 \pm 1.2 a
	Largura (mm)	11.21 \pm 1.3 a	11.5 \pm 1.2 a
	Espessura (mm)	7.78 \pm 1.1 a	7.38 \pm 1.2 a
	Peso Seco (g)	0.45 \pm 0.17 b	0.57 \pm 0.22 a
Semente	Comprimento (mm)	11.46 \pm 1.8 a	11.66 \pm 1.8 a
	Largura (mm)	6.23 \pm 1.3 a	5.21 \pm 0.9 b
	Espessura (mm)	5.91 \pm 1.3 a	5.81 \pm 1.0 a
	Peso Seco (g)	0.22 \pm 0.01 a	0.15 \pm 0.01 b

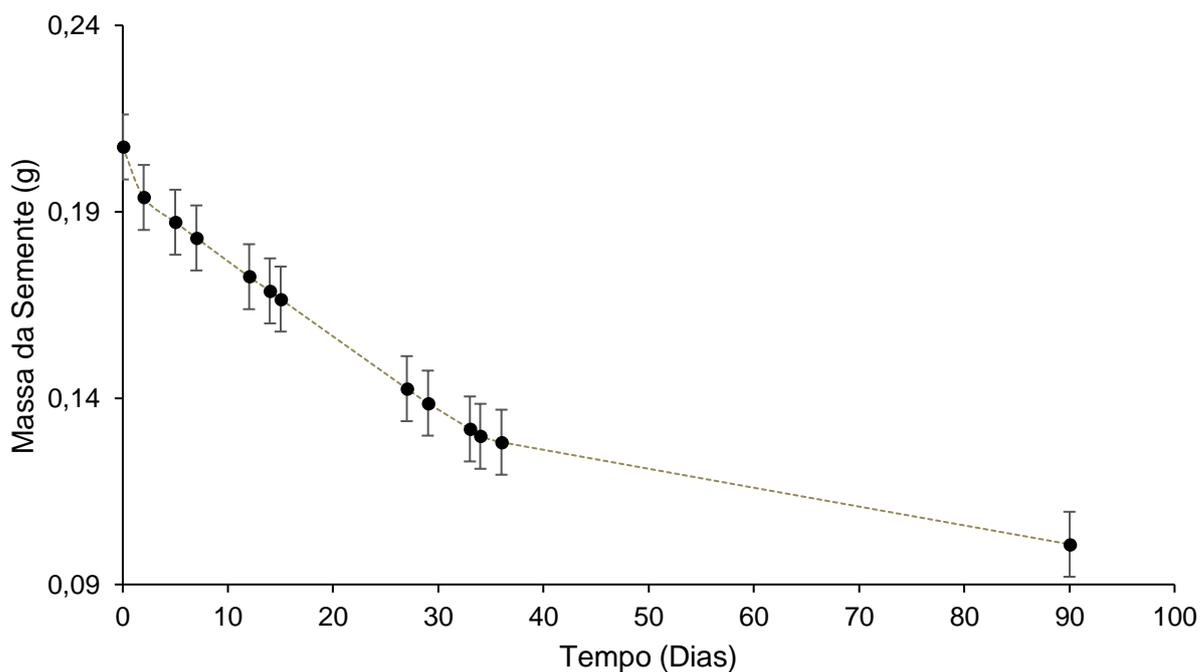
Fonte: Autores, 2021.

3.2 TEOR DE UMIDADE

O valor médio para o peso de uma semente recém-colhida de *S. engleri* foi de 0,21 \pm 0,07 gramas. Uma rápida redução de peso foi observada quando mantidas em ambiente aberto para perda de umidade, onde estas sementes alcançaram 0,13 \pm 0,05

gramas, ou seja, uma perda de 1,06% do peso inicial por dia (Figura 4). Após 90 dias nestas mesmas condições, o peso médio alcançou $0,11 \pm 0,01$ gramas, com uma perda de 0,32% por dia.

