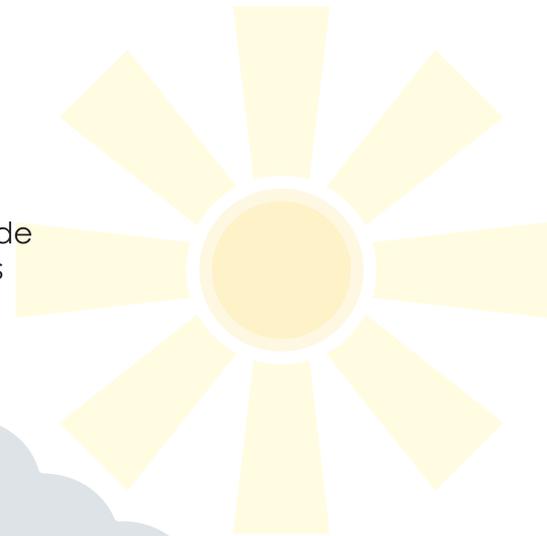


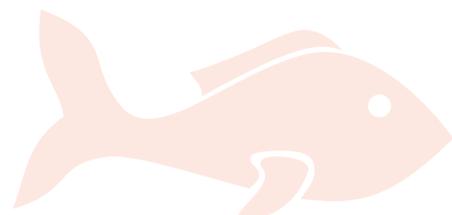
## 24ª RAIBt

Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas



ANAIS

24ª Reunião Anual do  
Instituto de Botânica



Instituto de Botânica



2017



**Governo do Estado de São Paulo**  
Geraldo Alckmin – Governador

**Secretaria de Estado do Meio Ambiente**  
Maurício Brusadin – Secretário

**Instituto de Botânica**  
Luiz Mauro Barbosa – Diretor Geral

Instituto de Botânica

Diretor Geral: Luiz Mauro Barbosa

### **Diretores de Centros**

Pesquisa em Plantas Avasculares: Adriana de Mello Gugliotta, Pesquisa em Plantas Vasculares: Rosângela Simão Bianchini, Pesquisa em Ecologia e Fisiologia: Vívian Tamaki, Pesquisa em Jardim Botânico e Reservas: Domingos Sávio Rodrigues, Administrativo: Osvaldo Avelino de Figueiredo, Comunicações Técnico-Científicas: Elvis José Nunes da Silva

### **Comissão Organizadora da 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica**

Catarina Carvalho Nievola (Presidente), Marília Gaspar Mais (Vice-presidente), Cynthia Fernandes Pinto da Luz, Silvia Ribeiro de Souza, Vanessa Rebouças dos Santos, Márcia Regina Braga, Elvis José Nunes da Silva, Valéria Augusta Garcia, Ivomar Aparecido Medina, Ada André Pinheiro, Regina Maria de Moraes, Tânia Aparecida Amorim Valeriano

### **Comissão Científica da 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica**

Adriana de Mello Gugliotta, Cíntia Kameyama, Lucia Rossi, Marisia Pannia Esposito, Nair Sumie Yokoya, Nelson Augusto dos Santos Junior, Regina Maria de Moraes, Rosângela Simão Bianchini

### **Capa e diagramação**

Elvis José Nunes da Silva  
Nelson Augusto dos Santos Júnior  
Karina Margaret Silva das Neves

ISSN 2238-5088



Instituto de Botânica



**24<sup>ª</sup> RAIBt**  
Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas

# ANAIS

## 24<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO DE BOTÂNICA

### CONTEÚDO

#### RESUMOS EXPANDIDOS

LUZ, C.F.P., SILVA, L.K.M., TORRES, L.M.B. & FIDALGO, A.O. Avaliação palinológica da geoprópolis produzida de janeiro a agosto por <i>Melipona quadrifasciata</i> anthidioides Lepeletier 1836 em Mogi Guaçu, São Paulo .....	8
SIPAVICIUS, B.K.A. & CERATI, T.M. A percepção da morfologia vegetal por estudantes do ensino fundamental .....	12
COUTINHO NETO, A.A. & DIAS, D.L.O. A influência da luz sobre o desenvolvimento de plantas de diferentes regiões dos frutos de <i>Leucena</i> .....	16
CARVALHO, C.P. & NIEVOLA, C.C. Alterações metabólicas relacionadas à exposição inicial ao frio na espécie tropical <i>Nidularium minutum</i> Mez .....	20
GONÇALVES, G.F., SMIDT, E.C. & BARROS, F. Revisão taxonômica e filogenia do gênero <i>Orleanesia</i> Barb.Rodr. (Orchidaceae: Laeliinae) .....	24
CALIXTO, R.R. & ESPOSITO, M.P. Alterações fisiológicas e bioquímicas em mudas de espécies arbóreas nativas mantidas em solo com incremento de nitrogênio e fósforo .....	28
NASCIMENTO, G.M.C., SILVA, P.P.A., NIEVOLA, C.C. & TINÉ, M.A.S. Otimização dos ensaios das enzimas glutamina sintetase e glutamato desidrogenase em <i>Alcantarea imperialis</i> (Carrière) Harms .....	32
GOMES, L.D.L., TAVARES, A.R. & CHU, E.P. Propagação <i>in vitro</i> utilizando órgão espessado subterrâneo: rizóforos de <i>Vernonia cognata</i> .....	36
GOMES, L.D.L. & CHU, E.P. Principais compostos de reserva de sementes <i>Dahlia pinnata</i> em duas fases fenológicas: sementes maduras e sementes germinadas em água .....	39
GARCIA, V.A., CACHENCO, M.V. & BARBEDO, C.J. Maturação de frutos e sementes de jerivá .....	42
GOMES, L.D.L., FERREIRA, M.L., SILVA, K.G., TAVARES, A.R. & KANASHIRO, S. Análises fisiológicas e morfológicas de <i>Alcantarea imperialis</i> e <i>Aechmea fasciata</i> submetidas ao déficit hídrico .....	46
LOPES JUNIOR, W.V., SANTOS, B.R., MURAKAMI, C., GARCIA, A.N., STEIN, E.M., COLEPÍCOLO NETO, P., YOKOYA, N.S. & CARVALHO, L.R. Estudos químicos e das atividades anticolinesterásica e antifúngica de extratos da macroalga <i>Colpomenia sinuosa</i> (Phaeophyceae) .....	50
PEDROSA, G.S. & SOUZA, S.R. Emissão de compostos orgânicos voláteis de folhas de <i>Piptadenia gonoacantha</i> expostas ao ozônio .....	54
LIMA, M.F. & SOUZA, S.R. Análise do perfil dos compostos orgânicos voláteis de folhas de <i>Glycine max.</i> submetidas a diferentes níveis de radiação ultravioleta .....	57
MOLLO, L., MOLLO, I. & NIEVOLA, C.C. Limite de crescimento de plantas jovens de <i>Alcantarea imperialis</i> (Carrière) Harms mantidas sob diferentes potenciais hídricos .....	61

ZABOTTO, A.R., FERREIRA, M.L., TAVARES, A.R. & KANASHIRO, S. Efeito da interação nitrogênio e fósforo no crescimento de <i>Aechmea fasciata</i> (Bromeliaceae) .....	65
MARINHO, D.V., MARCHIORI, N.M. & AIDAR, M.P.M. As estratégias de uso de nitrogênio e sua eficiência na reclassificação de espécies quanto aos seus estágios sucessionais .....	69
OSTI, J.A.S., TUCCI, A. & CAMARGO, A.F.M. Algas epifíticas de rios costeiros com águas pretas e brancas: avaliação espacial e temporal .....	74
OLIVEIRA, M.A.M., OLIVEIRA, A.C., ROSSI, L., CATHARINO, E.L.M. & GOMES, E.P.C. & SANTOS-JUNIOR, N.A. Composição florística do estrato arbóreo de uma floresta baixa de restinga com base no gradiente gerado pelo efeito de borda .....	79
GOMES, I.N., RESENDE, H.C., GONTIJO, L.M., VIEIRA, K.I.C., SIQUEIRA, M.A.L. & ZANUNCIO JÚNIOR, J.S. Agrotóxicos: efeito repelente e possíveis impactos para a espécie ameaçada de extinção <i>Melipona capixaba</i> .....	82
OLIVEIRA, S.A., FERRAGUT, C. & BICUDO, C.E.M. Variação temporal da comunidade fitoplanctônica em cinco reservatórios tropicais (SP, Brasil) .....	86
ANTONIO-DOMINGUES, H., ROSSI, M.L., MARTINELLI, A.P., QUEIROZ, R.T. & LUZ, C.F.P. Ultraescultura e demais caracteres palinológicos auxiliam na taxonomia de <i>Tephrosia</i> Pers. (Leguminosae - Papilionoideae - Millettieae) .....	90
YOSHIKAWA, V.N. & DUARTE, M.C. Espécies de Bombacoideae Burnett. (Malvaceae) endêmicas da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil .....	94
SOUZA, M.R., FRANÇA, V., OLIVEIRA, C.D., STEIN, E.M., GARCIA, A.N., YOKOYA, N.S., COLEPICOLO NETO, P. & CARVALHO, L.R. Atividades biológicas e sesquiterpenos de <i>Dyctiopteris delicatula</i> J.V. Lamouroux (Dictyotaceae-Phaeophyta) ...	98
SILVA, O.L.M., DIAS, P. & CORDEIRO, I. Quem é e onde está <i>Astraea lobata</i> (Euphorbiaceae)?: redelimitação de uma espécie invasora de ampla distribuição phyta) .....	102

## RESUMOS SIMPLES

VISNADI, S.R. Vegetação arbórea densa como refúgio para a brioflora em área urbana: o caso do parque Ibirapuera .....	106
LIMA, M.V.R., PANDO, A.M.S.C. & BARROS, F. Palinotaxonomia de espécies de Canellaceae ocorrentes no Brasil .....	107
BORO, M.C., MARTINS, A.P., COLEPICOLO, P., PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A. Análise quantitativa de ácido docosaenoico em Thraustochytriales do Parque Estadual da Ilha do Cardoso, São Paulo .....	108
MURAKAMI, C., CABRAL, R.S., CORDEIRO, I., LAGO, J.H.G., BOLZANI, V.S., YOUNG, M.C.M. Sesquiterpene lactones and a novel sesterpene from leaves of <i>Hedyosmum brasiliense</i> Mart. ex Miq. (Chloranthaceae) and their antifungal activity .....	109
PEREIRA, L.T. & GUGLIOTTA, A.M. Revisão dos tipos de fungos ciferoides descritos por Rick .....	110
SANTOS, V.L., WANDERLEY, M.G.L., LOUZADA, R.B. & LUZ, C.F.P. Palinologia de algumas espécies de <i>Cryptanthus</i> Otto & Dietr. (Bromeliaceae Juss. Bromelioideae Mez) .....	111
FONSECA, K., COELHO, C.B. & ESTEVES, L.M. Morfologia dos esporos de samambaias e licófitas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo - SP: Família Hymenophyllaceae Mart. ....	112
LUZ, C.F.P., BARROS, M.A., CORDEIRO, J. & DARAOJIMBA, K.C. Palynological and archaeological evidence of land use by the Owu people in Motako, southern Nigeria .....	113
ALONSO, C.R., BARBEDO, C.J., BARBOSA, J.M. & SANTOS JÚNIOR, N.A. Vigor de sementes de <i>Eugenia brasiliensis</i> (Lam.) e <i>E. involucrata</i> (DC.) (Myrtaceae) após armazenamento .....	114
INOCENTE, M.C., GUARDIA, M.C., PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. & BARBEDO, C.J. Germinação de sementes de <i>Eugenia</i> spp (Myrtaceae) sob condições de déficit hídrico .....	115
SANTOS, S.V.A., YOUNG, J.L.M. & TAMAKI, V. Cultivo <i>in vitro</i> e aclimatização de plantas <i>Alcantarea imperialis</i> (Carrière) Harms em diferentes concentrações de nitrato de amônio .....	116
JESUS, A.L. & PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A. First record of <i>Rhizoclostratium globosum</i> for Brazil .....	117

ROCHA, S.C.O. & ZOTTARELLI, C.L.A.P. Registro de espécies do Filo Oomycota (Straminipila) em tanques de cultivo da truta arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum) e seus ovos na cidade de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil .....	118
SANTOS, W.S.D., COELHO, C.B. & ESTEVES, L.M. Morfologia de esporos de Pteridófitas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo - SP.: Família Cyatheaceae .....	119
NIEVOLA, C.C., COSTA, J.P.C., GUARDIA, M.C., SANTOS JÚNIOR, N.A., SUZUKI, R.M., KANASHIRO, S., TAMAKI, V., BAPTISTA, W. & SHIDOMI, Y. Efeito da fenologia e posição de realocação na sobrevivência da bromélia <i>Aechmea distichantha</i> Lem. no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, SP .....	120
SUZUKI, R.M., NIEVOLA, C.C., COSTA, J.P., GUARDIA, M.C., SANTOS JÚNIOR, N.A., KANASHIRO, S., BAPTISTA, W., SHIDOMI, Y. & TAMAKI, V. Realocação de <i>Sauroglossum nitidum</i> (Vell.) Schltr. no Parque Estadual da Cantareira .....	121
TAMAKI, V., MEDINA, I.A., SOUZA, A.B. & SUZUKI, R.M. A possibilidade de uso da bromélia epífita <i>Vriesea carinata</i> Wawra no enriquecimento de áreas recuperadas .....	122
SAKUGAWA, G.C., CORDEIRO, I., PSCHIEDT, A.C. & LUZ, C.F.P. Palinotaxonomia de <i>Microstachys</i> A. Juss. (Euphorbiaceae) .....	123
DELLA, A.P. & FALKENBERG, D.B. Pteridófitas como indicadores ecológicos: uma revisão .....	124
SANTOS, V.R., MEDINA, I.A. & TAMAKI, V. Aumento da longevidade de flores de corte da bromélia <i>Vriesea carinata</i> Wawra com “pulsing” de sacarose .....	125
MOTATO-VÁSQUEZ, V., PIRES, R.M., ALCÂNTARA, A.A., GUGLIOTTA, A.M. Is <i>Beenakia</i> (Gomphales) a monophyletic genus? .....	126
FAUSTINO, S.B., FERREIRA, K.S.M., OLIVEIRA, P.E., BICUDO, C.E.M. & BICUDO, D.C. Comparação da comunidade de diatomáceas dos rios Xingu e Iriri (bacia Amazônica, Brasil): abordagem paleolimnológica topo-base .....	127
JOAQUIM, E.O., HAYASHI, A.H., TORRES, L.M.B., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L., SHIOMI, N., LAGO, J.H.G. & CARVALHO, M.A.M. <i>Gomphrena marginata</i> Seub. (Amaranthaceae): occurrence of levan-type fructans and anatomy of the underground reserve organ .....	128
OLIVEIRA, J.S., CARVALHO, V., MENEZES, F. & NIEVOLA, C.C. Aumento da temperatura dos tecidos da bromélia <i>Acanthostachys strobilacea</i> (Schultz f.) Klotzsch & Otto em condições de falta de água .....	129
NIEVOLA, C.C., COSTA, J.P., GUARDIA, M.C., SANTOS JÚNIOR, N.A., SUZUKI, R.M., KANASHIRO, S., TAMAKI, V., BAPTISTA, W. & SHIDOMI, Y. Efeito da fenologia e posição de realocação da bromélia <i>Wittrockia cyathiformis</i> (Vell.) Leme no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, SP .....	130
LIMA, L.S.D., GUGLIOTTA, A.M., PIRES, R.M. & MOTATO-VÁSQUEZ, V. O gênero <i>Trichaptum</i> (Agaricomycetes, Basidiomycota) na Mata Atlântica do Estado de São Paulo, Brasil .....	131
NIEVOLA, C.C., COSTA, J.P., GUARDIA, M.C., SANTOS JÚNIOR, N.A., SUZUKI, R.M., KANASHIRO, S., TAMAKI, V., BAPTISTA, W. & SHIDOMI, Y. Efeito do tamanho da planta e da adubação no sucesso na realocação de <i>Rhipsalis teres</i> (Vell.) Steud e <i>Rhipsalis puniceo-discus</i> G. Lindb. no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, SP .....	132
COSTA, C.R., LUZ, C.F.P., MEDONÇA FILHO, C.V., HORÁK-TERRA, I., BARRA, U.M., ABREU FILHO, A.P. & SILVA, A.C. Palinologia da turfeira do Rio Preto, Minas Gerais: Reconstituição paleoambiental da Transição Pleistoceno Superior/Holoceno Recente - Resultados preliminares .....	134
JORGE, A.M.V., MOLLO, L. & NIEVOLA, C.C. Bromélia imperial produzida em cultivo pode se assemelhar à do ambiente natural? .....	135
STANSKI, C., KUNIYOSHI, Y.S. & LUZ, C.F.P. Morfologia polínica de espécies de Rubiaceae do estado do Paraná aplicada em estudos paleoecológicos .....	136
FRANCO, S.D. & TORRES, L.M.B. <i>Bidens segetum</i> Mart. ex Colla: Identificação de flavonoides no extrato etanólico de folhas com potencial antioxidante .....	137
COUTINHO NETO, A.A., DIAS, D.L.O., LIMA, A.T., MEDEIROS, A.S. & CARVALHO, E.R. A influência da falta de água sobre a atividade da enzima nitrato redutase em duas espécies de <i>Kalanchoe</i> .....	138
OKINO, L.K., VITALI, V.M.V., FREITAS, R.G., BRAZOLIN, S. & GUGLIOTTA, A.M. Ação dos fungos <i>Ganoderma</i> em sibipirunas utilizadas na arborização do Município de São Paulo .....	140

SILVA, J.H., BARBUGLIO-SANTIAGO, L.O., SANTOS, V.L., KIRIZAWA, M. & LUZ, C.F.P. Palinotaxonomia de espécies de <i>Dioscorea</i> L. (Dioscoreaceae R.Br.) do Rodoanel Mario Covas, São Paulo, Brasil .....	141
ALCÂNTARA, A.A., GOMES, E.P.C., ÂNGELO, M.R. & GUGLIOTTA, A.M. Diversidade de fungos lignícolas (Basidiomycota) de uma área em processo de restauração no município de Mogi-Guaçu, SP, Brasil .....	142
BARBOSA, F.R. & SCABBIA, R.J.A. Levantamento florístico na zona de amortecimento do parque municipal Francisco Affonso de Mello, Mogi das Cruzes, SP .....	143
AMADOR, T.S., TORRES, L.M.B. & BARBEDO, C.J. Regeneração <i>in vitro</i> de sementes de <i>Eugenia pyriformis</i> : ácido gálico e elágico em extratos por HPLC-DAD ....	144
GARCIA, A.N., STEIN, E.M., LOPES JUNIOR, W.V., SOUZA, M.R., YOKOYA, N.S., COLEPICOLO NETO, P. & CARVALHO, L.R. As macroalgas marinhas e os contaminantes emergentes .....	145
BIASOLI, S.M. & GOMES, E.P.C. Acompanhamento fenológico de espécies ameaçadas de extinção no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga-PEFI - São Paulo(2016-2017) .....	146
PIRES, R.M., JESUS, A.L., MOTATO-VÁSQUEZ, V., BORO, M.C., ALCÂNTARA, A.A., GONÇALVES, D.R., SANTOS, F.R., JERÔNIMO, G.H., MORO, L.B., LIMA, L.S., RAMOS, L.A.S. & ROCHA, S.C.O. Summer Course in Mycology: an extension project in biology of fungi and zoosporic organisms .....	147
GUERRA, V. & GOMES, E.P.C. Sucessão Ecológica em Fragmento de Mata Atlântica em São Paulo, Brasil .....	148
NIEVOLA, C.C., COSTA, J.P., GUARDIA, M.C., SANTOS JÚNIOR, N.A., SUZUKI, R.M., KANASHIRO, S., TAMAKI, V., BAPTISTA, W. & SHIDOMI, Y. Realocação da bromélia epífita <i>Vriesea gigantea</i> Gaudich resgatada durante a supressão da vegetação para a construção do Rodoanel Trecho Norte .....	149
CARVALHO, S.Z., BONINI, L.M.M. & SCABBIA, R.J.A. Plantas utilizadas por benzedeiras e rezadeiras de Mogi das Cruzes, SP .....	150
FERNANDES, B.B., SA, A.S., OLIVEIRA, G.C., CORETE, A.A.C., BUCKERIDGE, M.S. & OLIVEIRA, L.A. Análise quantitativa e qualitativa dos carboidratos estruturais e não estruturais da mandioca ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) .....	151
SANTOS-TEIXEIRA, K.C.C., ROMANINI, R.P., WANDERLEY, M.G.L. & LUZ, C.F.P. Morfologia polínica de três populações de <i>Aechmea cylindrata</i> Lindm. (Bromeliaceae) do Sul e Sudeste do Brasil .....	152
MARQUARDT, G.C., COSTA, L.F., BICUDO, D.C., BICUDO, C.E.M., BLANCO, S., WETZEL, C.E. & ECTOR, L. Type analysis of two <i>Achnanthidium</i> species (Bacillariophyta) and description of a new species in Brazilian reservoirs .....	153
DIAS, A.S., TUCCI, A., DAVID, G.S., CARMO, C.F., MERCANTE, C.T.J. & SILVA, R.J. Primeira ocorrência de <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans em um reservatório do Sudeste do Brasil ....	154
FERNANDES, U.G. & KAMEYAMA, C. A família Acanthaceae nos trechos norte e sul do Rodoanel Mário Covas .....	155
URAKAWA, A.H. & SALGADO, I. Interação entre óxido nítrico e metabolismo de nitrogênio na arquitetura de raízes de <i>Arabidopsis thaliana</i> l. ....	156
FERNANDES JÚNIOR, A.J., ESTEVES, G.L. & HAYASHI, A.H. Anatomia das bractéolas do epicálise aplicada à circunscrição genérica de <i>Peltaea</i> (C.Presl) Stand. (Malvaceae, Malvoideae, Malvaceae) .....	157
MACIEL, S., DELLA, A.P. & PIETROBOM, M.R. Plantas vasculares sem sementes do Parque Estadual Monte Alegre, Pará, Brasil .....	158
SANTOS, O.S.L., BRANDÃO, S.E. & RINALDI, M.C.S. Avaliação de espécies arbóreas cultivadas em solo de fragmento urbano de Mata Atlântica com adição de Zn e Ni .....	159
VIEIRA, K.I.C., GOMES, I.N. & RESENDE, H.C. Levantamento da apifauna na Universidade Federal de Viçosa - Campus Florestal - MG. ....	160
BAZI, C.A., ALBUQUERQUE, N.L. & GOMES, E.P.C. Levantamento da entomofauna do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) .....	161

GOMES, E.P.C.	
Efeito de geada sobre o recrutamento e mortalidade de espécies vegetais em uma Floresta Atlântica Urbana .....	162
DELMONDES, K.L., JOAQUIM, E.O., MELO, G.A. & CARVALHO, M.A.M.	
Metabolismo de frutanos em <i>Gomphrena agrestis</i> Mart. (Amaranthaceae) nas épocas de seca e de chuvas ....	163
SANTOS, S.V.A., YOUNG, J.L.M., SOUZA, S.R. & TAMAKI, V.	
Antocianinas em folhas de <i>Alcantarea imperialis</i> (Carrière) Harms cultivadas sob diferentes concentrações de nitrogênio .....	164
COSTA, J.P., LOPES, E.A., ALVES, P.F., SUMIDA, S.S., FORTES, E.P., LORENZINI, G., MAIA, D.F. & GOMES, E.P.C.	
Regeneração natural no sub-bosque de eucaliptal em um fragmento de Mata Atlântica .....	165



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas”

### Avaliação palinológica da geoprópolis produzida de janeiro a agosto por *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepeletier 1836 em Mogi Guaçu, São Paulo

Cynthia Fernandes Pinto da Luz<sup>(1)</sup>, **Luara Kelly Moreira da Silva**<sup>(1)</sup>, Luce Maria Brandão Torres<sup>(2)</sup> & Adriana de Oliveira Fidalgo<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: cyluz@yahoo.com.br

**Resumo:** *Melipona quadrifasciata anthidioides* é uma espécie de abelha indígena sem ferrão (Apidae, Meliponinae) ameaçada de extinção devido, principalmente, a fragmentação de habitats e uso excessivo ou incorreto de agrotóxicos. O objetivo desta pesquisa foi realizar o levantamento indireto das fontes florais nectaríferas e poliníferas, assim como de plantas resinosas, utilizadas por esta espécie de abelha empregando-se a análise palinológica da geoprópolis, em uma área florestal preservada do Estado de São Paulo (Reserva Biológica de Mogi Guaçu), que é cercada por culturas que utilizam agrotóxicos. Uma colônia foi selecionada no local de estudo e as amostras foram coletadas mensalmente de janeiro a agosto, entre 2015 e 2016. A identificação polínica foi comparativa com a Palinoteca do Núcleo de Pesquisa em Palinologia do Instituto de Botânica e com catálogos polínicos. Foram contados 300 grãos de pólen por amostra e calculadas as Frequências Relativas e de Ocorrência de cada tipo polínico. Um total de 75 tipos de pólen, nove tipos de esporos de samambaias, um tipo de esporo de briófitas, um tipo de alga e fungos diversos, foi identificado nas oito amostras de geoprópolis. Os tipos polínicos que ocorreram em todas as amostras foram *Eucalyptus*, Melastomataceae, *Mimosa scabrella*, *Myrcia*, *Pinus* e Poaceae. A busca de néctar e pólen pelas abelhas foi evidenciada pela presença de vários tipos polínicos provenientes dos estoques alimentares e que “contaminaram” a geoprópolis. Foram observados grãos de pólen de plantas produtoras de resina ou óleos como *Alchornea*, *Dalbergia*, *Eucalyptus*, *Garcinia*, *Hyptis*, *Machaerium*, Malpigiaceae, *Pinus*, *Protium*, *Tapirira* e *Vochysia tucanorum*. Comprovou-se que

as abelhas visitaram áreas de cultivo pela presença dos tipos polínicos *Bidens* (niger), *Citrus* (laranja) e *Solanum* (tomate). Estudos bioquímicos serão necessários para a comprovação do uso das resinas das plantas destacadas pela palinologia.

**Palavras-Chave:** certificação fitogeográfica, plantas resinosas, abelhas indígenas, grãos de pólen.

#### INTRODUÇÃO

As relações das abelhas com as flores podem ser reveladas de maneira indireta por meio da Palinologia, que estuda os grãos de pólen presentes nos produtos apícolas, dentre outros elementos figurados como grãos de amido, cinzas, fungos, massa granulosa, etc., servindo para a certificação botânica e da qualidade dos produtos (Barth 1989, Luz 2001, Luz *et al.* 2007).

As abelhas eussociais necessitam realizar a coleta e armazenamento constante de recursos florais e os exploram a partir de diversas fontes vegetais. Assim, uma mesma planta pode receber um espectro grande de visitantes, como é o caso de espécies cujas flores oferecem muito néctar. Porém, nem todo visitante floral realiza a polinização (Alves-dos-Santos *et al.* 2016).

O manejo de abelhas nativas brasileiras, em especial a meliponicultura, pode ser uma atividade econômica sustentável pelo papel das mesmas no sucesso reprodutivo de plantas nativas e cultivadas. Além disso, abelhas em geral se sobressaem não só pela relevância econômica e ecológica enquanto polinizadores, mas também por seus produtos apresentarem propriedades nutricionais e farmacológicas, contendo compostos bioativos com atividade antioxidante que auxiliam na proteção do sistema biológico humano.

Dentre os produtos apícolas que se destacam está a geoprópolis, que é produzida pelas abelhas em qualquer época do ano. É um produto proveniente de exsudações vegetais, tais como resinas e líquidos secretados durante o desenvolvimento inicial de botões foliares e florais. A estas substâncias é adicionada cera produzida pelas abelhas, tornando a mistura moldável (Marcucci 1996, Marcucci 1998, Marcucci & Bankova 1999, Marcucci *et al.* 2001, Teixeira *et al.* 2003, Salatino *et al.* 2005, Salatino *et al.* 2011). A geoprópolis, elaborada pelas abelhas sem ferrão, difere da própolis de *Apis mellifera* L. devido à adição de partículas de argila e areia a essa mistura de resina, e ausência de tricomas vegetais (Barth 1998, Barth *et al.* 1999, Barth & Luz 2003, Barth & Freitas 2015). Por isso, foi acrescentado o prefixo “geo” por Nogueira-Neto (1962) para distingui-las.

Cerca de 5% do peso da geoprópolis é formado por grãos de pólen que participam como “contaminantes” no produto, pois se aderem às resinas quando carregados pelos ventos e também dentro das colmeias, provenientes dos estoques alimentares. Por isso, o espectro polínico da geoprópolis é um excelente indicador fitogeográfico, pois fornece uma imagem da vegetação anemófila e entomófila da área de produção (Barth *et al.* 1999, Barth & Luz 2003).

A geoprópolis é utilizada pelas abelhas indígenas para a proteção da colmeia contra insetos e microorganismos, no reparo de danos, na preparação de locais assépticos para postura da abelha rainha e para embalsamar insetos invasores (Marcucci 1996).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar palinologicamente a geoprópolis produzida pelas abelhas *Melipona quadrifasciata anthidioides* na Reserva Biológica de Mogi Guaçu - Fazenda Campininha, São Paulo, para subsidiar estudos bioquímicos do produto, compreender melhor os mecanismos de coleta dos recursos vegetais resinosos e conhecer a flora melipônica atrativa.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudo

A Reserva Biológica de Mogi Guaçu (Fazenda Campininha), município de Mogi-Guaçu, distrito de Martinho Prado Jr., se localiza entre as coordenadas geográficas 22°10' e 22°18' de latitude sul e 47°08' e 47°11' de longitude oeste, à 180 km da capital. O local de instalação do meliponário tem como coordenadas 22°15'01" S e 47°09'30" W (Figura 1).

**Figura 1.** Localização do meliponário (número 7) na Reserva Biológica de Mogi Guaçu (Fazenda Campininha), áreas no entorno com plantação de laranja pêra (números 8 e 9), bosque de Pau Brasil (número 10) e fontes de água para as abelhas (números de 1 a 6).



A Fazenda Campininha possui cerca de 4.480,17 ha, com remanescentes de vegetação nativa de Cerrado, Floresta Estacional Semidecidual, Mata de Galeria e campos úmidos, entremeadas por áreas de plantio de espécies exóticas como o pinheiro (*Pinus elliottii*, Pinaceae), que se encontra em alta densidade ocupando áreas abertas. Existem também plantios de eucalipto (*Eucalyptus* spp., Myrtaceae) na porção nordeste, onde se localiza uma grande unidade de produção pertencente à International Paper. A principal lavoura de cultivo é a laranja pêra (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck, Rutaceae), principalmente nas porções norte e noroeste (Plano de Manejo da Reserva Biológica e Estação Ecológica de Mogi-Guaçu 2015). Conforme observações pessoais da Dra Adriana O. Fidalgo, além dessas plantações ocorrem também as de niger (*Guizotia abyssinica* (L. f.) Cass, Asteraceae), milho (*Zea mays* ssp. *mays* L., Poaceae), beringela (*Solanum melongena* L., Solanaceae), sorgo (*Sorghum bicolor* L., Poaceae), goiaba (*Psidium guajava* L., Myrtaceae), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) e cana-de açúcar (*Saccharum* spp, Poaceae), além de um bosque experimental de Pau Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Caesalpinaceae).

### Amostragens e tratamentos

A geoprópolis foi coletada mensalmente na colônia selecionada de janeiro a agosto, com a utilização de um formão. Somente a camada superior e visivelmente mais recente de geoprópolis foi retirada para certificar que foi produzida no mês de coleta. Como em alguns meses de 2015 não houve produção de geoprópolis, completou-se a coleta em 2016. As amostras foram acondicionadas

individualmente em frascos plásticos devidamente etiquetados e guardados em freezer a -18°C no Núcleo de Pesquisa em Palinologia (NPP) do Instituto de Botânica.

Depois de descongeladas, foi aplicado o método de Barth (1998), com modificações, com adição de duas pastilhas do esporo marcador *Lycopodium clavatum* para a obtenção dos valores absolutos (concentração) dos grãos de pólen nas amostras (Stockmarr 1971 *apud* Buchmann & O'Rourke 1991, Barth & Dutra 2000). O método consiste na extração de 0,5 gramas de geoprópolis, dissolvendo-a em álcool absoluto, posterior fervura com hidróxido de potássio a 10%, acetólise e uso de agitador ultrassônico para eliminação de fragmentos e sujidades. Nas lâminas de microscopia utilizou-se gelatina glicerinada e parafina.

A identificação dos grãos de pólen foi feita sob microscopia fotônica comparando-se com a Palinoteca do NPP, com base em suas características morfológicas e utilizando-se a denominação “tipo polínico” (Klerk & Joosten 2007). Sempre que possível 300 grãos de pólen foram contados por amostra (Barth 1998).

#### Cálculos das frequências

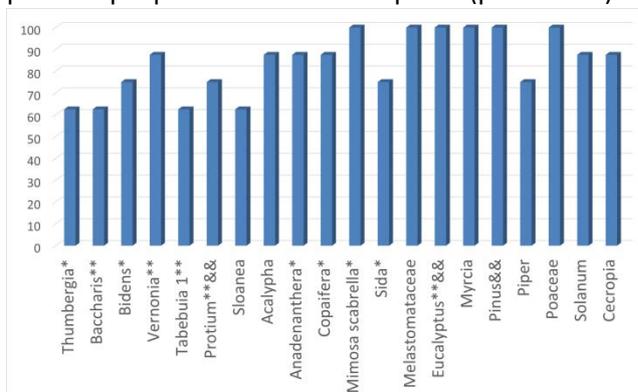
Para classificar a frequência de ocorrência nas amostras foram utilizadas categorias que consideraram a presença ou ausência de um determinado tipo polínico no conjunto das amostras, sendo elas: Rara (<10%), Infrequente (10 a 20%), Frequente (21 a 50%) e Muito Frequente (>50%) (Jones & Bryant 1996).

A estimativa das frequências relativas dos grãos de pólen em cada amostra foi baseada em classes de frequência segundo Louveaux *et al.* 1978, como Pólen Dominante (>45% do total da amostra), Pólen Acessório (16 a 45%), Pólen Isolado Importante (3 a 15%) e Pólen Isolado Ocasional (<3%).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 75 tipos de pólen, nove tipos de esporos de samambaias, um tipo de esporo de briófito, um tipo de alga e fungos diversos, foi identificado nas oito amostras de geoprópolis. A frequência de ocorrência dos grãos de pólen nas amostras demonstrou que *Eucalyptus*, Melastomataceae, *Mimosa scabrella*, *Myrcia*, *Pinus* e Poaceae foram os tipos polínicos classificados como Muito Frequentes e que ocorreram em todas as amostras (figura 2).

**Figura 2.** Frequência de ocorrência dos tipos polínicos Muito Frequentes (>50%) na geoprópolis de *Melipona quadrifasciata anthidioides*. \*nectaríferos, \*\*muito nectaríferos, &&produtoras de resina ou óleos. Os tipos polínicos sem símbolos correspondem aquelas plantas que produzem somente pólen (poliníferas).



Os tipos polínicos caracterizados como Pólen Acessório foram três (tabela 1), sendo o restante posicionado nas classes de Pólen Isolado Importante ou Pólen Isolado Ocasional. Não houve pólen na categoria de Pólen Dominante.

**Tabela 1.** Tipos polínicos observados na classe de frequência Pólen Acessório (16 a 45%) na geoprópolis de *Melipona quadrifasciata anthidioides*.

Tipos polínicos	Classe PA
<i>Eucalyptus</i>	Janeiro, Abril, Maio, Julho e Agosto
Melastomataceae/Combretaceae	Janeiro à Julho
<i>Pinus</i>	Março, Agosto

Vários tipos polínicos provenientes dos estoques alimentares “contaminaram” a geoprópolis comprovando a busca nectarífera e polinífera pelas abelhas em diversas plantas nativas (figura 2).

Foram observados grãos de pólen de plantas produtoras de resina ou óleos como *Alchornea*, *Dalbergia*, *Eucalyptus*, *Garcinia*, *Hyptis*, *Machaerium*, Malpigiaceae, *Pinus*, *Protium*, *Tapirira* e *Vochysia tucanorum*. Estudos em desenvolvimento no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica poderão comprovar se estas foram as fontes da resina, já que, nesse caso, são produzidas nos troncos ou botões foliares e não nas flores e, por isso, os resultados palinológicos são apenas indícios.

