



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 Boanares 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 00
Classificação: () Confidencial () Restrita () Uso Interno (x) Pública	

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 carnosa, 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 <i>Stephanopodium engleri</i> 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 <i>Stephanopodium engleri</i>	15
Figura 3: Classe de tamanhos de frutos e sementes de <i>Stephanopodium engleri</i> . A-C: Frutos e D-F: sementes.	16
Figura 4: Perda de Peso das sementes de <i>Stephanopodium engleri</i> durante 90 dias de secagem ao ar livre.	18
Figura 5: Percentual de Umidade em Lotes de 25 sementes de <i>Stephanopodium engleri</i>	19
Figura 6: Anatomia das sementes de <i>Stephanopodium engleri</i> 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 <i>Stephanopodium engleri</i> Baill. A: Alcaloides. B, C: Grãos de amido. D: Compostos fenólicos. E, F: Lipídios totais. G, H: Proteínas. Barras: A-H= 100µm.....	22
Tabela 1: Características biométricas de frutos de <i>Stephanopodium engleri</i> e sementes de acordo com o número de sementes por fruto. Valores médios e (±) desvio padrão. Letras diferentes correspondem à diferença significativa (p-valor ≤ 0.05) pelo teste de Tukey.	17
Tabela 2: Testes histoquímicos das sementes de <i>Stephanopodium engleri</i> 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 despoldadas. 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 $\pm$ 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 μ m 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

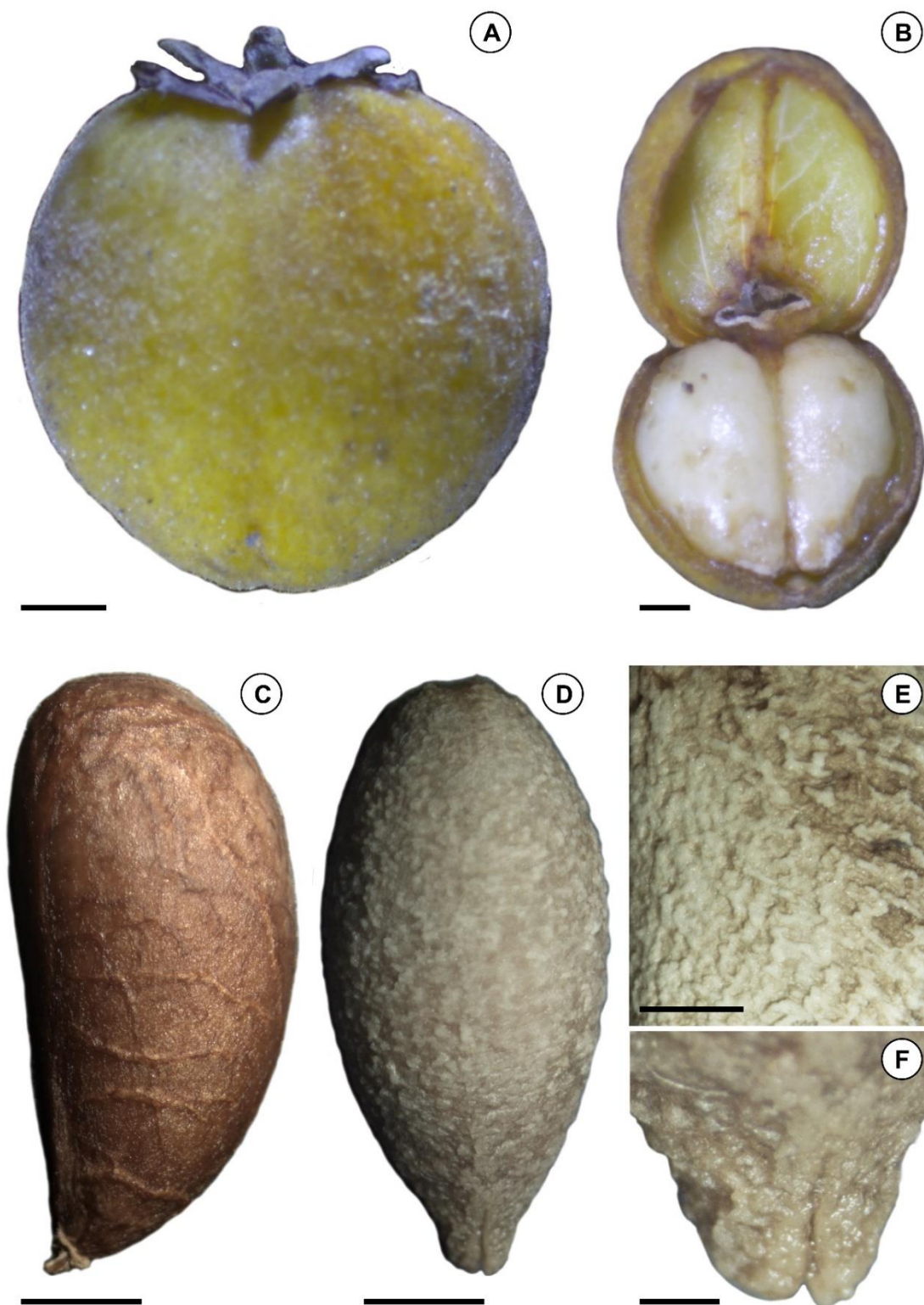
Os dados biométricos dos frutos e das sementes foram analisados em classes de frequência, onde foram realizados histogramas com as classes de dimensões. As análises foram realizadas utilizando o pacote Microsoft Office Excel. Testes de Shapiro-Wilk foram realizados para avaliar a normalidade dos dados. 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