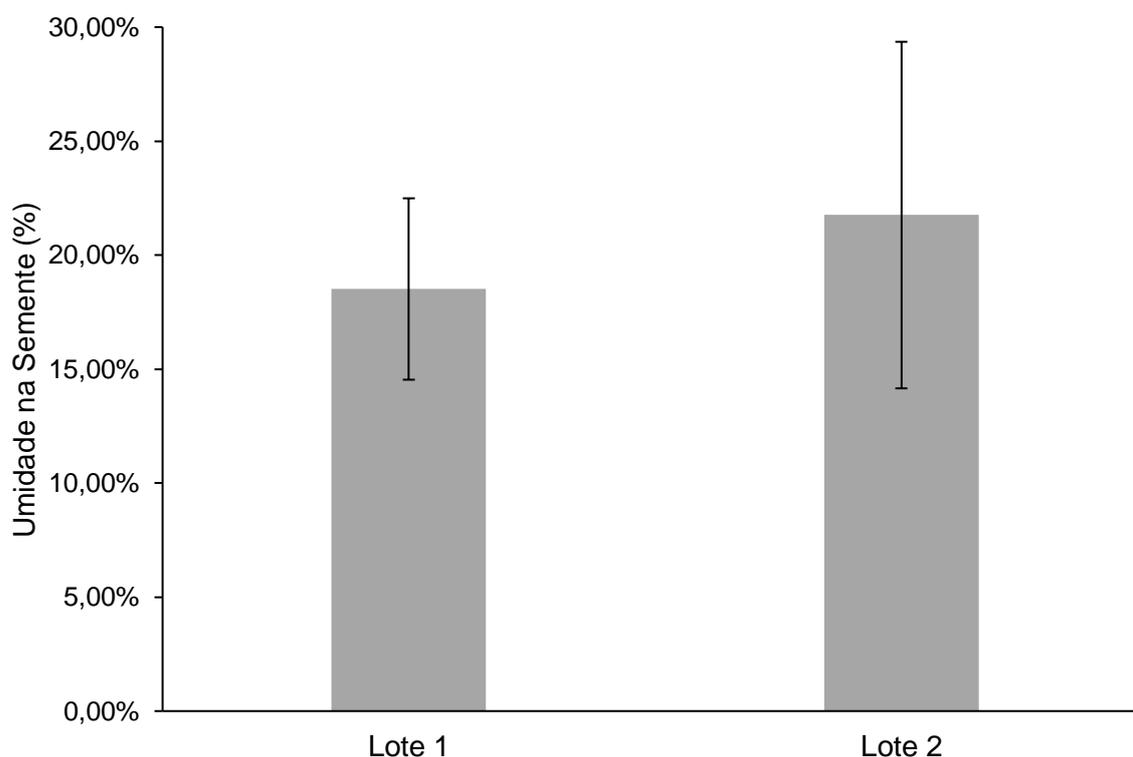
Figura 7: Massa das sementes de *Stephanopodium engleri* durante 90 dias de secagem ao ar livre.



Fonte: Autores, 2021.

A partir da análise do percentual de umidade com dois lotes de 25 sementes aleatórias de *S. engleri* armazenadas em ambiente de laboratório por 90 dias (Figura 5). As sementes do lote 1 apresentaram uma média de umidade de $18,51 \pm 3,98\%$ (média \pm desvio padrão). Enquanto o lote 2 a média de umidade foi de $21,76 \pm 7,60\%$. Sendo, portanto, não significativo as médias comparada pelo teste Student ($P > 0,05$; $P = 0,97$)

Figura 8: Percentual de Umidade em Lotes de 25 sementes de *Stephanopodium engleri*.



Fonte: Autores, 2021.

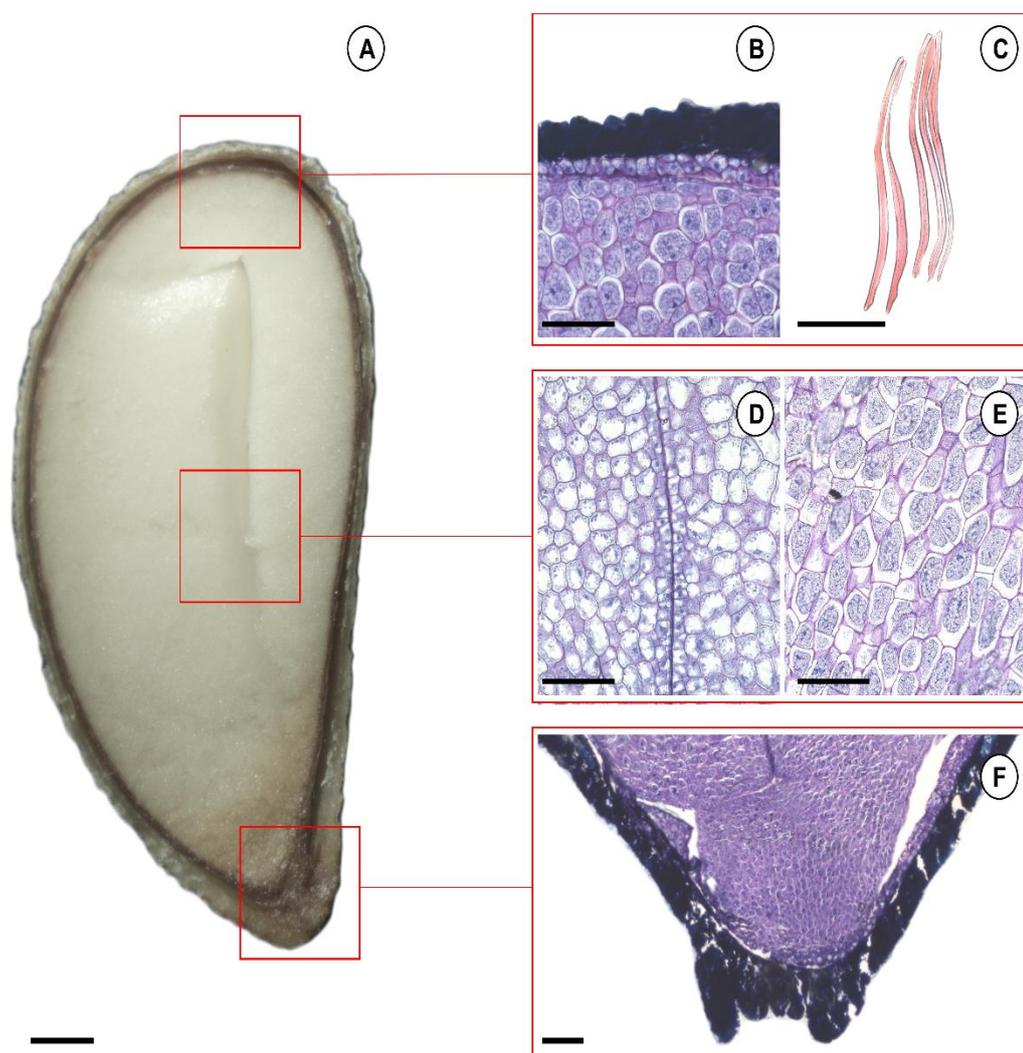
3.3 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