Com relação às plantas exóticas e cultivadas, destacaram-se *Eucalyptus* e *Pinus* em todos os meses. *Eucalyptus* é extremamente atrativo para as abelhas já que é muito polinífero e, em alguns meses, muito nectarífero também. Já o pólen de *Pinus* é anemófilo, ou seja, com polinização pelo vento, podendo ter contaminado a geoprópolis pela exposição desta ao ar

nas frestas da colmeia e, não necessariamente pela coleta ativa de seu pólen pelas abelhas. De qualquer forma, são plantas que apresentam resina, e devem ser melhor investigadas como possíveis fontes primárias para a geoprópolis da Fazenda Campininha.

Comprovou-se que as abelhas visitaram áreas de cultivo pulverizadas com ingredientes ativos (IAs) de pesticidas pela presença dos tipos polínicos *Bidens (niger)*, *Citrus* (laranja) e *Solanum* (tomate), contudo, foram em menor quantidade e por tempo limitado.

## CONCLUSÕES

Constatou-se que mesmo em área de mata preservada, onde os recursos nectaríferos e polínicos de plantas nativas estão disponíveis, as abelhas *Melipona quadrifasciata anthidioides* visitaram áreas de cultivo com espécies exóticas. A Palinologia foi útil na caracterização fitogeográfica da geoprópolis dessa espécie de abelha. São necessários estudos bioquímicos para a comprovação do uso pelas abelhas de resinas das plantas destacadas pela palinologia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-dos-Santos, I., Silva, C.I., Pinheiro, M. & Kleinert, A.M.P.** 2016. Quando um visitante floral é um polinizador? *Rodriguésia* 67: 295-307.
- Barth, O.M.** 1989. O Pólen no Mel Brasileiro. Editora Luxor, Rio de Janeiro.
- Barth, O.M.** 1998. Pollen analysis of Brazilian propolis. *Grana* 37:97-101.
- Barth, O.M., Dutra, V.M.L. & Justo, R.L.** 1999. Análise polínica de algumas amostras de própolis do Brasil Meridional. *Ciência Rural* 29: 663-667.
- Barth, O.M. & Dutra, V.M.L.** 2000. Concentração de pólen em amostras de mel de abelhas monofloral do Brasil. *Revista Universidade Guarulhos (Geociências)* 5: 173-176.
- Barth, O.M. & Luz, C.F.P.** 2003. Palynological analysis of Brazilian geoprópolis sediments. *Grana*, 42, 121-127.
- Barth, O.M. & Freitas, A.S.** 2015. Palynology as a tool to distinguish between Propolis and Geopropolis: Southern Brazilian Samples. *Open Access Library Journal*, 2: e2217.
- Buchmann, S.L.O. & Rourke, M.K.** 1991. Importance of pollen grain volumes for calculating bee diets. *Grana* 30: 591-595.
- Jones, G.D. & Bryant, V.M.Jr.** 1996. Melissopalynology. In: Jansonius, J. & McGregor, D.C. (Ed.). *Palynology: principles and applications*, (pp. 933-938). Salt Lake City: American Association of Stratigraphic Palynologists Foundations.
- Klerk, P. & Joosten, H.** 2007. The difference between pollen types and plant taxa: a plea for clarity and scientific freedom. *Eiszeitalter und Gegenwart/Quaternary Science Journal* 56: 162-171.
- Louveaux, J., Maurizio, A., Vorwohl, G.** 1978. Methods of Melissopalynology. *Bee World* 59: 139-157.
- Luz, C.F.P.** 2001. Determinação da origem geográfica e botânica do mel usando a análise palinológica. O apiário. *Revista do Apiário* 160: 14-17.
- Luz, C.F.P., Barth, O.M., Cano, C.B., Guimarães, M.I.T.M., Felsner, M.L., Cruz-Barros, M.A.V. & Correa, A.M.S.** 2007. Origem botânica do mel e derivados apícolas e o controle de qualidade. In: Barbosa, L.M. & Santos Junior, N.A. (Orgs). *A Botânica no Brasil: pesquisa, ensino e políticas ambientais*. Sociedade Botânica Brasileira: São Paulo, p. 1-680.
- Marcucci, M.C.** 1996. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. *Química Nova*, 19: 529-536.
- Marcucci, M.C.** 1998. Controle de qualidade de própolis. *Mensagem Doce*, 48: 18-19.
- Marcucci, M.C. & Bankova, V.** 1999. Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Curr Top Phytochemistry* 2: 115-123.
- Marcucci, M.C., Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Bankova, V., De Castro, S.L., Dantas, A.P., Valente, P.H. & Paulino, N.** 2001. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 74: 105-112.
- Nogueira-Neto, P.** 1962. The scutellum nest structure of *Trigona (Trigona) spinipis* (Fabr.1793) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of New York Entomological Society*, New York, 70: 239-264.
- Plano de Manejo da Reserva Biológica e Estação Ecológica de Mogi-Guaçu- SP.** 2015. Coordenação geral João Del Giudice Neto. Instituto de Botânica/Instituto Florestal. 2 volumes. 658p.
- Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G. & Message, D.** 2005. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2: 33-38.
- Salatino, A., Fernandes-Silva, C.C., Righi, A.A. & Salatino, M.L.F.** 2011. Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Products Reports*, 28: 925-936.
- Teixeira, E.W., Message, D., Meira, R.M.S.A. & Salatino, A.** 2003. Indicadores da origem botânica da própolis, importância e perspectivas. Revisão bibliográfica. *Boletim da Indústria Animal*, 60: 83-106.



# 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

## “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### A percepção da morfologia vegetal por estudantes do ensino fundamental

**Bruno Kestutis de Alvarenga Sipavicius<sup>(1)</sup>** & Tania Maria Cerati<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Educação para Conservação, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [taniacerati@gmail.com](mailto:taniacerati@gmail.com)

**Resumo:** O ensino de Botânica tem sido negligenciado, entretanto, desenhos representacionais são significativos no processo de ensino aprendido, evidenciando o entendimento sobre o tema estudado. Este trabalho tem o objetivo de analisar a percepção que os estudantes de Ensino Fundamental II têm sobre as plantas, utilizando desenhos como ferramenta de análise. Realizado no Jardim Botânico de São Paulo na estufa da Mata Atlântica, participaram deste estudo 38 estudantes, da 5ª e 6ª ano que visitaram a estufa no período de agosto a outubro de 2016. Inicialmente os alunos receberam informações sobre as estruturas morfológicas de raiz, caule, folha, flor, fruto e semente. Em seguida foram estimulados a observar detalhadamente as plantas, escolher a planta mais significativa e realizar um desenho dessa planta justificando a escolha. Toda a atividade foi fotografada para auxiliar na análise que foi baseada em dois critérios: comparação do desenho com a planta real identificando as famílias botânicas; identificação do grau de detalhamento das estruturas morfológicas desenhadas, incluindo forma e cor desenhadas. Os resultados mostram que dos 38 desenhos analisados, 20 pertenciam à família Bromeliaceae, Marantaceae (4), Heliconiaceae (2), Arecaceae (2), Araceae (2), Dicksoniaceae (2), Begoniaceae (1), Cannaceae (1), Orchidaceae (1), Cyatheaceae (1) Zingiberaceae com Oxalidaceae e Costaceae (1). A estrutura morfológica mais percebida foi a folha, presente em 34 desenhos. A riqueza de detalhes incluía forma do limbo, filotaxia, e coloração bem próxima do real. Detalhes de inflorescência e caule também foram observados. Portanto, o desenho é uma ferramenta metodológica que auxilia a motivar os alunos explorar e compreender a morfologia vegetal,

sendo um estímulo ao tradicional de ensino, contribuindo para diminuir a cegueira botânica.

**Palavras-Chave:** ensino de Botânica, análise de desenho, famílias botânicas, folhas.

#### INTRODUÇÃO

A crise ecológica é, acima de tudo, uma crise de educação e a biofilia, que é a afinidade com o mundo natural, deve ser estimulada (Orr 1998). A educação em espaços naturais como jardins botânicos é importante para desenvolver a biofilia e consequentemente diminuir a cegueira botânica, definida por Wandersee & Schussler (2001) como a falta de capacidade de perceber as plantas e reconhecer sua importância ecológica e estética.

Em todos os níveis de ensino a botânica é difícil de ser compreendida. Para Macedo *et al.* (2012), essa complexidade se concentra na fisiologia vegetal, principalmente a fotossíntese, sistemática e taxonomia, bem como a grande quantidade de vocabulário específico por aula e a complexidade dos ciclos sexuais e assexuais das plantas. Um modo de deixá-la mais interessante é pelo uso do desenho, que é uma metodologia ativa construtivista de aprendizado.

O desenho é usado como ferramenta científica e é independente da linguagem e demanda observação, atenção e lembrança do que é visualizado. Para Reiss & Tunnicliffe (2001), desenhos devem ser usados de modo especial em estudos comparativos. Neste sentido, é apropriado o uso do desenho como instrumento escolhido a fim de evidenciar o ponto de vista particular do entendimento de cada estudante sobre o tema estudado.

Segundo Ainsworth *et al.* (2011), o desenho no ensino de ciências tem função investigativa e comunicativa, bem como motivadora, portanto, é uma ferramenta metodológica possível de explorar, coordenar, compreender e justificar em ciência, incentivando o modo tradicional de ensino.

Portanto este trabalho tem dois principais objetivos: a identificação das famílias botânicas que chamaram atenção dos estudantes e quais as estruturas morfológicas mais percebidas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado na Estufa da Mata Atlântica do Jardim Botânico de São Paulo, nos meses de agosto e outubro de 2016. Participaram da pesquisa 38 estudantes do Ensino Fundamental II (5º e 6º ano) que visitaram o jardim e seus professores aceitaram participar da pesquisa. Inicialmente, o monitor realizou uma conversa abordando morfologia vegetal externa de raiz, caule, folha, flor, fruto e semente e a função geral de cada estrutura. Em seguida os estudantes foram convidados a visitar a Estufa, escolher a planta que mais chamou a atenção, desenhá-la e escrever uma justificativa da escolha. Foram distribuídos pranchetas com folhas de papel, lápis de cor e borracha. Toda a atividade foi fotografada para posteriormente auxiliar na identificação do espécime desenhado.

Para análise dos dados, primeiramente os desenhos foram divididos em famílias botânicas, a seguir foram comparados com as plantas reais. Foi utilizado como critério analítico 'grau de detalhamento', desenvolvido pelos autores da pesquisa, no qual há pontuação positiva (1) ou neutra (0) dependendo do maior ou menor detalhamento das estruturas morfológicas desenhadas. As justificativas foram agrupadas em morfologia e beleza estética.

### RESULTADOS

A família Bromeliaceae foi a mais observada e apareceu em 20 desenhos, sendo *Quesnelia arvensis* a espécie mais representada com 9 desenhos. Em seguida a família Marantaceae com 4 desenhos e Heliconiaceae, Araceae, Arecaceae, Dicksonaceae apareceram em 2 desenhos cada. As famílias Begoniaceae, Cannaceae, Orchidaceae, Costaceae, Cyatheaceae e Zingiberaceae com Oxalidaceae apareceram em 1 desenho cada. Tais estão presentes na Tabela 1 abaixo.

Família	Quantidade	Porcentagem
Bromeliaceae	20	52,6
Marantaceae	4	10,5
Araceae	2	5,2
Arecaceae	2	5,2
<u>Heliconiaceae</u>	2	5,2
<u>Dicksoniaceae</u>	2	5,2
Begoniaceae	1	2,6
Cannaceae	1	2,6
Orchidaceae	1	2,6
Costaceae	1	2,6
Cyatheaceae	1	2,6
<u>Zingiberaceae</u> com	1	2,6
Oxalidaceae		

38 desenhos representaram a planta com toda a parte aérea, isto é, a parte visível para o estudante. A estrutura morfológica mais presente foi a folha, 34 desenhos [89%], que apresentaram grau de detalhamento elevado, mostrando formatos e bordas bem definidos e detalhados, além da percepção das nuances de cores nas folhas variegadas especialmente das famílias Bromeliaceae e Marantaceae. Com relação às bromélias o formato da planta em roseta chama a atenção que bordas de folhas são bem percebidas pelos estudantes que evidenciam os espinhos e serrilhados nos desenhos. Parece que a observação da morfologia das folhas. Estruturas relacionadas às flores, como inflorescência ou a flor isolada, apareceram em 15 desenhos [39,4%], sendo que a maioria não foi desenhada isoladamente e sim associada ao pecíolo ou escapo, mostrando que essas estruturas quando presentes despertam a atenção dos estudantes. O caule foi uma estrutura representada em 3 desenhos [7,8%] das famílias Arecaceae (2) e Araceae (1), pois a maioria das plantas da estufa são herbáceas rizomatosas.

Identificamos que as plantas apresentadas na estufa exibem padrões diferentes daquelas que os estudantes estão acostumados a ver no seu cotidiano. Isso porque bromélias, heliconias e marantas, apesar de amplamente usadas no paisagismo, são ainda desconhecidas no cotidiano dos estudantes. Logo ao observar o formato dessas plantas (especialmente as bromélias), a coloração chamativa, os espinhos nas folhas e o porte a atenção é despertada. Destacamos que um desenho continha duas famílias formando uma única planta e nos leva a inferir que provavelmente, a inabilidade em observar aliado distanciamento e desconhecimento sobre plantas, fez o aluno não individualizá-las.

**Tabela 1.** Famílias botânicas desenhadas

Com relação às justificativas apresentadas por escrito pelos estudantes sobre a escolha da planta desenhada, verificamos que a escolha se deu sobre dois aspectos: a morfologia apresentada pela planta e a beleza.

Quanto a morfologia as cores das plantas [22,6%], a forma diferente [11,3%], formato [7,5%], são justificativas apresentadas pelos estudantes, como nos exemplos a seguir: “eu escolhi esta planta por causa das cores e de seu formato”; “eu gostei desta planta, pois suas folhas são bem finas”; “gostei desta planta, pois ela tem formas diferentes e é muito bonita”; “pela forma fina das folhas; “por parecer espinho”; “eu escolhi essa flor por causa que ela é pequena e delicada, roxa e diferente e as folhas também”. A beleza das plantas foi justificativa para a escolha como nas respostas: “porque ela é bonita”, “Escolhi esta planta, pois me chamou atenção e achei bonita”. As informações veiculadas durante a atividade, além de trazer um novo conhecimento, também foram importantes para a escolha da planta para desenhar “eu escolhi esta planta porque eu achei ela muito interessante e eu descobri que ela é parente da banana”. Percebemos ainda, que alguns estudantes já possuem afinidade com plantas, como na justificativa “eu escolhi a orquídea porque ela se destacou entre as outras flores, e eu sempre gostei de orquídeas”.

## DISCUSSÃO

O estudo nos mostra que as famílias Bromeliaceae, Heliconiaceae e Marantaceae despertam a curiosidade dos estudantes pela própria morfologia de suas folhas, inflorescências e flores, além da coloração peculiar das espécies expostas na estufa do jardim botânico. Os estudantes conseguem perceber e desenhar as estruturas morfológicas das plantas que mais despertaram sua atenção. Portanto acreditamos que essas plantas, assim como visitas a espaços naturais como estratégia para o ensino de botânica devem ser exploradas pelos professores. Com relação ao desenho como ferramenta para o ensino de Botânica este estudo nos mostra que desperta a curiosidade e o encantamento dos estudantes pelos vegetais; estimula a observação (habilidade pouco desenvolvida entre os estudantes), a ordenação das estruturas observadas e a compreensão da morfologia vegetal; facilita e dinamizar o entendimento dos

conceitos de botânica.

## CONCLUSÃO

O ensino em um ambiente natural desperta a curiosidade e atenção dos estudantes para temas que, em sala de aula, são teóricos. Em jardins botânicos há uma profusão de formatos, tipos e cores de plantas que são diferentes de tudo o que o estudante está habituado a ver. Essas plantas estão contextualizadas em um ambiente que favorece a observação e o entendimento das estruturas morfológicas e, também, as relações delas com o ambiente. Assim, abordar tópicos de botânica em ambientes naturais como uma estratégia didática para um ensino contextualizado, traz um caráter inovador e diferenciado de ensinar, favorecendo o processo de ensino e aprendizagem. Essas estratégias minimizam as dificuldades recorrentes no relatadas nessa área. Ao captar a atenção dos estudantes para as estruturas morfológicas que precisam ser compreendidas o desenho é uma forma de comunicação em que o objeto representado, aliado à mediação, ganha significado e promove reflexões sobre o tema. As plantas desenhadas são de regiões tropicais, especialmente Mata Atlântica, que raramente são utilizadas como recurso didático. O desenho ajuda a individualizar cada planta observada e a planta como um todo, e, assim, compreender a diversidade vegetal. A elaboração de desenhos como estratégia para o ensino de botânica, estimula a observação das estruturas morfológicas, aproxima o estudante do mundo vegetal contribuindo para a diminuição da cegueira botânica, amplia a biofilia e contribui para o estabelecer relações mais significativas entre a botânica e cotidiano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainsworth, S. & Prain, V. 2011. Drawing to Learn in Science. *Science Education* 333: 1096-1097.
- Cerati, T.M. & Lazarini, R.A.A. 2009. A pesquisa-ação em educação ambiental: uma experiência no entorno de unidade de conservação urbana. *Ciência educ.* 15,n. 2.
- Kinoshita, L.S, Torres, R.B, Tamashiro, J.Y. & Forni-Martins, E.R. 2006. A Botânica no ensino básico: relatos de uma experiência transformadora. *RiMa*, São Carlos. 162p.
- Katon, G.F., Towata, N., & Saito, L.C. 2012. A Cegueira Botânica e o Uso de Estratégias para o Ensino de Botânica. In: Alejandra Matiz Lopez (org.) *Botânica no Inverno*. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 202 p.
- Machado, C.C. & Amaral, M.B. 2015. Memórias Ilustradas: aproximações entre formação docente, imagens e

personagens botânicos. *Revista de Educação em Ciência e Tecnologia* 8: 7-20.

**Orr, D.W.** 1989. Ecological literacy. *Conservation Biology* 3: 334-335.

**Quillin, K. & Thomas, S.** 2015. Drawing to learn: a framework for using drawings to promote model-based reasoning in Biology. USA-Georgia: CBE- Life.

**Reiss, M. & Tunnicliffe, S.D.** 2001 Students' understandings of human organs and organ

systems. *Research in Science Education* 31: 383-399.

**Rennie, L.J. & Williams, G.F.** 2002. Science centers and scientific literacy: promoting a relationship with science. *Science Education* 86: 706-726.

**Roberts, D.A.** 2007. Scientific literacy/Science literacy. In: Abell, S.K. & Lederman, N.G. *Handbook of Research in Science Teaching and Learning*. New York: McMillan.

**Wandersee, J. & Schussler, E.** 2001. Toward a theory of plant blindness. *Plant Science Bulletin* 47: 2-9.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

## A influência da luz sobre o desenvolvimento de plantas de diferentes regiões dos frutos de *Leucaena*

**Antônio Azeredo Coutinho Neto<sup>(1)</sup>**, Dêvisson Luan Oliveira Dias <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Botânica do Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, SP. E-mail para contato: antonioacneto@biologo.bio.br

**Resumo:** A espécie *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit pertence à família Leguminosae, de porte arbustivo ou arbóreo. Essa espécie apresenta frutos do tipo vagem com diversas sementes distribuídas ao longo do fruto. As sementes nesta espécie se configuram a principal maneira de reprodução. A germinação no ambiente das sementes pode ser influenciada por diversas condições ambientais, como por exemplo, a temperatura e a luz. Entretanto pouco se sabe sobre a influência que as diferentes qualidades de luz podem exercer sobre o processo de germinação de sementes e ou desenvolvimento da espécie *Leucaena leucocephala*. Uma espécie com interesse ambiental de recuperação de solo e uso em alguns locais como forragem animal. Com o intuito de elucidar sobre os efeitos da luz sobre o processo germinativo e de desenvolvimento das plantas jovens de *Leucaena*, foi proposto analisar o crescimento e desenvolvimento de sementes de *Leucaena leucocephala* oriundas de diferentes regiões do fruto, quando submetidas a diferentes qualidades luminosas (luz branca, escuro, vermelho e azul). As sementes foram germinadas e as plantas cresceram em placas de petri nas diferentes qualidades luminosas por 15 dias. Inferiu-se a porcentagem germinativa, o teor de clorofilas totais e o rendimento quântico efetivo do fotossistema II. Nos nossos resultados observa-se que a porcentagem de germinação é influenciada pela qualidade de luz. A germinação em todas as condições luminosas, ocorre apenas nas sementes oriundas do ápice. Os resultados para clorofilas e YII observam-se respostas semelhantes, encontram-se menores médias para o ápice e maiores para a mediana e base, essas últimas iguais entre si. Conclui-se que sementes posicionadas no ápice dos frutos apresentam maior germinação em diferentes condições de luz quanto aquelas na mediana e base. Porém plantas

oriundas da mediana ou da base dos frutos se desenvolvem melhor do que do ápice na condição luminosa do claro.

**Palavras-Chave:** qualidade luminosa, sementes, posição no fruto.

### INTRODUÇÃO

A espécie *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit pertence à família Leguminosae. Dita como possivelmente originária do México e norte da América Central (Mitidieri 1983). É uma planta popularmente conhecida como *Leucaena*, de porte arbustivo ou arbóreo, perene, com frutos do tipo vagem com diversas sementes. A principal maneira de reprodução da espécie é através de sementes. Já que de acordo com Bogdan (1977) a propagação assexuada apresenta algumas dificuldades.

Essa espécie pode se instalar em ambientes com solos degradados e sem cobertura vegetal. A falta de uma cobertura vegetal, implica em uma maior luminosidade e temperatura. Tanto a temperatura quanto a luz são fatores decisivos na germinação e desenvolvimento das plantas (Taiz e Zeiger 2013). Já foi relatado diversas vezes que a luz pode ser um fator limitante para de determinadas espécies (Randi & Felipe 1981).

Sabe-se para espécie *Phyllanthus tenellus* que o conteúdo do pigmento fotossintético clorofilas, o qual é associado com a interceptação e uso da luz, é aumentado na presença de luz azul com relação à luz da qualidade vermelho ou no claro em que há todos os comprimentos de luz (Victório *et al.* 2007). Também se sabe que o rendimento efetivo (YII) do fotossistema que as clorofilas estão associadas mudam de acordo com diversos fatores. Um exemplo dessa mudança, observou-se de forma negativa ao comparar folhas com a presença ou sem a presença de parasitismo (galha) (Dias & Coutinho Neto 2016).

Visto que a espécie *Leucaena leucocephala* vêm sendo proposta como uma planta que poderia ser implementada em regiões para restauração de solos degradados. Assim como propõe-se o uso como forragem para animais em ambientes com escassez de plantas para alimentação da pecuária (Lima 1982; De Araujo *et al.* 2006; Da Costa e Durigan 2010). Entretanto pouco se sabe sobre o processo germinativo das sementes dessa espécie com relação aos fatores endógenos e exógenos.

Este trabalho teve como enfoque analisar o crescimento e desenvolvimento de sementes de *Leucaena leucocephala* oriundas de diferentes regiões do fruto, quando submetidas a diferentes qualidades luminosas (luz branca, escuro, vermelho e azul).

## MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos do tipo vagem da espécie *Leucaena leucocephala* foram coletados e separados em três regiões (ápice, mediana e base). As sementes foram então coletadas de cada uma das regiões e germinadas em placas de petri.

Utilizou-se três placas para cada uma das regiões e cada uma delas continham 5 sementes. As placas foram mantidas por 15 dias em diferentes qualidades luminosas que foram controle (luz branca  $80 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), escuro, vermelho e azul. O processo de quebra da dormência das sementes foi realizado com imersão em água destilada por 24 horas.

A análise de clorofilas totais foi determinada através do método de Porra *et al.*, (1989) com modificações de acordo com Wellburn (1994) e Minocha *et al.*, (2009). A partir de 10 mg de massa fresca em microtubos e adicionou-se 1 ml de N, N Dimetilformamida – DMF. Esses microtubos permaneceram à  $4^\circ\text{C}$  por 24 horas no escuro. O extrato com DMF de cada replicata foi centrifugado por 10 minutos à 13000 rpm e realizou-se as leituras 664, 647 e 480 nm em espectrofotômetro. Calculou-se os teores de clorofilas *a*, *b*, para calcular o teor de clorofilas totais de acordo com as seguintes fórmulas:

Clorofila *a*

$$Ca = [(12 \times A_{664}) - (3,11 \times A_{647})]$$

Clorofila *b*

$$Cb = [(20,78 \times A_{647}) - (4,88 \times A_{664})]$$

Clorofila total

$$C_{\text{total}} = Ca + Cb$$

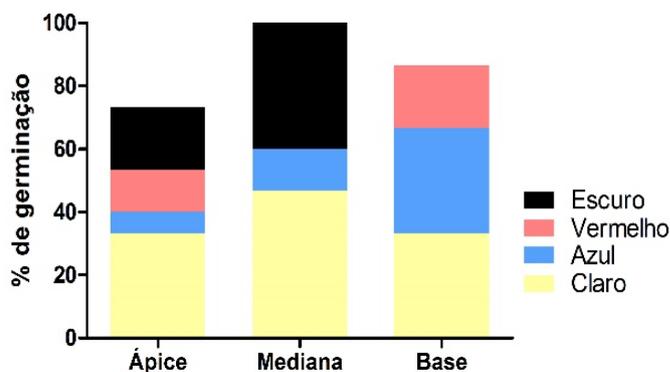
Também foram coletadas as folhas cotiledonares para as análises com fluorímetro de imagem (CF imager) após 1 hora que as luz das câmaras de crescimento ascenderam. Estas permaneceram durante 30 minutos no escuro, após este período as folhas foram submetidas à um pulso com cerca de  $6000 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de luz azul por três segundos e em seguida aplicou-se dois minutos de luz actínica  $80 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Gerou-se os dados de rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y (II)) calculado a partir do  $(\Delta F/F_m')$ .

### Análise estatística

A análise estatística dos resultados contou com a análise de variância multifatorial (ANOVA) e a comparação das médias de amostras diferentes, as quais passaram pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) (Shalabh 2009), utilizou-se o programa estatístico R (Oksanen *et al.* 2013; R core Team 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como já mencionado por Nassif *et al.* (1998) a luz é um dos fatores ambientais que influenciam na germinação das sementes e desenvolvimento das plantas. No nosso trabalho também constatou que a porcentagem de germinação é influenciada pela luz, especificamente pelas diferentes qualidades ou ausência da luz. A germinação em todas as condições luminosas somente ocorreu nas sementes oriundas da porção do ápice dos frutos (figura 1).

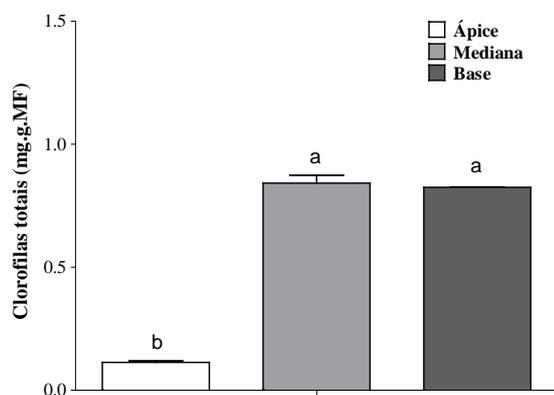


**Figura 1.** Porcentagem de germinação relacionado a região do fruto em cada uma das qualidades luminosas. Número amostral de 15 sementes por região (ápice, mediana ou base).

Quando comparamos somente a germinação na presença de luz, observou-se que a maior porcentagem de germinação ocorre em sementes providas da mediana dos frutos (figura 1). Já que na região do ápice e na base desses frutos as sementes costumam ser mais predadas ou ainda seriam mais novas (ápice) ou mais velhas (base), do que as

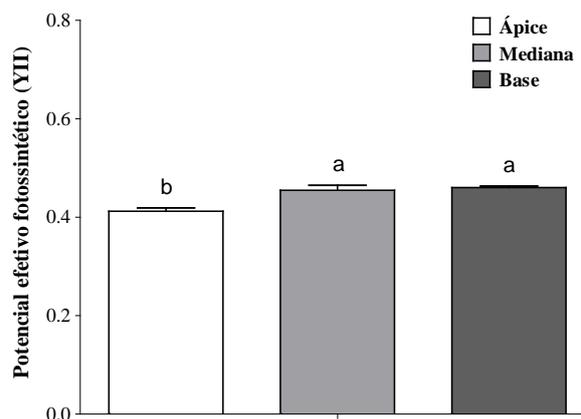
sementes de uma região intermediária (mediana), que seriam mais protegidas e teriam mais chances de germinarem e se desenvolverem, além do fato de terem uma condição intermediária de maturação.

As sementes que originaram as plantas amostradas do ápice dos frutos apresentaram menores teores de clorofilas totais que aquelas da mediana e da base (figura 2). Sugere-se que sementes da base e da mediana estariam mais próximas do pedúnculo do fruto e por esse motivo estariam de alguma maneira mais preparadas para a germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas. Em frutos de *Pitaya vermelha* Lima *et al.* (2006) encontraram maior teor de sólidos solúveis totais na posição da mediana que nas outras posições estudadas, demonstrando talvez uma maior competência para as sementes dessa região.



**Figura 2.** Teor de clorofilas totais em folhas dos cotilédones das três regiões (ápice, mediana e base) na condição luminosa do claro. Número amostral de 3.

O resultado do potencial efetivo do fotossistema II acompanhou a mesma tendência encontrada nos resultados de clorofilas totais. Isso corrobora o fato de que um menor teor de clorofilas propiciaria uma menor efetividade de funcionamento do fotossistema II.



**Figura 3.** Capacidade efetiva da fotossíntese das folhas de sementes das três regiões do fruto, na condição luminosa do claro. Número amostral de 3.

Quando analisadas folhas jovens e maduras de *Vochysia cinnamomea* Paula *et al.* (2015) encontraram menores valores de rendimento quântico efetivo em folhas jovens e jovens de rebrota após a queimada com relação as folhas maduras às 09h até as 10h. Os autores também discutiram sobre a idade fisiológica das folhas relacionado ao conteúdo de clorofilas associado ao fotossistema II, assim como encontramos no presente estudo.

## CONCLUSÕES

As sementes posicionadas no ápice dos frutos apresentam maior beneficiamento na germinação em diferentes condições de luz quanto aquelas na mediana e base.

Entretanto plantas oriundas da germinação de sementes posicionadas na mediana ou base dos frutos se desenvolveriam melhor no ambiente na condição luminosa do claro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bogdan, A. V.** 1977. Tropical pasture and fooder plants. Longman, New York.
- Da Costa, J. N. M. N. & Durigan, G.** 2010. *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (Fabacea): Invasora ou ruderal? *Revista Árvore*, Viçosa, 34(5): 825-833.
- De Araújo, G. G. L., De Albuquerque, S. G. & Guimarães Filho, C.** 2000. Opcoes no uso de forrageiras arbustivo-arboreas na alimentacao animal no semi-arido do Nordeste. *In: Anais do Simpósio internacional sistemas agroflorestais pecuarios na América do Sul*, Juiz de Fora. Embrapa Gado de Leite/FAO. CD-ROM.
- Dias, D. L. O. & Coutinho Neto, A. A.** 2016. Consequências no transporte de elétrons nas folhas com galhas de *Miconia lingustroides* (D.C.) Naudin (Melastomataceae). *In: Anais do II Simpósio de microbiologia agrícola da ESLAQ*, Piracicaba.

- Lima, P. C. F.** 1982. Comportamento de leucena comparado com algarroba e eucalyptus em Petrolina (PE), região semi-árida do Brasil, PR, Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Lima, C. A., Junqueira, K.P., Germendorff, A. L., Nascimento, A. H. C., Souza, L. S., Junqueira, N.T.V., Faleiro, F. G., Braga, M. F., Silva, D. G. P. & Rezende, L. N.** 2006. Variações nas características químicas em diferentes posições no fruto de pitaya vermelha. *In: Anais do Encontro de jovens talentos da embrapa cerrados, Planaltina, Embrapa Cerrados*, pp. 73.
- Minocha, R., Martinez, G., Lyons, B. & Long, S.** 2009. Development of a standardized methodology for quantifying total chlorophyll and carotenoids from foliage of hardwood and conifer tree species. *Canadian journal of forest research*, 39: 849-861.
- Mitidieri, J.** 1983. Manual de gramíneas e leguminosas para pastos tropicais. Nobel, São Paulo.
- Nassif, S. M. L., Vieira, I. G. & Fernandes, G. D.** 1998. Fatores Externos (ambientais) que Influenciam na Germinação de Sementes. Piracicaba: IPEF/LCF/ESALQ/USP, Informativo Sementes IPEF, Abr. <http://www.ipef.br/sementes/> (acesso em: 19.09.2017).
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H. & Wagner, H.** 2013. Vegan: community ecology package. R package version 2.0-9. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan> (Acesso em: 19.09.2017).
- Paula, S. M., Naves, E. R., Franco, I. M., Padua, K. J. M., Silva, K. R., Fernandes, W. P., Oliveira, D. C. de, Lemos-Filho, J. P. de & Moreira, A. S. F. P.** 2015. Desempenho fotossintético de folhas jovens e maduras de *Vochysia cinnamomea* (Vochysiaceae) em áreas de cerrado rupestre intactas e pós-queimada. *Bioscience Journal*, 31(2): 591-600.
- Porra, R. J., Thompson, W. A. & Kriedemann, P. E.** 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 975: 384-394.
- Randi, A. M. & Felipe, G. M.** 1981. Efeito de temperatura, luz e reguladores de crescimento na germinação de *S. rebaudiana* Bert. *Ciencia e cultura-Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia*, 33: 404-411.
- R Core Team.** 2014. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>. (Acesso em: 19.09.2017).
- Shalabh, H. T.** 2009. Statistical Analysis of Designed Experiments. **Springer Texts in Statistics**. Springer, 3° ed, New York.
- Taiz, L & Zeiger, E.** 2013. Fisiologia Vegetal. 5. ed. Artmed, Porto Alegre.
- Victório, C. P., Kuster & R. M. Lage, C. L. S.** 2007. Qualidade de Luz e Produção de Pigmentos Fotossintéticos em Plantas In Vitro de *Phyllanthus tenellus* Roxb. *Revista Brasileira de Bociências*, 5: 213-215.
- Wellburn, A. R.** 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144:307-313.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

## Alterações metabólicas relacionadas à exposição inicial ao frio na espécie tropical *Nidularium minutum* Mez

**Camila Pereira Carvalho**<sup>(1)</sup> & Catarina Carvalho Nievola<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, SP. E-mail para contato: [camilapc\\_bio@yahoo.com.br](mailto:camilapc_bio@yahoo.com.br)

**Resumo:** Episódios de frio súbito ocorrem nos trópicos, indicando tolerância ao resfriamento em plantas nativas desse ambiente. Entretanto, a exposição inicial ao frio pode envolver danos às plantas. Estudos com a bromélia *Nidularium minutum*, endêmica da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, São Paulo, mostraram tolerância ao frio, pois essa espécie sobrevive a 10 °C constantes, dia/noite, por seis meses. Existem poucos trabalhos relacionados com o início da capacidade de tolerar o frio em espécies tropicais. O objetivo desse trabalho é verificar as respostas de ajustes metabólicos em dias após o início do resfriamento e que levam à aquisição de tolerância. Plantas de *N. minutum* foram transferidas para câmaras de crescimento a 10 e 25 °C por 10 e 15 dias. Uma redução no crescimento foi observada após 15 dias a 10 °C. O conteúdo dos pigmentos fotossintéticos foi menor nas plantas a 10 °C em comparação com aquelas a 25 °C. A concentração de lipoperóxidos foi maior nas plantas resfriadas por 10 dias, indicando que o frio possa ter levado a danos nas membranas. As taxas de  $F_v/F_m$  foram menores nas plantas mantidas no frio, o que pode estar relacionado com a menor concentração de pigmentos fotossintéticos. As enzimas antioxidantes apresentaram níveis reduzidos nas plantas cultivadas a 10 °C após 10 e 15 dias, com exceção da glutatona redutase (GR). O acúmulo de açúcares totais e redutores foi maior nas plantas crescidas a 10 °C do que a 25 °C em ambos os períodos, o que pode ter contribuído para o controle osmótico durante o frio. Esses resultados mostram que ocorrem alterações metabólicas em dias após o resfriamento, com as respostas de danos mais intensas aos 10 dias, sendo que a GR e o acúmulo de açúcares podem estar relacionados com a tolerância dessa espécie ao resfriamento súbito.