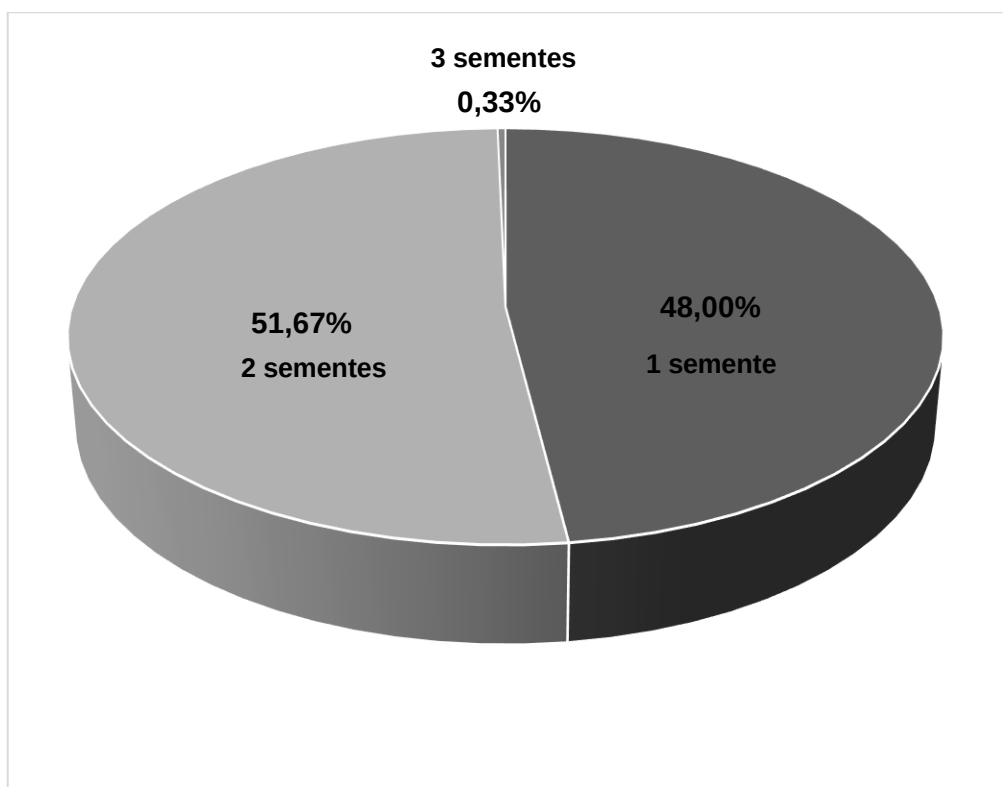
A espécie *Stephanopodium. engleri* apresenta frutos do tipo drupa, pouco carnosa, geralmente bilocular, mesocarpo pouco polposo, endocarpo fino semelhante a pergaminho, indeiscentes. A coloração do fruto varia com o grau de maturação, sendo amarelada quando maduro e atingindo coloração mais escura após 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 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.



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.