Seções longitudinais do envoltório seminal, no sentido hipocótilo-radícula, mostram que a estrutura externa é fibrosa (Figura 6A-B) e composta por uma a duas camadas de fibras libríformes com pontoações simples, consistindo em uma interrupção da parede secundária sobre a parede primária (Figura 6C).

Seções longitudinais do cotilédone, no sentido hipocótilo-radícula, evidenciaram a presença de epiderme unisseriada (Figura 6D). O mesofilo cotiledonar é predominantemente parenquimático, exibindo células justapostas,

heterodimensionais com parede variando de lisa a levemente sinuosa (Figura 6D). O endosperma apresenta células parenquimáticas justapostas, heterodimensionais e parede celular lisa, variando de retas a levemente sinuosas, e com conteúdo evidente no lúmen (Figura 6E). A região hilar, possui protusões do envoltório seminal externo e, no seu interior, apresenta células parenquimáticas, justapostas, de tamanhos e formas variadas, e parede celular delgada (Figura 6F).

Figura 9: Anatomia das sementes de *Stephanopodium engleri* Baill. A: Semente em vista longitudinal. B: Envoltório seminal. C: Fibras do envoltório seminal. D: Cotilédones. E: Endosperma. F: Região hilar. Barras: A,B,D,E,F = 100µm; C= 20µm.



Fonte: Autores, 2021.

As células da região do envoltório seminal reagiram positivamente para os testes que detectam a presença de alcaloides, compostos fenólicos e lipídios (Tabela 2 e Figura 7).

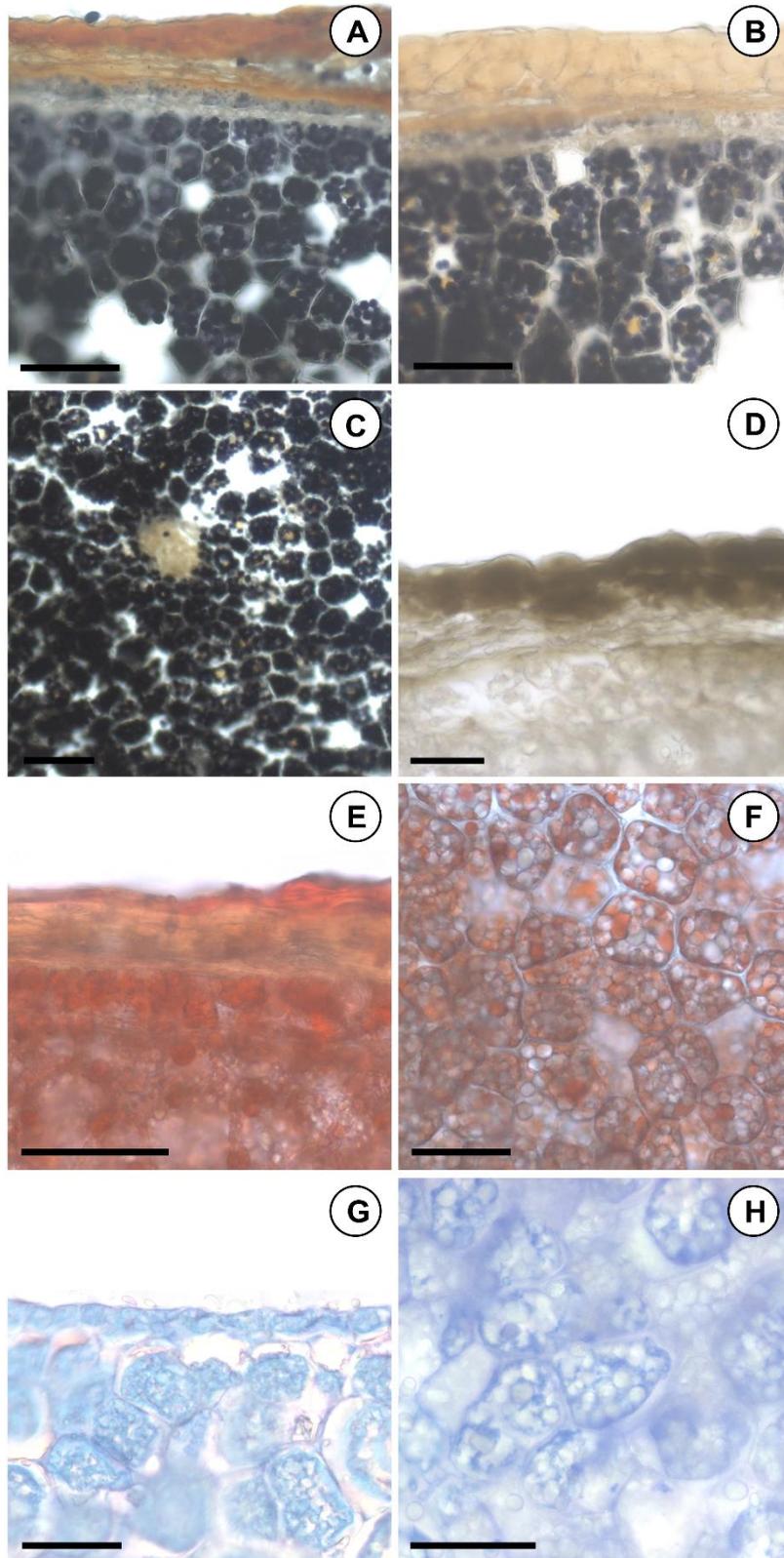
O cotilédone e o endosperma são predominantemente ricos em reserva, reagindo positivamente para os testes histoquímicos que detectam a presença de grãos de amido (Figura 7A, B e C), lipídios (Figura 7E e F) e proteínas totais (Figura 7G e H) no interior das células.