**Palavras-Chave:** Açúcares solúveis, enzimas antioxidantes, pigmentos fotossintéticos e resfriamento.

### INTRODUÇÃO

Em condições naturais, o estresse mais comum ao qual a planta está sujeita é o estresse térmico, sendo que a exposição ao frio é um dos principais estresses que influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas. O termo frio ou resfriamento está relacionado com a exposição das plantas a temperaturas baixas, porém acima de 0 °C (Puyaubert & Baudouin 2014).

Em regiões tropicais as plantas podem sofrer injúrias em temperaturas menores do que 10 °C (Rao 2004). Entretanto, períodos de frio súbito podem ocorrer em regiões tropicais (Mailler & Lott, 2015), e essas mudanças bruscas são particularmente prejudiciais em espécies com longo tempo de vida ou seres sésseis, como é o caso dos vegetais. No entanto, foi verificada a tolerância ao frio na bromélia *Nidularium minutum* Mez. O fato dessa espécie ser nativa da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, no estado de São Paulo, uma região que apresenta períodos de frio, com temperaturas médias de 14 °C no inverno e com mínimas registradas de 1,6 °C (Gutjahr & Tavares 2009), indicam sua provável adaptação ao frio. No entanto, estudos anteriores mostraram que esta bromélia sobrevive quando exposta a 10 °C constantes por seis meses, o que ultrapassa o período da estação fria do ambiente tropical (Carvalho *et al.* 2013). É possível supor que a aquisição de tolerância ocorra rapidamente, logo nos primeiros dias, de modo a propiciar ajustes metabólicos para minimizar os danos ocasionados nas membranas celulares devido ao efeito do resfriamento e resultar na sobrevivência dessa bromélia. Poucos são os trabalhos que mostram quando a capacidade de tolerar o frio é iniciada em espécies tropicais. Dessa forma, avaliações de

parâmetros que são alterados pelo frio, como danos de membrana e sistema antioxidante (Mai *et al.* 2009), se tornam relevantes na compreensão deste mecanismo.

O objetivo desse trabalho foi verificar o que ocorre em relação às respostas de ajustes metabólicos em dias após o início do período de frio e que levam à aquisição de tolerância.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes da bromélia *Nidularium minutum* Mez foram colocadas em placa de Petri com papel filtro umedecido e mantidas em sala de cultura a  $25 \pm 2$  °C, fluxo de densidade fotossintética de  $45 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoper\u00edodo de 12 h. Ap\u00f3s um m\u00eas, as plantas foram transferidas para bandejas de pl\u00e1stico com substrato de casca de *Pinus* e ap\u00f3s cinco meses um lote de plantas foi transferido para c\u00e2maras de crescimento do tipo BOD ajustadas para 10 °C e outro lote para 25 °C, mantendo a irradi\u00e2ncia e o fotoper\u00edodo como descritos acima. As plantas permaneceram nessas temperaturas por 10 e 15 dias. Triplicatas contendo cinco plantas cada foram congeladas em N<sub>2</sub>, armazenadas em -80 °C e utilizadas nas an\u00e1lises metab\u00f3licas.

### Par\u00e2metros de crescimento

Foi realizada a biometria e a determina\u00e7\u00e3o da massa fresca e seca de 20 plantas ap\u00f3s mantidas a 10 e 25 °C por 15 dias.

### Pigmentos fotossint\u00e9ticos

A metodologia de extra\u00e7\u00e3o e an\u00e1lise foi de acordo com Munn\u00e9-Bosch & Lalueza (2007) e Lichtenthaler & Buschmann (2001).

### Lipoper\u00f3xidos (LPO)

Esta an\u00e1lise seguiu a metodologia de Jiang *et al.* (1991), sendo que a extra\u00e7\u00e3o foi realizada em etanol 80%.

### Medida da fluoresc\u00eancia da clorofila

Para esta medida foi utilizado um fluor\u00f4metro modulado port\u00e1til (Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer-OS5p, Opti-Sciences®, Hudson-USA). Antes das medidas, as folhas foram adaptadas ao escuro por 30 min com um clipe foliar. A varia\u00e7\u00e3o da efici\u00eancia qu\u00e2ntica do fotossistema II foi expressa como  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ . A an\u00e1lise foi realizada em cinco plantas de cada temperatura.

### Enzimas antioxidantes

Cerca de 25 mg foram homogeneizados em solu\u00e7\u00e3o de extra\u00e7\u00e3o de acordo com Souza *et al.* (2013). O extrato obtido foi utilizado para a an\u00e1lise da super\u00f3xido dismutase (SOD) (Beauchamp & Fridovich 1971), catalase (CAT) (Luck 1974) e glutatona redutase (GR) (Schaedle and Bassham,

1977).

### Extra\u00e7\u00e3o e an\u00e1lise de a\u00e7\u00facares sol\u00faveis

Cerca de 100 mg de amostra foram homogeneizados em etanol 80% de acordo com protocolo de Carvalho *et al.* (2013). Ap\u00f3s a remo\u00e7\u00e3o do \u00e1lcool, esses extratos foram utilizados na determina\u00e7\u00e3o de a\u00e7\u00facares totais (Dubois *et al.*, 1956) e redutores (Somogyi, 1945), utilizando a glicose como padr\u00e3o.

### An\u00e1lise estat\u00edstica

Para a an\u00e1lise de biometria, as m\u00e9dias foram submetidas ao teste *t* com 5% de signific\u00e2ncia. J\u00e1 para os par\u00e2metros metab\u00f3licos, as m\u00e9dias dos dados obtidos nas diferentes temperaturas e tempos de coleta foram submetidos \u00e0 an\u00e1lise de vari\u00e2ncia (ANOVA) e teste de Tukey a 5%.

## RESULTADOS E DISCUSS\u00c3O

Ap\u00f3s 15 dias de cultivo j\u00e1 foi poss\u00edvel observar uma redu\u00e7\u00e3o no crescimento das plantas de *N. minutum* mantidas a 10 °C em rela\u00e7\u00e3o aquelas cultivadas a 25 °C (Tabela 1). Muitos estudos mostram essa redu\u00e7\u00e3o devido a exposi\u00e7\u00e3o ao frio em plantas tropicais, como por exemplo nas brom\u00e9lias *Vriesea inflata* e *Alcantarea imperialis* mantidas a 15 °C por dois anos e nove meses, respectivamente, e *Acanthostachys strobilacea* cultivada a 10 °C por 30 dias (Pedroso *et al.* 2010, Mollo *et al.* 2011, Carvalho *et al.* 2014). Para *N. minutum*, no cultivo prolongado por seis meses tamb\u00e9m foi verificado um menor valor nos par\u00e2metros biom\u00e9tricos para as plantas crescidas a 10 °C (Carvalho *et al.* 2013). Dessa forma, essa redu\u00e7\u00e3o poderia estar relacionada com uma forma de ajuste no metabolismo para a sobreviv\u00eancia a baixa temperatura.

Na an\u00e1lise de pigmentos fotossint\u00e9ticos, foi verificado valores menores para as plantas crescidas a 10 °C em compara\u00e7\u00e3o com aquelas mantidas a 25 °C (Figura 1A). Al\u00e9m disso, foi observado um conte\u00fado de clorofilas e carotenoides menor nas plantas cultivadas a 10 dias na baixa temperatura do que aos 15 dias. Em plantas de caf\u00e9 mantidas a 10 °C por oito dias tamb\u00e9m foi encontrado um menor conte\u00fado de pigmentos fotossint\u00e9ticos em rela\u00e7\u00e3o aquelas mantidas a 25 °C (Oliveira *et al.* 2009). Estes dados sugerem que a temperatura pode influenciar na s\u00edntese e/ou no ac\u00famulo desses pigmentos, contribuindo para a baixa quantidade encontrada nessas plantas tropicais.

Ap\u00f3s 10 dias, foi observada uma maior concentra\u00e7\u00e3o de LPO nas plantas expostas a 10 °C em compara\u00e7\u00e3o com aquelas mantidas a 25 °C, entretanto aos 15 dias n\u00e3o houve diferen\u00e7a entre os valores encontrados para as plantas cultivadas em

ambas as temperaturas (Figura 1B). A análise de LPO é um indicador de danos de membrana, sendo que o estresse por frio é associado a este tipo de injúria para diversas espécies, como relatado para a seringueira quando cultivada a 10 °C por oito dias (Mai *et al.* 2009).

O aumento no conteúdo de LPO nas plantas de *N. minutum* quando mantidas a 10 °C pode estar associado a danos nas membranas dos cloroplastos, contribuindo para a menor eficiência quântica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) encontrada (Figura 1B). Além disso, a redução no conteúdo de pigmentos fotossintéticos observados para essa bromélia também pode ter influenciado os valores de  $F_v/F_m$  observados. Para o café e a seringueira também foram verificados menores valores de  $F_v/F_m$  nas plantas mantidas a 10 °C por oito dias, porém esses valores aumentaram quando essas plantas foram transferidas para a temperatura de 25 e 28 °C respectivamente (Mai *et al.* 2009, Oliveira *et al.* 2009), indicando que esses danos podem ser revertidos com o aumento da temperatura.

As enzimas antioxidantes SOD e CAT, de forma geral, apresentaram menores níveis nas plantas de *N. minutum* crescidas a 10 °C do que naquelas mantidas a 25 °C (Figura 1C). Para a seringueira, foi verificado um aumento nos níveis de SOD nas primeiras horas de exposição ao frio em relação as plantas mantidas a 28 °C, porém após quatro dias os maiores níveis foram observados nas plantas cultivadas na temperatura maior (Mai *et al.* 2009). O baixo nível encontrado em *N. minutum* das enzimas antioxidantes pode ter contribuído com o aumento de LPO observado, principalmente aos 10 dias de exposição ao frio.

Em relação a enzima GR, os maiores níveis foram encontrados nas plantas cultivadas a 10 °C por 10 e 15 dias (Figura 1C). Estudos com milho e tomate sugerem que a GR estaria relacionada com a tolerância ao frio nessas espécies (Walker & McKersie 1993, Hodges *et al.* 1997). Dessa forma, os maiores níveis dessa enzima em plantas de *N. minutum* mantidas no frio poderia estar colaborando para a sua sobrevivência, reduzindo o estresse oxidativo.

As dosagens do conteúdo de açúcares totais e redutores mostraram o maior acúmulo dessas moléculas nas plantas mantidas a 10 °C, sendo que essa quantidade foi cerca de quatro vezes maior nas plantas cultivadas por 10 dias e cinco vezes naquelas crescidas por 15 dias em comparação com as mantidas a 25 °C (Figura 1D). Um aumento na concentração de açúcares também foi

encontrado nas plantas de *N. minutum* durante o cultivo prolongado a 10 °C e também na bromélia *A. imperialis* mantida a 15 °C por nove meses (Mollo *et al.* 2011, Carvalho *et al.* 2013). Esta maior quantidade de açúcares pode estar relacionada a um ajuste osmótico de *N. minutum* em resposta a baixa temperatura.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que a bromélia *N. minutum* apresenta rápidas alterações metabólicas após dias de exposição ao frio. Em relação aos parâmetros que indicam injúrias, as avaliações mostraram danos principalmente nas plantas mantidas a 10 dias a 10 °C em comparação com aquelas crescidas por 15 dias, sendo que o aumento nos níveis de GR e acúmulo de açúcares podem estar relacionados com as respostas rápidas de sobrevivência e tolerância ao frio desta espécie tropical, minimizando os efeitos do resfriamento.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa concedida e a FAPESP pelo auxílio (2013/25047-0).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beauchamp, C.U. & Fridovich, I.** 1971. Improved assays for superoxide dismutase and an assay applicable to polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276–287.
- Carvalho, C.P., Hayashi, A.H., Braga, M.R. & Nievola, C.C.** 2013. Biochemical and anatomical responses related to the *in vitro* survival of the tropical bromeliad *Nidularium minutum* to low temperatures. *Plant Physiology and Biochemistry* 71: 144–154.
- Carvalho, V., Santos, D.S. & Nievola, C.C.** 2014. *In vitro* storage under slow growth and *ex vitro* acclimatization of the ornamental bromeliad *Acanthostachys strobilacea*. *South African Journal of Botany* 92: 39–43.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350–356.
- Hodges, D.M., Andrews, C.J., Johnson, D.A. & Hamilton, R.I.** 1997. Antioxidant enzyme responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. *Journal of Experimental Botany* 48: 1105–1113.
- Jiang, Z.Y., Woollard, A.C.S. & Wolff, S.P.** 1991. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids* 26: 853–856.
- Lichtenthaler, H.K. & Buschmann, C.** 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* F4.3.1-F4.3.8.
- Mai, J., Herbetete, S., Vandame, M., Kositsup, B., Kasemsap, P., Cavaloc, E., Julien, J.L., Améglio, T. & Roeckel-Drevet, P.** 2009. Effect of chilling on

photosynthesis and antioxidant enzymes in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. Trees 23: 863–874.

**Mailler, S. & Lott, F.** 2015. Impact of subgrid-scale orography on equatorial angular momentum budget and the cold surges in a general circulation model. Monthly Weather Review 143: 4443–4458.

**Mollo, L., Martins, M.C.M., Oliveira, V.F., Nievola, C.C. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** 2011. Effects of low temperature on growth and non-structural carbohydrates of the imperial bromeliad *Alcantarea imperialis* cultured *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 107: 141–149.

**Munné-Bosch, S. & Lalueza, P.** 2007. Age-related changes in oxidative stress markers and abscisic acid levels in a drought-tolerant shrub, *Cistus clusii* grown under Mediterranean field conditions. Planta 225: 1039–1049.

**Oliveira, D., Luís, P., Alves, A. & Pierre, A.** 2009. Alterations in chlorophyll a fluorescence, pigment concentrations and lipid peroxidation to chilling temperature in coffee seedlings. Environmental and Experimental Botany 67: 71–76.

**Pedroso, A.N.V., Lazarini, R.A.D.M., Tamaki, V. & Nievola, C.C.** 2010. *In vitro* culture at low

temperature and *ex vitro* acclimatization of *Vriesea inflata* an ornamental bromeliad. Revista Brasileira de Botânica 33: 407–414.

**Puyaubert, J. & Baudouin, E.** 2014. New clues for a cold case: nitric oxide response to low temperature. Plant, Cell and Environmental 37: 2623–2630.

**Rao, N.K.** 2004. Plant genetic resources: advancing conservation and use through biotechnology. African Journal of Biotechnology 3: 136–145.

**Schaedle, M. & Bassham, J.A.** 1977. Chloroplast glutathione reductase. Plant Physiology 59: 1011–1012.

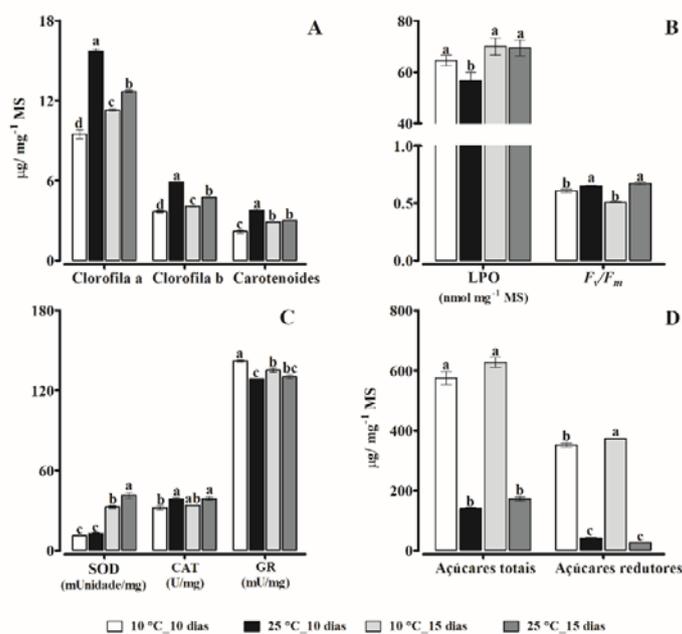
**Somogyi, M.** 1945. A new reagent for the determination of sugars. Journal of Biological Chemistry 160: 61–68.

**Souza, S.R., Blande, J.D. & Holopainen, J.K.** 2013. Pre-exposure to nitric oxide modulates the effect of ozone on oxidative defenses and volatile emissions in lima bean. Environmental Pollution 179: 111–119.

**Walker, M.A. & McKersie, B.D.** 1993. Role of the ascorbate-glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato. Journal of Plant Physiology 141: 234–239.

**Tabela 1.** Parâmetros de crescimento em *Nidularium minutum* cultivada a 10 °C e 25 °C por 15 dias. Asteriscos mostram diferenças significativas de acordo com o teste *t*. ( $n=20$ ).

Temp. (°C)	Parte aérea				Raiz			
	Nº de folhas	Comprimento (cm)	Massa fresca (mg planta <sup>-1</sup> )	Massa seca (mg planta <sup>-1</sup> )	Nº	Comprimento (cm)	Massa fresca (mg planta <sup>-1</sup> )	Massa seca (mg planta <sup>-1</sup> )
10	5,70	1,51	9,54	0,78	3,60	0,79	0,53	0,15
25	7,40 *	2,88*	34,94*	2,38*	4,05*	1,30*	1,85*	0,52*



**Figura 1.** Conteúdo de clorofila a, b e carotenoides (A), lipoperóxidos e variação da eficiência quântica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) (B), níveis das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona redutase (GR) (C) e concentração de açúcares totais e redutores (D) em *Nidularium minutum* cultivada por 10 dias a 10 °C (barras brancas) e 25 °C (barras pretas) e por 15 dias a 10 °C (barras cinzas claras) e a 25 °C (barras cinzas escuras). As médias com as mesmas letras dentro de um mesmo parâmetro não mostram diferenças significativas de acordo com o teste Tukey a 5%. MS= massa seca. ( $n=3$ ).



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas”

### Revisão taxonômica e filogenia do gênero *Orleanesia* Barb.Rodr. (Orchidaceae: Laeliinae)

**Gabriel Franco Gonçalves**<sup>(1)</sup>, Eric de Camargo Smidt<sup>(2)</sup>, Fábio de Barros<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup>Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Curitiba, PR. E-mail para contato: [gabriel\\_kominami@hotmail.com](mailto:gabriel_kominami@hotmail.com)

**Resumo:** *Orleanesia* é um gênero de Orchidaceae pertencente à subtribo Laeliinae composto por plantas epífitas que crescem principalmente em regiões de floresta amazônica, compreendendo aproximadamente nove espécies. Devido ao número limitado de estudos sobre o gênero, pouco se sabe sobre suas relações interespecíficas e seu posicionamento em relação aos demais gêneros da subtribo. O presente estudo visou realizar uma revisão taxonômica do gênero *Orleanesia* e testar seu monofiletismo por meio de análises filogenéticas moleculares e morfológicas com o objetivo de esclarecer suas relações dentro do gênero e avaliar sua posição dentro de Laeliinae. Em relação à sua taxonomia, foram examinados exsicatas de 14 herbários, além da análise de materiais digitalizados de outros 13 herbários e outros 56 herbários da América do Sul foram contatados com a finalidade de encontrar materiais adicionais. Como resultado, foram realizadas duas lectotipificações e três nomes foram considerados sinônimos dentro do gênero. Com isso o número final de espécies foi reduzido para seis. Para as análises filogenéticas foram utilizadas a combinação de fragmentos dos marcadores moleculares ITS do DNA nuclear e *matK* do DNA plastidial, juntamente com os dados da matriz de caracteres morfológicos. Os resultados indicam que *Orleanesia* é monofilético além de ser grupo irmão de *Caularthron* Raf. *Orleanesia* revelou ser composto de dois clados, ambos com alto suporte. Embora nenhuma das espécies do gênero tenha sido considerada em risco de extinção, suas populações estão ameaçadas pelo desmatamento e pela redução do habitat.

**Palavras-Chave:** Floresta amazônica, nomenclatura, América do Sul, filogenia molecular.

#### INTRODUÇÃO

O gênero *Orleanesia* Barb.Rodr. pertence à subtribo Laeliinae (Epidendroideae, Orchidaceae) e foi primeiramente descrito por Rodrigues (1877). Desde o seu estabelecimento, poucas espécies novas foram incorporadas ao gênero, sendo apenas nove atualmente aceitas.

*Orleanesia* ocorre naturalmente em vários países tropicais da América do Sul com vegetação amazônica, como Colômbia, Venezuela, Guiana, Guiana Francesa, Equador, Peru, Bolívia e Brasil (Pridgeon *et al.* 2005). O seu centro de diversidade está nas planícies amazônicas, mas pode ser encontrado em habitats bastante distintos, como regiões de florestas semi-decíduas secas, como as regiões de Caatinga e Cerrado (Pridgeon *et al.* 2005).

A primeira espécie descrita foi *Orleanesia amazonica* Barb.Rodr. (Rodrigues 1877) e posteriormente o mesmo autor descreveu uma segunda espécie, *O. yauaperyensis* Barb.Rodr. (Rodrigues 1891) e dividiu o grupo em dois morfotipos diferentes, classificados como *Umbellatae* (*O. amazonica*) e *Paniculatae* (*O. yauaperyensis*), com base na drástica diferença entre as inflorescências das duas espécies, a primeira com racemos muito curtos que lembram umbelas e a segunda com panículas longas.

Devido a essa diferença na inflorescência, alguns autores propuseram separar as espécies de *Orleanesia* em gêneros distintos, como Schlechter (1925) com *Huebneria* e Rauschert (1983) com *Pseudorleanesia*. Entretanto nenhuma dessas propostas teve grande aceitação acadêmica.

O gênero é pouco estudado, estando presente em apenas poucos trabalhos generalistas, como o de Schlechter (1926) que apresenta um estudo

sistemático de Orchidaceae; o de Baker (1972) que em um estudo da anatomia foliar de Laeliinae inferiu que *Orleanesia* estaria mais relacionado a *Barkeria* Knowles & Westc. e *Caularthron* Raf.; Dressler (1981) que baseando-se no trabalho de Baker (1972) propôs 6 alianças genéricas provisórias para a subtribo.

Os únicos trabalhos filogenéticos que também incluem *Orleanesia* são os de van den Berg *et al.* (2000), utilizando apenas um marcador molecular e apenas duas espécies do gênero mas não obtendo boa resolução nos resultados. E o trabalho de van den Berg *et al.* (2009) que utilizou apenas uma espécie de *Orleanesia*. Esses trabalhos dão suporte para o monofiletismo do gênero e indicam *Caularthron* como grupo irmão apesar do baixo suporte. Contudo, devido à baixa representatividade de espécies amostradas nesses estudos, não é possível afirmar se o gênero todo é monofilético, principalmente pelo fato de ele incluir dois grupos morfológicos distintos.

Este estudo objetivou: (1) elaborar uma revisão taxonômica do gênero *Orleanesia* para esclarecer seus problemas taxonômicos e nomenclaturais e (2) apresentar hipóteses filogenéticas para o gênero, tentando esclarecer tanto a relação entre as suas espécies, como o seu posicionamento dentro da subtribo Laeliinae.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a revisão taxonômica foi realizado um levantamento bibliográfico em sites de busca e bibliotecas científicas além da análise de 114 exsiccatas provenientes de 27 herbários. Outros 56 herbários de países da América do Sul foram contatados para verificar se havia exemplares de *Orleanesia*, mas apenas quatro desses reportaram algum material.

Também foram realizadas cinco expedições de coleta para obtenção de material nos períodos de junho e agosto de 2015 e maio, agosto e setembro de 2016 nos municípios de Chapadão do Sul (MS), Costa Rica (MS), Abaitetuba (PA), Manaus (AM) e Chapada dos Guimarães (MT). Além disso, foi estabelecido contato com orquidófilos e colecionadores que enviaram algumas plantas de Jaurú (MT), Primavera do Leste (MT), Manaus (AM) e Moraes de Almeida (PA). Parte do material coletado foi preservada em sílica-gel para estudos filogenéticos moleculares, e com o restante foram feitas exsiccatas depositadas no herbário do Instituto de Botânica de São Paulo (SP) de acordo com Fidalgo & Bonini (1989). Nas descrições, a

terminologia morfológica seguiu Radford *et al.* (1974).

Para a filogenia molecular as extrações das amostras de DNA foram feitas utilizando a metodologia baseada no protocolo de CTAB 2X de Doyle & Doyle (1987), com algumas modificações, incluindo a maceração manual das amostras em cadinhos com Nitrogênio líquido. As alíquotas do material estão sendo mantidas no Banco de DNA Total de Plantas da UFPR (UPCB-DNA), vinculadas a *vouchers* identificados no herbário SP, sendo as duplicatas destes materiais enviadas para o herbário SP.

Foi amplificada e sequenciada a combinação dos fragmentos das regiões *matK* do genoma plastidial, e o espaçador ITS do genoma nuclear. As amplificações de PCR foram realizadas em reações de 30 µl constituídas de tampão 1X, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTPs, 0,5 mM de cada *primer*, 10 ng de BSA, 2 unidades de Taq DNA polimerase e 20-50 ng de DNA genômico. As amplificações foram feitas seguindo o programa de 1 minuto de aquecimento a 94 °C e 40 ciclos de 30 segundos de desnaturação a 94 °C, 40 segundos de anelamento a 49-55 °C e 40 segundos de extensão a 72 °C, seguidos de uma extensão final a 72 °C por 5 minutos. Os produtos de PCR foram verificados em eletroforese horizontal em gel de agarose 1% e posteriormente corados em banho com brometo de etídio. Os produtos de PCR com boa amplificação (*i.e.*, de 70-100 ng) foram purificados com PEG 20%.

O sequenciamento foi feito por meio de serviços prestados pela empresa MACROGEN na Coréia do Sul e todas as sequências de DNA obtidas foram enviadas ao *Genbank*.

A filogenia morfológica foi realizada obtendo-se caracteres neomórficos e transformacionais baseados na observação da diversidade morfológica de caracteres vegetativos e reprodutivos. Os caracteres levantados foram analisados quanto ao seu estado de acordo com os quatro componentes propostos por Sereno (2007).

Para avaliar se as amostras de diferentes indivíduos formam um agrupamento específico monofilético e a relação entre as espécies do gênero, foram utilizadas abordagens filogenéticas padrão: Máxima Parcimônia (MP) através do programa PAUP4b10 (Swofford 2002); análises bayesianas (BI) realizadas com o programa MrBayes Versão 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). As árvores foram visualizadas e editadas através do programa Treeview (Page 1996).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No trabalho de revisão foram propostas as lectotipificações *Orleanesia amazonica* e *Orleanesia yauaperyensis* descritas por Rodrigues (1877, 1891). Outras três espécies foram sinonimizadas (*O. richteri*, *O. ecuadorana* e *O. peruviana*). Além disso, foi elaborada uma chave de identificação para o gênero e apresentadas descrições das espécies. Também foram adicionados dados de distribuição geográfica, fenologia e *status* de conservação. Apesar de todas as espécies terem sido classificadas como *Least Concern* (LC) de acordo com o sistema da IUCN (2012) utilizando apenas os dados de EOO (extent of occurrence) e AOO (area of occupancy), o gênero está ameaçado pela perda de habitat.

A análise das sequências combinadas apoia a hipótese de monofiletismo de *Orleanesia*, apresentando níveis medianos de suporte (BP > 68). Dentro do gênero pode-se observar a formação de dois grupos bem sustentados, o primeiro formado por *O. amazonica* Barb.Rodr. e *O. pleurostachys* (Linden & Rchb.f.) Garay & Dunst. com alto suporte (BP 100) e o segundo grupo formado por *O. cuneipetala* Garay e *O. mineirosensis* Garay que também apresenta alto suporte, sempre acima de 95%. Como duas espécies do gênero não foram amostradas devido à dificuldade na obtenção de material, não é possível inferir com certeza qual seria seu posicionamento com relação a esses dois grupos infra-genéricos.

Com relação ao posicionamento de *Orleanesia* em relação aos outros gêneros de Laeliinae, a parcimônia resultou em uma politomia na árvore de consenso estrito, o que não permite inferir dados significativos sobre a sua relação, porém as relações específicas dentro de cada gênero apresentaram suporte alto a moderado. Contudo, a politomia é resolvida por meio das análises bayesianas.

A árvore de análise bayesiana é topologicamente similar à árvore de consenso estrito da parcimônia no que diz respeito às relações internas entre as espécies dos gêneros, demonstrando valores de probabilidade posterior moderados (a maioria acima de 0,86), entretanto diferem bastante nas relações intergenéricas que apresentam melhor resolução. De acordo com essa análise, *Orleanesia* é um grupo monofilético com suporte alto (PP 1) e forma dois clados com os subclados compostos pelas mesmas espécies da árvore de consenso estrito e igualmente com alto suporte (PP 1 e PP 0,94, respectivamente). O gênero *Caularthron*, aparece como grupo irmão

de *Orleanesia*, mas com suporte baixo (PP 0,61). *Epidendrum* também formou um clado, incluindo as espécies anteriormente consideradas como pertencentes a *Amblostoma*, apresentando suporte alto (PP > 0,93), com exceção apenas do subclado *Epidendrum rigidum* e *Epidendrum avicula* (PP 0,66).

Dos 22 caracteres da matriz morfológica amostrados 15 são homoplásticos e sete, homologias. *Orleanesia* é definido pela presença do pé do ginostêmio (caractere homoplástico). Dentro de *Orleanesia* o clado formado por *O. cuneipetala* e *O. mineirosensis* é definido por possuir as duas polínias internas maiores que as externas e um dos caracteres diagnósticos mais relevantes de *O. cuneipetala* (pétalas obtruladas) é uma apomorfia.

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram os trabalhos anteriores sobre Laeliinae (van den Berg *et al.* 2000, van den Berg *et al.* 2009), no que respeita ao posicionamento do gênero *Orleanesia* e suas relações com os gêneros da subtribo que foram amostrados. Os dados apontam que *Orleanesia* é um grupo monofilético e bem sustentado e mesmo que duas espécies não tenham sido amostradas (*O. maculata* Garay e *O. yauaperyensis* Barb.Rodr.), essas possuem características bastante uniformes, que não contrastam severamente com as demais espécies, o que nos leva a crer que o grupo como um todo seja monofilético.

Dentro do gênero ainda foi possível observar a existência de dois clados diferentes, um que reúne as espécies *O. amazonica* e *O. pleurostachys*, que possuem em comum a anteras globosas e pétalas largamente espatuladas, e um segundo englobando *O. mineirosensis* e *O. cuneipetala*, com anteras cordiformes e pétalas não largamente espatuladas, ambos com alto suporte. Apesar de não ser possível afirmar seguramente qual seria o posicionamento real de *O. maculata* e *O. yauaperyensis* com relação a esses dois subclados, suas características morfológicas permitem supor que provavelmente elas estariam próximas de *O. mineirosensis* e *O. cuneipetala* pela presença de pétalas mais delgadas e anteras cordiformes.

Apesar do gênero *Caularthron* aparecer como grupo-irmão de *Orleanesia* nas análises combinadas, o suporte é baixo (PP 61), o que já era esperado tendo em vista os resultados de van den Berg *et al.* (2000) e van den Berg *et al.* (2009), que encontraram valores de *bootstrap* inferiores a 50%. Já *Epidendrum armeniacum* é grupo-irmão de *Epidendrum tridactylum* em todas as análises, o que corrobora os dados obtidos por de van den Berg *et al.* (2009), refutando a hipótese de *E. armeniacum* também ser grupo-irmão de *Orleanesia* como indicado por van

den Berg *et al.* (2000). Além disso, as duas espécies de *Epidendrum* citadas anteriormente ainda formam um clado com alto suporte (BP 100; PP 1,0), juntamente com as demais espécies amostradas do gênero o que sustenta definitivamente a inserção delas dentro de *Epidendrum* e o conseqüente abandono de *Amblostoma* como um gênero autônomo.

Devido à alta taxa de caracteres homoplásticos nas análises de reconstrução de caráter as conclusões que podem ser tomadas a respeito de suas relações de ancestralidade são pouco esclarecedoras, entretanto podemos inferir que a presença do pé do ginostêmio em *Orleanesia* provavelmente se deve a um processo de convergência evolutiva, pois a mesma característica se encontra em diversos grupos mais distantes e em nenhum dos gêneros mais próximos.

### CONCLUSÕES

Como esperado de um gênero pouco conhecido, a identidade de algumas espécies de *Orleanesia* era confusa o que, em parte pode ser explicado pela baixa representatividade de espécimes em herbários e coleções vivas. O estudo do gênero também deixou claro o nível de raridade e fragilidade de suas populações, já que a maioria das espécies é conhecida por um número limitado de exsicatas.

Com relação aos dados moleculares, pode-se atestar a importância desse tipo de estudo que revelou que determinadas características morfológicas consideradas decisivas para a classificação de grupos, nem sempre são realmente relevantes em sua filogenia.

### AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor. Barros F e Smidt EC agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de produtividade científica recebidas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker, R.K.** 1972. Foliar anatomy of the Laellinae (Orchidaceae). Ph.D. Thesis, Washington University, St. Louis.
- Doyle, J. & J. Doyle.** 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 810–815.
- Dressler, R.L.** 1981. *The orchids: natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge.
- Fidalgo, O. & Bononi, V.L.R.** 1989. Técnica de coleta, preservação e herborização de material botânico. Instituto de Botânica, São Paulo.
- IUCN (2017).** The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-1. Available at <http://www.iucnredlist.org>, Accessed 12 May 2017.
- Page, R.D.M.** 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computational and Applied Biosciences* 12: 357–358.
- Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W. & Rasmussen, F.N.** 2005. *Genera Orchidacearum vol. 4: Epidendroideae (part one)*. Oxford University Press. New York.
- Radford, A.E., Dickson, W.C., Massey, J.R., Bell, C.R.** 1974. *Vascular plant systematics*. Harper Collins, New York.
- Rauschert, S.** 1983. Beitrag zur Nomenklatur der Orchidaceae. *Feddes Repertorium* 94: 465-466.
- Rodrigues, J.B.** 1877. *Genera et Species Orchidearum Novarum I*. Typographia Nacional, Rio de Janeiro.
- Rodrigues, J.B.** 1891. *Genera et Species Orchidearum Novarum*. *Vellozia* 1: 116-133.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P.** 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Schlechter, R.** 1925. Beiträge zur Orchideenkunde des Amazonas-Gebietes. Beihefte zum Botanischen Centralblatt 42: 96-97.
- Schlechter R.** 1926. Das System der Orchidaceae. *Notizblatt des Botanischen Gartens und Museums zu Berlin-Dahlem* 9: 563-591.
- Sereno, P.C.** 2007. Logical basis for morphological characters in phylogenetics. *Cladistics* 23: 565-591.
- Swofford, D. L.** 2002. PAUP: Phylogenetic Analysis using Parsimony. Version 4.0b. Illinois Natural Survey, Champaign.
- van den Berg, C.; Higgins, W.E.; Dressler, R.L.; Whitten, W.M.; Arenas, M.A.S.; Culham, A. & Chase, M.W.** 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Lindleyana* 15: 96-114.
- van den Berg, C., Goldman, D.H., Freudenteins, J.V., Pridgeon, A.M., Cameron, K.M. & Chase, M.W.** 2009. An overview of the phylogenetic relationships within Epidendroideae inferred from multiple DNA regions and recircumscription of Epidendreae and Arethuseae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 92: 613-624.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### Alterações fisiológicas e bioquímicas em mudas de espécies arbóreas nativas mantidas em solo com incremento de nitrogênio e fósforo

**Regina Rodrigues Calixto**<sup>(1)</sup> & Marisia Pannia Esposito<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Cruzeiro do Sul, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup>Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: rrcalixto@outlook.com

**RESUMO:** Em ecossistemas terrestres, o aumento da deposição atmosférica de nitrogênio (N) aumentou a disponibilidade desse elemento em relação aos outros elementos. Como resultado, a vegetação anteriormente limitada por N tem, em alguns casos, se tornado excessivamente suplementada por N e limitada por fósforo (P) ou outros elementos minerais. O fornecimento inapropriado de nitrogênio gera estresse oxidativo à planta, com consequente formação de espécies reativas de oxigênio. Em sua defesa, a planta dispõe de mecanismos eficazes de defesa antioxidante, com componentes enzimáticos e não enzimáticos. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo estudar as alterações fisiológicas e bioquímicas – através da análise de indicadores de estresse oxidativo (clorofilas *a* e *b*, hidroperóxidos conjugados, peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio) e componentes do sistema de defesas antioxidantes (ácido ascórbico total e enzimas ascorbato peroxidase e catalase) em função do balanço de nitrogênio e fósforo – em mudas de duas espécies nativas pertencentes aos diferentes estágios sucessionais (*Solanum granuloso-leprosum*, pioneira e *Esenbeckia leiocarpa*, não-pioneira) no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI). Ambas espécies foram mantidas em casa de vegetação do Instituto de Botânica e submetidas ao solo proveniente do PEFI com incremento de N, P e N+P, bem como tratamentos controle. O conteúdo de ácido malondialdeído – um indicador de estresse oxidativo – foi parcialmente maior em ambas espécies submetidas ao solo com incremento de N e N+P. A atividade enzimática da catalase foi maior na espécie não-pioneira submetida ao solo com incrementos de N e P.