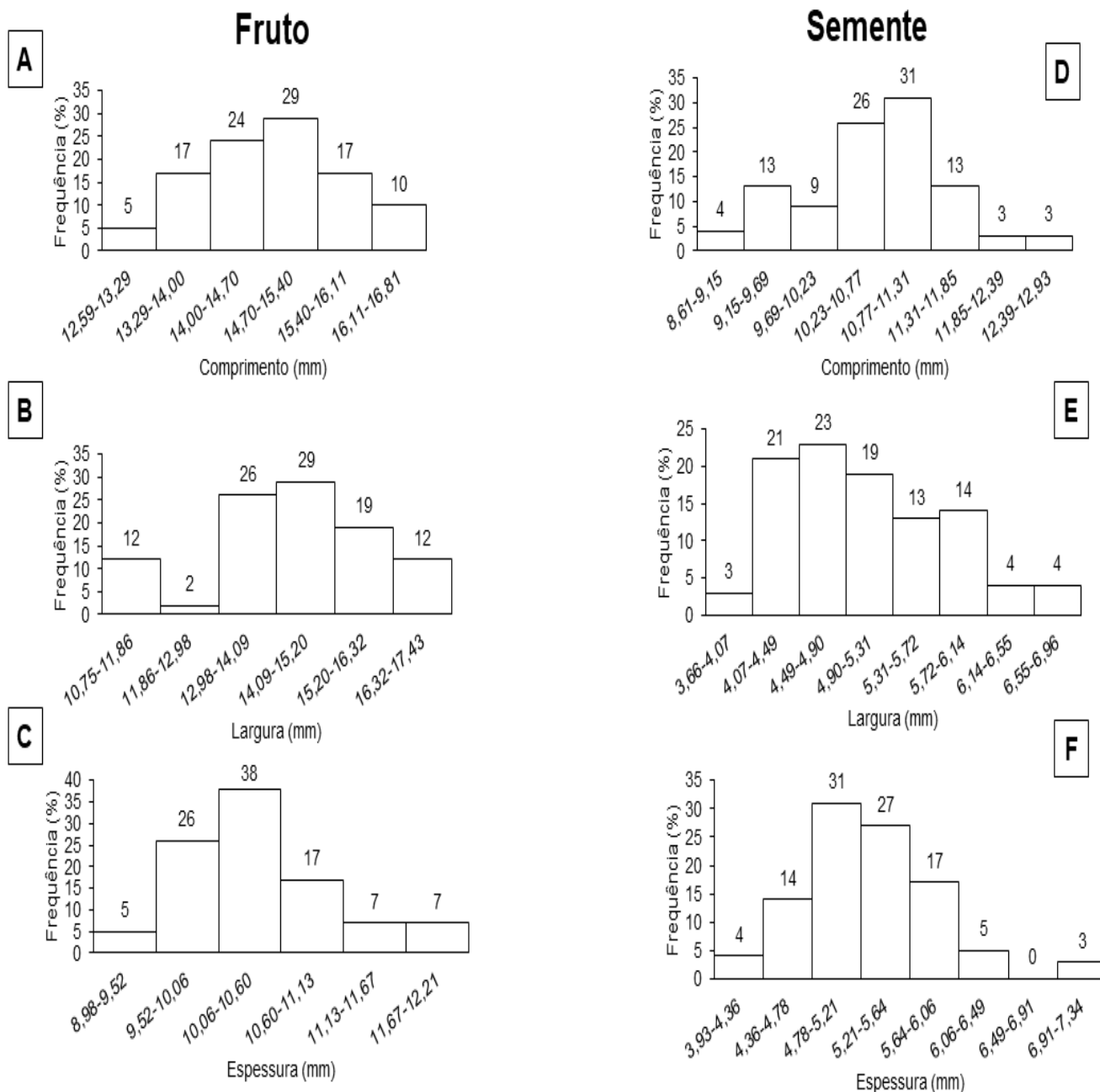
Figura 2: Percentual de sementes por fruto de *Stephanopodium engleri*.



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 3: 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.