Tabela 2: Testes histoquímicos das sementes de *Stephanopodium engleri* Baill. (-) negativo; (+) positivo.

Reagente	Composto Alvo	Região		
		Envoltório seminal	Endosperma	Cotilédone
Dragendorff	Alcaloide	+	-	-
Lugol	Grãos de amido	-	+	+
Cloreto férrico	Composto fenólico	+	-	-
Sudan III	Lipídios totais	+	+	+
Azul brilhante de Coomassie	Proteínas totais	-	+	+

Fonte: Autores, 2021.

Figura 10: Histoquímica das sementes de *Stephanopodium engleri* Baill. A: Alcaloides. B, C: Grãos de amido. D: Compostos fenólicos. E, F: Lipídios totais. G, H: Proteínas. Barras: A-H= 100µm.



Fonte: Autores, 2021.

4 DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOMÉTRICA DE FRUTOS E SEMENTES

Estudos dos aspectos morfológicos de fruto e semente são necessários para obtenção de maior conhecimento da espécie (AMORIM, 1997), assim como, a descrição morfológica realizada pode ser utilizada para a identificação de *S. engleri*. Estudos sobre a morfologia dos frutos de *S. engleri* são escassos. Em estudo realizado por Prance (1972), os frutos desta espécie foram descritos como de forma irregularmente elipsoide, cerca de 1,5 cm de comprimento; epicarpo velutino-ferruginoso; mesocarpo fino; endocarpo fino, ósseo, bastante macio, glabro no interior. Assim, o estudo atual contribui com novas informações sobre a coloração do fruto, o tipo de fruto, que é o tipo indeiscentes, ou seja, não há liberação das sementes na maturidade. Também corrobora com as afirmações feitas por Prance (1972), frutos como endocarpo fino semelhante ao pergaminho. Dessa forma, é crucial novos estudos sobre o morfologia e biometria de frutos e sementes, por ser importante para a taxonomia, na identificação de variedades e para verificar a ocorrência de variações fenotípicas (CARDOSO; LOMÔNACO, 2003; PINTO et al., 2003).

Em frutos que desenvolveram somente uma semente, a biomassa acumulada na mesma foi superior, possivelmente devido a uma maior disponibilidade de fotoassimilados. De forma similar, a redução de frutos por planta é uma prática comum aplicada em plantas cultivadas para obtenção de frutos ou sementes de maior qualidade (QUEIROGA et al., 2008). Sementes maiores normalmente possuem maior suprimento metabólico satisfatório durante o seu desenvolvimento e pode favorecer a velocidade de germinação das sementes (OLIVEIRA et al., 2009), pois possui embrião bem formado e com maior quantidade de substâncias de reserva como amido, proteínas e lipídios (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Embora as características morfológicas de frutos e sementes forneçam informações importantes sobre o potencial de dispersão, nem sempre elas são suficientes para determinar o modo de dispersão das espécies vegetais (DEMINICIS et al., 2009). *Stephanopodium engleri* possui frutos do tipo drupa, com mesocarpo pouco carnoso e sementes com presença de tegumento, características que normalmente estão associadas a atração por animais (PERES, 2011). Portanto, é possível que a dispersão de sementes desta espécie possa ser zoocórica. Apesar de

uma grande diversidade no modo de dispersão de sementes das espécies que ocorrem em campos rupestres, boa parte das espécies têm suas sementes dispersas nas proximidades à planta-mãe (SILVEIRA et al, 2016). No entanto, em fitofisionomias de capões, onde ocorrem as depressões de canga dominadas por árvores, a zoocoria torna-se a síndrome prevalente (JACOBI et al., 2011).