**Palavras-chave:** antioxidante, estágio sucessionais, estresse oxidativo.

#### INTRODUÇÃO

Em ecossistemas terrestres, o aumento da deposição atmosférica de nitrogênio (N) nas últimas décadas aumentou a disponibilidade desse elemento em relação aos outros elementos. Como resultado, a vegetação anteriormente limitada por N tem, em alguns casos, se tornado excessivamente suplementada por N e limitada por fósforo (P) ou outros elementos minerais (Falkengren-Grerup & Diekmann 2003).

As atividades antropogênicas têm sido as que mais têm contribuído para a fixação global do N no sentido ecológico, suplantando a de origem natural e proporcionando um considerável aporte de N nos ecossistemas florestais. Isto ocorre mesmo nas florestas de clima temperado, que são consideradas tradicionalmente limitadas em N (Huang *et al.* 2012).

A toxidez por excesso de nitrogênio favorece a não absorção de outros nutrientes disponíveis para a planta, pois o excesso de um nutriente pode induzir a deficiência de outro. As plantas possuem vários mecanismos para evitar o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs). Segundo Mittler (2002), esses mecanismos incluem adaptações anatômicas dotadas de sistema eficaz de defesa antioxidante, com componentes enzimáticos e não enzimáticos.

Já em altas concentrações, o P mostra-se maléfico, já que diminui a disponibilidade de zinco para a planta, pois o zinco se liga ao cátion acompanhante do fósforo (Correa *et al.* 2002). As espécies pioneiras têm alta capacidade de assimilação de nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), respondem ao

aumento da disponibilidade de N no solo e o acumulam em maior quantidade nas folhas. As espécies não-pioneiras, por sua vez, têm maior capacidade de assimilar amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) do solo, são menos capazes de responder as mudanças na disponibilidade de N e o acumulam em menor quantidade nas folhas.

Apesar de já se saber que o N é o nutriente encontrado em maior abundância nos tecidos vegetais (Marques *et al.* 2006), pouco se conhece sobre o metabolismo desse nutriente nas espécies arbóreas tropicais, principalmente no que diz respeito à sua toxicidade, sobretudo nas nativas em remanescentes de floresta próximos a fontes antrópicas de formas solúveis de N. Sendo assim, é cada vez maior a necessidade de se realizar pesquisas em campo e experimentais para buscar as possíveis associações entre mudanças no balanço de N e P no solo, e alterações fisiológicas e bioquímicas em espécies arbóreas mais representativas de florestas afetadas por fontes antrópicas de nitrogênio.

Dessa forma, os objetivos do presente trabalho foram: 1) avaliar as alterações foliares fisiológicas e bioquímicas – através da análise de indicadores de estresse oxidativo e componentes do sistema de defesas antioxidantes – em função do balanço de nitrogênio e fósforo; 2) avaliar a ocorrência de possíveis diferenças fisiológicas e bioquímicas entre mudas de espécies pioneiras e não-pioneiras submetidas ao balanço de nitrogênio e fósforo.

## **METODOLOGIA**

### **Área de estudo e amostragem**

O local de estudo escolhido foi o Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), um parque urbano situado na zona sul da cidade de São Paulo que possui fragmento remanescente de Mata Atlântica.

### **Escolha das espécies arbóreas**

Foram escolhidas mudas de espécies arbóreas *Solanum granuloso-leprosum* (pioneira) e de *Esenbeckia leiocarpa* (não-pioneira).

### **Preparo das mudas e delineamento amostral**

O experimento foi realizado em casa de vegetação climatizada e com ar filtrado. As mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 1,7L contendo uma mistura na proporção de 3:1 de solo superficial coletado no PEFI e substrato comercial orgânico. Os vasos foram mantidos na casa de vegetação por 15 dias para que as plantas se adaptassem ao novo substrato e retomassem o

crescimento. Ao final do período de adaptação, o experimento foi iniciado totalizando 16 semanas de duração. As plantas foram expostas a 5 tratamentos – controle sem adubação, controle adubado, adição de N, adição de P e adição de N+P – sendo aplicadas mensalmente 100 ml de cada solução aquosa por vaso, perfazendo um total de 4 aplicações (no primeiro dia do experimento e após 4, 8 e 12 semanas). Ao final do experimento foram coletadas folhas expandidas e sem herbivoria de cada espécie para análises laboratoriais.

### **Análise de indicadores de estresse oxidativo**

Os conteúdos de *pigmentos fotossintetizantes* – clorofilas *a* e *b* – foram obtidos de amostras de tecido foliar conforme metodologia realizada por Pigñata *et al.* (2002). Os conteúdos de *carotenoide* e *hidroperoxidieno conjugado* (HPDC) foram obtidos no mesmo extrato etanólico da análise das clorofilas (Wannaz & Pignata 2002). A análise de *peroxidação lipídica* tratou-se de um teste baseado na reação do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos para análise do conteúdo de ácido malondialdeído (MDA) (Heath & Packer 1968, Buege & Aust 1978, com modificações). O conteúdo de *peróxido de hidrogênio* ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foi determinado através da reação com o iodeto de potássio (KI). Amostras de folhas frescas foram maceradas em 1 mL de ácido tricloroacético, centrifugadas e ao sobrenadante, foram adicionados 200  $\mu\text{l}$  de tampão fosfato de potássio pH = 7,5 e 800  $\mu\text{L}$  de solução de KI (Alexieva *et al.* 2001).

### **Análise dos indicadores de defesa antioxidativa**

A concentração de *ácido ascórbico total* foi determinada através do método sugerido por Keller & Schweizer (1977) através de leitura espectrofotométrica do extrato foliar contendo, como reagente cromóforo, 2,6 diclorofenol-indofenol sal de sódio dihidratado e outra alíquota do mesmo extrato contendo, além do cromóforo, ácido ascórbico. A atividade enzimática da *ascorbato peroxidase* (APX) foi monitorada espectrofotometricamente durante 2 minutos, através da decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , conforme metodologia proposta por Asada (1984). A atividade enzimática da *catalase* (CAT) foi monitorada em ambiente com temperatura de 25°C e adição do extrato vegetal em uma mistura de tampão fosfato de potássio pH 7,5 contendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  preparado imediatamente antes do uso. A atividade foi determinada seguindo-se a

decomposição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por 1 minuto (Kraus *et al.* 1995).

#### **Análise estatística**

Devido à grande perda de amostras foliares, causada principalmente por herbivorias, os dados foram trabalhados somente em forma de médias e respectivos desvios padrões para cada parâmetro analisado. Não foi possível realizar uma análise estatística mais minuciosa devido à pequena quantidade de dados.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **Perfil biótico: indicadores de estresse oxidativo**

Em relação aos indicadores de estresse oxidativo, os tratamentos com incremento de N obtiveram maior concentração de MDA para ambas espécies estudadas. Este resultado pode ser um indicador de estresse por toxicidade provocada pelo excesso de N amoniacal nas plantas, como alterações no pH intracelular, no equilíbrio osmótico, no metabolismo de fitormônios e de poliaminas, induzindo a deficiência de nutrientes minerais e menores taxas fotossintéticas (Borgognone *et al.* 2013). A espécie não-pioneira *Esenbeckia leiocarpa* apresentou o maior conteúdo foliar de MDA, quando comparada à espécie pioneira.

Em relação ao conteúdo de HPDC, o maior índice foi encontrado na espécie não-pioneira *Esenbeckia leiocarpa*, assim como encontrado no conteúdo foliar de MDA.

Quando comparados os teores de clorofila *a* entre as espécies dos diferentes estágios sucessionais, observou-se ligeiro aumento na espécie pioneira *Solanum granuloso-leprosum* em relação à não pioneira *Esenbeckia leiocarpa* e também entre os teores de clorofila *b*. Houve um ligeiro aumento de teores de clorofilas *a* e *b* observados nos tratamentos com adição de N e N+P. Segundo Malavolta *et al.* (1997), o N participa da constituição da molécula de clorofila e a avaliação da necessidade de N pela planta pode ser determinada pela mensuração indireta do teor de clorofila.

Em relação ao conteúdo de carotenoides, a espécie pioneira apresentou maior conteúdo em relação a não pioneira para o tratamento controle adubado. Entre os tratamentos com estressores o maior conteúdo de carotenoides ocorreu no tratamento com N. Os carotenoides destacam-se também como agentes antioxidantes (Junior *et al.* 2001).

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi consideravelmente maior em folhas da espécie não-pioneira, quando comparada à espécie pioneira, em todos tratamentos aos quais a espécie foi submetida. O peróxido de hidrogênio possui capacidade de cruzar as membranas celulares e maior tempo de meia-vida, o que possibilita agir como molécula sinalizadora do estresse oxidativo (Mittler 2002).

#### **Perfil biótico: indicadores de defesa antioxidativa**

O conteúdo de ácido ascórbico foi maior no tratamento controle não adubado na espécie pioneira e nos tratamentos com estressores se mostra maior na proporção P>N+P>N para ambas espécies. Antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, sequestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos. Eles protegem organismos aeróbicos do estresse oxidativo (Oleaga *et al.* 2012). As plantas protegem suas células e compartimentos sub-celulares dos efeitos citotóxicos das EROs com o auxílio de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GSH), peroxiredoxina (Prx), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO) e compostos não-enzimáticos, como a glutathione, ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol e carotenoides (Mittler 2002).

A atividade enzimática da catalase foi maior na espécie não-pioneira *Esenbeckia leiocarpa*, principalmente nos tratamentos não adubados, com nitrogênio e com fósforo. Essa maior concentração da atividade da catalase nos tratamentos supracitados pode ser explicada pela presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em tecidos foliares ou sua indução endógena, que promove o fechamento dos estômatos e, conseqüentemente, diminui a taxa transpiratória, podendo agir como um sinal indutor para a expressão de genes referentes à ativação da catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase e glutathione peroxidase (Deuner *et al.* 2008).

A atividade enzimática da ascorbato peroxidase foi evidenciada na espécie pioneira *Solanum-granuloso leprosum* no tratamento exposto ao P.

### **CONCLUSÕES**

Embora necessitemos de um maior número de dados para inferir sobre os resultados das análises realizadas, utilizando testes estatísticos adequados, podemos observar

através dos resultados prévios apresentados que há diferença de comportamento entre espécies pioneiras e não-pioneiras em relação aos parâmetros estudados. A espécie não-pioneira parece estar mais suscetível a maiores conteúdos de peróxido de hidrogênio, ácido malondialdeído e hidroperóxidos conjugados, indicadores de peroxidação lipídica, quando comparadas à espécie pioneira. A atividade enzimática da catalase também foi maior na espécie não-pioneira. Nos tratamentos com nitrogênio, ambas espécies apresentam ligeiro aumento de teores de clorofilas (em especial a clorofila *a*) e conteúdo de ácido malondialdeído.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. & Karanov, E.** 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment* 24: 1337-134.
- Asada, K.** 1984. Chloroplasts: formation of active oxygen and its scavenging. *Methods Enzymol.* 105: 422 – 429.
- Borgognone, D., Colla, G., Roupael, Y., Cardarelli, M., Rea, E. & Schwarz, D.** 2013. Effect of nitrogen form and nutrient solution pH on growth and mineral composition of self-grafted and grafted tomatoes. *Scientia Horticulturae* 149: 61–69.
- Buege, J.A. & Aust, S.D.** 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymology* 52: 302-310.
- Corrêa, F.L.O., Souza, C.A.S., Carvalho, J.G. & Mendonça, V.** 2002. Fósforo e zinco no desenvolvimento de mudas de Aceroleira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24: 793-796.
- Deuner, S., Alves, J.D., Fries, D.D., Zanandrea, I., Lima, A.A., Henrique, P.C. & Goulart, P.F.P.** 2008. Peróxido de hidrogênio e ácido ascórbico influenciando a atividade de enzimas antioxidantes de mudas de cafeeiro. *Revista Ceres* 55: 135-140
- Falkengren-Grerup, U. & Diekmann, M.** 2003. Use of a gradient of N-deposition to calculate effect-related soil and vegetation measures in deciduous forests. *Forest Ecology and Management* 180: 113–124
- Heath, R.L. & Packer L.** 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochemistry Biophys* 125: 189-198.
- Huang, W.J., Zhou, G.Y. & Liu, J.X.** 2012. Nitrogen and phosphorus status and their influence on aboveground production under increasing nitrogen deposition in three successional forests. *Acta Oecologica* 44: 20-27.
- Júnior, L.R., Hoehr, N.F. & Vellasco, A.P.** 2001. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova* 24: 112-119.
- Keller, T.A. & Schwager, H.** 1977. Air pollution and ascorbic acid. *Journal of Forest Pathology* 7: 338-350.
- Kraus, T.E., Evans, R.C., Fletcher, R.A. & Paul, S.K.P.** 1995. Paclobutrazol enhances tolerances to increased levels of UV-B radiation in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Canadian Journal Botany* 73: 797-806.
- Malavolta, E.** 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas. Princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 319p.
- Marques, T.C.L., Vasconcelos, C.A., Pereira-Filho, E., França, G.E. & Cruz, J.C.** 2006. Envolvimento de dióxido de carbono e mineralização do nitrogênio em latossolo vermelho-escuro com diferentes manejos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35: 581-589.
- Mittler, R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Oleaga, C., Ciudad, C.J., Noé, V. & Izquierdo-Pulido, M.** 2012. Coffee polyphenols change the expression of STAT5B and ATF-2 modifying cyclin D1 levels in cancer cells. *Oxid Med Cell Longev.* 2012: 1-17.
- Pignata, M.L., González, C.M., Wannaz, E.D., Carreras, H.A. & Gudino, G.L.** 2002. Biomonitoring of air quality employing in situ *Ramalina celastri* in Argentina. *International Journal of Environmental Pollution* 22: 409 – 429.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas”

### Otimização dos ensaios das enzimas glutamina sintetase e glutamato desidrogenase em *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms

**Gabriela Maria Cabral Nascimento**<sup>(1)</sup>, Priscila Primo Andrade Silva<sup>(1)</sup>, Catarina Carvalho Nievola<sup>(1)</sup> & Marco Aurélio Silva Tiné<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica de São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [gabriela.mariacabral@hotmail.com](mailto:gabriela.mariacabral@hotmail.com)

**Resumo:** A avaliação de tolerância das plantas ao aumento da temperatura ambiental tem sido foco de vários estudos sobre a resiliência dos seres vivos ao aquecimento global. Nesta situação, tem sido documentado o aumento da liberação de amônio nos tecidos de certas espécies vegetais, provavelmente devido à proteólise. O amônio, por ser potencialmente tóxico, deve ser rapidamente assimilado em aminoácidos, o que ocorre por ação das enzimas glutamina sintetase (GS) e glutamato desidrogenase (GDH), conferindo tolerância térmica. Selecionou-se para esse estudo uma espécie de bromélia nativa de ambientes sujeitos a variações térmicas intensas, a *Alcantarea imperialis*, conhecida popularmente por bromélia imperial, de hábito rupícola, nativa dos costões rochosos, com variação térmica de -5°C até 38°C, pode ser modelo para estudo das respostas fisiológicas à mudanças climáticas. Foram feitas análises da atividade da GS e GDH, com o objetivo de otimizar e avaliar a linearidade do ensaio *in vitro* por meio da variação de massa e/ou extrato vegetal, além da concentração de ATP. Foi testada a quantidade de massa vegetal (100, 150, 200, 250 e 300 mg para GS e 150, 200, 250 mg para GDH); volume de extrato bruto (50, 60, 70, 80, 90 e 100 µL para as duas enzimas) e a concentração de ATP (15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 mM para GS). Plantas da bromélia imperial, crescidas em cultivo *in vitro* em meio MS/2 foram utilizadas para os ensaios. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa nas atividades das duas enzimas, para os parâmetros: variação de massa (GS e GDH) e volume de extrato (GS). Quanto a concentração de ATP a atividade foi satisfatória entre 40 a 50mM. Sendo assim, as atividades foram lineares para os dois ensaios analisados, e

para esta espécie é indicado utilizar 45 mM de ATP no ensaio da GS. Esses resultados poderão ser utilizados na avaliação da assimilação de amônio nessa espécie de modo a estabelecer fatores relacionados aos limites de tolerância térmica em espécies rupícolas.

**Palavras-Chave:** bromélia, padronização da atividade enzimática, assimilação de amônio.

#### INTRODUÇÃO

Para algumas espécies de plantas temperaturas elevadas promovem o aumento da taxa de proteólise, favorecendo o acúmulo de amônio nos tecidos, que em altas concentrações pode ser tóxico para diversas espécies (Henckel 1964, Bucio *et al.* 2000, Buchanan *et al.* 2015). Devido à sua potencial toxicidade, o amônio, é rapidamente assimilado em aminoácidos, evitando assim, danos ao tecido vegetal (Epstein & Bloom 2006, Marschner & Marschner 2012). A assimilação do amônio em glutamina se dá pela ação da glutamina sintetase (GS) (Taiz & Zeiger 2013). Para esta reação é necessário o fornecimento de 2-oxoglutarato produzido no Ciclo de Krebs, na presença da enzima glutamato 2-oxoglutarato amino transferase ou glutamato sintase (GOGAT), dando origem à 2 glutamatos, que serão essenciais para um novo processo de assimilação (Buchanan *et al.* 2015).

Além da via GS/GOGAT, alternativamente a assimilação do amônio pode ser realizada pela enzima glutamato desidrogenase (GDH), que também é importante para assimilação do nitrogênio (Skopelitis *et al.* 2006, Andrews *et al.* 2013, Luo *et al.* 2015). Deste modo, a avaliação da capacidade de assimilação de nitrogênio (N) poderia indicar uma possível adaptação da espécie às condições térmicas que, porventura, induzam ao aumento da produção de amônio. Sendo assim, o estudo da assimilação de N

em uma espécie nativa de ambientes sujeitos à variações térmicas intensas, como a *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms, poderia ajudar na compreensão de alguns dos mecanismos utilizados para tolerar essas condições.

*A. imperialis* é muito utilizada no paisagismo e popularmente conhecida como a bromélia imperial (Leme & Marigo 1993). Nativa da região de afloramentos rochosos do Rio de Janeiro, apresenta hábito saxícola ou rupícola, sendo exposta à: alta luminosidade, escassez de água, pouca disponibilidade de substrato, ventos fortes e expressivas variações térmicas, uma vez, que a temperatura das rochas pode ultrapassar os 60°C (Leme & Marigo 1993, Paula e Silva 2004, Carauta & Oliveira 1984, Porembski & Barthlott 2000). Estas condições abióticas severas são fatores determinantes na adaptação das espécies encontradas nesses locais (Porembski 2007). Assim, esta espécie pode tornar-se um modelo para estudos das respostas fisiológicas aos eventos de mudanças climáticas como o aquecimento global, um tema relevante e que vem sendo muito discutido nas últimas três décadas (Engler *et al.* 2011, Seidl *et al.* 2017).

Assimilação de N pode variar dependendo das condições de cultivo e da espécie vegetal estudada (Nievola *et al.* 2001) sendo necessário ensaios de padronização enzimática para verificar se o método utilizado é adequado para espécie de estudo. (Biswanger 2011). Além disto, avaliar a quantidade de reagentes dispendidos no ensaio pode contribuir para diminuir custos desnecessários. Apesar da importância das atividades catalíticas da GS e GDH para metabolismo do nitrogênio, não foram encontrados estudos relacionados à padronização do ensaio enzimático específico para *A. imperialis*. Sendo assim, é imprescindível para o avanço dos estudos da assimilação do nitrogênio em bromélias, que sejam gerados conhecimentos básicos da aplicação de métodos enzimáticos conhecidos, e que foram padronizados com outras espécies, como a atividade da(o): nitrato redutase em *Ananas comosus* (L.) Merr. (Nievola & Mercier 2001), GS em *Pisum sativum* L. (Elliott 1955 *apud* Farnden & Robertson 1980, O'Nyeal & Joy 1973) I) e GDH em *Zea mays* L. (Bullen 1956).

O objetivo deste trabalho foi otimizar o ensaio *in vitro* das enzimas GS e GDH, averiguando a linearidade das atividades e adequando a concentração de adenosina trifosfato (ATP)

necessária ao ensaio enzimático da GS em *A. imperialis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Plantas obtidas de sementes foram cultivadas *in vitro* por 11 meses, em meio de cultura Murashige & Skoog (1962) com 50 % da concentração de macronutrientes (MS/2). Os frascos (com as plantas) permaneceram em sala de cultura com fotoperíodo de 12h, radiação fotossinteticamente ativa de 30  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Após este período, as plantas foram transferidas para bandejas contendo (500 mL de) casca de Pinus e adubadas semanalmente com 30 mL de MS/2 modificado (sem sacarose e ágar), durante um mês. As bandejas foram mantidas em estufas tipo BOD com as mesmas condições controladas descritas anteriormente.

Para a padronização da atividade da GS ([L-glutamate: ammonia ligase (ADP-forming), EC 6.3.1.2], foi testada a linearidade do método descrito por Elliott (1955) *apud* Farnden & Robertson (1980), por meio da variação de massa vegetal (100, 150, 200, 250 e 300 mg) e quantidade de extrato bruto vegetal (50, 60, 70, 80, 90 e 100  $\mu\text{L}$ ), com as seguintes modificações.

A massa fresca foliar proveniente de uma amostra composta de pequenos pedaços de folhas obtidos de 10 plantas foram trituradas em almofariz com nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino e, então, transferidas para microtubos tipo eppendorf, previamente resfriados, aos quais foram acrescentados 1,5 ml de uma solução composta por 0,05 M de tampão imidazol com pH 7,9 e 0,005 M de ditiotreitol. Estas amostras foram submetidas à centrifugação de 15.000 rpm à temperatura de 4 °C por 20 minutos. O sobrenadante foi mantido a 4 °C e utilizado para a determinação das atividades de GS e GDH. Esse procedimento foi realizado em triplicata.

O volume total da reação enzimática foi de 0,5 ml, constituído por: 0,1 mM de tampão imidazol, cujo pH foi 7,5, 49 mM de hidroxilamina, 40 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 180 mM de glutamato e 45 mM de ATP. A reação foi iniciada com a adição do extrato enzimático e, incubação à temperatura de 35 °C por 1 hora. Após esse período a reação foi interrompida com a adição de 1 mL da solução de parada, constituído por: 0,123 M de cloreto férrico, 0,25 M de HCl e 0,1225 M de ácido tricloroacético (TCA). Foram preparados microtubos correspondentes ao tempo zero (T0), ou seja, neste a adição da solução de parada ocorreu em seguida à deposição do extrato, interrompendo, assim, a reação. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 540nm. O valor da absorbância de T0 foi descontado do valor da absorbância obtido

para aqueles microtubos que permaneceram sob incubação. A atividade da enzima foi expressa em mmol gama glutamil hidroxamato por hora por grama de massa fresca ( $\text{mmol } \gamma\text{GH} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MF}$ ).

Para a enzima GDH [L-glutamato:NAD<sup>+</sup> oxidoreductase (deaminating), EC 1.4.1.2], a linearidade do método descrito por Bullen 1956 foi testada pela variação da quantidade de massa vegetal (200, 250 e 300 mg). A atividade enzimática foi calculada utilizando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$  340) de  $6,22 \times 10^6 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  e a atividade expressa em  $\mu\text{mol}$  de NADH consumido por minuto por grama de massa seca ( $\mu\text{mol NADH} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{MF}$ ).

Também foram testadas: a variação da concentração de ATP utilizado no ensaio enzimático da GS, cujos valores foram 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 mM e a atividade enzimática após a dessalinização das amostras em coluna PD10 (Sephadex G-25).

#### **Análise estatística**

As médias foram calculadas e submetidas à análise de variância (ANOVA one way), comparada pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De acordo com Elliott (1955) *apud* Farnden & Robertson (1980) e Bullen 1956 os métodos *in vitro* de análise das enzimas GS e GDH, respectivamente, disponibiliza uma estimativa satisfatória da atividade enzimática, nas condições ótimas de catálise destas enzimas, para extratos vegetais. Todavia, dependendo da espécie vegetal estudada, há necessidade de averiguar se o método enzimático escolhido é adequado, verificando a linearidade das atividades enzimáticas, por meio da variação da quantidade de massa e extrato vegetal utilizada no ensaio (Bisswanger 2011). Assim como foi analisado no presente trabalho, onde se observou que para todas as massas e volumes de extratos utilizados não houve variação significativa das atividades enzimáticas. (Figuras 1A, 1B e 1C).

O ATP é essencial para atividade catalítica da GS (Buchanan *et al.* 2015) e, em trabalhos com outras espécies de plantas a concentração desta coenzima variou entre 30 a 50 mM (Elliott 1955 *apud* Farnden & Robertson (1980), Takahashi 2014, Silva 2016). Todavia, Kurita (2015) estudou a assimilação de N em *A. imperialis*, cultivadas em diferentes formas e concentrações de N, utilizando a concentração de 50 mM. Contudo, no presente trabalho, verificou-se que para *A.*

*imperialis* o platô da atividade enzimática foi em 45 mM (Figura 1D), o que representa uma economia de 11% deste reagente para realização do ensaio.

A dessalinização é um processo aplicado em diversos trabalhos onde são avaliadas as atividades da GS e GDH (Sodek 2004, Tamaki & Mercier 2001, Takahashi 2014, Silva 2016). A coluna de Sephadex (G25) é muito utilizada para a separação das proteínas e dos sais de extratos vegetais brutos, diminuindo a interferência de fatores endógenos, que podem alterar a atividade da enzima (Hangel & Janson 1992). Entretanto, não foi observada diferença significativa entre as atividades da GS do extrato enzimático bruto e do dessalinizado para *A. imperialis* (Figura 1E). Além disso, verificou-se que depois da dessalinização dos extratos, os valores das amostras de resíduos endógenos (T0) apresentou uma leitura mínima desprezível, sendo desnecessário a sua utilização no ensaio enzimático, diminuindo pela metade a quantidade de reagentes utilizados no ensaio, reduzindo custos. Esses resultados poderão subsidiar estudos de determinação de amônia em tecidos vegetais sujeitos a tratamentos térmicos variados.

## **CONCLUSÃO**

Foi possível diminuir a quantidade de reagentes utilizados para realizar o ensaio da GS. Foram lineares as atividades de ambas as enzimas em seus respectivos ensaios enzimáticos *in vitro*, portanto, pode-se utilizar os menores valores testados (100 mg de massa e 50  $\mu\text{L}$  de extrato). Recomenda-se a concentração de 45 mM de ATP no ensaio da GS para *A. imperialis*.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de suporte financeiro à pesquisa por meio de bolsa de mestrado concedida à Gabriela Maria Cabral Nascimento.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Andrews, M., Raven, J. A. & Lea, P. J. 2013. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. *Annals of Applied Biology* 1-26.
- Bisswanger, H. 2011. *Practical Enzymology*. 2 ed. Wiley & Sons, Ltd.
- Buchanan, B. B., Grussem, W. & Jones, R. L. 2015. *Bioquímica e Biologia Molecular das Plantas*. 2ª ed. John Wiley & Sons, Ltd.
- Bucio, J. L., Jacobo, M. F. N, Rodríguez, V. R. & Estrella, L. H. 2000. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Planet Science* 1- 13.

- Bullen, W. A. 1956. The isolation and characterization of glutamic dehydrogenase from corn leaves. *Archives Biochemistry and Biophysics* 62: 173-183.
- Carauta, J.P.P. & Oliveira, R.R. 1984. Plantas vasculares do Morro da Urca, Pão de Açúcar e Cara de Cão. *Rodriguesia* 36: 13-24.
- Elliott 1955. Biosynthetic Hydroxamate assay. In: *Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation* Farnden, K.J.S. & Robertson, J.G. 1980. pp. 283-285. John Wiley & Sons Ltda.
- Epstein, E. & Bloom, A. J. 2006. *Nutrição Mineral de Plantas*. 2 ed. Trad. Editora Planta.
- Hagel, L. & Janson, J. C. 1992. Size-exclusion chromatography, in *Chromatography*, 5 ed. (E. Heftmann, ed.), Elsevier, Amsterdam.
- Henckel, P. 1964. Physiology of plants under drought. *Annual Review Plant Physiology* 15:363-86.
- Kurita, F.M.K. 2015. Assimilação de diferentes fontes nitrogenadas na indução da multiplicação da bromélia *Alcantarea imperialis* Harms cultivada in vitro. Tese de doutorado, Instituto de Botânica, SP.
- Luo, J., Zhou, J., Li, H., Shi, W., Polle, A., Lu, M., Sun, X. & Luo, Z. B. 2015. Global poplar root and leaf transcriptomes reveal links between growth and stress responses under nitrogen starvation and excess. *Tree Physiology* 35: 1283-1302.
- Marschner, Horst & Marschner, Petra. 2012. *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. 3 ed. London: Academic Press.
- Nievola, C. C. & Mercier, H. 2001. Variações diurnas da atividade in vivo da redutase do nitrato em abacaxizeiro (*Ananas comosus* Bromeliaceae). *Revista Brasileira Botânica* 24: 295-301.
- Nievola, C.C., Mercier, H. & Majerowicz. 2001. Level of nitrogen assimilation in bromeliads with different growth habits. *Journal plant nutrition* 24: 1387-1398.
- O'Nyeal, D. & Joy, K. W. 1973. Glutamine Synthetase of Pea leave. I. Purification, stabilization and pH optima. *Archives of biochemistry and biophysics* 159: 113-122.
- Paula, C. C. & Silva, H. M. 2004. *Cultivo prático de bromélias*. 3 ed. Viçosa: UFV.
- Porembski, S. & Barthlott, W. 2000. *Inselbergs. Biotic Diversity of Isolated Rock Outcrops in Tropical and Temperate Regions*. Springer, Berlin, New York.
- Seidl, R., Thom, D., Kautz, M., Dario Martin-Benito, Peltoniemi, M., Vacchiano, G., Wild, J., Ascoli, D., Petr, M., Honkaniemi, J., Lexer, M. J., Trotsiuk, V., Mairota, P., Svoboda, M., Fabrika, M., Nagel, T. A., & Reyer, C. P O. Forest disturbances under climate change.
- Silva, P. P. A. 2016. Assimilação do nitrogênio na bromélia *Ananas comosus* var. *anassoides* (Baker) Coppens & F. Leal na presença de nitrato e/ou amônio em plantas provenientes de sementes ou de segmentos nodais. Dissertação de mestrado, Instituto de Botânica, SP.
- Skopelitis, D., Paschalidis, K., Pliakonis, E.D., Delis, I.D., Yakoumakis, D.I., Kouvarakis, A., Papadakis, A.K., Stephanou, E. & Roubelakis, K.A. 2006. Abiotic stress generates ROS that signal expression of anionic glutamate dehydrogenases to form glutamate for proline synthesis in tobacco and grapevine. *Plant Cell* 18: 2767-2781.
- Sodek, L. 2004. *Metabolismo do Nitrogênio*. In: *Fisiologia Vegetal*. ed. Kerbauy, G. B. 1 ed. pp. 94-113. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2013. *Fisiologia Vegetal*. 5 ed. Artmed.
- Takashi, C.A. 2014. Assimilação do nitrogênio em folhas de *Ursea gigantea* durante a transição ontogenética do hábito atmosférico para epífita com tanque. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Tamaki V. & Mercier, H. 2001. Effects of different ammoniacal nitrogen sources on N-metabolism of the atmospheric bromeliad *Tillandsia pohliana* Mez. *Revista brasileira Botânica*. 24: 407-413.

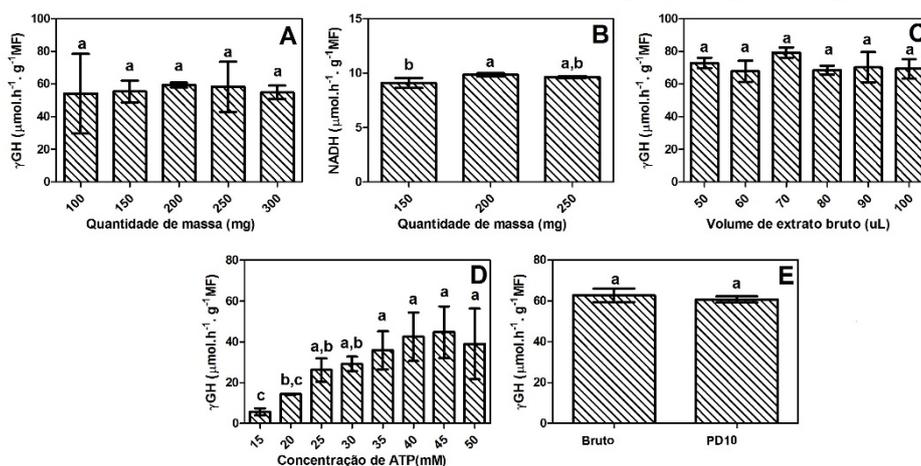


Figura 1: Atividade da glutamina sintase - GS (A, C, D e E), atividade da glutamato desidrogenase - GDH (D) na parte aérea de *A. imperialis*, cultivadas 11 meses em meio MS/2. (A) 100, 150, 200, 250 e 300 mg de massa vegetal. (B) 150, 200 e 250 mg de massa vegetal. (C) 50, 60, 70, 80, 90 e 100  $\mu\text{L}$  de extrato bruto vegetal. (D) 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 mM de ATP. (E) atividade enzimática do extrato bruto e após a dessalinação em coluna PD10 (Sephadex G-25). Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa em  $P < 0,05$  de acordo com o teste de Tukey (ANOVA).



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas

### Propagação *in vitro* utilizando órgão espessado subterrâneo: rizóforos de *Vernonia cognata*

**Letícia Danielle Longuini Gomes**<sup>(1)</sup>, Armando Reis Tavares<sup>(2)</sup> & Edison Paulo Chu<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, São Paulo - SP. <sup>(2)</sup> Núcleo de pesquisa em Plantas Ornamentais, São Paulo - SP. E-mail para contato: letrilong@gmail.com

**Resumo:** Rizóforos de *V. cognata* apresenta órgão espessado subterrâneo com complexa indução de brotos e crescimento quando mantido em condições *in vitro*. O cultivo *in vitro* propicia vantagens para a produção comercial de mudas livres de contaminantes com maior produtividade em ambiente controlado. O objetivo do trabalho foi à indução de gemas e adequação de técnicas de desinfestação. A descontaminação foi inadequada inicialmente ocasionando resultados insatisfatórios em todos os explantes, principalmente nos órgãos subterrâneos em contato com o substrato. A esterilização superficial com AgNO<sub>3</sub> possibilitou resultados positivos na germinação de sementes *in vitro* e desenvolvimento de calos nos rizóforos e em folhas e caules cultivadas em 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 6-BA.

**Palavras-chave:** Contaminação, cultivo *in vitro*, desinfestação, órgão subterrâneo.

#### INTRODUÇÃO

*Vernonia cognata* Less. (Asteraceae) é uma espécie de Cerrado e seu órgão de reserva (rizóforos) é de origem caulinar, acumulando frutanos principalmente do tipo inulina. Este biopolímero solúvel é armazenado como oligo- e polifrutanos principalmente nos vacúolos das células, podendo ser encontrados tanto em órgãos subterrâneos como, bulbos, tubérculos, rizóforos e em órgãos fotossintetizantes como, folhas, sementes e inflorescências, estando relacionados à resistência a baixas temperaturas e períodos de restrição de água, atuando na osmorregulação. Além das raízes de *Dhalia* sp. (dália), *Cichorium intybus* (chicória) e tubérculos de *Helianthus tuberosus* (alcachofra), existem à procura de outras fontes de frutanos pelo crescente interesse alimentício, ecológico e farmacêutico. Assim a espécie *V. cognata* é

potencialmente opção para o uso sustentável do bioma cerrado (Cuzzuol *et al.* 2003).

*V. cognata* apresenta órgão espessado subterrâneo com complexa indução de brotos e crescimento, em condições *in vitro*. Por ser coletado no campo ou vasos, o contato direto com o substrato eleva a taxa de contaminação, dificultando a descontaminação (Barrueto & Zimmermann 2006).