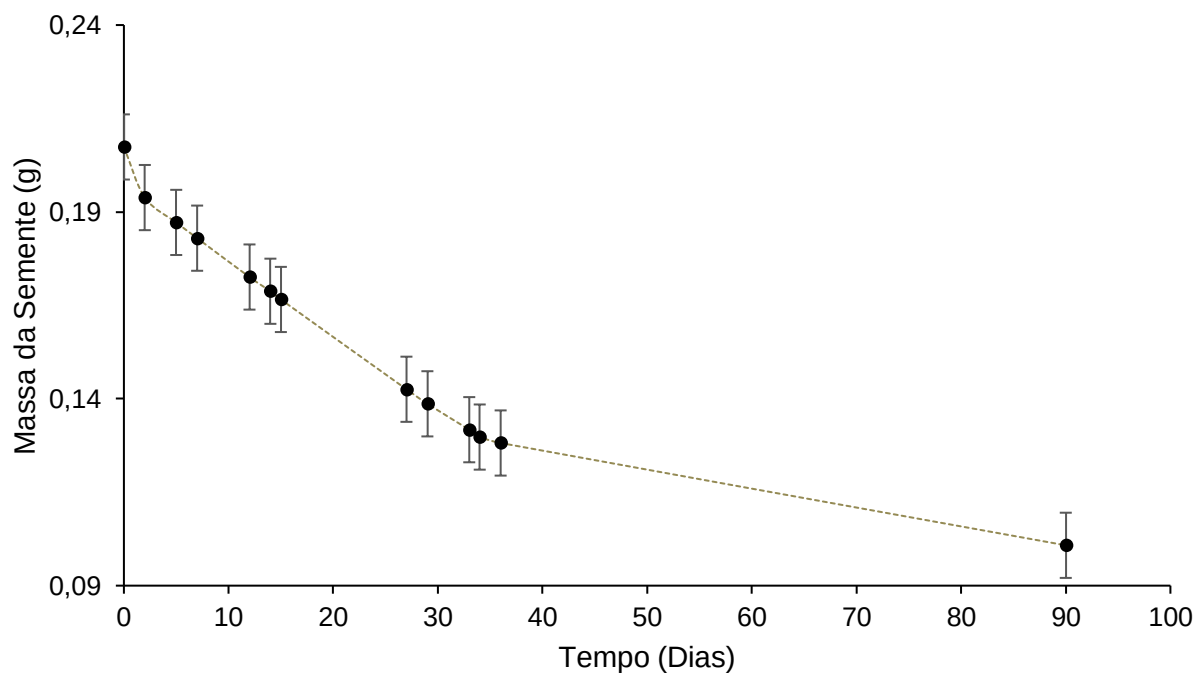
		Uma Semente	Duas Sementes
Fruto	Comprimento (mm)	14.76 $\pm$ 1.4 a	14.58 $\pm$ 1.2 a
	Largura (mm)	11.21 $\pm$ 1.3 a	11.5 $\pm$ 1.2 a
	Espessura (mm)	7.78 $\pm$ 1.1 a	7.38 $\pm$ 1.2 a
	Peso Seco (g)	0.45 $\pm$ 0.17 b	0.57 $\pm$ 0.22 a
Semente	Comprimento (mm)	11.46 $\pm$ 1.8 a	11.66 $\pm$ 1.8 a
	Largura (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.

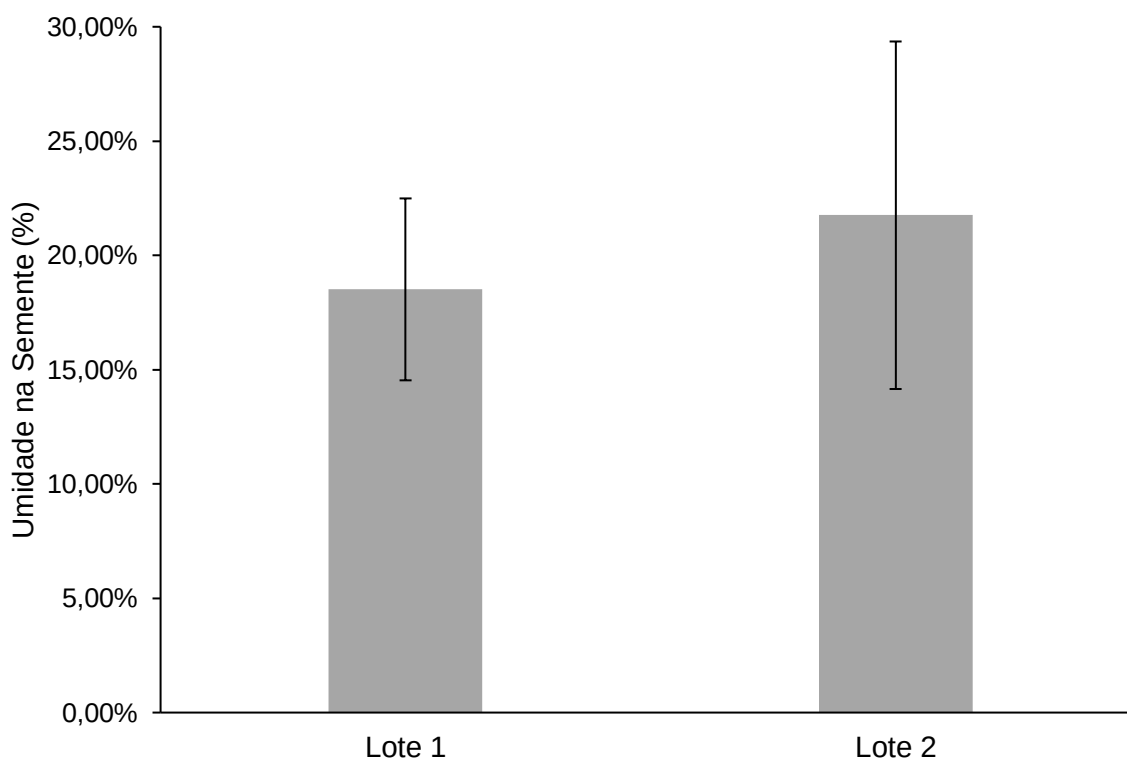
Figura 4: Massa das sementes de *Stephanopodium engleri* durante 90 dias de secagem ao ar livre.