Os aspectos biométricos de frutos e sementes podem influenciar na germinação e na produção de mudas, sendo, portanto, determinantes na tomada de decisão do momento de coleta de frutos e sementes (DRESCH et al., 2013), especialmente para espécies ameaçadas, como *S. engleri*. O diferente número de sementes e a variação no tamanho de frutos e sementes observados neste estudo podem estar associados a diferentes variáveis, desde intrínsecas à espécie ou indivíduo, assim como a fatores ambientais. Variações no número de sementes por fruto podem estar associadas a i) quantidade e qualidade do pólen que alcança estigma, podendo variar em função de fatores que vão desde a sua produção à forma com que é transportado. No entanto, a polinização de *S. engleri* ainda é desconhecida e pode depender de animais, vento ou mesmo ocorrer autofecundação; ii) fecundação, dependente da capacidade do pólen germinar e alcançar o óvulo. Pode ser afetada tanto pela viabilidade do pólen quanto por fatores ambientais como disponibilidade hídrica e temperatura (NETO, 2017); iii) número de óvulos fecundados que apresentam desenvolvimento normal, o que pode ser determinado pela quantidade de nutrientes e fotoassimilados disponíveis para os frutos e sementes (FREITAS et al., 2009). Devido ao limitado conhecimento acerca do ciclo de vida/reprodução de *S. engleri*, ainda são necessários outros estudos para evidenciar os possíveis eventos que levam a praticamente metade dos frutos de *S. engleri* desenvolverem somente uma semente.

4.2 TEOR DE UMIDADE

As sementes de *S. engleri* apresentaram um elevado teor de umidade (cerca de 20%) mesmo após o armazenamento em ambiente arejado por 90 dias. Tais valores de umidade em sementes são comumente observados em espécies que possuem comportamento do tipo recalcitrante, onde elevados teores de umidade são mantidos ao longo do final da maturação e permanecem nas sementes já maduras (REGAZOLLI, 2019). Sementes recalcitrantes geralmente permanecem com 15% a 50% de umidade quando finalizado o processo de maturação, portanto, não podem

ser secas pelos métodos tradicionais de secagem e, quando armazenadas com elevado teor de água, perdem a viabilidade em curto espaço de tempo (GOLDFARB; QUEIROGA, 2013). Uma das principais causas da perda do poder germinativo durante o processo de armazenamento, é o elevado teor de água na semente (REGAZOLLI, 2019). Sendo assim, o teor de água encontrado nas sementes de *S. engleri* demonstra ser desfavorável ao armazenamento. Dessa maneira, evidencia uma das dificuldades de manter uma alta viabilidade das sementes endêmicas coletadas, para garantir a produção de mudas de qualidade (RAMOS et al., 2019). Afinal, as atividades fisiológicas estão associadas ao grau de umidade, podendo ter seu processo acelerado ou minimizado em função do teor de água (REGAZOLLI, 2019).

O armazenamento das sementes deve ser iniciado na maturidade fisiológica, e o maior objetivo é manter a qualidade desse produto biológico durante o período de estocagem (VILLELA; PERES, 2004). Devido a curta longevidade das sementes recalcitrantes, o armazenamento é restrito, necessitando proceder a semeadura logo após a extração dos frutos, ocasionando na concentração de oferta de mudas em períodos do ano desfavoráveis ao plantio (FONSECA; FREIRE, 2003). Diante disso, a conservação de sementes recalcitrantes por armazenamento apresenta grandes dificuldades, decorrência da sensibilidade em relação a dessecação, tendo que no processo de armazenagem a manutenção da alta umidade. Nessa condição as sementes permanecem com intensa atividade metabólica, consumindo as reservas e diminuindo a longevidade. Além disso, as sementes ficam mais propícias ao ataque de microorganismos e a germinação (COSTA, 2009).

4.3 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

As sementes de *S. engleri* possuem um envoltório seminal (pergaminho) fibroso com uma abertura (hilo) que é geralmente a região de maior permeabilidade da semente em função da menor espessura dos tegumentos (LIMA et al., 2006). Este tecido impede a passagem de água e gases, restringindo fisicamente o crescimento do embrião (OLIVEIRA et al., 2012). Em muitas espécies este tipo de envoltório seminal fibroso pode estar associado a dormência de sementes ou influenciar negativamente no seu processo germinativo através da redução da velocidade ou homogeneidade da germinação (GALASTRI, 2008). A presença do hilo nas sementes, conforme observado em *S. engleri*, atua como uma válvula higroscópica, abrindo

quando a semente é envolvida por ar seco e fechando quando o ar ao seu redor umedece (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Este hilo também desempenha um papel importante na emergência de plântulas, permitindo a entrada de água durante a embebição e as trocas gasosas efetuadas durante o processo de armazenamento e germinação (LIMA et al., 2006).

Quanto às características internas, a semente de *S. engleri* apresenta tecido de reserva dicotiledonar, com cotilédones carnosos que armazenam substâncias nutritivas e ocupam o maior volume da semente (LIMA et al., 2006). Sementes deste tipo apresentam elevada velocidade na mobilização das reservas dos cotilédones (fonte) e sua translocação para outros órgãos (dreno) e grande potencial germinativo e alto vigor inicial (CORTE et al., 2006). Esse processo ocorre porque a germinação da semente é iniciada com as reservas próprias do embrião e depois mantida com o consumo dos componentes dos tecidos de reserva, pela atividade enzimática e pelo fluxo dos componentes solúveis às regiões de crescimento onde há rápido consumo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

A presença de compostos fenólicos no envoltório seminal das sementes de *S. engleri* pode atuar como uma barreira química que reduz a troca com o ambiente externo. Conforme estrutura química e localização celular destes compostos, podem também conferir rigidez e resistência física ao tecido vegetal (PÉREZ-JIMÉNEZ; TORRES, 2011). Além disso, os compostos fenólicos apresentam a função de inibir herbívoros, pois em altas concentrações reagem com enzimas do trato digestivo destes animais, tornando-se impalatáveis (MONTEIRO et al, 2005). Também podem contribuir na proteção do embrião (OLIVEIRA et al., 2011) e na defesa contra patógenos (TAIZ; ZEIGER, 2009). Por outro lado, estes alcaloides presentes nas sementes de *S. engleri* podem também representar importantes fontes de nitrogênio que serão usados durante a germinação (ISAH, 2019).