Devido à alta taxa de doenças disseminadas através dos clones propagados, a técnica para evitar a contaminação dos explantes é o cultivo *in vitro* (Villamor *et al.* 2012). A técnica consiste em se utilizar pequenos fragmentos da planta, crescendo em condições assépticas; portanto as plântulas podem ser produzidas livres de doenças, em grande quantidade e em menor tempo (George 2008).

Sendo assim o objetivo do presente trabalho visou à adequação da técnica de desinfestação e indução de gemas no órgão subterrâneo em condições *in vitro* da espécie *Vernonia cognata*.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Sementes e plantas de *V. cognata* foram coletadas na Estação Experimental e Reserva Biológica de Mogi Guaçu – SP (22°18'S e 47°11'W) e cultivadas em casa de vegetação para a produção de folhas, gemas e caules aéreos.

Os cultivos *in vitro* foram realizados em meio MS completo (Murashige & Skoog 1962) com 3% de sacarose, pH 5,8 e 0,7% de ágar. Os explantes foram inoculados e mantidos em sala de cultura em condições controladas de 25 °C (± 2), em fotoperíodo de 16h (22,5 μmol fóton m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>).

***Vernonia cognata* - (sementes, parte aérea e rizóforos)** - O tratamento foi iniciado com sementes da planta mãe e separadas em três períodos de coleta, (1) prontas para dispersão (2) secas em ambiente laboratorial e (3) retiradas após 15 dias de coleta. As sementes dos três

períodos foram armazenadas a 10 °C. No teste de germinação, 100 sementes foram distribuídas em placas de Petri com quatro repetições. As sementes que germinaram foram quantificadas e retiradas das placas passando por três sistemas de desinfestação: (a) etanol 70% (1min) e NaClO (20 min); (b) lavagem em água corrente (20 min) e cloreto de mercúrio (4 min) e (c) etanol 70 % (30s), NaClO (20 min) e nitrato de prata 1% (10 min). As plântulas foram desinfestadas novamente em NaClO (10 min) antes de serem distribuídas em MS sem regulador, MS com reguladores (2 mg L<sup>-1</sup> e 4 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D) e MS com 4 mg L<sup>-1</sup> de 6-BA, com 4 plântulas por frascos (110 ml).

Os fragmentos da parte aérea foram desinfestados em água corrente e gotas de Tween 80 (5 min), água corrente (20 min), AgNO<sub>3</sub> 1% (10 min) e cultivados em meio MS controle (sem regulador), 6-BA (4, 10 e 50 mg L<sup>-1</sup>), 2,4-D (4, 10 e 50 mg L<sup>-1</sup>) e picloram (2, 5 e 20 mg L<sup>-1</sup>).

Os rizóforos de *V. cognata* foram lavados em água corrente, fragmentados de 3-5 cm, desinfestados com NaClO (4,22% Cl<sup>-</sup> por 7 min), nitrato de prata 1,5% (10 min). Os explantes não contaminados e com sinais de crescimento (calos, gemas ou raízes) foram transferidos para meio MS com agentes antioxidantes, 10% de água de coco e reguladores (2 mg L<sup>-1</sup> de 6-BA e 1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina).

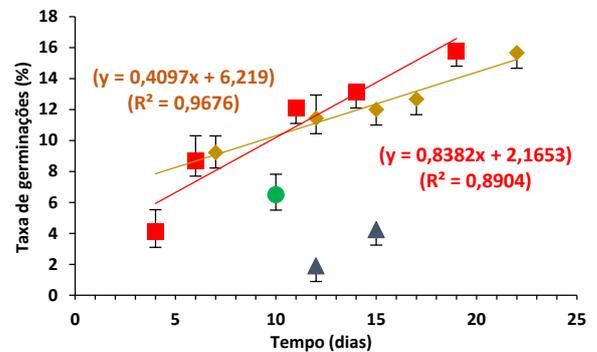
A análise de viabilidade de sementes foi por porcentagem de germinação realizando teste T (95%).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes do segundo e terceiro período de coleta não germinaram possivelmente pela inviabilidade das sementes. Muitas espécies da família Asteraceae apesar de produzirem um grande número de sementes, muitas apresentam ausência de embriões; Trevisan (2014) obteve uma taxa de 2,3% entre 5 e 30 dias após a inoculação, baixas quando comparadas com os resultados de Sasaki *et al.* (1999), com 11% em recém-coletadas e 7% após armazenamento em 4 °C. As sementes da primeira coleta tiveram taxa de germinação 15,7 ± 1,2%, superior ao descrito por Sasaki *et al.* (1999) mesmo após todos os tratamentos de esterilização superficial (Figura 1), sem diferenças estatísticas.

A dispersão é o melhor período para coleta, pois os frutos e sementes estão maduros e não foram expostas diretamente a fatores que reduzem sua viabilidade como alta umidade, ação

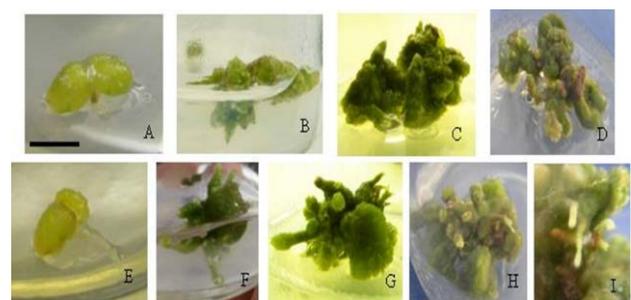
de patógenos e alto/baixa temperatura do campo (Trevisan 2014). Em sementes, longos períodos de desinfestação aliadas às altas concentrações do reagente podem não melhorar a descontaminação e reduzir a taxa de germinação.



● Teste preliminar; ▲ Esterilização (HgCl<sub>2</sub>);  
◆ Esterilização Lote 1 (AgNO<sub>3</sub>); ■ Esterilização Lote 1 (AgNO<sub>3</sub>)

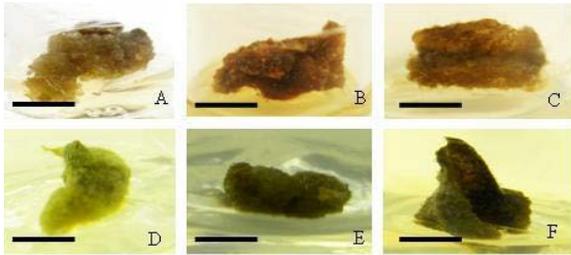
**Figura 1.** Germinação com sementes de *V. cognata*.

As plântulas retiradas a partir das sementes germinadas tiveram drásticas alterações do crescimento aéreo, raízes, e intensa proliferação de calos considerando que o seu cultivo foi em meio MS sem regulador, com calogênese, e posterior transferência permitiu um maior desenvolvimento das plantas (Figura 2).



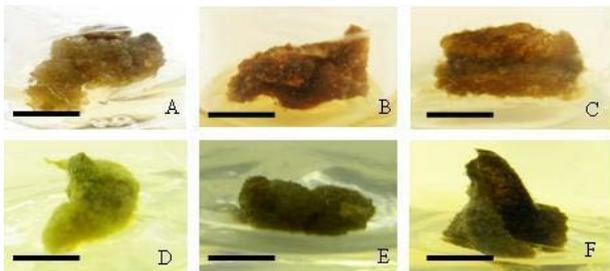
**Figura 2.** Desenvolvimento das plântulas de *V. cognata* germinadas.

Os fragmentos de folhas foram os que melhor responderam aos reguladores. O tratamento controle e 2,4-D (4,0 e 10,0 mg L<sup>-1</sup>), induziram o crescimento de calos (Figura 3), a oxidação dos explantes foi menor quando comparado aos tratamentos com picloram, os fragmentos não oxidados apresentaram-se intumescido.



**Figura 3.** Explantes foliares em diferentes concentrações de 2,4-D e 6-BA: (A) folha em 4 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D; (B) e (C) folha e caule em 10 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D; (D) folha em 4 mg L<sup>-1</sup> de 6-BA; (E) caule em 10 mg L<sup>-1</sup> de 6-BA e (F) folha em 50 mg L<sup>-1</sup> de picloram. Barra = ca. 1,2-2 cm.

Os rizóforos e caules após uma semana em sala de cultura teve 94% dos oito frascos por tratamento contaminados (Figura 4), apenas 6 responderam ao tratamento de assepsia, todos do tratamento controle, com crescimento de calos na parte superior do fragmento (Figura 5).



**Figura 4.** Contaminação de caules (A) a (C). Barra= ca. 1 cm.



**Figura 5.** Rizóforo com crescimento de calos, cultivado em MS sem regulador. Barra: ca. 2 cm.

A presença de microorganismos nos meios de cultura prejudica os explantes, pois além de

possível ataque à planta, também competem por nutrientes, carboidratos e minerais comprometendo a multiplicação e desenvolvimento (Ferreira *et al.* 2009).

### CONCLUSÃO

Para as sementes o melhor tratamento foi com 1,0% de AgNO<sub>3</sub> (10 min) não afetando a germinação e viabilidade das sementes. O relativo sucesso foi com primórdios de gemas, altas doses de antimicrobianos e elevado uso de reagentes desinfestantes.

Os rizóforos apresentam grandes dificuldades para desinfestação e induzir gemas (reguladores de crescimento, temperatura e principalmente fotoperíodo). A utilização de nitrato de prata apresentou os melhores resultados, necessitando o correto ajuste na concentração e tempo de exposição.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela bolsa (CNPq/PIBIC) concedida ao primeiro autor.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barrueto, L.P. & Zimmermann, M.J.** 2006. A contaminação *in vitro* de plantas. Embrapa, Brasília.
- Cuzzuol, R.F.G., Carvalho, M.A.M., Barbedo, C.J. & Zaidan, L.B.P.** 2003. Crescimento e conteúdo de frutanos em plantas de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby submetidas à adubação nitrogenada. Revista brasileira de Botânica 26: 81-91.
- Ferreira, M. das G.R., Santos, dos M.R.A. & Bragado, A.C.R.** 2009. Propagação *in vitro* de cupuaçuzeiro: desinfestação de explantes florais. Saber Científico 2: 37- 44.
- George, E.F.** 2008. Plant Tissue Culture Procedure – Background. In: George, E.F., Hall, M.A. & Klerk, G.-J.D. (Eds.), Plant Propagation by Tissue Culture. v.1 The Background. 3. ed. Dordrecht, Springer, pp. 1–28.
- Murashige, T. & Skoog, F.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physioly Plant 15: 473-497.
- Sasaki, R.M., Rondon, J.N., Zaind, L.B.P. & Felipe, G.M.** 1999. Germination of seeds from herbaceous plants artificially stored in cerrado soil. Revista Brasileira de Biologia 59: 271-279.
- Trevisan, F.** 2014. Cultivo *in vitro* de *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby e atividade e expressão de enzimas do metabolismo de frutanos. Tese de Doutorado. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Villamor, C.C.** 2012. Micropropagation Techniques for Ginger, *Zingiber Officinale* Rosc, an Importante Medicinal Plant. E-international Scientific Research Journal 4: 2094-1749.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas”

24ª RAIBt

### Principais compostos de reserva de sementes

## *Dahlia pinnata* em duas fases fenológicas: sementes maduras e sementes germinadas em água

Letícia Danielle Longuini Gomes<sup>(1)</sup> & Edison Paulo Chu<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, São Paulo - SP. E-mail para contato: [letrilong@gmail.com](mailto:letrilong@gmail.com)

**Resumo:** O gênero *Dahlia* spp é originário do México, classificado na família Asteraceae, tribo Coreopsidaea, com distribuição em todo o mundo. Vigor de germinação e potencial de armazenamento de sementes são influenciados pelos teores de componentes como carboidratos, lipídios e proteínas, variando conforme a espécie, mobilizados durante a germinação. Objetivou-se analisar carboidratos solúveis, proteínas solúveis e amido das sementes de *Dahlia pinnata* em duas fases fenológicas, comparando diferentes tipos de reserva mobilizada na fase inicial da germinação. Sementes foram separadas em dois grupos: sementes armazenadas em câmara fria (T0) e sementes germinadas (T1) em papel de filtro embebido com água destilada. As amostras foram secas por liofilização e determinaram-se os teores de carboidratos solúveis totais, amido, proteínas solúveis e lipídios. Os resultados indicaram maior mobilização e disponibilidade de proteínas solúveis seguido dos carboidratos, e uma estabilidade nos teores de amido. Conclui-se que a semente desta espécie utiliza como principal reserva inicial as proteínas solúveis.

**Palavras-chave:** *Dahlia pinnata*, mobilização de compostos de reserva, germinação.

### INTRODUÇÃO

*Dahlia pinnata*, planta nativa da América Central, originária do México, pertence à família Asteraceae, sendo herbácea ou

arbustiva, com raízes tuberosas que permite armazenamento de compostos de reservas e sua reprodução vegetativa (Ovando & Boettler 2006).

A água possui um papel fundamental na germinação das sementes, pois reativa os processos metabólicos e a síntese de novos compostos, (Junior *et al.* 2006). O vigor e o potencial de armazenamento de sementes são diretamente influenciados pelo teor dos compostos presentes. Estas substâncias são mobilizadas no decorrer da germinação e no desenvolvimento das plântulas e seus produtos de degradação são usados para diversos propósitos como geração de energia e produção de matéria-prima para a síntese de novas células e tecidos (Corte *et al.* 2006).

O objetivo foi avaliar as reservas de sementes de *Dahlia pinnata* em duas fases fenológicas: a primeira com sementes maduras não germinadas e a segunda com a protrusão da raiz primária e comparar os diferentes tipos de reservas das sementes.

### MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *D. pinnata* foram separadas em 2 grupos; (T0) sementes maduras (45 unidades em cada lote) sem indução a germinação foram separadas e armazenadas em câmara fria (4 °C); (T1) sementes germinadas, com protrusão da radícula. Os lotes de sementes (T0 e T1) foram pesadas em balança analítica para obter a massa de matéria fresca e posteriormente congeladas. A massa seca foi obtida pela secagem de todos os lotes no

equipamento SPEEDVAC Labconco a 35° C e 1.200 rpm) e pesadas em balança analítica.

Todas as amostras vegetais secas foram analisadas bioquimicamente. Com extração etanólica com etanol 80%, repetindo-se 3 vezes, extração de proteínas solúveis em solução de tampão fosfato 0,2 M pH 6,7 e extração de amido com ácido perclórico (McCready *et al.* 1950). Para a estimativa de lipídeos, o solvente da fração etanólica remanescente foram solubilização em acetato de etila e acetona, secas em SPEEDVAC e mesurado a massa seca. Todas as dosagens foram realizadas em triplicata expressos por mg g<sup>-1</sup> de massa seca ou massa fresca.

As estimativas das dosagens bioquímicas foram analisadas e comparadas por ANOVA.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *D. pinnata* (Figura 1) iniciaram a germinação entre 4 e 7 dias. As sementes do T1 tiveram média de 10,26% de massa seca e as sementes do T0 teve média de 33,15% de massa seca, desconsiderando a casca rígida em ambos os casos.



Figura 1. Semente de *D. pinnata*.

Comparando as duas análises observa-se que o principal composto mobilizado e disponível nas sementes de *D. pinnata* foi proteínas solúvel na fase de iniciação da germinação com a protrusão da radícula, seguido de carboidratos, e o amido não apresenta grandes diferenças em relação aos dois grupos (Figura 2).

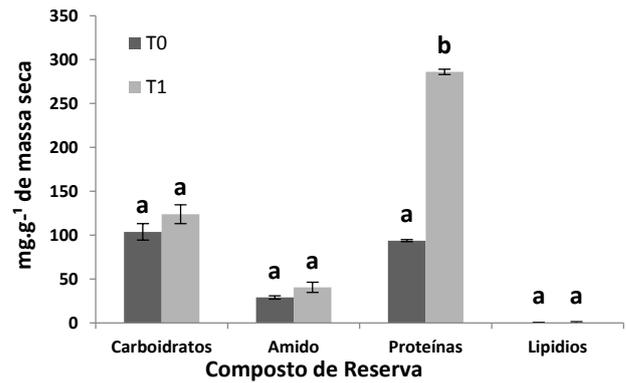


Figura 2. Compostos de reservas em duas fases fenológicas semente madura (T0) e plântula (T1; protrusão da radícula) em *Dahlia pinnata*; expressos em mg g<sup>-1</sup> de massa seca.

A germinação de sementes é iniciada somente com as reservas do próprio cotilédone. Sementes de *Caesalpinia peltophoroides*, mobilizam proteínas e carboidratos concomitantemente com a de lipídios havendo diminuição destes compostos ao iniciar a germinação (Corte *et al.* 2006). Sementes vigorosas apresentam maiores conteúdos de proteínas solúveis em relação às com menor vigor, estando relacionado à qualidade fisiológica e genética destas (Henning *et al.* 2010). As proteínas são utilizadas durante a germinação e crescimento das plântulas, só sendo mobilizadas nos cotilédones após a protrusão da raiz primária (pós-germinação).

Sementes de girassol comercial (*Helianthus annuus*), também da família Asteraceae apresenta reservas de lipídios entorno de 22 a 36%, e sua composição de lipídios depende da disposição das sementes no capítulo (Sorokin 1967; Alves 2012). Estes altos valores lipídicos estão associados às plantas que produzem sementes mais leves e menores para serem mais facilmente transportadas e dispersas (Kitajima 1996 *apud* Corte *et al.* 2006). As sementes de *D. pinnata* apresentam valores muito baixos de lipídios, tanto antes como após a embebição.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a principal mobilização inicial são proteínas solúveis, confirmando que este componente está disponível até a protrusão da radícula. Esta alta concentração de proteínas solúveis e estabilidade de carboidratos (solúveis totais e amido) possivelmente indicam outras fontes de compostos orgânicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, V.F., Junior, S de A., Santana, G.D. & Santos, dos M.C.** 2012 Composição química e qualidade fisiológica de sementes de girassol de plantas submetidas à competição intraespecífica. *Revista Brasileira de Sementes*. 34: 457-465.
- Corte, B.V., Borges, L.E.E., Pontes, A.C., Leite, A. de T.L., Ventrella, C.M. & Mathias, A.A.** 2006. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Revista Árvore* 30: 941-949.
- Henning, A.F., Mertz, M.L., Junior, J.A.E., Machado, D.R., Fiss, G. & Zimmer, D.P.** 2010. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. *Campina*, 69: 727-734.
- Junior, W.A., Pimentel, D.L., Silva da, R.J., Negreiros, Neres, L.R.C., Alexandre, S. R., Diniz, R.E. & Bruckner, H.C.** 2006. Influência do tempo de embebição em água sobre a dormência de sementes de pinha (*Annonas quamosa* L.). *Revista Ceres* 53: 317-321.
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira, V. & Owens, H.S.** 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. *Analytical Chemistry* 22: 1156-1158.
- Ovando, M. em C. Luz Ma. & Boettler, R.B.** 2006. La *Dahlia* una belleza originaria de México. *Revista Digital Universitária*, 7: 1-11.
- Sorokin, H.P.** 1967. The spherosomes and the reserve fat in plant cells. *American Journal Botany* 54: 1008-1016.



# 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

## “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### Maturação de frutos e sementes de jerivá

**Valéria Augusta Garcia**<sup>(1)</sup>, Mônica Valéria Cachenco<sup>(2)</sup> & Cláudio José Barbedo<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa RBASP e PEFI, Centro de Pesquisa Jardim Botânico e Reservas, Instituto de Botânica – SMA/SP, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup>Núcleo de Pesquisa em Sementes, Centro de Pesquisa em Ecologia e Fisiologia, Instituto de Botânica – SMA/SP, São Paulo, SP. E-mail para contato: val.garcia@ibot.sp.gov.br

**Resumo:** A família Arecaceae apresenta importância econômica, paisagística e ecológica nas diversas regiões tropicais do mundo. Contudo, há necessidade de se estudar um maior número de espécies e de se conhecer sobre a origem e o desenvolvimento das estruturas de suas sementes associando-o às modificações que caracterizam a sua maturação. Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar estudos sobre o desenvolvimento e maturação dos frutos e sementes para favorecer o aumento do conhecimento sobre a maturidade de *S. romanzoffiana* e determinar o ponto de colheita para propagação. Para tanto, análises físicas e fisiológicas de sementes (massa seca e grau de umidade, germinação e índice de velocidade de germinação), utilizando material botânico de indivíduos cultivados no Vale do Ribeira, município de Pariquera-açu/SP. A coloração do fruto de *S. romanzoffiana* não diferenciou a capacidade germinativa dos pirênios, não estabelecendo diferenças entre os estádios de maturação (de 135 a 174 DAAE). Assim, a colheita de frutos visando sementes para a produção de mudas, pode ocorrer a partir dos 135 dias após a abertura da espata.

**Palavras-Chave:** Arecaceae, palmeira, pirênios, *Syagrus romanzoffiana*.

#### INTRODUÇÃO

Além dos usos comerciais, as palmeiras são de grande importância para o paisagismo e para os trabalhos de recomposição dos ecossistemas florestais. Seus frutos, em geral, constituem uma rica fonte de energia para os animais silvestres pela grande quantidade de óleos e carboidratos. Esta família constitui um componente de valor ecológico dentro das comunidades de plantas nas florestas tropicais e na rede de interações com

polinizadores e dispersores (Fleury 2004, Galetti *et al.* 2006, Bernacci *et al.* 2008).

Dentre as palmeiras da Mata Atlântica destaca-se o jerivá ou jarová (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman), sendo uma espécie muito utilizada para ornamentação e indicada para programas de restauração de áreas degradadas e recomposição de matas ciliares (Davide *et al.* 2001). Ela é considerada heliófita e particularmente abundante nos agrupamentos vegetais primários (Lorenzi 1992). Depende de animais para dispersar as suas sementes, que por serem grandes, os seus principais dispersores são mamíferos herbívoros de médio e grande porte (Galetti *et al.* 2006). A produção de mudas das palmeiras é feita quase que exclusivamente por sementes, tendo geralmente baixa porcentagem de germinação, lenta e desuniforme (Broschat 1994, Meerow 2004, Pivetta *et al.* 2007). Trabalhos realizados com algumas espécies de palmeiras têm mostrado variações na germinação em função do estádio de maturação. Dessa forma, este estudo ressalta a importância de avaliar as características físicas do fruto, bem como relacioná-las com os aspectos fisiológicos para que se possam identificar as principais modificações que caracterizam a maturação para que se possa contribuir para um melhor entendimento da fisiologia das sementes de *S. romanzoffiana*.

#### MATERIAL E MÉTODOS

As matrizes selecionadas para colheita dos frutos encontram-se no Pólo Regional de Desenvolvimento Sustentável dos Agronegócios do Vale do Ribeira – APTA/SAA-SP, localizado na Rodovia Regis Bittencourt, km 460 (BR-116), município de Pariquera-Açu (24°36'31"S e 47°53'48" O, a 25 metros s.n.m).

O estádio I de maturação foi determinado pela presença de endosperma completamente sólido em sementes de frutos com pericarpo completamente

verde. Características do fruto e a sequência de maturação estipuladas por estádios: Estádio I: verde - 135 dias após abertura da espata (DAAE); Estádio II: coloração mesclada com predomínio da cor verde - 148 DAAE; Estádio III: coloração mesclada com predomínio da cor laranja - 161 DAAE; Estádio IV: maduro, totalmente laranja - 174 DAAE.

O material botânico coletado foi levado para o Laboratório de Sementes do Núcleo de Pesquisa em Sementes do Centro de Pesquisa em Ecologia e Ecofisiologia do Instituto de Botânica de São Paulo (SP) onde as análises foram realizadas. Primeiramente, os frutos foram destacados manualmente do cacho e separados em lotes. Em seguida, os frutos ficaram imersos em água por 24 horas, e logo após o epicarpo e o mesocarpo foram removidos por meio de atrito manual contra a peneira de malha de aço sob água corrente. Os pirênios (sementes com o endocarpo aderido) foram enxaguados e secos à sombra por duas horas.

Para avaliar diferentes parâmetros fisiológicos da espécie estudada nas diferentes fases de maturação foram analisados:

- Massa seca e grau de umidade de pirênios: avaliado pelo método da estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}/24$  horas (Brasil 2009), utilizando-se quatro repetições de 25 pirênios inteiros;
- Teste de germinação: foi conduzido com 25 pirênios em cada uma das quatro repetições, na temperatura alternada de  $20-30^\circ\text{C}$  e luz ( $78 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}/12\text{h}$ ), em vermiculita em caixas do tipo gerbox. A contagem foi realizada a partir da protrusão inicial da raiz primária, a cada dois dias, do 7º dia após a semeadura até cessar a germinação, quando foram calculadas as porcentagens.
- Índice de velocidade de germinação: foi obtida concomitantemente ao teste de germinação. Para o cálculo do IVG, empregou-se a fórmula proposta por Maguire (1962), na qual:  $\text{IVG} = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ , onde: G1, G2, Gn = número de sementes germinadas computadas na primeira contagem, na segunda contagem até a última contagem; N1, N2, Nn = número de dias da semeadura à primeira, segunda até a última contagem.

No procedimento estatístico, a análise de variância foi realizada separadamente para cada parâmetro, segundo delineamento experimental inteiramente casualizado. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de

significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa na variável grau de umidade (tabela 1), apresentando média de 19,7%. Já para massa seca, os pirênios nos estádios III e IV tiveram resultados maiores que os dos estádios I e II.

Tabela 1: Grau de umidade e massa seca de pirênios de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) em diferentes estádios de maturação e coloração dos frutos. São Paulo (SP), 2012.

Estádio de maturação	Grau de umidade (%)	Massa seca (g)
I	21,29 a	1,67 b
II	19,58 a	1,80 b
III	19,13 a	3,11 a
IV	18,79 a	3,04 a
Média	19,7	2,40
Desvio padrão	1,11	0,78
CV (%)	7,65	5,37

Os pirênios provenientes dos estádios de maturação III e IV tiveram IVG superior aos do estádio I (figura 1), contudo quanto ao percentual de germinação não houve diferença significativa (figura 2) entre os diferentes estádios. Aos 39 dias os estádios II e IV apresentaram o valor máximo de germinação, ambos 91,25 %.

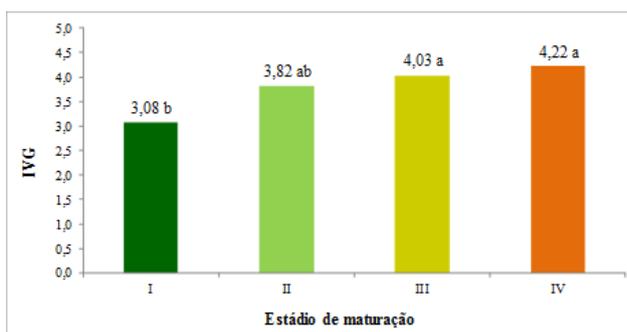


Figura 1. Índice de velocidade de germinação (IVG) de quatro repetições de 25 pirênios jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) em diferentes estádios de maturação do fruto (I, II, III e IV). São Paulo (SP), 2012. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

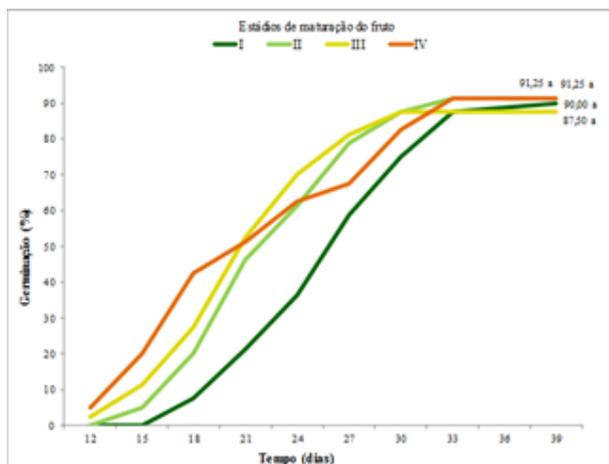


Figura 2. Germinação (%) de quatro repetições de 25 pirênios de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) em diferentes estádios de maturação do fruto (I, II, III e IV) no decorrer de 39 dias em germinadores (BOD) com temperatura constante de 25°C, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro. São Paulo (SP), 2012. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Os valores de massa seca, germinação e vigor de pirênios de *S. romanzoffiana* aproximaram-se mais dos esperados na maturação de sementes ortodoxas, caracterizando um máximo acúmulo de massa seca no estágio III, quando os valores de germinação e vigor eram máximos ou muito próximos a eles. De acordo com Popinigis (1985), Alves *et al.* (2005) e Carvalho & Nakagawa (2012), a massa seca tem sido o melhor índice do estágio de maturação das sementes de muitas espécies, sendo que seu valor mais elevado corresponde ao ponto de maturidade fisiológica.

A média do grau de umidade de *S. romanzoffiana* foi próximo a 20%, bem abaixo do que se reportam alguns trabalhos com sementes de outras palmeiras: 47% em *Archontophoenix alexandrae* (F. Mueller) H. Wendl. & Drude (Martins *et al.* 2003), 40% em *Euterpe oleracea*, 51% em *Euterpe espirosantensis* Fernandes, e 35% em *Dypsis lutescens* (H. Wendl.) Beentje & J. Dransf. (Negreiros & Perez 2004). Porém, estudos recentes com *S. romanzoffiana* (Goudel *et al.* 2013, Oliveira *et al.* 2015) relatam que pirênios recém colhidos apresentaram teor de água de 13% a 18%, sugerindo que as sementes dessa espécie são tolerantes à dessecação, não se enquadrando na classificação de recalcitrante. Esses mesmos autores indicam que novos estudos

com desidratação controlada são necessários a fim de determinar o teor crítico e níveis letais, bem como as condições ideais de armazenamento. A semente de *S. romanzoffiana* poderia ser classificada como de comportamento intermediário entre ortodoxas e recalcitrantes, descrito por Ellis *et al.* (1990). Por outro lado, Farrant *et al.* (1988) propuseram a separação das sementes recalcitrantes em “altamente”, “moderadamente” e “minimamente” recalcitrantes e as de *S. romanzoffiana* provavelmente estariam dentro desta última. Contudo, segundo Barbedo *et al.* (2013) as variações no nível de recalcitrância, vistos pela tolerância à dessecação e pelo potencial de armazenamento, podem ocorrer entre sementes da mesma espécie, sob influência de fatores genéticos ou ambientais, como observado em trabalhos experimentais (Daws *et al.* 2006, Lamarca *et al.* 2015).

Pivetta *et al.* (2005), estudando a germinação de três estádios de maturação (I, II e III) de *Syagrus schizophylla* (Mart.) Glassman, onde as sementes de frutos amarelos e vermelhos, estágio II e III, apresentaram maior germinação e IVG quando comparado com a germinação de sementes de frutos verdes. No trabalho de Broschat & Donselman (1987) com *S. romanzoffiana*, verificou-se maior capacidade germinativa em frutos verdes quando comparado com frutos maduros. O mesmo comportamento foi verificado para o IVG nesse estudo, mas obteve resultado distinto para a germinação, que não apresentou diferença entre os quatro estádios de maturação.

## CONCLUSÕES

Em *S. romanzoffiana*, a coloração do fruto não diferenciou a capacidade germinativa dos pirênios, não estabelecendo diferenças entre os estádios de maturação (de 135 a 174 DAAE). Assim, a colheita de frutos visando sementes para a produção de mudas, pode ocorrer a partir dos 135 dias após a abertura da espata.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, E. U., Bruno, R. D. L. A., Oliveira, A. D., Alves, A. U. & Paula, R. D. 2005. Influência do tamanho e da procedência de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. sobre a germinação e vigor. Revista Árvore 29 (6): 877-885.
- Barbedo, C. J., Centeno, D. D. C. & Ribeiro, R. D. C. L. F. 2013. Do recalcitrant seeds really exist?. Hoehnea, 40 (4): 583-593.

- Bernacci, L. C., Martins, F. R. & Santos, F. A. M. 2008.** Estrutura de estádios ontogenéticos em população nativa da palmeira *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (Arecaceae). Acta Botanica Brasílica, 22 (1): 119-130.
- Brasil. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. 2009.** Regras para análise de sementes. Brasília, SNAD/DNDV/CLAV.
- Broschat, T. K. 1994.** Palm seed propagation. Acta Horticulturae 360: 141-147.
- Broschat, T. K. & Donselman, H. 1987.** Effects of fruit maturity, storage, presoaking, and seed cleaning on germination in three species of palms. Journal of Environmental Horticulture 5 (1): 6-9.
- Carvalho, N.M. & Nakagawa, J. 2012.** Sementes: ciência, tecnologia e produção. FUNEP, Jaboticabal.
- Davide, A., Leite, J., & Tonetti, O. 2001.** Influência do endocarpo e da lavagem de sementes na germinação de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassm.). Informativo Abrates, 11 (2): 283.
- Daws, M.I., Cleland, H., Chmielarz, P., Gorin, F., Leprince, O., Matthews, S., Mullins, C.E., Thanos, C.A., Vandvik, V. & Pritchard, H.W. 2006.** Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplatanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? Functional Plant Biology 33: 59-66.
- Ellis, R. H., Hong, T. D. & Roberts, E. H. 1990.** An intermediate category of seed storage behavior. Journal of Experimental Botany 41: 1167-1174.
- Farrant, J. M., Pammenter, N. W. & Berjak, P. 1988.** Recalcitrance – a current assessment. Seed Science and Technology 16 (1): 155-166.
- Fleury, M. & Galetti, M. 2004.** Effects of microhabitat on palm seed predation in two forest fragment in southeast Brazil. Acta Oecologica 26: 179-184.
- Galetti, M., Donatti, C. I., Pires, A. S., Guimarães, P. R. & Jordano, P. 2006.** Seed survival and dispersal of an endemic Atlantic forest palm: the combined effects of defaunation and forest fragmentation. Botanical Journal of the Linnean Society, 151 (1): 141-149.
- Goudel, F., Shibata, M., Coelho, C. M. M., & Miller, P. R. M. 2013.** Fruit biometry and seed germination of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassm. Acta Botanica Brasílica 27 (1): 147-154.
- Lamarca. E.V., Camargo, M.B.P., Teixeira, S.P., Silva, E.A.A., Faria, J.M.R. & Barbedo, C.J. 2015.** Variações da tolerância à dessecação em sementes de *Eugenia pyriformis*: dispersão em diferentes estádios de maturação. Revista Ciência Agronômica. (in press).
- Lorenzi, H. 1992.** Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Editora Plantarum, Nova Odessa.
- Maguire, J. D. 1962.** Speed of germination aid in selection and evaluation for emergence and vigour. Crop Science 2: 176-177.
- Martins, C. C., Bovi, M. L. A. & Nakagawa, J. 2003.** Desiccation effects on germination and vigor of King palm seeds. Horticultura Brasileira 21: 88-89.
- Meerow, A. W. 2004.** Palm seed germination. Cooperative Extension Service, Florida.
- Oliveira, T. G. S., José, A. C., Ribeiro, L. M. & Faria, J. M. R. 2015.** Longevity and germination of *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae) seeds and its ecological implications. International Journal of Tropical Biology and Conservation 63 (2): 333-340.
- Pivetta, K. F. L., Paula, R. C., Cintra, G. S., Pedrinho, D. R., Casali, L. P., Pizetta, P. U. C., Sarzi, I. & Pimenta, R.S. 2005.** Effects of maturation and scarification on seed germination of *Syagrus schizophylla* (Mart.) Glass. (Arecaceae). Acta Horticulturae 683: 375-378.
- Pivetta, K. F. L., Barbosa, J. G. & Araújo, E. F. 2007.** Propagação de palmeiras e strelitzia. In: Barbosa, J. G.; Lopes, L. C. Propagação de Plantas Ornamentais. Viçosa: pp. 43-70.
- Popinigis, F. 1985.** Fisiologia da semente. Ministério da Agricultura – AGIPLAN, Brasília, DF.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

24ª RAIBt

## Análises fisiológicas e morfológicas de *Alcantarea imperialis* e *Aechmea fasciata* submetidas ao déficit hídrico

Letícia D. L. Gomes<sup>(1)</sup>, Maurício L. Ferreira<sup>(2)</sup>, Karina G. da Silva<sup>(2)</sup>, Armando R. Tavares<sup>(1)</sup> & Shoey Kanashiro<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP. E-mail para contato: letrilong@gmail.com

**Resumo:** Bromélias são plantas que ocupam diversos locais, como méxicos, xéricos e ombrófilos, com hábitos desde terrícolas a epífitas extremas. Ao longo da vida das plantas o déficit hídrico está entre o fator ambiental que mais afeta o desenvolvimento atingindo as plantas em diversos níveis. Entre as adaptações a seca, o metabolismo CAM está entre as modificações fisiológicas que permitem o melhor aproveitamento do uso da água em relação ao C<sub>3</sub>. Objetivou-se avaliar os parâmetros fisiológicos e morfológicos das bromélias *A. imperialis* e *A. fasciata* quando submetidas a diferentes regimes hídricos. O experimento foi realizado com 3 coletas aos 30, 60 e 90 dias em tratamentos de controle, reidratado e seca, avaliando-se ao fim de cada coleta parâmetros morfológicos e fisiológicos por técnicas destrutivas e não destrutivas. As espécies ao fim do experimento apresentaram resultados semelhantes, sem modificações no peso de matéria de massa seca e fresca, e rápida recuperação nos teores de água foliar aos 90 dias com a retomada da irrigação. A eficiência do Fotossistema II entre os tratamentos, apresentou diferenças significativas nos valores de Fv/Fm em ambas as espécies. Conclui-se através deste estudo que tanto *A. fasciata* como *A. imperialis* são tolerantes ao ambiente com baixa disponibilidade hídrica.