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



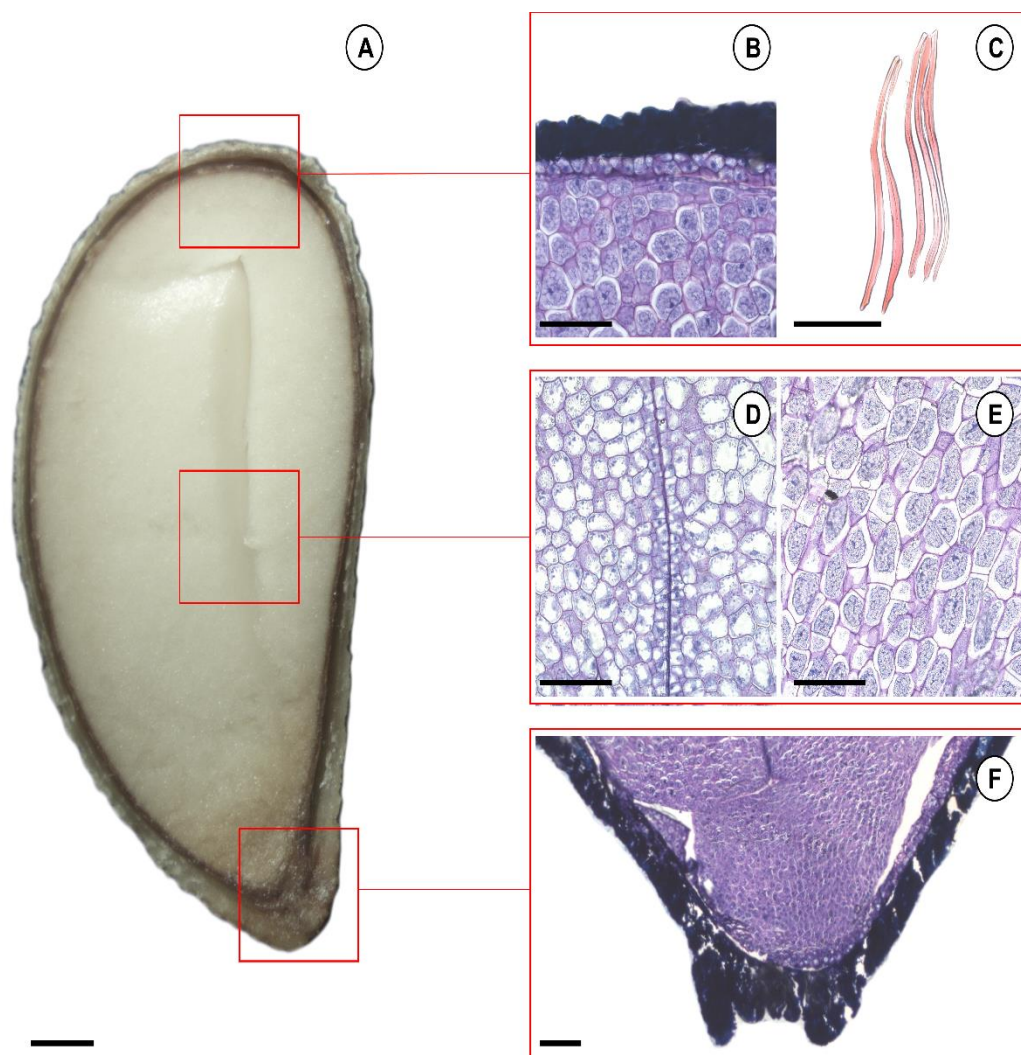
Fonte: Autores, 2021.