Sementes que possuem grande quantidade de reserva estocada, tais como amido, lipídios e proteínas em seus cotilédones, como observado na *S. engleri*, possivelmente darão origem a plântulas com maior vigor inicial, a depender da quantidade e do tipo de substâncias armazenadas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). A semente se encontra em estado de repouso antes da germinação, onde a taxa respiratória é bastante reduzida, junto com a necessidade de proteínas ativas (LARCHER, 2003). Com introdução de água na semente, tem o início a atividade

hidrolítica, proporcionadas pelas enzimas sintetizadas durante a maturação da semente, havendo novamente a síntese de hidrolases a qual envolve atuação do mecanismo de síntese de proteinases, simultaneamente ocorre a recuperação do metabolismo oxidativo, processos ativados e sincronizados ao longo da hidratação. Assim, poderá haver em *S. engleri* um pequeno aumento nos teores proteicos nos cotilédones ou no endosperma em função da demanda energética e estrutural pelos processos iniciadores da germinação (AFFENZELLE et al., 2009; HAIDER et al., 2012; BLOOM et al., 2012).

Do ponto de vista bioquímico, o vigor da semente envolve biossíntese de energia e compostos metabólicos, tais como proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídeos, associados com a atividade celular, integridade das membranas celulares e com transporte e utilização das substâncias de reserva (AOSA, 1983). Sendo assim, tanto o vigor quanto o potencial de armazenamento das sementes de *S. engleri* podem ser influenciadas pelos teores dos compostos presentes e, de modo geral, quanto maior o teor de reservas nas sementes, maior será o vigor das plântulas originadas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Os futuros estudos dos efeitos do vigor das sementes sobre os estádios iniciais do desenvolvimento das plantas de *S. engleri* são importantes, já que podem ser influenciados pelos teores de proteína, lipídio, açúcar e amido, atuando na velocidade de emergência, produção de biomassa seca e nas taxas de crescimento das plantas (SCHUCH et al., 2000; MELO et al., 2006).

5 CONCLUSÃO

A espécie *S. engleri* apresenta mais da metade de seus frutos com duas sementes. Sementes mais largas são encontradas em frutos com uma semente. O elevado teor de umidade nas sementes armazenadas, é uma grande dificuldade para o armazenamento prolongado de *S. engleri*, pois sementes recalcitrantes não toleram dessecação.

As sementes de *S. engleri* possuem um envoltório seminal (pergaminho) fibroso com uma abertura (hilo), estruturas importantes para emergência de plântulas. Já as principais substâncias encontradas nas estruturas da semente, como amido, lipídios e proteínas, podem contribuir para o entendimento do vigor e do desenvolvimento das plantas de *S. engleri*.

REFERÊNCIAS

ABREU, D.C.A. et al. Caracterização morfológica de frutos e sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers. – Winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 67 - 74, 2005.

AFFENZELLER, M. J., et al. Salt stress-induced cell death in the unicellular green alga *Micrasterias denticulata*. **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 3, p. 939-954, 2009.

AHUJA, I. et al. Plant molecular stress responses face climate change. **Trends in plant science**, v. 15, n. 12, p. 664-674, 2010.

AMARO, M.S. et al. Morfologia de frutos, sementes e de plântulas de Janaguba (*Himatanthus drasticus* (MART.) PLUMEL.- (Apocynaceae)). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.28, n.1, p. 63 -71, 2006.

AMORIM, I. L DE., et al. Morfologia do fruto e da semente, e germinação da semente de *Trema micrantha* (L.) Blum. **Cerne**, v. 3, n. 1, p. 129-142, 1997.

AOSA - Association of Official Seed Analysts -. Seed vigor testing handbook. **Association of Official Seed Analysts. Contribution**, v. 32, p. 88, 1983.

BARBOSA, N. P. DE U. et al. A relict species restricted to a quartzitic mountain in tropical America: an example of microrefugium? **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, p. 299-309, 2015.

BLOOM, A. J., et al. Deposition of ammonium and nitrate in the roots of maize seedlings supplied with different nitrogen salts. **Journal of experimental botany**, v. 63, n. 5, p. 1997-2006, 2012.

BONATELLI, I. A. S., et al. Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: phylogeography and palaeodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and allies. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 12, p. 3044-3063, 2014.

BRADBEER, J. W. **Seed dormancy and germination**. Springer Science & Business Media, Berlin. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária**. Brasília: Mapa/ACS, 399 p. 2009.

CARDOSO, G. L.; LOMÔNACO, C. Variações fenotípicas e potencial plástico de *Eugenia calycina* Cambess. (Myrtaceae) em uma área de transição cerrado-vereda. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 131-140, 2003.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, p. 588, 2000.

CARVALHO, J. M. et al. Influence of nutrient management on growth and nutrient use efficiency of two plant species for mineland revegetation. **Restoration Ecology**, v. 26, n. 2, p. 303-310, 2018.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 590p. 2012.