**Palavras-Chave:** regime hídrico, metabolismo fotossintético, desenvolvimento, bromélia.

### INTRODUÇÃO

A família Bromeliaceae pode ser considerada um dos grupos mais diversos devido suas características peculiares, que permitem a

manutenção da biodiversidade biológica do ecossistema e propicia diferentes micro habitats para inúmeras espécies de animais (Rocha *et al.* 2000). Seus representantes ocupam ambientes méxicos, xéricos e ombrófilos como resultado de processos adaptativos, podendo ter hábitos desde terrícolas até epífitos extremos (Rocha *et al.* 2004).

Uma das adaptações mais recorrentes em bromélias epífitas é a presença de tricomas absorptivos em suas folhas, conferindo a elas propriedades permeáveis (Hamachi 2013). Outra modificação é a sobreposição de suas folhas em forma de roseta, formando assim o fitotelmo (tanque), servindo como reservatório de detritos orgânicos e água.

O déficit hídrico atinge as plantas em diversos níveis, levando a modificações morfológicas, fisiológicas, genéticas e bioquímicas, além da redução dos componentes de crescimento expansivos, como extensão das folhas maduras, estas alterações dependem da intensidade, estágio do déficit hídrico e genótipo (Belloti 2012; Ashraf *et al.* 2011).

*Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms, pertence à subfamília Tillandsioideae, possuindo grande interesse econômico pela sua beleza e uso ornamental. A espécie possui hábito rupícola, com crescimento em afloramentos rochosos ou solos rasos e pedregosos, e sob altas intensidades luminosas. Tem grande plasticidade a temperatura e tolerância ao frio (Mollo 2009). *Aechmea fasciata* Baker é a espécie de bromélia mais conhecida no mundo, exclusiva da Floresta do Rio de Janeiro e do Espírito Santo (Sanchez 2009; Reitz 1983). A espécie é herbácea, epífita, acaule, de folhagem e florescimento vistoso com

inflorescências simples (Reitz 1983; Lorenzi 2001).

Tendo em vista a capacidade de muitas plantas tolerarem períodos de seca, por meio de adaptações e sendo *A. imperialis* e *A. fasciata* muito utilizadas na ornamentação é importante compreender suas estratégias para sobreviver aos períodos de seca. O objetivo foi analisar os parâmetros fisiológicos e morfológicos das espécies quando submetidas a diferentes regimes hídricos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material botânico e delineamento amostral

Mudas de *A. imperialis* foram obtidas do Viveiro Manequinho Lopes localizado no Parque do Ibirapuera e *A. fasciata* de mudas produzidas no Instituto de Botânica, localizado em São Paulo, SP.

As plantas foram separadas ao acaso e submetidas a três tratamentos de regimes hídricos: A) controle; B) reidratação; C) seca. Cada tratamento foi dividido em três blocos com duas plantas, somando seis plantas por tratamento totalizando 54. Foram realizadas três coletas nos intervalos de 30, 60 e 90 dias, avaliando os caracteres fisiológicos e morfológicos.

### Análises fisiológicas e bioquímicas

Foram realizadas análises morfométricas: diâmetro do caule e número de folhas (Silva 2015).

Folhas, caule e raiz foram separadas e pesadas para determinar biomassa seca e posteriormente foram colocadas em estufa a 70 °C até peso constante (Lima *et al.* 2007).

Ao final de cada coleta, foram selecionadas 03 plantas de cada tratamento. Foram coletados dois discos da quarta folha e pesados imediatamente para mensurar o peso de matéria fresca. Em seguida os discos foram submersos em água por 24 horas e, após esse período, pesados para determinar o peso saturado. Por fim, foram colocados em estufa a 60 °C durante 72 h para determinar a matéria seca. O CRA foi estimado pelo cálculo:  $CRA (\%) = (Pf - Ps) / (Psat - Ps) \cdot 100$  (Weatherley 1950).

### Fluorescência da clorofila a

As medidas foram realizadas em folhas totalmente expandidas, conforme o método do pulso de saturação (Schreiber *et al.* 1994), utilizando o fluorômetro de pulso. Foram determinados os valores de fluorescência inicial ( $F_0$ ) e máxima ( $F_m$ ) após 30 min de escuro. A

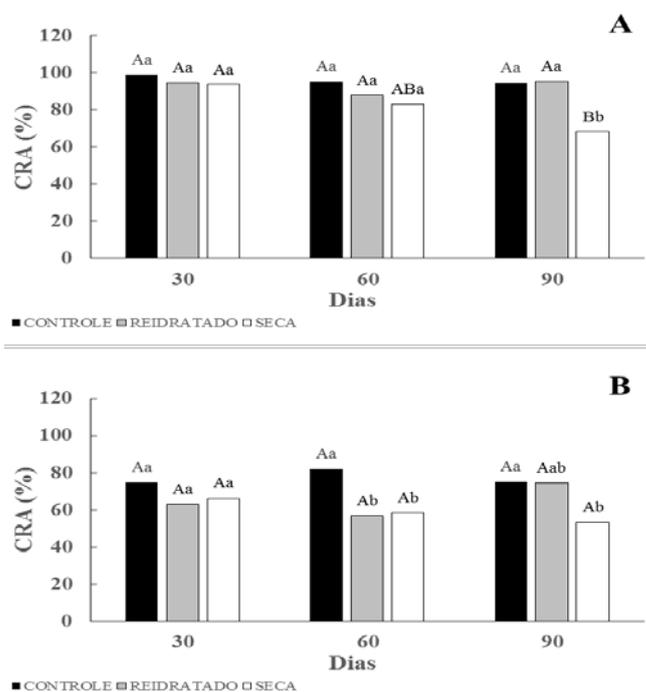
eficiência quântica potencial do fotossistema II (FSII) foi calculada pela razão  $F_v/F_m$ , sendo  $F_v$  a fluorescência variável calculada pela equação  $F_v = F_m - F_0$ .

### Análise Estatística

Os dados das variáveis morfológicas e fisiológicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ), considerando como variáveis independentes: tempo de coleta e os tratamentos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

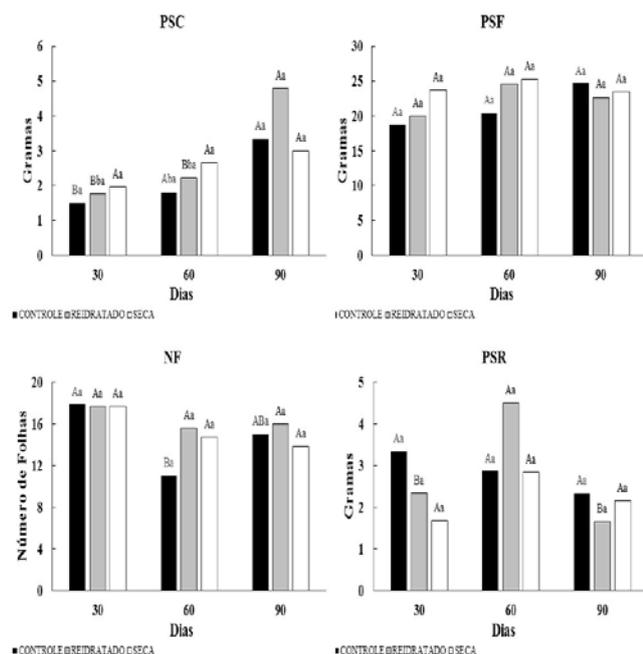
Os valores de CRA para *A. imperialis* e *A. fasciata*, dos tratamentos de suspensão hídrica e controle não apresentaram diferenças durante o experimento (Figura 1A). As plantas submetidas ao déficit hídrico durante o experimento apresentaram diferenças no CRA somente a partir de 60 dias. As duas espécies recuperaram os valores de CRA após a retomada das regas, sendo que *A. imperialis*, bromélia C3, apresentou os menores valores aos 60 dias de tratamento do que *A. fasciata* com metabolismo CAM.



**Figura 1.** Conteúdo Relativo de Água (CRA) em *A. fasciata* (A) e *A. imperialis* (B) submetidas a diferentes regimes hídricos.

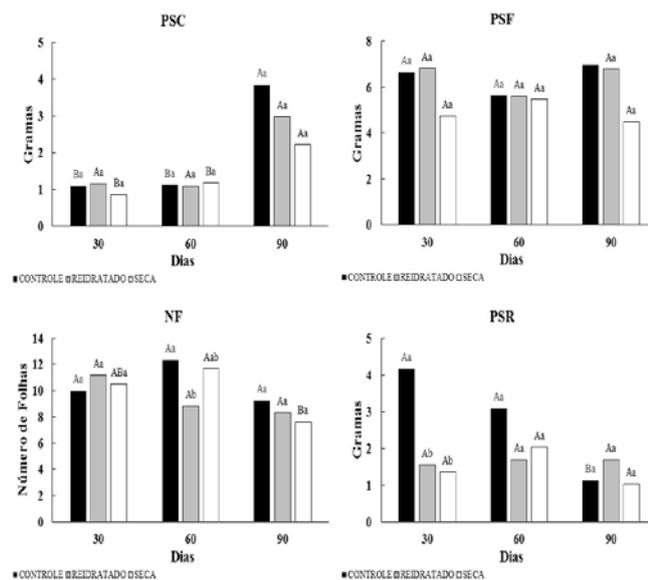
*A. fasciata* não apresentou diferenças significativas para o PSF (Fig. 2). O PSC apresentou os maiores valores aos 90 dias e o PSR os menores valores aos 90 dias no tratamento Reidratado. O NF tiveram os

menores valores aos 60 dias no tratamento Controle.



**Figura 2.** Peso seco de caule raiz e folhas e número de folhas de *A. fasciata*.

*A. imperialis* não apresentou diferença significativa para o PSF (Fig. 3). O PSC apresentou os maiores valores aos 90 dias para todos os tratamentos e o PSR os menores valores aos 90 dias no tratamento Controle. O NF tiveram os menores valores aos 90 dias no tratamento Seca.

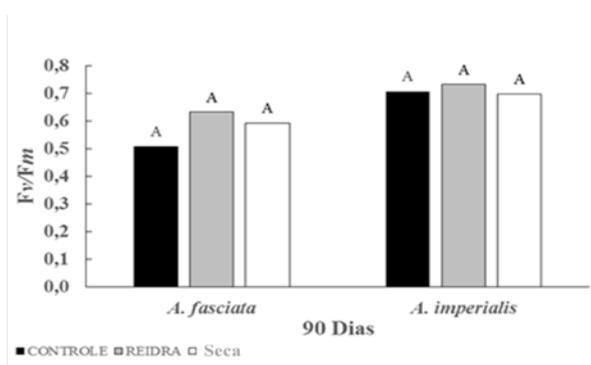


**Figura 3.** Peso seco de caule raiz e folhas e número de folhas de *A. imperialis*.

As plantas apresentam diferentes estratégias de adaptação ao déficit hídrico, evitando ou tolerando o estresse. Quando são capazes de tolerar, elas mantêm suas condições normais, mesmo em regime hídrico, o que requer a manutenção das funções da planta em condições de disponibilidade de água ou a rápida reidratação (Belloti 2012). As baixas taxas de crescimento observados nas duas espécies podem ser explicadas por adaptações ao déficit hídrico, sendo elas a baixa densidade estomática em suas folhas e alta frequência de parênquimas aquíferos que auxilia a sobrevivência em ambientes como os dosséis, porém estas alterações morfológicas interferem na absorção de CO<sub>2</sub>, e conseqüentemente reduzindo as taxas de CO<sub>2</sub> e de crescimento (Maxwell 2002).

Plantas CAM suportam períodos mais prolongados sem suprimento de água, o que possivelmente contribui para a estabilidade dos dados obtidos em *A. fasciata* (Taybi *et al.* 2004). Apesar da sua origem ainda ser mal compreendido, em Bromeliaceae, o CAM surgiu pelo favorecimento da aridez e declínio das concentrações de CO<sub>2</sub> durante o Terciário (Crayn *et al.* 2004). O tipo fotossintético C<sub>3</sub>, tem como resposta típica ao déficit hídrico o fechamento estomático, o que leva ao declínio da fotossíntese pela falta de CO<sub>2</sub>, podendo levar a danos permanentes no aparato fotossintético e a morte do exemplar (Nascimento 2012). No entanto, *A. imperialis* uma espécie C<sub>3</sub>, apresentou resultados significativamente semelhantes aos da espécie CAM.

As razões de *Fv/Fm* (Fig. 4), não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos para as duas espécies, contudo os valores apresentados pelo tratamento controle de *A. fasciata* sugere o possível evento de fotoinibição. Segundo Bolhàr-Nordenkampf *et al.* (1989), plantas quando não estão sob condições de déficit hídrico possui razão *Fv/Fm* entre 0,75 a 0,85. Valores abaixo de 0,5 pode ser indicativo do dano fotoinibitório nos centros de reações do PSII.



**Figura 4.** Resposta da razão entre  $F_v/F_m$  aos 90 dias em comparação aos tratamentos, em *A. fasciata* e *A. imperialis*.

### CONCLUSÃO

Sugere-se que ambas as espécies sejam tolerantes a restrições hídricas, respondendo com modificações morfológicas como o enrolamento do ápice de suas folhas aos 60 dias e a recuperação do padrão usual após a retomada da irrigação. Os valores de CRA permaneceram sem alterações significativas, tanto na planta CAM como na C3, mostrando a manutenção do status hídrico.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq-PIBIC pela bolsa da primeira autora.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ashraf, M., Akram, N.A., Al-Qurainy, F. & Foolad, M. R.** Drought tolerance: roles of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients, *In: Donald L. Sparks, Advances in Agronomy*, Burlington: Academic.
- Belloti, M.** 2012. Mecanismos de descarboxilação da fotossíntese C4 e discriminação isotópica para seleção de genótipos do complexo *Saccharum* spp. Tolerante à seca. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Bolhàr-Nordenkamp, H. R.; Long, S. P.; Baker, N. R.; Öquist, G.; Schreider, U.; Lechner E. G.** 1989. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrument. *Functional Ecology*, v.3, p.497-514.
- Crayn, D. M.; Winter, K.; Andrew, J.; Smith, C.** 2004. Multiple Origins of Crassulacean Acid Metabolism and Epiphytic Habit in the Neotropical Family Bromeliaceae. *PNAS*, 101: 3703-3708.
- Hamachi, L.** 2013. Competência para a expressão da fotossíntese CAM em plantas de *Guzmania monostachia* (Bromeliaceae) em diferentes fases ontogenéticas. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Inman-Bamber, N.G. & Smith, D.M.** 2005. Water relations in sugarcane and response to water deficits. *Field Crops Research*, 92:185-202.
- Lima, J.D., Silva, S.B.M. & Moraes W. Da S.** 2007. Efeito da intensidade de luz no crescimento de mudas de *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. *Publicatio UEPG-Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias*, 13:30-45.
- Lorenzi, H. & De Souza H.M.;** 2001. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa: Editora Plantarum.
- Maxwell, K.** 2002. Resistance is useful: diurnal patterns of photosynthesis in C3 and crassulacean acid metabolism epiphytic bromeliads. *Functional Plant Biology* 29: 679-687.
- Mollo, L.** 2009. Efeito da temperatura no crescimento, no conteúdo e na composição de carboidratos não estruturais de plantas de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms (Bromeliaceae) cultivadas *in vitro*, São Paulo, Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Nascimento, R. D.** 2012. Respostas de CAM às variações ambientais na *Brómelia Dickya tuberosa* (Vellozo) Beer. São Paulo, 2012. 63p. Dissertação (Mestre em Ciências) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo,
- Reitz, R.** 1983. Bromeliáceas e a malária-bromélia endêmica. Itajaí: Flora Ilustrada Catarinense.
- Rocha, C.F.D. Da., Carvalho, L.C., Freitas, A.F.N., Rocha, P.T.C., Dias, A. Dos S., Ariani, C.V. & Morgado, L.N.** 2004. Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. *Research Gate*, 2: 52-72.
- Rocha, C.F.D.L., Carvalho, C.D.R.A. & Freitas A. F.N.** 2000. Bromeliads: Biodiversity amplifiers. *Journal of Bromeliad Society*, 50:81-83.
- Sanches, C.V.L.** 2009. Desenvolvimento de *Aechmea fasciata* (Bromeliaceae) em função de diferentes saturações por bases no substrato e modos de aplicação da fertirrigação. São Paulo, Dissertação de Mestrado, UNESP, São Paulo.
- Schreiber, U., Bilger W. & Neubauer C.** 1994. Chlorophyll fluorescence as non-destructive indicators for rapid assess assessment of *in vivo* photosynthesis. *In: E.-D. Schulze, M.M. Caldwell* (eds.). *Ecophysiology of photosynthesis*. Ecological studies 100. Springer-Verlag, p. 49-70.
- Silva, Da G.K.** 2015. Crescimento e funcionalidade do sistema radicular de bromélias epífitas ornamentais submetidas a concentrações de nitrogênio e regimes hídricos, Dissertação de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo.
- Taybi, T.; Nimmo, H. G.; Borland, A. M.** Expression of phosphoenolpyruvate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxylase kinase genes implications for genotypic capacity and phenotypic plasticity in the expression of crassulacean acid metabolism. *Plant Physiology*, 135:587-598, 2004.
- Weatherley, P.** 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. *New Phytologist* 49: 81-97.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

#### Estudos químicos e das atividades anticolinesterásica e antifúngica de extratos da macroalga *Colpomenia sinuosa* (Phaeophyceae)

**Wilson Vieira Lopes Junior**<sup>(1)</sup>, Beatriz Ribeiro dos Santos<sup>(1)</sup>, Cynthia Murakami<sup>(2)</sup>, Angelica Nunes Garcia<sup>(1)</sup>, Erika Mattos Stein<sup>(3)</sup>, Pio Colepícolo Neto<sup>(3)</sup>, Nair Sumie Yokoya<sup>(1)</sup> & Luciana Retz de Carvalho<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Departamento de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. E-mail para contato: [wilsonvieiralopes@gmail.com](mailto:wilsonvieiralopes@gmail.com)

**Resumo:** As macroalgas marinhas pertencem ao grupo não homogêneo de organismos denominado “Algae”; são fotossintetizantes, não vasculares e apresentam estruturas reprodutivas simples. Esses organismos produzem numerosos metabolitos secundários como estratégia adaptativa ao meio ambiente e defesa contra predadores, epífitas e competidores. Muitas dessas substâncias, que possuem ações terapêuticas, nutracêuticas ou tóxicas, têm apreciável valor comercial, pois podem ser empregadas diretamente como fármacos ou deles serem protótipos. Para avaliar o potencial biológico, quanto à produção de substâncias com atividades antioxidante, antifúngica e anticolinesterásica da macroalga marinha *Colpomenia sinuosa* (Phaeophyta), espécimes foram coletados no litoral do Espírito Santo, secos à sombra, triturados e submetidos à extração com os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e ácido acético 0,1 M. O extrato hexânico foi submetido à cromatografia gasosa/espectrometria de massas; todos os extratos foram submetidos à Cromatografia Planar (CP) e aos ensaios bioautográficos propostos; os que apresentaram substâncias de interesse foram fracionados por cromatografia líquida em coluna (CL), com eluentes selecionados por CP. As frações eluídas foram submetidas a CP, para identificação da classe química de seus componentes. Substâncias isoladas foram submetidas a RNM 1H e de 13C e à Espectrometria de Massas. Foram identificados 15 metabólitos e seis contaminantes, no extrato hexânico; substâncias terpenoídicas com atividade anticolinesterásica, nos extratos em diclorometano e em acetato de etila; no extrato metanólico, micosporinas, uma substância com

ação antifúngica e o manitol. A atividade antioxidante foi detectada no extrato em acetato de etila e no metanólico (micosporinas).

**Palavras-Chave:** algas pardas, ações biológicas, atividade antioxidante, micosporinas, manitol.

#### INTRODUÇÃO

As algas são importantes organismos fotossintetizantes, não vasculares e eucarióticos que habitam todos os oceanos. Estão subdivididos em três grandes taxa, segundo a pigmentação de seus talos: Chlorophyceae (algas verdes), Phaeophyceae (algas pardas) e Rhodophyceae (algas vermelhas) (Kharkwal *et al.* 2012). No ambiente marinho, as algas estão sujeitas a uma série de agentes agressores nos quais se enquadram os organismos herbívoros, os incrustantes, os patógenos e as substâncias alelopáticas. As ações deletérias desses agentes sobre as macroalgas determinam, como reação, a síntese de numerosos metabolitos especiais, portadores de atividades biológicas, cuja função é contribuir para a sobrevivência de seus produtores (Figueirol *et al.* 2012). Essas substâncias, que são denominadas metabolitos secundários, pertencem principalmente às classes dos terpenos, acetogeninas, alcaloides e polifenóis; possuem estruturas bastante diversificadas e apresentam um leque de atividades extremamente abrangente (Blunt *et al.* 2014 e revisões anteriores). Alguns dos metabolitos primários das macroalgas marinhas também apresentam ações biológicas muito interessantes: os polissacarídeos que formam a parede celular ou os que envolvem seus talos como um envelope mucilaginoso podem ter efeitos

antitrombótico, antiadesivo, antitumoral, antiviral, antioxidante, proangiogênico, antiinflamatório, antihelmíntico (Jiao *et al.* 2011), etc. Além dos polissacarídeos, o grupo dos metabolitos primários conta com proteínas, peptídeos, polissacarídeos, aminoácidos, lecitinas, ficobiliproteínas e esteróis. Essas substâncias têm apreciável valor comercial, pois podem ser empregadas diretamente como fármacos ou deles serem protótipos; muitíssimos extratos de algas são utilizados como suplementos nutricionais, para prevenir doenças e por seu valor curativo, na medicina tradicional (Cardoso *et al.* 2015).

Nossos objetivos foram os estudos químico e biológico dos extratos em hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e ácido acético 0,1 M da macroalga marinha bentônica *Colpomenia sinuosa* (Phaeophyceae). Foram prospectadas as ações antifúngica (*Cladosporium cladosporioides*), anticolinesterásica e antioxidante.

## MATERIAL E MÉTODOS

Espécimes da macroalga *C. sinuosa* foram coletados no litoral do Espírito Santo, em março de 2016. A biomassa coletada foi limpa, identificada com auxílio de microscópio e estereomicroscópio, seca à sombra e acondicionada para transporte. Amostras foram preparadas para a confecção de exsiccatas a serem incorporadas no herbário do Instituto de Botânica. No laboratório, após a retirada de epífitas, a biomassa foi pesada, submetida à moagem e à extração com a série de solventes hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e ácido acético 0,1 M. Cada extrato foi filtrado, concentrado, pesado e submetido à CP e a testes bioautográficos, para determinação das atividades antioxidante (Furlán & Lopez 2007), anticolinesterásica (Marston *et al.* 2002; Rhee *et al.* 2001) e antifúngica (Agripino *et al.* 2004). Os extratos foram também submetidos à CP, para caracterização química de alguns de seus componentes. O extrato hexânico foi analisado (EH) por cromatografia em fase gasosa/espectrometria de massas (CG-EM) e a identificação das substâncias detectadas foi feita por comparação entre os espectros de massas obtidos e os registrados na base de dados das bibliotecas NIST e WILLEY. O índice de Kovats (IK) foi calculado em comparação com a série homóloga C8 a C30 de n-alcenos. O fracionamento de extratos contendo substâncias de interesse foi realizado por cromatografia líquida em

gel de sílica (60, 0,2-0,5 mm, Vetec), em coluna aberta. Todas as etapas dos fracionamentos foram monitoradas por CP; os cromatogramas realizados com ED, EAE e EM foram desenvolvidos na fase estacionária gel de sílica (20x20 cm, 0,20 mm, Kieselgel 60GF<sub>254</sub>, E.Merck) com as fases móveis DCM/MeOH 99:1 (ED), hex/AcOEt 90:10 (ED); AcOEt/MeOH 99:1 (EAE) e MeOH/CHCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O 64:36:8 (EM e EAA), sendo empregados como derivatizantes o p-hidroxibenzaldeído, a vanilina e a ninidrina (Merck 1971); os Rfs das manchas de interesse foram calculados. A substância cristalizada a partir do extrato metanólico foi lavada com heptano; sua estrutura foi determinada por RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C e EM.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos dos processos de extração a que foi submetida a biomassa da espécie *C. sinuosa* estão mostrados na tabela 1. Os extratos polares foram os que apresentaram os maiores rendimentos.

### *Estudo do extrato EH*

Além dos componentes da alga foram detectados seis contaminantes. São eles: os salicilatos de 2-etilhexila e de homomentila e os ftalatos de diisobutila e de isooctila e o 1,1-difenil-2-ciano-2-carbo-octoxietileno.

### *Estudo dos extratos ED, EM, EAE e EAA, por CP*

Esse estudo permitiu a inferência de terpenos com atividade antioxidante e ação anticolinesterásica, no ED; de um terpeno com atividade anticolinesterásica, no EAE e a presença de substância reagente a ninidrina a ao DPPH (possível micosporina), no EM, substância que também apresentou antifúngica (Figuras 1, e 2). Na tabela 2 estão reunidos os Rfs dessas substâncias que reagiram positivamente aos derivatizantes utilizados e apresentaram atividade.

### *Determinação de estrutura da substância isolada de EM*

Os espectros de RMN 1H (Figura 3A) e de 13C (Figura 3B), aliados ao espectro de massas da substância (Figura 3C) indicaram que a substância é o manitol, poliálcool encontrado em algas pardas.

## CONCLUSÕES

*Colpomenia sinuosa* produz terpenos e micosporinas que apresentam as atividades prospectadas, o que comprova o potencial desta espécie quanto à produção de substâncias de interesse químico e farmacológico; sintetiza,

também, o manitol, empregado como anticongelante, na criopreservação de células.

#### AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro - CAPES/AUXPE-CIMAR 1991/2014 e concessão de bolsa de Iniciação Científica CNPq/PIBIC.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Agripino, D.G., Lima, M.E.L., Silva, M.R., Meda, C.I., Bolzani, V.S., Cordeiro, I., Young, M.C.M. & Moreno, P.R.H.** 2004. Screening of Brazilian plants for antimicrobial and Dna- damaging activities. I. Atlantic Rain Forest - Ecological Satation Juréia – Itatins. *Biotaneotropica* 4: 1-15.

**Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H.G. & Prinsep, M.R.** 2014. Marine natural products. *Natural Product Report* 31: 160-258.

**Cardoso, S.M., Pereira, O.R., Seca, A.M.L., Pinto, D.C.G.A., & Silva, A.M.S.** 2015. Seaweeds as Preventive Agents for Cardiovascular Diseases: From Nutrients to Functional Foods. *Marine Drugs* 13: 6838-6865.

**Figuerol, B., Núñez-Ponz, L., Vásquez, J., Taboada, S., Critobo, J., Ballesteros, M. & Avila, C.** 2012. Chemical interactions in Antarctic marine benthic ecosystems. In: A. Cruzado (ed.). *Marine*

*Ecosystems. Oceans Catalonia International SL, Blanes, Spain*, pp. 105- 126.

**Furlán, R.L.E. & Lopez, S.N.** 2007. Manual de técnicas de laboratorio para la detección de compuestos com actividad antifúngica. *Corpus Editorial y Distribuidora, Rosario, Argentina*, pp. 57 - 73.

**Jiao, G., Yu, G., Zhang, J. & Ewart, H.S.** 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Marine Drugs* 9:196–223.

**Kharkwal, H., Joshi, D., Panthari, P., Manish, K.P. & Kharkwal, A.C.** 2012. Algae as future drugs. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5(4): 1-4.

**Marston, A., Kissling, J., Hostettmann, K.** 2002. A rapid TLC bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants. *Phytochemical Analisis* 13: 51-54.

**Merck.** 1971. Dyeing reagents for thin layer and paper chromatography, Darmstadt, Germany.

**Rhee, I.K., Van de Meent, M., Ingkaninan, K. & Verpoorte, R.** 2001. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. *Journal of Chromatography A* 915 (1-2): 217-223.

Tabela 1. Massas obtidas e rendimentos dos processos de extração.

	<u>Biomassa seca</u>	EH	ED	EAE	EM	EAA
Massas (g)	152,62	0,094	0,3940	0,3194	13,3077	35,1459
$\rho$ (%)	—	0,06	0,26	0,21	8,72	23,03

$\rho$  (%) – rendimento dos processos

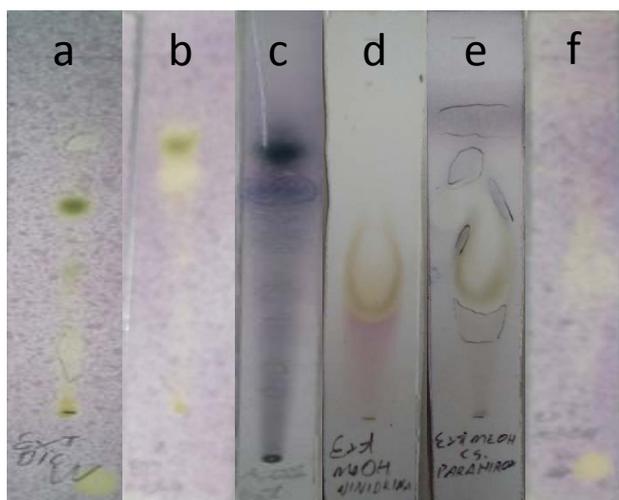


Figura 1. a –derivatizado com DPPH; b - derivatizado com DPPH; c – derivatizado com *p*-hidroxibenzaldeído; d - derivatizado com ninidrina; e- derivatizado com *p*-hidroxibenzaldeído; f – derivatizado com DPPH.

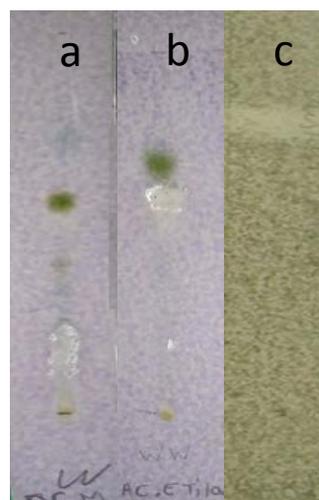


Figura 2. a- bioautograma p/ anticolinesterásico; b- bioautograma p/ anticolinesterásico; c- bioautograma p/ antifúngico (*Cladosporium cladosporioides*)

Tabela 2. RFs das manchas que responderam positivamente a testes químicos e bioautográficos

	UV	<i>p</i> -hidroxibenzaldeído	vanilina	ninidrina	Atividade antioxidante	Atividade antifúngica	Atividade anti colinesterásica
DCM	0,04 ; 0,10	0,04 ; 0,10 ; 0,39	0,10	-	-	-	0,17
Acet.de etila	0,12 ; 0,21 ; 0,31 0,38 ; 0,49 ; 0,55 0,61	0,61	0,61	-	0,61	-	0,61
MeOH	0,31 ; 0,37 ; 0,57	0,25 ; 0,57 ; 0,61 0,70 ; 0,81	0,70	0,21 ; 0,27 ; 0,28 0,31	0,31	0,81	-

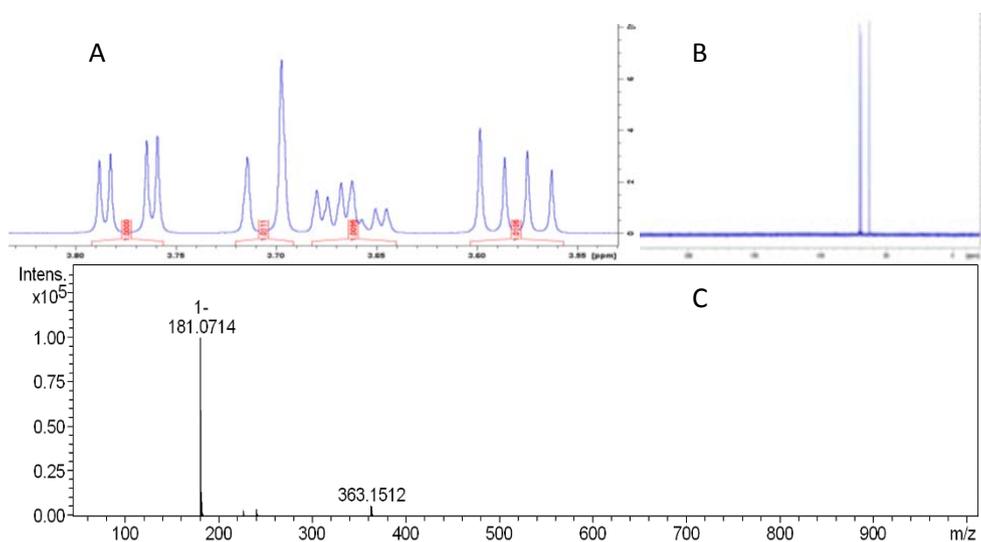


Figura 3. A – Espectro de RMN de 1H do manitol; B- Espectro de RMN de 13C do manitol; C- Espectro de massas do manitol



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas”

### Emissão de compostos orgânicos voláteis de folhas de *Piptadenia gonoacantha* expostas ao ozônio

Giselle da Silva Pedrosa<sup>(1)</sup> & Sílvia Ribeiro de Souza<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Fundação Universidade Federal do ABC, UFABC, Santo André, São Paulo, <sup>(2)</sup> Instituto de Botânica de São Paulo, SP. E-mail para contato: gisellebiologa2011@hotmail.com.br

**Resumo:** As plantas possuem algumas estratégias de defesas e uma delas é a produção e emissão de compostos orgânicos voláteis (COV) que podem atuar ativando os mecanismos de defesas químicas contra os agentes bióticos e abióticos. Dentre agentes abióticos destacamos o ozônio, que é um poluente altamente oxidante que causa vários danos no meio celular e pode ativar a liberação de voláteis das plantas. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou verificar se ozônio é capaz de alterar a emissão dos voláteis de *Piptadenia gonoacantha*. Indivíduos jovens foram adquiridos em viveiro comercial e transplantados em vasos plásticos e depois acomodados em casa de vegetação para desenvolvimento. Após o crescimento, foram realizados experimentos em câmaras. Os indivíduos foram expostos ao controle e ao tratamento com 100 ppb de ozônio durante 7 dias por 5 horas. Ao término das exposições, os voláteis foram coletados de cada indivíduo e analisados em cromatografia gasosa. Os resultados obtidos mostraram que os voláteis de *P. gonoacantha* na presença de ozônio tiveram uma inibição na sua emissão.

**Palavras-Chave:** Voláteis, ozônio, defesas químicas

#### INTRODUÇÃO

As florestas urbanas são de grande importância, pois estão envolvidas na manutenção da qualidade do meio ambiente, e por isso espera-se a preservação e conservação dessas áreas (Nowaket *et al.* 2006). No entanto, nota-se que essas florestas constantemente são afetadas por vários agentes abióticos, promovendo a degradação dessa vegetação.

A poluição atmosférica está associada a esses agentes abióticos, sendo que um dos poluentes

que promovem essa degradação é o ozônio. Esse poluente é considerado como um dos mais fitotóxicos por ter um alto poder oxidativo, capaz de promover danos severos à vegetação, alterando processos fisiológicos e metabólicos ou até mesmo a morte do indivíduo (Ashmore 2005).

O ozônio em contato com os tecidos vegetais, rompe as barreiras presentes na superfície foliar, como os tricomas e a camada limítrofe da folha, e também rompe a resistência imposta pelos estômatos ou cutículas. Dentro da folha, no apoplasto, esse gás sofre ozonólise, aumentando a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), entre elas superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ), ativando processos de defesas diretas de desintoxicação, que, quando não suficientes para neutralização das EROs, levam ao estresse oxidativo (Foyer & Noctor 2005).