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 libriformes 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 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.



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).

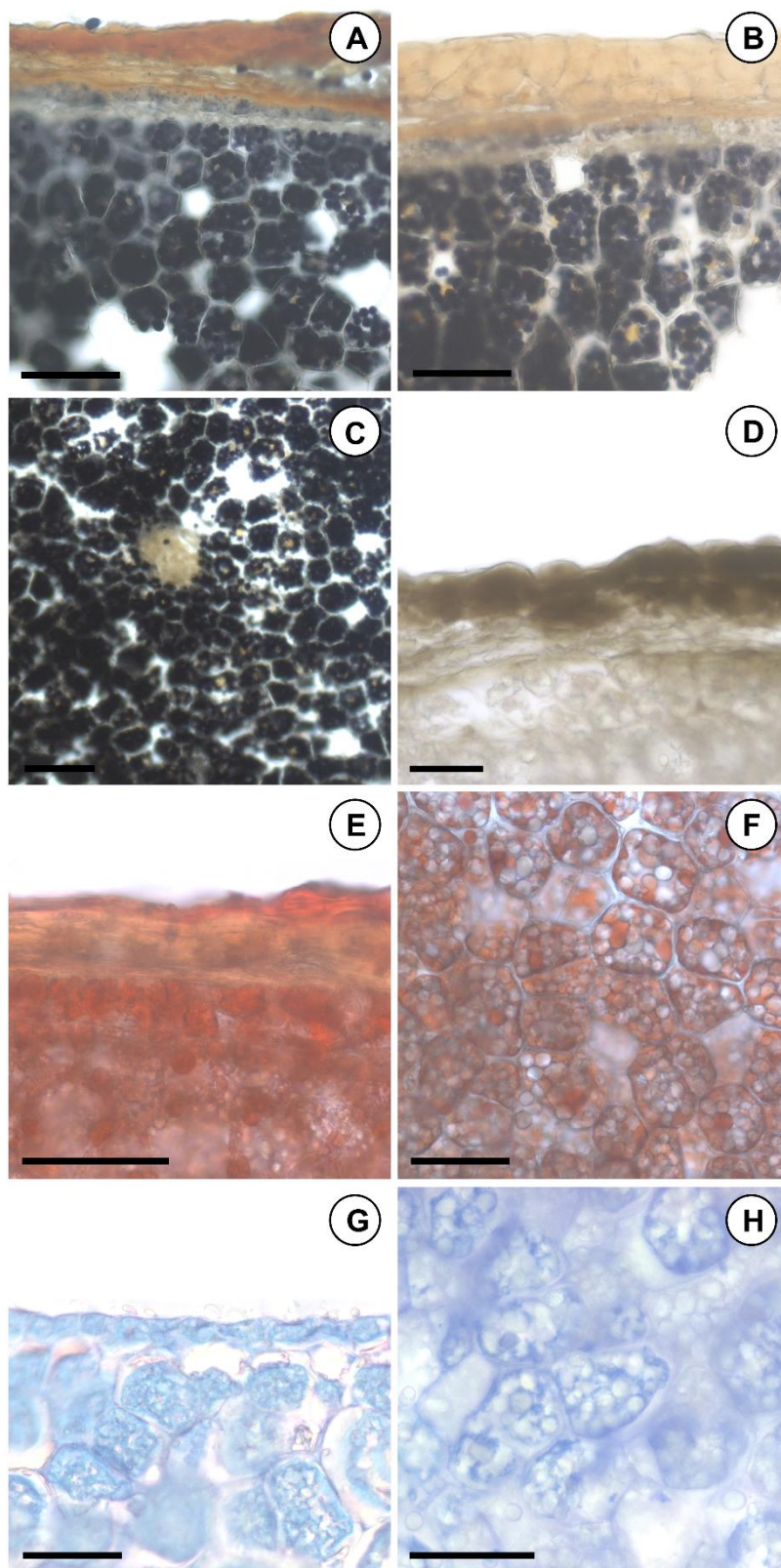
O cotilédone e o endosperma são predominantemente ricos em reserva, reagindo positivamente para os testes histoquímicos que detectam a presença de grãos de amido (Figura 7A, B e C), lipídios (Figura 7E e F) e proteínas totais (Figura 7G e H) no interior das células.

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 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.



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 *Microcystis 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-Caesalpinoideae). **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.