CLELAND, E. E. et al. Shifting plant phenology in response to global change. **Trends in ecology & evolution**, v. 22, n. 7, p. 357-365, 2007.

CNCFlora. *Stephanopodium engleri* in **Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2** Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Stephanopodium engleri](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Stephanopodium_engleri)>. Acesso em 17 novembro 2021.

COLLEVATTI, R. G.; RABELO, S. G.; VIEIRA, R. F. Phylogeography and disjunct distribution in *Lychnophora ericoides* (Asteraceae), an endangered cerrado shrub species. **Annals of Botany**, v. 104, n. 4, p. 655-664, 2009.

CORLETT, R. T.; WESTCOTT, D. A. Will plant movements keep up with climate change? **Trends in ecology & evolution**, v. 28, n. 8, p. 482-488, 2013.

CORTE, V.B., et al. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Árvore**, v.30, p. 941 - 949, 2006.

COSTA, C. J. Armazenamento e conservação de sementes de espécies do cerrado. Planaltina-DF: **Embrapa Cerrados**, (Documentos/ Embrapa Cerrados; 265), 2009.

DEMINICIS, B. B., et al. Dispersão natural de sementes: importância, classificação e sua dinâmica nas pastagens tropicais. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 224, p. 35-58, 2009.

DRESCH, D. M., et al. Germinação e vigor de sementes de gabioba em função do tamanho do fruto e semente. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 262-271, 2013.

DRUMMOND, G. M; Martins, C. S; Machado, A. B. M. **Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação**. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, 222p. 2005.

DÜRR, C., et al. Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: contribution to a seed trait database. **Agricultural and forest meteorology**, v. 200, p. 222-232, 2015.

FACHINELLO, J. C., et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

FERNANDES, G. W. et al. (Ed.). **Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil**. Switzerland: Springer International Publishing, 2016a.

FERNANDES, G. W. et al. The deadly route to collapse and the uncertain fate of Brazilian rupestrian grasslands. **Biodiversity and Conservation**, v. 27, n. 10, p. 2587-2603, 2018.

FERNANDES, G. W. The megadiverse rupestrian grassland. In: **Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil**. Springer, Cham, p. 3-14. 2016b.

- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, N. R.; FRANKE, L. B.; MOÇO, Maria C. de C. Estudos morfo-anatômicos relacionados à dormência em sementes de *Adesmia tristis* Vogel (Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 447-453, 2011.
- FISHER, D. B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v. 16, n. 1, p. 92-96, 1968.
- FONSECA, S. C. L.; FREIRE, H. B. Sementes Recalcitrantes: Problemas na pós-colheita. **Revista Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 297-303, 2003.
- FREITAS, V. L. de O. et al. Biometria de frutos e sementes e germinação de sementes de *Dimorphan-dra mollis* Benth. e *Dimorphandra wilsonii* Rizz. (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 81, p. 27-35, 2009.
- GALASTRI, N. **Morfoanatomia e ontogênese de frutos e sementes de Annona dioica (A. St.-Hil.), Duguetia furfuracea (A. St.-Hil.) Saff. e Xylopia emarginata Mart.(Annonaceae)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista. 2008.
- GOLDFARB, M.; QUEIROGA, V. de P. Considerações sobre o armazenamento de sementes. **Embrapa Algodão-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2013.
- HAIDER, M. S., et al. A CAM-and starch-deficient mutant of the facultative CAM species *Mesembryanthemum crystallinum* reconciles sink demands by repartitioning carbon during acclimation to salinity. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 5, p. 1985-1996, 2012.
- HAY, F. R.; PROBERT, R. J. Advances in seed conservation of wild plant species: a review of recent research. **Conservation physiology**, v. 1, n. 1, 2013.
- ISAH, T. Stress and Defense Responses in Plant Secondary Metabolites Production. **Biological Research**, v. 52, n. 39, p. 52-39, 2019.
- JACOBI, C. M., et al. Plant communities on ironstone outcrops – a diverse and endangered Brazilian ecosystem. **Biodiversity and Conservation**, v.16, n.7, p.2185-2200, 2007.
- JACOBI, C. M.; DO CARMO, F F.; DE CAMPOS, I. C. Soaring extinction threats to endemic plants in Brazilian metal-rich regions. **Ambio**, v. 40, n. 5, p. 540-543, 2011.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 523p. 1940.
- KHURANA, E.; SINGH, J. S. Germination and seedling growth of five tree species from tropical dry forest in relation to water stress: impact of seed size. **Journal of Tropical Ecology**, v. 20, n. 4, p. 385-396, 2004.
- KUMAR, S. P. J., et al. Seed birth to death: dual functions of reactive oxygen species in seed physiology. **Annals of botany**, v. 116, n. 4, p. 663-668, 2015.

LARCHER, W. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. **Springer Science & Business Media**, 2003.

LAWRENCE, D.; VANDECAR, Karen. Effects of tropical deforestation on climate and agriculture. **Nature climate change**, v. 5, n. 1, p. 27-36, 2015.

LIMA, C. C. A; SILVA, L. J. DA; CASTRO, W. S. Apostila de morfologia externa vegetal. **Cursos De Ciências Biológicas e Engenharia Agrônômica, Instituto de Biologia, UFU, Uberlândia, Minas Gerais**, 2006.