Uma das consequências do estresse oxidativo é a produção de metabolitos secundários que estão envolvidos nas defesas indiretas das plantas. Dentre os metabolitos, destacamos a liberação de compostos orgânicos voláteis (COV), responsáveis pelo desencadeamento de vários mecanismos de defesas das plantas que entre outros, permeia a homeostase de EROs no meio celular conduzindo a informações sistêmicas transmitidas por sinais químicos, além de atuarem nas interações tróficas e sinalização planta-planta (Ninkovic 2010).

Os mecanismos de defesas mediados pelos COV são amplamente relatados na literatura para cultivares (Souza *et al.* 2013), porém não há estudos que determinam a emissão desses compostos e menos ainda que relatam sua ação em espécies nativas ocorrentes em vegetação impactada por agentes abióticos.

Nesse sentido o presente estudo visou caracterizar os voláteis de *Piptadenia gonoacantha*, uma espécie classificada como secundária inicial, encontrada na região sudeste, e extremamente sensível ao ozônio

(Moura *et al.* 2018). Ainda, buscou-se no presente estudo avaliar o perfil dos voláteis emitidos sob ação do ozônio.

## MATERIAL E MÉTODOS

Plantas jovens de *P.gonoacantha* foram adquiridas em viveiro comercial e transplantadas em vasos plásticos contendo substrato e vermiculita na proporção 3:1. As mesmas foram acomodadas em casa de vegetação com ar filtrado e temperatura controlada, situada no Instituto de Botânica de São Paulo, ao longo de dois meses para crescimento. Quinzenalmente 100 ml de solução nutritiva tipo Hoagland era aplicada em cada vaso.

Após o crescimento, vinte e sete indivíduos foram selecionado e acomodados no Laboratório de Interação Atmosfera Planta (Labiap) do Núcleo de Pesquisa em Ecologia, sob condições controladas de luminosidade, temperatura e umidade.

A espécie *P.gonoacantha* foi exposta a dois tratamentos: Ar Filtrado (AF) isento de ozônio e ao Ar Filtrado enriquecido com 100 ppb de ozônio (AF+O<sub>3</sub>). As exposições ocorreram em câmaras revestidas de Teflon, com circulação constante de ar. As concentrações médias de 100 ppb de ozônio foram geradas a partir de ozonizador (Ozontecnic, modelo 169 Brazil) e ajustada por meio de válvulas. O ozônio gerado foi impulsionado para o interior das câmaras por um jato de ar limpo com fluxo de 20L/min. As câmaras de exposição ao AF+O<sub>3</sub> foram constantemente monitoradas por um monitor contínuo (Ecosoft 6040, USA).

Todas as exposições ocorreram ao longo de cinco horas por dia durante sete dias consecutivos. E três repetições foram realizadas.

Após as exposições, cada indivíduo foi envolto com um saco de polietileno, com duas aberturas laterais, sendo que uma dessas aberturas foi conectada a um fluxo de ar inserido dentro do saco e na outra extremidade um tubo contendo 100 mg de Tenax TA, acoplado a uma bomba de sucção para aprisionamento dos voláteis. O tempo de amostragem foi de 1 h e 30 min.

Os voláteis amostrados foram analisados em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM Agilent 5977) e desorvidos em nitrogênio gasoso por sistema de desorção térmica automática ATD650 da Perkin-Elmer, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA, a 250°C durante 5 minutos, com temperatura de transferência de 200°C e taxa de aquecimento em 40°C/s com

injeção de criofocagem a -30°C. A separação da amostra gasosa foi realizada pela coluna capilar HP-5 por meio do gás de arraste Hélio (He). A identificação foi realizada por meio dos íons de massa a partir da comparação dos espectros de massa da amostra com os encontrados na biblioteca química Wiley/NIST. A quantificação foi realizada com base nas curvas analíticas dos padrões ( $\alpha$ -Pinene,  $\beta$ -Pinene,  $\alpha$ -Cymene,  $\beta$ -Ocimene,  $\alpha$ -Terpinene, D-Limonene,  $\alpha$ -Copaene, Caryophyllene, 3-Carene, Humulene) desses voláteis adquiridos pela Sigma Aldrich, comercialmente disponíveis. A curva do padrão  $\alpha$ -Pinene foi adotado para estimar as concentrações dos compostos que não tinham padrões disponíveis para a realização de suas respectivas curvas.

### Análise estatística

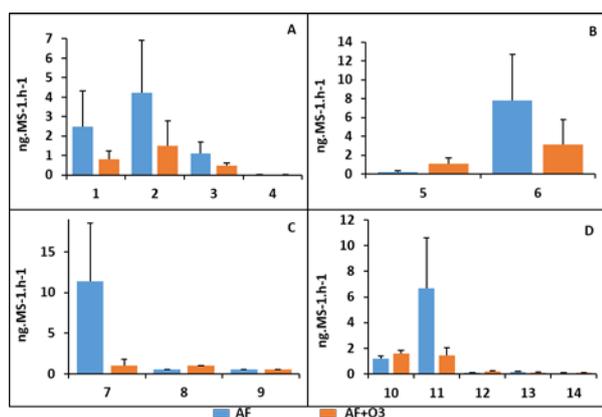
Para comparação entre as médias dos tratamentos AF e AF+O<sub>3</sub>, foi realizado um teste “t” de student pelo programa SPSS.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados quatorze compostos voláteis e agrupados em quatro classes: voláteis de folhas verdes (VfV) (álcoois, aldeídos e cetonas), monoterpenos (MON), sesquiterpenos (SES) e compostos não terpênicos (NTE).

O ozônio não foi capaz de induzir COV em folhas de *P. gonoacantha* (Figura 1). Porém, foi responsável pela inibição da maioria dos voláteis emitidos constitutivamente, como mostra a (Tabela 1). Foi observado uma redução significativa na emissão de hexanal e (Z) acetato de 3-hexen 1-ol, 1-hexanol 2-etil, metil salicilato (MeSA), 5-hepten-2-one-6metil.

De modo geral, o estresse oxidativo causado pelo ozônio leva a produção de metabólitos secundário conduzindo a um aumento na taxa de emissão de voláteis (Souza et al. 2013). Entretanto, a inibição dessa emissão pode ocorrer quando o poder oxidativo do agente estressor for elevado o suficiente para alocar os recursos apenas nas defesas diretas das plantas. De fato, estudos prévios em nosso laboratório mostraram que *P. gonoacantha* sob ação do ozônio apresenta altas taxas de constituintes químicos de defesas diretas, que permanecem elevadas mesmo após a exposição ao ozônio, indicando ser as mais atuantes em *P. gonoacantha*.



**Figura 1.** Voláteis de *P.gonoacantha* exposta ao ar filtrado (AF) e ao ozônio (AF+O<sub>3</sub>). Voláteis de folhas verdes (A). Monoterpenos (B). Sesquiterpenos (C). Compostos não terpênicos (D). 1-Hexanal, 2- 3 Hexan 1-ol, 3- (Z) acetato de 3 hexan 1-ol, 4- 1Hexanol, 2 etil, 5-β Ocimeno, 6- Linalool, 7-β Farneseno, 8-cis-β farneseno, 9- Humuleno, 10-Benzaldeído, 11-MeSa, 12- 5Hepten,2 one,6 metil, 13-Octanol, 14-1 Octanol,3,7-dimetil.

**Tabela 1.** Valores de significância (p) obtidos pelo test. T-student para a comparação entre os COV expostos ao ar filtrado (AF) e ao ozônio (AF+O<sub>3</sub>) de *P.gonoacantha*.

<i>P.gonoacantha</i>		
Compostos		
Voláteis de folhas verdes (VFV)		
1	Hexanal	<b>0,032</b>
2	3-Hexen-1-ol,	<b>0,000</b>
3	(Z) acetato de 3 hexen-1-ol	<b>0,001</b>
4	1-Hexanol, 2-etil	<b>0,040</b>
Monoterpenos		
5	β-Ocimeno	0,070
6	Linalool	0,151
Sesquiterpenos		
7	β-farneseno	<b>0,000</b>
8	cis-β-Farneseno	0,145
9	Humuleno	<b>0,000</b>
Compostos não terpênicos		
10	Benzaldeído	0,102
11	MeSa	<b>0,000</b>
12	5-Hepten-2-one, 6-metil	<b>0,010</b>
13	Octanal	0,951
14	1-Octanol 3,7-dimetil	0,204

A inibição da taxa dos voláteis encontrados em *P.gonoacantha* sob ozônio pode também ser

explicada pelo fato desse poluente reagir rapidamente com os voláteis no limbo foliar e degradar seus níveis. De fato, o ozônio degrada rapidamente os voláteis de folhas verdes, em especial o (Z) acetato de 3 hexan 1-ol, que tem um tempo de vida de 3 horas na presença de ozônio (Pinto et al. 2007).

## CONCLUSÕES

Os compostos orgânicos voláteis emitidos por folhas *P.gonoacantha* foram inibidos na presença de ozônio. Essa inibição pode indicar o ozônio como um agente abiótico causador de elevado estresse oxidativo nessa espécie vegetal.

## AGRADECIMENTOS

A UFABC pela bolsa concedida e ao Instituto de Botânica e a Fapesp ao apoio concedido (2012/11663-8).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ashore, M.R.** Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. 2005. *Plant, Cell & Environment* 28: 949-964.
- Foyer, C.H. & Noctor, G.** 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell & Environment* 28: 1056-1071.
- Ninkovic, V.** 2010. Volatile interaction between undamaged plants: a short cut to coexistence. In: *Plant Communication from an Ecological Perspective*. Springer, Berlin Heidelberg, p. 75-86.
- Nowak, D.J., Crane, D.E. & Stevens, J.C.** 2006. Air pollution removal by urban trees and shrubs in the United States. 2006. *Urban forestry & Urban Greening* 4: 115-123.
- Souza, S.R., Bland, J.D. & Holopainen, J.K.** Pre-exposure to nitric oxide modulates the effect of ozone on oxidative defenses and volatile emissions in lima bean. 2013. *Environmental Pollution* 179: 111-119.
- Moura, B.B., Alves, E.S., Marabesi, M.A., Souza, S.R., Schaub, M. & Vollenweider, P.** 2017. Ozone affects leaf physiology and causes injury to foliage of native tree species from the tropical Atlantic Forest of southern Brazil. *Science of the Total Environment*. 610-611: 912-925.
- Pinto, D.M., Nerg, A.-M. & Holopainen, J.K.** 2007. The role of ozone-reactive compounds, terpenes, and green leaf volatiles (GLVs), in the orientation of *Cotesia plutellae*. *Journal of Chemical Ecology* 33: 2218-2228.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

#### **Análise do perfil dos compostos orgânicos voláteis de folhas de *Glycine max.* submetidas a diferentes níveis de radiação ultravioleta**

**Mariana Fabri Lima**<sup>(1)</sup> & Silvia Ribeiro de Souza<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [mariana.fabri@outlook.com](mailto:mariana.fabri@outlook.com)

**Resumo:** Mudanças climáticas drásticas vêm ocorrendo atualmente devido a intensa industrialização e a urbanização. Essas mudanças ocasionam destruição progressiva da camada de ozônio do nosso planeta, cujas implicações ainda não são claramente compreendidas. Com a destruição da camada de ozônio, maior incidência de radiação na superfície da Terra, em especial, na região do ultravioleta (UV) (ondas eletromagnéticas de comprimento no intervalo de 200 a 400 nm) é esperada, promovendo implicações diretas para todos os seres vivos. As plantas expostas ao estresse pela radiação UV se defendem por diversos mecanismos químicos, dentre eles, há produção e liberação de compostos orgânicos voláteis (COV) atuantes nas defesas químicas. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo responder à questão de como as plantas, em específico, a soja, em seu estado vegetativo V3, responde aos efeitos da radiação ultravioleta. Para isso usamos sementes de soja var. CD202, que foram plantadas em vasos de plástico e posteriormente foram expostas a três diferentes tratamentos de radiação (UV-, UV0 e UV+) através de câmaras constituídas por diferentes materiais que permitiram a entrada da radiação UV em maior ou menor escala. Uma vez no estádio V3 os voláteis foram coletados e analisados por cromatografia gasosa. Os indivíduos expostos a maior quantidade de UV reduziram a emissão de metil salicilato (MESA), mas aumentaram os voláteis de folhas verdes (GLV) e monoterpenos (MONO). Já aqueles que foram expostos a menor quantidade de radiação, apresentaram maior produção de GLV. Conclui-se que a radiação ultravioleta pode ser vista não apenas como um agente estressor, mas também como um parâmetro ambiental que modula rotas específicas de defesa.

**Palavras-Chave:** radiação UV, estresse, estádio V3, soja.

#### **INTRODUÇÃO**

A industrialização mundial e o uso intenso dos recursos naturais têm ocasionado mudanças climáticas e profundas modificações em nossos ecossistemas (Ballaré *et al.* 2011), cujas implicações ainda não são claramente compreendidas. Atualmente, há um grande esforço para um melhor entendimento destas mudanças e, por ventura, a minimização de seus efeitos negativos por meio de ações preventivas (Day *et al.* 2002).

Dentre os diversos fatores ambientais importantes que tem sofrido mudanças drásticas, podemos citar a incidência de radiação, em especial, na região do ultravioleta (UV). Nas últimas décadas diversas pesquisas científicas nos têm alertado da acentuada modificação da intensidade deste tipo de radiação na superfície da Terra (Wargent *et al.* 2013) devido as modificações da composição atmosférica, em especial pela ação das atividades humanas (Jenkins *et al.* 2009).

Uma questão importante é como os seres vivos, em especial as plantas, responderiam a estes ambientes alterados pela radiação UV. As plantas sob estresse se defendem por vários mecanismos químicos. A indução da defesa começa com respostas locais ao dano que podem desencadear diversos processos metabólicos na planta, os quais sequestram o excesso de espécies radiculares (Zhi *et al.* 2002). E, há ainda produção de antioxidantes, derivado do ciclo ascorbato glutationa, capazes de sequestrar o excesso de espécies reativas de oxigênio, radicais livres, causadoras do estresse oxidativo (Kreslavsk *et al.* 2013). Além desses, há os compostos orgânicos voláteis (COV), que são estratégias de defesa em resposta a agentes estressores. É possível tomar como exemplo voláteis de folhas verdes (GLV),

monoterpenos (MON), sesquiterpenos (SEQ), hidrocarbonetos (HC) e oxigenados (OX).

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas no âmbito da interação entre plantas e a radiação ultravioleta, desde o entendimento dos receptores de radiação e suas sinalizações (Zavala *et al.* 2001) até a caracterização nos mecanismos de defesa das plantas ativadas por esta radiação. Por isso, uma compreensão mais detalhada do sistema de defesa das plantas, ainda mais em condições adversas como as mudanças climáticas, pode promover descobertas em relação aos efeitos da radiação UV aos cultivares agrícolas. Portanto, neste trabalho, buscou-se compreender que efeitos o incremento da radiação UV poderão causar nos teores de compostos voláteis emitidos pelas plântulas de soja no estágio vegetativo (V3).

### MATERIAL E MÉTODOS

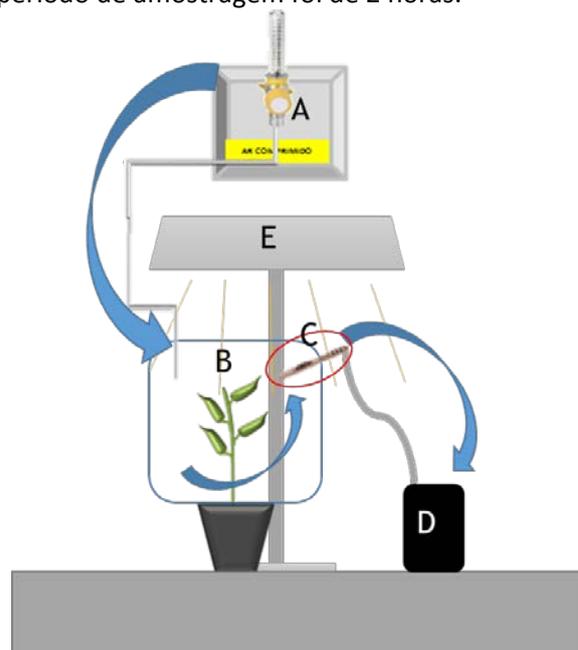
Sementes de soja var. CD202 cedidas pela COODETEC (Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola) foram plantadas e germinadas em vasos de plástico tamanho 1. Os vasos continham substrato vegetal Tropstrato HT Hortaliças (Viva Verde) e vermiculita grossa (Brasil Minérios), além de água na proporção de 3:1:1. Ressalta-se que os vasos eram regados dia sim, dia não.

Três câmaras localizadas no laboratório de interação atmosfera planta (LABIAP) foram empregadas, cada uma delas equivalente a um tratamento. Sendo UV- a câmara que reduziu drasticamente a entrada dos raios UV, constituída de policarbonato. UV0, o controle, o qual permitia a entrada da radiação solar natural, constituída de acrílico, assim como UV+, a qual permitia a entrada da radiação natural acrescida por uma lâmpada de ultravioleta ligada por duas horas diariamente, resultando num acréscimo de aproximadamente 100% da radiação presente em UV0.

As coletas de voláteis foram realizadas na área foliar dos indivíduos quando esses atingiram o estágio V3. Foram selecionados dois indivíduos por tratamento e o experimento contou com duas repetições, com um total de 12 amostras finais.

Para a coleta, as folhas de cada indivíduo foram introduzidas em sacos de polietileno com aberturas laterais de forma que a entrada de ar filtrado e coleta dos COV fosse possível. Os voláteis emitidos foram trapeados em cartuchos, contendo 100mg do absorvente Tenax GR, com uma extremidade fixa em uma abertura do saco e a outra conectada em uma bomba de sucção, garantindo a passagem do ar filtrado junto dos

voláteis para o interior do cartucho (Figura1). O fluxo de ar coletado foi de aproximadamente 180 ml/min e o período de amostragem foi de 2 horas.



**Figura 1.** Esquematização do funcionamento da coleta de voláteis. A- Entrada do ar filtrado, B- Plântula de soja envolvida pelo saco de polietileno, C- Tubo Tenax GR, D- Bomba de sucção, E- Fonte de luz. As setas em azul representam o sentido do fluxo do ar, e destacado pelo círculo em vermelho está o destino da coleta de voláteis, o tubo de Tenax GR, onde estes ficarão armazenados até a análise.

Os voláteis amostrados foram dessorvidos em nitrogênio gasoso por sistema de dessorção térmica, Turbo Matrix 650 ATD da Perkin Helmer, e as análises dos compostos foram efetuadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/MS) (Agilent 5648).

As análises estatísticas foram realizadas com os programas SPSS (IBM 2008). As comparações entre tratamentos e controle foram realizadas por análise de variância One-way ANOVA e teste t de student. Foram considerados significativos os valores de  $P \leq 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, a radiação UV promoveu alterações notáveis em plântulas de soja no estágio V3. É possível observar que plântulas expostas à radiação UV reduziram a emissão de metil salicilato (MeSa), porém aumentaram GLV, MONO e HC (Figura 2). A radiação UV produz excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO) que, por sua vez, causam danos oxidativos e podem levar a alterações no DNA. As ERO são responsáveis pela peroxidação lipídica que é um processo através do qual agredem os ácidos graxos polisaturados dos fosfolípidos das membranas das

células, desintegrando-se em ácidos de hidrocarbonetos não saturados, o que pode aumentar a porcentagem de emissão de oxigenados e hidrocarbonetos, corroborando os nossos resultados em que mostrou um aumento de GLV, voláteis marcadores de peroxidação lipídica.

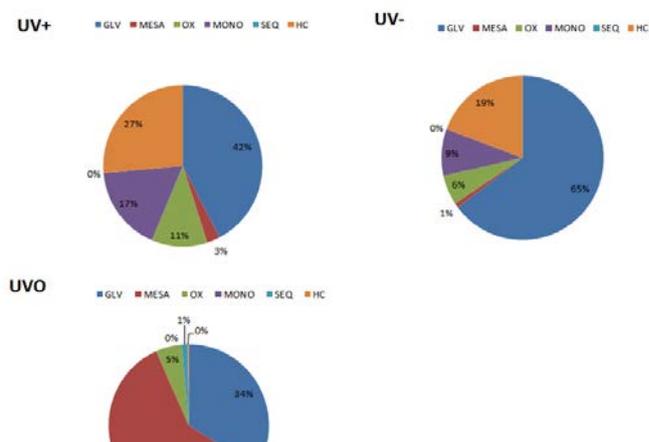
Os monoterpenos induzidos por UV tem a função defender a planta contra o excesso de ERO. Estudos em *Quercus Ilex* mostrou que monoterpenos protegem as plantas contra o excesso de ERO produzidos no aparato fotossintético através de seu potencial químico em sequestrar os radicais rapidamente mantendo o equilíbrio oxidante/pro-oxidante no interior das células (Loreto *et al.* 2006). No presente trabalho, o trans geranyl acetona, um monoterpeno oxigenado, foi o principal composto emitido por plântulas exposta a radiação UV.

Ao contrário do tratamento com excesso de radiação UV, uma maior produção de GLV foi observada em plantas expostas ao tratamento de exclusão de UV. A exclusão do UV levou a um aumento da emissão do acetato de 3-hexenila e 3-hexen-1ol.

A radiação UV e o azul participam de várias respostas fotomorfogênicas das plantas. Por exemplo, respostas de defesas contra patógenos são ativadas por fotorreceptores específicos na presença de UV, denominados UV8, que desencadeiam a expressão de genes relacionados a patogêneses (PR) que atuam na indução de vários voláteis que participam na sinalização das defesas. A ausência desses fotorreceptores pode levar a alterações nas sinalizações das rotas metabólicas de defesa, promovendo a expressão de uma rota em detrimento de outra (Winter *et al.* 2008). Nesse caso, para plântulas de soja no tratamento de exclusão de UV aparentemente ocorreu a inibição da produção de MeSA e concomitantemente tivemos um investimento na produção de GLV, desencadeando a rota da lipoxigenase em vez de manter a l-fenilalanina ativada. Esses resultados sugerem que as defesas da soja parecem ser ativadas pela radiação UV.

Assim, a radiação UV pode ser vista não apenas como um agente estressor, mas também como um parâmetro ambiental que modula rotas específicas de defesa. Dessa forma, podemos inferir que a cultivar CD202 possui um elaborado e sutil sistema de defesas que está intimamente ligado a fotorreceptores específicos que são ativados na presença de UV, tornando-a bem adaptada às regiões em que a incidência solar é

elevada, como as regiões norte e nordeste, em que é amplamente cultivada.



**Figura 2.** Porcentagem de voláteis encontrados nas folhas de soja expostas aos tratamentos. Sendo: Azul- GLV, Vermelho- MeSa, Verde- Oxigenados, Roxo- MONO, Azul claro- SEQ e Laranja- HC.

## CONCLUSÕES

Nossos resultados mostram claramente a susceptibilidade das plantas de soja às modificações no perfil de radiação ultravioleta a que foram expostas. Observamos uma clara modificação na composição dos compostos orgânicos voláteis emitidos por elas tanto no excesso quanto na ausência de UV.

Também foi possível observar a priorização da emissão de uma classe específica de volátil em relação a outra.

Contudo, uma abordagem mais sistêmica em ecologia, em que avaliações de interações planta-planta e planta-herbívoros, nos permitirão uma visão mais ampla das estratégias de defesas das plantas e também da dinâmica de sua interação com o meio ambiente.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq à bolsa de iniciação científica concedida. À Fapesp pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ballaré, C.L.** 2011. Effects of solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. Patterns, mechanisms, and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences* 10: 226-241.
- Day T.A. e.al. 2002. Effects of UV-B Radiation on Terrestrial and Aquatic Primary Producers, *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33, 371.
- Jenkins G.I. et.al. 2009. Signal Transduction in Responses to UV-B Radiation, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 60, 40.

- Kreslavski, V.D. et al. 2013. Preillumination of lettuce seedlings with red light enhances the resistance of photosynthetic apparatus to UV-A, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 122, 1.
- Loreto, F. et al. 2006. On the induction of volatile organic compound emissions by plants as consequence of wounding or fluctuations of light and temperature. *Plant, cell & environment*, v. 29, n. 9, p. 1820-1828.
- Wargent J.J. et al. 2013. From ozone depletion to agriculture: understanding the role of UV radiation in sustainable crop production. *New Phytologist*, v. 197, n. 4, p. 1058-1076.
- Winter, T.R. et al. 2008. Ambient ultraviolet radiation induces protective responses in soybean but does not attenuate indirect defense. *Environmental Pollution*, v. 155, n. 2, p. 290-297.
- Zavala, J.A. et al. 2001. Effects of ambient UV-B radiation on soybean crops: impact on leaf herbivory by *Anticarsia gemmatilis*. *Plant Ecology*, v. 156, n. 2, p. 121-130.
- Zhi Qi, Ming Yue, Rong Han e Xun-Ling Wang, The Damage Repair Role of He-Ne Laser on Plants Exposed to Different Intensities of Ultraviolet-B Radiation, *Photochemistry and Photobiology*, 75, 680 (2002).



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

#### Limite de crescimento de plantas jovens de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms mantidas sob diferentes potenciais hídricos

Luciana Mollo<sup>(1)</sup>, Isabella Mollo<sup>(1)</sup> & Catarina Carvalho Nievola<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, E-mail para contato: ccnievola@uol.com.br

**Resumo:** Tolerância à falta de água tem sido descrita para espécies de hábito rupícola. No entanto certas respostas de crescimento associadas aos ajustes metabólicos podem revelar o limite de sobrevivência delas. O objetivo deste trabalho foi investigar o crescimento e o conteúdo de compostos de carbono em plantas jovens de *A. imperialis* mantidas *in vitro* sob diferentes potenciais hídricos pelo uso de Polietileno glicol 6000. Sementes foram germinadas em meio de Murashigue & Skoog com concentração normal de micronutrientes e redução dos macronutrientes à metade, adicionado de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar, pH 5,8 (0,5MPa). Após 6 meses as plantas foram transferidas para meio de igual composição, sem ágar, adicionado de 15% (-2,9MPa), 30%(-4,7MPa) e 60%(-17MPa) de PEG-6000, e outro sem PEG. As plantas foram avaliadas quando retiradas dos frascos (Tempo inicial) e após 7, 15 e 30 dias. Amostras foram feitas em triplicatas, para análises biométricas e bioquímicas. Verificou-se redução no número e comprimento de folhas, e número de raízes nas plantas mantidas por 30 dias em 15% e 30% de PEG. Observou-se diminuição dos níveis de glicose provavelmente pelo consumo deste carboidrato no processo de respiração, o que resultou no aumento de malato e sacarose. Apresentaram quantidades maiores de pigmentos a medida que a intensidade do potencial osmótico diminuía e o tempo de exposição aumentava entre os tratamentos. Após 15 dias expostas a 60% de PEG (-17 MPa) as plantas não sobreviveram, revelando o limite ao estresse. Nossos resultados indicam que o tempo de exposição e a intensidade do potencial osmótico do meio de cultura podem ter determinado o consumo das reservas de carboidratos, até o limite de sobrevivência para essa rupícola. É possível supor que no ambiente

natural essa espécie esteja exposta a potenciais hídricos superiores a -17MPa.

**Palavras-Chave:** Bromeliácea, rupícola, déficit hídrico, polietileno glicol.

#### INTRODUÇÃO

Bromeliaceae apresenta distribuição neotropical, com 40% das espécies existentes ocorrendo no território brasileiro. Destas, cerca de 80% são encontradas na Mata Atlântica, desde o nível do mar até altitudes bastante elevadas. Diversos representantes dessa família vivem em condições consideradas estressantes, sobre rochas, expostas a temperaturas extremas, seca, sol intenso e escassez de nutrientes (Benzing 2000), como é o caso de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms, conhecida como bromélia imperial. Essa espécie se destaca dentre as principais plantas ornamentais tropicais (Leme & Marigo, 1993) utilizadas no paisagismo.

*A. imperialis* é nativa da Serra dos Órgãos (RJ), área com ecossistemas de Floresta Tropical e Campos de Altitude (Leme & Marigo 1993). Porembski (2007) comenta que essas condições abióticas severas são fatores determinantes na adaptação das espécies encontradas nesses locais. A tolerância à falta de água tem sido descrita para espécies de hábito rupícola (Porembski 2007). No entanto certas respostas de crescimento associadas aos ajustes metabólicos podem revelar o limite de sobrevivência delas. Embora tenham sido encontrados relatos sobre as respostas dessa espécie ao déficit hídrico (Oliveira *et al.* 2009), não foram aprofundados os efeitos de uma condição que simule uma seca duradoura a ponto de impossibilitar sua sobrevivência, o que poderia indicar características do ambiente natural dessa bromélia.

Por ser uma espécie heteroblástica, os indivíduos jovens de *A. imperialis* não apresentam sobreposição das folhas de modo a permitir o acúmulo de água entre suas bainhas, como ocorre nos indivíduos adultos.

Considerando que estes iniciam o estabelecimento sobre as rochas, deve haver outras estratégias para conseguir se estabelecer nestes ambientes (Zotz 2015, Porembski 2007). A tolerância a seca em espécies vegetais tem sido associada a presença de suculência, aumento da produção de carboidratos entre outros.

O objetivo deste trabalho foi investigar o crescimento e o conteúdo de compostos de carbono em plantas jovens de *A. imperialis* mantidas *in vitro* sob diferentes potenciais hídricos pelo uso de Polietileno glicol 6000 a fim de verificar qual a condição que afete o crescimento da espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms foram obtidas de indivíduos da Coleção de Bromélias do Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais do Instituto de Botânica. Os apêndices plumosos foram removidos e as sementes desinfestadas por imersão em etanol 70% durante 5 min, seguida de imersão em solução fungicida de benomyl (Benlat<sup>®</sup>) a 0,1% por 20 min e, posteriormente, em solução comercial de hipoclorito de sódio a 2,5%, contendo 5 gotas de Twin<sup>®</sup> 20 por uma hora, sempre com agitação contínua.

Após a desinfestação, as sementes foram enxaguadas em câmara de fluxo laminar com água destilada e colocadas para germinar em frascos contendo 40 mL de meio de cultura Murashige & Skoog (1962), esterilizado em autoclave, contendo a concentração de micronutrientes original e de macronutrientes reduzida à metade, adicionando 30 g/L de sacarose e 7 g/L de Agar (Difco), conforme descrito em Mollo *et al.* (2011) para estabelecimento do cultivo *in vitro* de *A. imperialis*. Posteriormente, os frascos foram acondicionados em Sala de Cultura a 26 °C ± 2 °C, sob fotoperíodo de 12 horas.

As plantas com 6 meses de idade foram transferidas para novo meio de cultura, com a mesma composição descrita anteriormente, sem Ágar (meio líquido), pH ajustado para 5,8, contendo diferentes concentrações de polietilenoglicol 6000 (PEG), compondo os seguintes tratamentos: T1 = controle (sem PEG) (w = - 0,5 MPa); T2 = 15% de PEG (w = - 2,9 MPa); T3 = 30% de PEG (w = - 4,7 MPa); T4 = 60% de PEG (w = - 17 MPa). Para cada tratamento foram utilizadas 4 repetições (frascos) contendo 10 plantas por frasco. Todas as plantas foram mantidas em sala de cultura a 26 °C e fotoperíodo de 12h. Após 7

dias, um terço das plantas foram coletadas, lavadas em água destilada e destas, uma amostragem de 10 plantas foi utilizada para análises biométricas e as demais congeladas para serem submetidas às análises bioquímicas; outras coletas ocorreram aos 15 e 30 dias, sempre com os mesmos procedimentos. Foram coletadas também amostras referentes ao momento anterior das transferências para os meios contendo PEG (denominado tempo zero).

Para a análise de crescimento, foram retiradas dos frascos 10 plantas de cada tratamento e avaliadas quanto aos seguintes parâmetros: comprimento das raízes, comprimento de folhas, número de folhas, número de raízes, quantidade de massa fresca e seca dos eixos caulinares e raízes.

Amostras compostas de cada coleta com no mínimo 0,3 g de folhas frescas foram congeladas para a determinação de clorofilas e de carotenóides, segundo técnica descrita por Lichtenthaler (1987), utilizando-se três amostras para cada coleta. A extração dos pigmentos foi realizada sob baixa luminosidade para impedir sua degradação pela luz. O material congelado foi macerado com acetona P.A. e, em seguida, filtrado. A solução resultante foi transferida para cubetas e as leituras realizadas, sob penumbra, em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 661,6 nm (clorofila *a*), 644,8 nm (clorofila *b*) e 470 nm (carotenóides). O conteúdo de cada pigmento foi calculado pelas equações apresentadas por Lichtenthaler (1987).

Para a quantificação de açúcar solúvel e o teor de malato, as folhas de todos os tratamentos foram coletadas e analisadas utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa (GC/MS) como descrito por Pereira (2016), com pequenas modificações.

### Análise estatística

As médias foram calculadas e submetidas à análise de variância (ANOVA), comparada pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas jovens estudadas, apresentaram quantidades maiores de pigmentos a medida que a intensidade do potencial osmótico diminuía e o tempo de exposição aumentava entre os tratamentos (figura 1). Verificou-se redução no número e comprimento de folhas, e número de raízes nas plantas mantidas por 30 dias em 15% e 30% de PEG (tabela 1). Por outro lado, ocorreu uma diminuição dos níveis de glicose (figura 2) provavelmente pelo consumo deste carboidrato no processo de respiração

(Buchanan *et al.* 2015), que resultou no aumento de sacarose (figura 2) e malato (figura 3).

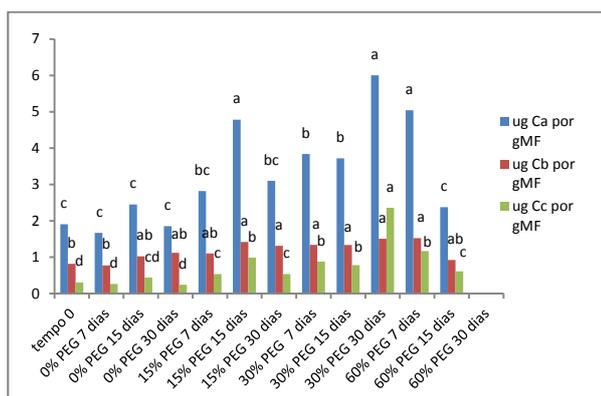


Fig.1 Quantidade de pigmentos fotossintéticos por grama de massa fresca de folhas de plantas de *A. imperialis* de 6 meses de cultivo, mantidas em diferentes concentrações de PEG durante 15 e 30 dias. Ca (clorofila a), Cb (clorofila b) e Cc (carotenoides). Diferentes letras indicam médias significativamente diferentes entre os tratamentos pela concentração de PEG (P <0,05, teste de Tukey-Kramer).

	nº de raízes				comprimento de raízes			
	0% PEG	15% PEG	30% PEG	60% PEG	0% PEG	15% PEG	30% PEG	60% PEG
tempo Inicial	5,6 ± 1,59				4,5 ± 0,97			
7 dias	4,6 ± 1,14	4,6 ± 2,07	4,0 ± 0,71	7,4 ± 3,66	3,8 ± 0,45	2,9 ± 0,45	2,1 ± 0,23	2,3 ± 0,54
15 dias	4,0 ± 0,71	7,7 ± 2,19	5,8 ± 1,70	6,2 ± 1,92	3,5 ± 0,41	5,8 ± 1,45	3,2 ± 1,89	4,5 ± 0,87
30 dias	5,4 ± 1,29	5,6 ± 0,55	5,4 ± 0,55		4,5 ± 0,94	4,1 ± 0,63	4,14 ± 1,05	

	nº de folhas				comprimento de folhas			
	0% PEG	15% PEG	30% PEG	60% PEG	0% PEG	15% PEG	30% PEG	60% PEG
tempo Inicial	11,5 ± 1,22				7,8 ± 1,81			
7 dias	11,4 ± 0,89	10,6 ± 1,14	10,8 ± 1,30	11,7 ± 2,71	6,7 ± 1,23	5,6 ± 0,99	6,3 ± 0,39	8,9 ± 3,2
15 dias	11,8 ± 0,45	12,3 ± 1,50	10,2 ± 1,53	11,8 ± 1,30	7,2 ± 0,94	9,0 ± 1,88	8,5 ± 2,36	7,2 ± 1,06
30 dias	12,4 ± 1,75	12,4 ± 0,89	10,2 ± 1,80		9,75 ± 1,54	7,1 ± 0,55	7,8 ± 0,94	

Tabela 1. Número e comprimento de raízes e folhas de plantas de *A. imperialis* de 6 meses de cultivo, mantidas em diferentes concentrações de PEG durante 15 e 30 dias. Os dados são expressos como a média (± DP) de três amostras de repetição. Diferentes letras indicam médias significativamente diferentes entre os tratamentos pela concentração de PEG (P <0,05, teste de Tukey-Kramer).