LOUREIRO, M. B., et al. Caracterização morfoanatômica e fisiológica de sementes e plântulas de *Jatropha curcas* L.(Euphorbiaceae). **Revista árvore**, v. 37, n. 6, p. 1093-1101, 2013.

LOVEJOY, T. E.; NOBRE, C. **Amazon Tipping Point**. Sci. Adv. 4, eaat2340. 2018.

MARENGO, J. A.; SOUZA JR, C. Mudanças Climáticas: impactos e cenários para a Amazônia. **São Paulo**, 2018.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1 ed. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

MEDEIROS, A. C DE S.; DA EIRA, M. T. S. Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas. **Embrapa Florestas-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2006.

MELO, P.T.B.S., et al. Comportamento Individual de plantas originadas de sementes com diferentes níveis de qualidade fisiológica em populações de arroz irrigado. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n.2, p. 84-94, 2006.

MENDES, A. M. Da S.; DE MENDONÇA, M. S. Análise anatômica e histoquímica de sementes maduras de *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* Mc Vaugh (araçá-boi)-Myrtaceae. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 77510-77522, 2020.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, 28: 892-896, 2005.

NETO, R. O. G. **Polinização na produção de híbrido simples de milho: ação de fatores edafoclimáticos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. 2017.

OLIVEIRA, A. B. DE. et al. Emergência de plântulas de *Copernicia hospita* Martius em função do tamanho da sementes, do substrato e do ambiente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 281-287, 2009.

OLIVEIRA, A. B. DE., et al. Morfoanatomia e histoquímica da semente de sororoca (*Phenakospermum guyannense* (Rich.) Endl.-Strelitziaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, p. 280-287, 2012.

OLIVEIRA, A. B., DE et al. Avaliação citoquímica durante a germinação de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob salinidade. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 223-231, 2011.

OLIVEIRA, A. C. S.; MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; VIEIRA, H. D. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **InterSciencePlace**, v. 1, n. 4, 2009.

OLIVEIRA, R. S. et al. Mineral nutrition of campos rupestres plant species on contrasting nutrient-impooverished soil types. **New Phytologist**, v. 205, n. 3, p. 1183-1194, 2015.

OLIVEIRA, S.S.C. et al. Caracterização morfométrica de sementes, frutos e plântulas e germinação de sementes de *Physocalymma scaberrimum* Pohl. **Revista de Ciências Agrárias, Lisboa**, v.41, n.2, p. 336-347, 2018.

OVERBECK, G. E. et al. Conservation in Brazil needs to include non-forest ecosystems. **Diversity and distributions**, v. 21, n. 12, p. 1455-1460, 2015.

PEREIRA, A. F. S. **Florística, fitissociologia e relação solo-vegetação Complexo rupestre do Quadrilátero Ferrífero, MG**. 2016. 161 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2016.

PERES, M. K. **Diásporos do Cerrado atrativos para fauna: chave interativa, caracterização visual e relações ecológicas**. Universidade de Brasília. 2011.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; TORRES, J. L. Analysis of nonextractable phenolic compounds in foods: the current state of the art. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 24, p. 12713-12724, 2011.

PINTO, W. S., et al. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p. 1059-1066, 2003.

PRANCE, G. T. Dichapetalaceae. **Flora Neotropica**, New York Botanical Garden Press v. 10, p. 1-84, 1972.

QUEIROGA, R. C. F. DE., et al. Produtividade e qualidade do melão cantaloupe, cultivado em ambiente protegido, variando o número e a posição dos frutos na planta. **Bragantia**, v. 67, p. 911-920, 2008.

RAMOS, S. J., et al. Native leguminous plants for mineland revegetation in the eastern Amazon: seed characteristics and germination. **New Forests**, v. 50, n. 5, p. 859-872, 2019.

REGAZOLLI, P. H. M. **Influência da posição das sementes de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) nos frutos em relação à qualidade fisiológica**. Universidade Federal de Santa Catarina. 2019.

SALAZAR, A. et al. Chemical scarification improves seed germination of *Trema lamarckiana* (Cannabaceae), a potential tree species to restore South Florida

endangered ecosystems. **Seed Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 291-296, 2015.

SCARIOT, A.; FELFILI, J. M.; SILVA, J. C. S. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. 2005.

SCHUCH, Luis O. B., et al. Vigor de sementes e análise de crescimento de aveia preta. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 2, p. 305-312, 2000.

SHU, K., et al. Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. **Molecular plant**, v. 9, n. 1, p. 34-45, 2016.

SILVEIRA, F. A. O. et al. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. **Plant and soil**, v. 403, n. 1, p. 129-152, 2016.

SILVEIRA, F. A. O., et al. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. **Plant and Soil**, v. 403, n. 1, p. 129-152, 2016.

SKIRYCZ, A., et al. Canga biodiversity, a matter of mining. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 653, 2014.

SVEDSEN, A.B.; VERPOORTE, R. Chromatography of alkaloids. **Elsevier Scientific Publish Company**, New York. 1983.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiol**, p. 522-550, 2009.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta e beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (ed). **Germinação do básico ao aplicado**. São Paulo: ed. Artmed, cap.17, p. 265-271, 2004.