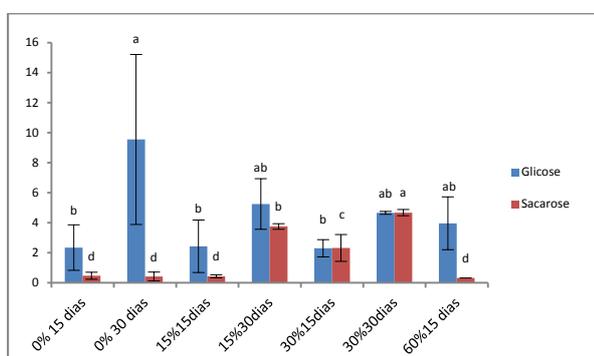


Fig 2. Teor de açúcar solúvel (glicose e sacarose) em folhas de plantas de *A. imperialis* mantidas em diferentes concentrações de PEG durante 15 e 30 dias. Os dados são expressos como a média (± DP) de três amostras de repetição. Diferentes letras indicam médias significativamente diferentes entre os tratamentos pela concentração de PEG (P <0,05, teste de Tukey-Kramer).

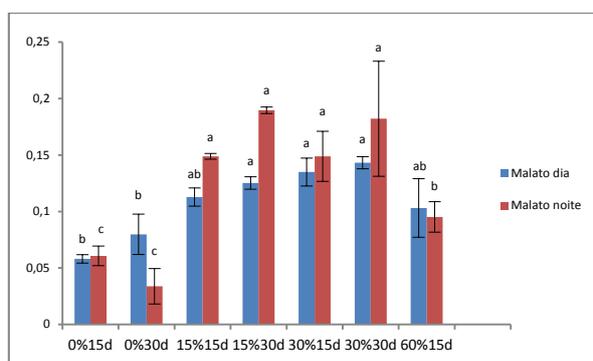


Fig 3. Teor de Malato em folhas de plantas de *A. imperialis* mantidas em diferentes concentrações de PEG durante 15 e 30 dias, durante a noite (vermelho) e o dia (azul). Os dados são expressos como a média (± DP) de três amostras de repetição. Diferentes letras indicam médias significativamente diferentes entre os tratamentos pela concentração de PEG (P <0,05, teste de Tukey-Kramer).

Pode-se supor que a redução do crescimento da planta tenha sido consequência da utilização da energia proveniente da quebra da glicose, na alteração do metabolismo para tolerar a falta de água, sendo produzidos maiores quantidades de sacarose e malato. Entretanto, na condição de cultivo com de 60% de PEG (-17 MPa) durante 15 dias, as plantas não sobreviveram, revelando o limite ao estresse. Nossos resultados indicam que o tempo de exposição e a intensidade do potencial osmótico do meio de cultura podem ter determinado o consumo das reservas de carboidratos, até o limite de sobrevivência para essa rupícola.

É possível supor que no ambiente natural essa espécie esteja exposta a potenciais hídricos superiores a -17MPa de modo a permitir sua sobrevivência, possivelmente associado a umidade relativa do ar que ocorre nesses ambientes (Guimarães *et al.* 2009).

## CONCLUSÕES

As plantas submetidas às diferentes concentrações de PEG resistiram por 15 dias em todos os tratamentos, porém quando expostas a 60% de PEG por mais de 15 dias não sobreviveram, supostamente pela redução das reservas que foram exaurindo, indicando que o tempo de exposição à essa concentração de PEG (déficit hídrico) foi limitante para sua sobrevivência.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de suporte financeiro à pesquisa por meio de bolsa de doutorado concedida à Luciana Mollo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benzing, D.H.** 2000. Vegetative structure. *In*: D.H. Benzing (ed.) Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 19-77.
- Buchanan, B.B., Gruissem, W., Vickers, K. & Jones, R.L.** 2015. Biochemistry and molecular biology of plants. John Wiley & Sons.
- Guimarães, R.F., Gomes, R.A.T., Carvalho Jr, O.A]. , Martins, E.S., Oliveira, S.N. & Fernandes, N.F.** 2009. Análise temporal das áreas susceptíveis a escorregamentos rasos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (RJ) a partir de dados pluviométricos. *Revista Brasileira de Geociências* 39: 190-198
- Leme, E.M.C & Marigo, L.C.** 1993. Bromélias na natureza. Marigo Comunicação Visual, Rio de Janeiro.
- Lichtenthaler, H.K.,** 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148, 350–382.
- Mollo, L., Martins, M.M.C., Oliveira, V.F., Nievola, C.C. & Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** 2011. Effects of low temperature on growth and non-structural carbohydrates in the Imperial Bromeliad *Alcantarea imperialis* cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 107: 141-149.
- Murashige, T. & Skoog, F.** 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15: 473-497.
- Oliveira, V.F., Garcia, P.M.A, Aoyama, E.M., Tamaki, V. & Nievola, C.C.** 2009. Variações no conteúdo de carboidratos em *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms submetidas a diferentes potenciais hídricos. *Anais do III Congresso Latino Americano de Ecologia*, 10 a 13 de Setembro de 2009, São Lourenço – MG.
- Pereira, P.N.** 2016. Influência das fontes de N e do déficit hídrico sobre a expressão de aquaporinas e/ou transporte de ácidos orgânicos em plantas CAM. PhD Thesis, Instituto de Biociências, São Paulo SP, Brazil.
- Porembski, S.** 2007. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. *Revista Brasileira de Botânica* 30: 579-586.
- Zotz, G., Laube, S. & Schmidt, G.** 2005. Long-term population dynamics of the epiphytic bromeliad, *Werauhia sanguinolenta*. *Ecography* 28: 806/814.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### Efeito da interação nitrogênio e fósforo no crescimento de *Aechmea fasciata* (Bromeliaceae)

**Alessandro, R. Zabotto**<sup>(1)</sup>, Maurício. L. Ferreira<sup>(2)</sup>, Armando R. Tavares<sup>(1)</sup> & Shoey Kanashiro<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP. E-mail para contato: [alezabotto@gmail.com](mailto:alezabotto@gmail.com)

**Resumo:** O projeto teve como objetivo de avaliar respostas morfológicas e fisiológicas do crescimento e desenvolvimento dos sistemas aéreo e radicular da bromélia ornamental *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker, submetida as concentrações de nitrogênio (4,0; 14,5 e 24,5 mM N) e fósforo (0,1; 1,1 e 2,1 mM P), visando subsidiar o manejo de adubação no cultivo comercial de Bromélias. A adubação foi feita com 3 doses de nitrogênio e de fósforo baseada na solução HA (Hoagland e Arnon, 1950) modificada. No final do experimento foram avaliadas as medidas biométricas, de biomassa e análise nutricional, sendo as médias comparadas através do teste Tukey a 5%. A análise nutricional mostrou que houve acúmulo de N (9,59; 29,47 e 36,91 g kg<sup>-1</sup> N) e P (2,18; 2,95 e 4,23 g kg<sup>-1</sup>), com o aumento das concentrações destes nutrientes na solução HA. Houve incremento das variáveis altura (A), número de folhas (NF), diâmetro (D), massa fresca das folhas (MFF) e total (MFT), com o aumento da concentração de N. Não houve incremento nas variáveis analisadas em relação ao aumento da concentração de P. O índice SPAD apresentou valores mais altos nas maiores concentrações de N nas folhas de *A. fasciata*. O aumento da concentração de P, apesar de aumentar o conteúdo foliar do nutriente nas folhas, não promoveu o incremento das variáveis analisadas. A concentração 14,5 mM de nitrogênio no meio HA apresentou as maiores e significativas respostas de crescimento da espécie. Conclui-se que o N é mais limitante ao crescimento de *A. fasciata* quando comparado ao P.

**Palavras-Chave:** bromélia, nutrição mineral, floricultura, adubação.

#### INTRODUÇÃO

A família Bromeliaceae compreende 58 gêneros e 3.172 espécies, constituindo um dos grupos mais morfológicamente distintos, ecologicamente diverso e rico em espécies nativas dos trópicos e subtropicais (Luther 2008). A família apresenta características morfológicas marcantes como, a presença recorrente de inflorescências vistosas e folhas distribuídas em roseta, formação de um tanque (reservatório) de água e nutrientes que promove certa independência dessas plantas ao solo (Benzing 1978, Moreira *et al.* 2006). *A. fasciata* em condição natural é epífita e, segundo Martin (1994), apresenta metabolismo fotossintético do tipo CAM. A espécie é herbácea, epífita, acaule, de folhagem e florescimento vistoso, de 30 a 40 cm de altura.

O projeto experimental de pesquisa teve o objetivo de avaliar as respostas fisiológicas e morfológicas de crescimento e o desenvolvimento do sistema aéreo e radicular do cultivar comercial de *A. fasciata*, submetidas a diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo. Este projeto permite a elaboração de estratégias de manejo mais adequado para o cultivo das bromélias epífitas de uso comercial para ornamentação, propiciando o aumento da produtividade.

#### MATERIAL E MÉTODOS

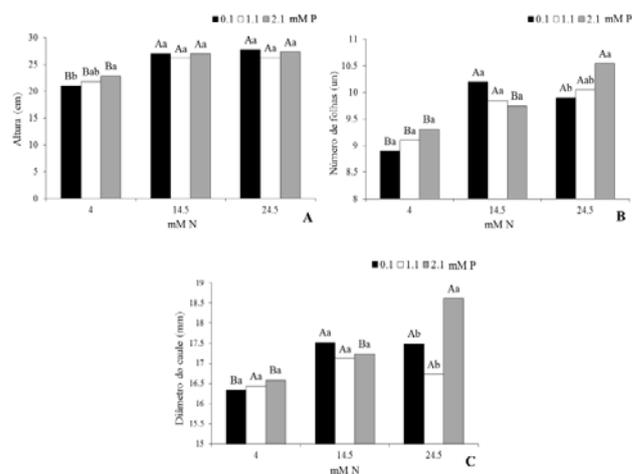
O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais do Instituto de Botânica, São Paulo, SP, em estufa com 50% de sombreamento. No início do experimento, foram selecionadas para fins de comparação 10 plantas do cultivar comercial de *A. fasciata*, constituindo-se como o tempo zero (T0), com aproximadamente seis meses de idade em que apresentavam as seguintes medidas biométricas: altura média de

12 cm, 7,78 mm de diâmetro do caule e 8 folhas, cultivadas em vaso de polietileno preto com capacidade de 0,35L, contendo areia como substrato. No decorrer do experimento as plantas foram fertilizadas com solução de Hoagland & Arnon n.2 (1950) modificada, segundo os tratamentos: T1– 4 mM N e 0,1 mM P; T2– 4 mM N e 1,1 mM P; T3– 4 mM N e 2,1 mM P; T4 – 14,5 mM N e 0,1 mM P; T5 – 14,5 mM N e 1,1 mM P; T6 – 14,5 mM N e 2,1 mM P; T7 – 24,5 mM N e 0,1 mM P; T8 – 24,5 mM N e 1,1 mM P e T9 – 24,5 mM N e 2,1 mM P. As soluções tiveram o pH corrigido para 5,8. As plantas receberam os tratamentos com 30 ml das soluções duas vezes por semana no tanque e no substrato, recebendo também irrigação em dias alternados aos da aplicação dos tratamentos.

Ao final do experimento (120 dias), foram selecionados aleatoriamente três indivíduos de cada tratamento para leituras do teor relativo de clorofila utilizando-se o equipamento portátil SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japão). As leituras foram feitas em quatro pontos diferentes na terceira folha expandida das plantas. A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada com o fluorômetro Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS5p (Opti-Sciences). As análises foram feitas seguindo a metodologia de Genty *et al.* (1989), avaliando a emissão da fluorescência da clorofila na parte adaxial da terceira folha expandida. Foram analisadas as medidas biométricas altura da planta, diâmetro do caule, determinada com paquímetro digital e contagem do número de folhas. Os valores de biomassa fresca foram obtidos com a pesagem em balança digital. A biomassa seca foi obtida após secagem da biomassa fresca em estufa de ar forçado a 55 °C até peso constante. As folhas das plantas dos tratamentos foram trituradas até se transformarem em pó homogêneo, e realizadas as análises de macro (nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre) e micronutrientes (boro, cobre, ferro, manganês e zinco). O delineamento experimental adotado foi na forma fatorial 3 x 3 (N x P) em blocos ao acaso, com quatro blocos e cinco plantas, totalizando 180 plantas. As medidas biométricas, de biomassa e concentrações de nutrientes foram avaliadas por meio de análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). As análises foram realizadas no Software Estatístico Sisvar 5.3 (FERREIRA 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

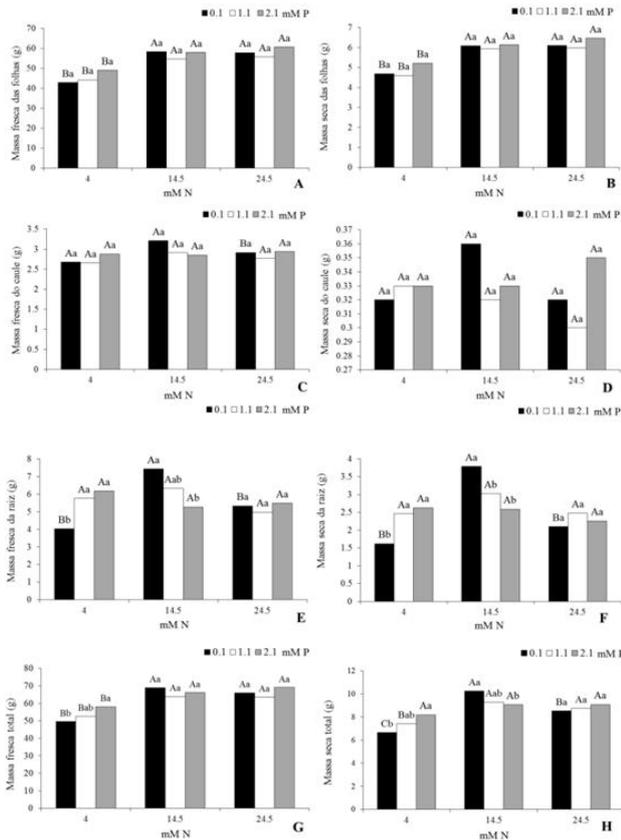
A análise dos dados mostrou que houve incremento da altura da planta (Figura 1A), número de folhas (Figura 1B) e diâmetro do caule (Figura 1C) com o aumento das doses de nitrogênio (entre 4 mM a 14,5 mM); porém, o mesmo não se repetiu com a maior dose provavelmente por fitotoxicidade do nitrato de amônio. A mesma tendência foi encontrada por Grossi (2000) em que as concentrações de nitrogênio variaram entre 1,78 a 30 mM na bromélia *Aechmea nudicaulis*, que apresentou melhor crescimento na concentração 7,5 mM. Observou-se o efeito da interação entre nitrogênio e fósforo na variável altura quando tratadas com a menor dose de nitrogênio (4 mM) e a maior dose de fósforo (2,1 mM). Rodrigues *et al.* (2002) e Kikuti *et al.* (2005), trabalhando com plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), encontraram efeitos significativos da interação entre nitrogênio e fósforo.



**Figura 1.** A – Altura da planta, B – Número de folhas e C – Diâmetro de caule de *A. fasciata*. Letras maiúsculas comparam entre tratamentos e minúscula dentro dos tratamentos ( $p < 0,5$ ).

As massas fresca (Figura 2A) e seca (Figura 2B) das folhas, apresentaram resultados significativos apenas nas maiores doses de nitrogênio (14,5 e 24,5 mM). Os tratamentos com as diferentes concentrações de fósforo não apresentaram resultados. As variáveis massa fresca (Figura 2C) e massa seca (Figura 2D) do caule, não apresentaram diferenças estáticas entre os tratamentos com nitrogênio ou fósforo. As

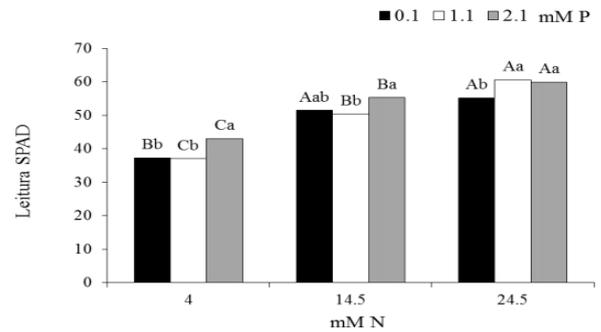
maiores massas seca e fresca das raízes foram obtidas no tratamento 14,5 mM, diferindo estatisticamente dos tratamentos 4 e 24,5 mM N. A variável massa fresca total (Figura 2G) apresentou os maiores resultados na concentração 14,5 mM. As plantas do tratamento 24,5 mM N apresentaram sintomas visuais de queima, com necrose nas pontas das folhas mais novas.



**Figura 2.** A – Massa fresca das folhas, B – Massa seca das folhas, C – Massa fresca do caule, D – Massa seca do caule, E – Massa fresca da raiz, F – Massa seca da raiz, G – massa fresca total e H – massa seca total de *A. fasciata*. Letras maiúsculas comparam entre tratamentos e minúscula dentro dos tratamentos ( $p < 0,5$ ).

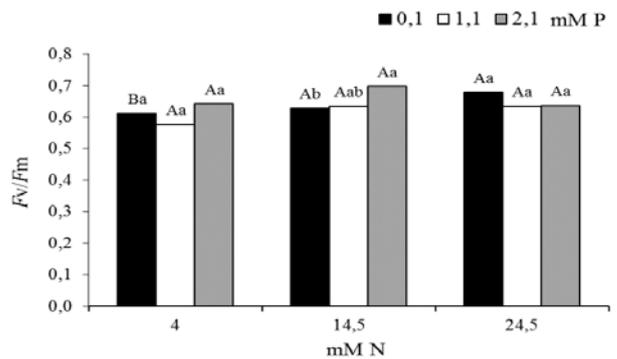
Analisando os resultados das leituras do Índice Relativo de Clorofila (IRC), observou-se a tendência de que as maiores concentrações de nitrogênio nas folhas acompanham os maiores índices SPAD (Figura 3). O resultado difere de Oliveira (2005), os quais, analisando cultivares de sorgo e doses de nitrogênio, não observou efeito significativo das doses de N sobre a produção de massa seca. Segundo (Marenco & Lopes 2007), o SPAD-502 tem sido utilizado para estimar o teor

de nitrogênio da folha, devido a sua correlação com a clorofila.



**Figura 3.** Leituras do teor relativo de clorofila utilizando-se o equipamento portátil SPAD-502 em *A. fasciata*. Letras maiúsculas comparam entre tratamentos e minúsculas dentro dos tratamentos ( $p < 0,5$ ).

A fluorescência da clorofila *a* mostrou que a taxa de transporte de elétrons (ETR), não tiveram alterações significativas nas folhas das plantas de todos os tratamentos compostos das diferentes concentrações de nitrogênio e fósforo (Figura 4).



**Figura 4.** Fluorescência da clorofila *a* utilizando-se o fluorômetro em *A. fasciata*. Letras maiúsculas comparam entre tratamentos e minúsculas dentro dos tratamentos ( $p < 0,5$ ).

Na análise foliar do experimento com *A. fasciata*, os teores de fósforo e nitrogênio no tecido foliar aumentaram, mostrando que as plantas absorveram os nutrientes dos tratamentos (Tabela 2). As plantas do tratamento 4 mM N apresentaram a média de 10 g N Kg<sup>-1</sup>, 29,33 g N Kg<sup>-1</sup> no tratamento 14,5 mM de N e 37 g N Kg<sup>-1</sup> no tratamento 24,5 mM N. As plantas do tratamento 0,1 mM P apresentaram a média de 2,30 g P Kg<sup>-1</sup>, 2,96 g P Kg<sup>-1</sup> no tratamento 1,1 mM P e 4,2 g P Kg<sup>-1</sup> no tratamento 2,1 mM P. Os resultados para as concentrações de N estão acima dos observados

## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

por Sanches (2009) em *A. fasciata*, que obteve valores entre 8 e 12 g Kg<sup>-1</sup> N nas folhas e 13 e 18 g Kg<sup>-1</sup>.

Trat.	N	P	K	Ca	Mg	S					
							g Kg <sup>-1</sup>			mg Kg <sup>-1</sup>	
1	9	1,5	19	10	3,7	0,9	33	5	219	130	17
2	10	3,2	18	9	3,9	0,9	29	5	171	142	20
3	11	4,4	18	8	3,5	0,8	28	5	176	137	22
4	29	2,1	16	6	3,7	0,8	29	6	218	176	21
5	31	3,7	18	6	4,1	0,9	33	7	129	192	23
6	28	4,4	18	5	3,2	0,8	33	6	109	153	22
7	35	3,3	15	5	3,0	0,8	27	7	132	143	17
8	39	2,0	17	5	3,2	0,8	27	5	141	162	19
9	37	3,8	16	5	3,1	0,8	26	6	124	142	17

**Tabela 2.** Macro e micronutrientes em *A. fasciata* submetidas aos tratamentos com N e P.

### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no experimento permitem concluir que a concentração 14,5 mM de nitrogênio é a mais indicada para a fertilização da espécie, pois influenciou significativamente a produtividade de massa fresca e seca de *A. fasciata*. O fósforo apresentou melhor resultado na variável altura da planta, em baixa concentração de nitrogênio. Não houve interação entre os nutrientes.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq-PIBIC pela bolsa do primeiro autor.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benzing, D.H.** 1978. The nutritional status of three *Encycliataмпensis* (Orchidaceae) populations in southern Florida as compared with that of *Tillandsia circinnata* (Bromeliaceae). *Selbyana* 2: 224-229.
- Ferreira, D.F.** 1999. SISVAR – Sistema de análises estatísticas. Lavras, UFLA.
- Genty, B., Briantais, J.M. & Baker, N.R.** 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimistry Biophys Acta* 990: 87-92.
- Grossi, F., Takashi, M., Gonçalves, A.N. & Trivelin, P.C.O.** 2000. Absorção de amônio e nitrato em *Aechmea nudicaulis* (Bromeliaceae) cultivada in vitro por período prolongado e atividade da redutase de nitrato. *Anais. São Paulo*: [s.n.].
- Hoagland, D.R. & Arnon, D.I.** 1950. The water culture method for growing plants without soils. Berkeley, California Agricultural Experimental Station.
- Kikuti, H., Bastos de Andrade, M.J., Guedes de Carvalho, J., & Morais, A.R.** 2005. Nitrogênio e fósforo em feijão (Nitrogênio e fósforo em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade cultivada BRS MG Talismã cultivada BRS MG Talismã. *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 27: 415-422.
- Luther, H.** 2008. An Alphabetical List of Bromeliad Binomials, 11th ed. Sarasota: Bromeliad Society International.
- Marengo, R.A. & Lopes, N.F.** 2007. Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa: Editora UFV.
- Martin, C.E.** 1994. Physiological Ecology of the Bromeliaceae. *Botanical Review* 60: 1-82.
- Moreira, B.A., Wanderley, M.G.L. & Barros, M.A.V.C.** 2006. Bromélias: Importância ecológica e diversidade. Taxonomia e Morfologia. Estágio de Docência. Instituto de Botânica. São Paulo.
- Oliveira, R.P., França, A.F.S., Rodrigues Filho, O., Oliveira, E.R., Rosa, B., Soares, T.V. & Mello, Q.S.** 2005. Características agrônômicas de cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) sob três doses de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 35: 45-53.
- Rodrigues, A., Carvalho, E.M. & Vale, F.X.R.** 2002. Severidade da podridão-radicular de *Rhizoctonia* do feijoeiro influenciada pela calagem, e pelas fontes e doses de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 1247-1252.
- Sanches, L.V.C.** 2009. Desenvolvimento de *Aechmea fasciata* (Bromeliaceae) em função de diferentes saturações por bases no substrato e modos de aplicação da fertirrigação. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

### As estratégias de uso de nitrogênio e sua eficiência na reclassificação de espécies quanto aos seus estágios sucessionais

**Deroila Vieira Marinho**<sup>(1)</sup>, Nidia Mara Marchiori<sup>(2)</sup> & Marcos Pereira Marinho Aidar<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

E-mail para contato: [deroilamarinho@gmail.com](mailto:deroilamarinho@gmail.com)

**Resumo:** A forma clássica de categorização de espécies vegetais em grupos sucessionais é através das estratégias de uso da luz. Contudo, há ainda dúvidas quanto a melhor classificação, visto a grande plasticidade das espécies diante da disponibilidade do recurso. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é propor uma reclassificação sucessional baseado nas estratégias de uso de nitrogênio. Espécies de duas parcelas com históricos de uso distintos, localizadas no Núcleo Santa Virginia, Ubatuba, foram classificadas em grupos sucessionais na forma clássica e também através de suas respectivas atividades da enzima nitrato redutase (NRA), conteúdo de arginina (Arg) e glutamina (Gln) na seiva do xilema. As variáveis de uso de N foram ponderadas pela área basal (AB) das espécies para se obter um índice funcional que representasse a comunidade como um todo. A classificação clássica guiando o enquadramento pelas estratégias nutricionais de N classificou somente 55,3% das espécies, ou seja, quase metade da categorização em pioneira (Pi), secundária inicial (Si) e secundária tardia (St) não são coerentes com a forma com que as espécies usam o recurso nutricional. Por outro lado, quando primeiramente as espécies foram discriminadas pelo uso de nitrogênio e em seguida classificadas por categoria sucessional, 86,8% delas foram corretamente enquadradas, sendo clara a distinção entre Inicial, Média e Avançada quando primeiro considerado o uso de nitrogênio para classificá-las. Esse resultado indica que classificar as espécies através da forma com que elas usam a ANR, Arg e Gln e, em seguida, enquadrar em níveis sucessionais permite categorizações mais eficientes do que somente avaliar através da categoria sucessional clássica.

**Palavras-Chave:** Nitrogênio, Núcleo Santa Virginia, índice, sucessão ecológica.

#### INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é uma das maiores e mais desmatadas florestas tropicais (Joly et al. 2014). Atividades humanas alteraram esse ecossistema e, atualmente, ela é composta por fragmentos florestais com composição diferentes, bem como uso passado e área de entorno (Melo et al. 2013). A teoria da sucessão florestal demonstra que florestas, maduras ou jovens exibem trechos em permanente transformação em função de fatores naturais (fatores de perturbação) tais como, desmoronamentos, fogo, inundações, queda de árvores, tufões, etc. Estes fatores por sua vez, acabam delineando a ocorrência, a frequência e as dimensões das manchas de um dado mosaico sucessional (White, 1979; Hartshorn, 1980; Pickett and White, 1985). “Como consequência as características do mosaico interferem na composição florística e na estrutura fitossociológica da floresta” Gandolfi (1995).

A forma clássica de categorização de espécies em grupos sucessionais é através das estratégias de uso da luz, sendo possível classificar em pioneiras (Pi) as espécies que demandam de luz para sua sobrevivência e germinação, as secundárias iniciais (Si) são aquelas que ocorrem em condições de sombreamento médio ou luminosidade não muito intensa, enquanto que secundárias tardias (St) são definidas como espécies que se desenvolvem no subosque em condições de sombra leve ou densa, podendo permanecer em sobosque ou em condição emergente (Gandolfi 1995). Contudo, em alguns

## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

casos há grande dúvida quanto a melhor classificação, visto a plasticidade da espécie. O uso de atributos foliares que covariam entre si pode auxiliar em uma melhor compreensão a respeito da dinâmica e funcionamento dos ecossistemas (Wright et al. 2004). Dessa forma, propomos nesse trabalho uma reclassificação em grupos sucessionais baseado nas estratégias de uso de nitrogênio, buscando aplicar a funcionalidade na abordagem de sucessão.

O nitrogênio (N) é um dos elementos mais abundantes nas plantas, somente presente em menor quantidade do que o carbono, oxigênio e hidrogênio (Schimann et al. 2008). A compreensão acerca do uso de N e sucessão na Mata Atlântica foi iniciada por Aidar et al. (2003), o qual caracterizou um contínuo de estratégias do uso de nitrogênio de acordo com as guildas de regeneração das espécies em Floresta Ombrófila Densa Submontana. Baseado na demanda de novas estratégias para classificar espécies incluindo as estratégias funcionais, o presente trabalho teve como objetivo reclassificar as espécies arbóreas em categorias sucessionais de acordo com as estratégias de uso de nitrogênio adotadas por elas.

### MATERIAL E MÉTODOS

As duas áreas selecionadas para aplicação dos índices ecofisiológicos estão localizados no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia, Ubatuba - São Paulo, Brasil (23°17' a 23°24' S – 45°03' a 45°11' W), na formação Floresta Ombrófila Densa Montana (Veloso et al. 1991). As altitudes variam entre 900 a 1093 m (Joly et al. 2012) e o solo predominante na região é Cambissolo Háptico Tb Distrófico típico (Martins, 2010), com maior concentração de areia (60%) em relação ao silte (20%) e argila (20%). Além disso, essas comunidades são caracterizadas pela presença de solos rasos, antigos geologicamente, bem drenados, baixo pH e alta concentração de fósforo em comparação com cotas altimétricas inferiores (Martins, 2010). O clima regional pode ser classificado segundo Köppen (1948) como Cwa, tropical temperado, apresentando verões mais chuvosos e quentes do que os meses de inverno.

Ambas as áreas de estudo foram amostradas pelo método de parcelas, 1 ha cada, instaladas mediante demanda de projetos temáticos financiados pela Fapesp. A área de estudo mais avançada na sucessão foi estudada por Padgurschi et al. (2011) e Ribeiro (2013) (Parcela K) e compõe o conjunto de parcelas

permanentes do Projeto Temático Gradiente Funcional e Programa Peld/CNPq (processo 12/51509-8), enquanto que a parcela estudada por Marchiori (2012) (Parcela T) é parte do projeto “Carbon tracker and water availability: controls of land use and climate changes” (processo 08/58120-3).

Os índices de uso de nitrogênio foram elaborados com um componente funcional ponderado pelo estrutural. Para a escolha das variáveis que iriam compor o índice nos baseamos em estudos prévios e análises exploratórias da dispersão dos dados (PCA, NMDS e PCO). Assim, selecionamos para o componente funcional: a atividade da enzima nitrato redutase (ANR) para representar espécies pioneiras, o aminoácido glutamina (Gln) para secundárias iniciais e o aminoácido arginina (Arg) para secundárias tardias, segundo modelo proposto por Aidar et al. (2003). Enquanto que o componente estrutural do índice foi a área basal, visto que representa tanto a dominância quanto a densidade da espécie.

Os índices agregados utilizados foram baseados no proposto por Garnier et al. (2004) e apresentado na Equação 1, sendo a somatória de uma variável de N ( $trait_i$ ) ponderada pela área basal relativa da espécie ( $p_i$ ), obtendo assim um índice geral agregado ( $trait_{agg}$ ) por variável.

$$trait_{agg} = \sum_{i=1}^n p_i * trait_i \quad \text{Equação 1}$$

Como forma de comparar as categorias sucessionais clássicas baseados em estudos taxonômicos e funcionais com as categorias sucessionais baseadas em variáveis fisiológicas foi realizada uma análise de discriminante canônica e uma análise de componentes principais (PCA). A análise discriminante é uma “ferramenta” estatística multivariada que busca classificar um determinado elemento de acordo com um grupo de variáveis, utilizando valores de verossimilhança a fim de avaliar, a posteriori, as probabilidades de classificação incoerente do elemento naquele grupo de variáveis (Manly 2008). Assim, as espécies que a princípio haviam sido enquadradas em categorias sucessionais clássicas foram reavaliadas por meio da análise de discriminante considerando as variáveis de uso de nitrogênio, sendo renomeadas em Inicial, média e avançada dependendo da estratégia nutricional.

## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

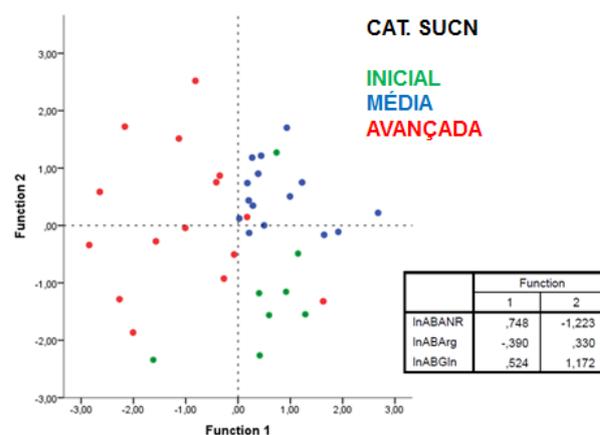
A categoria sucessional clássica é geralmente divulgada juntamente com listas de levantamentos florísticos e fitossociológicos e, frequentemente, levam em consideração a demanda das espécies por luz para a germinação ou desenvolvimento, enquanto que a categoria sucessional de uso de nitrogênio é uma reclassificação obtida pela análise de discriminante em função das estratégias das espécies diante das variáveis ANR, Gln e Arg ponderadas pela área basal. Os dados foram logaritmizados para atingir a distribuição normal e as análises foram realizadas nos programas FITOPAC 2.1.2 (Sheperd 2010) e PAST 3 (Hammer et al. 2001).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira análise de discriminante mostrou que existe uma não adequação do uso de nitrogênio de acordo com a classificação clássica, fornecida pelas caracterizações ecológicas (Eixo 1 -  $\lambda=0,80$ ;  $df=6$ ;  $p=0,27$ ). Contudo, quando se fez uma análise primeiramente enfocando na estratégia de uso de nitrogênio e em seguida, um enquadrando das espécies em categorias sucessionais, o resultado foi estatisticamente significativo (Eixo 1 -  $\lambda=0,391$ ;  $df=6$ ;  $p<0,001$ ; Eixo 2 -  $\lambda=0,702$ ;  $df=2$ ;  $p<0,001$ ), com o eixo 1 representando 65% de variação e o eixo 2 35%, sendo ambos influenciados pela  $\ln ABANR$  (Coeficiente da função canônica padronizada – Eixo 1=0,748; Eixo 2= -1,223) e  $\ln ABGln$  (Coeficiente da função canônica padronizada – Eixo 1=0,524; Eixo 2=1,172) (Figura 1). Analisando a composição dos eixos é possível afirmar que a glutamina mostrou-se ser uma variável comum entre as categorias sucessionais e foi capaz de distinguir entre a categoria Inicial e Média, sendo maior na última.

A classificação clássica guiando o enquadramento pelas estratégias nutricionais de N classificou somente 55,3% das espécies, ou seja, quase metade da categorização em Pi, Si e St não são coerentes com a forma com que as espécies usam o recurso nutricional. Por outro lado, quando primeiramente as espécies foram discriminadas pelo uso de nitrogênio e em seguida classificadas por categoria sucessional, 86,8% delas foram corretamente enquadradas (Figura 1), sendo clara a distinção entre Inicial, Média e Avançada quando primeiro considerado o uso de nitrogênio para classificá-las. Esse resultado indica que classificar as espécies através da forma com que elas usam a ANR, Arg e Gln e, em seguida, enquadrar em níveis sucessionais

permite caracterizações mais eficientes do que somente avaliar através da categoria sucessional clássica.

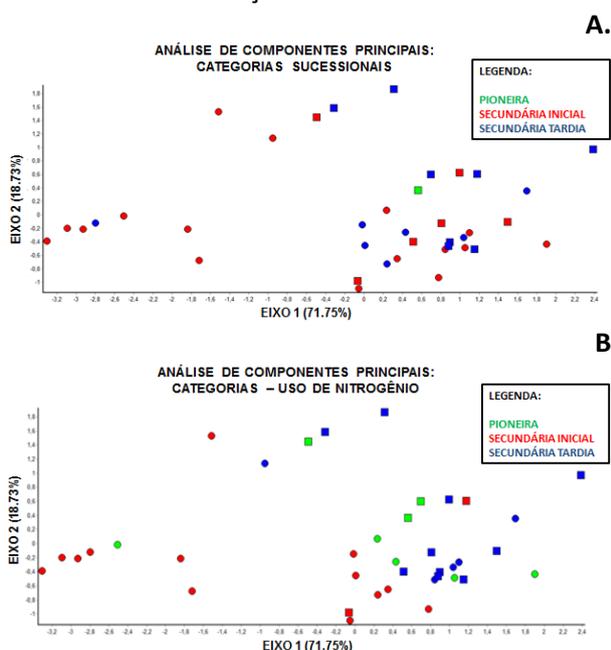


**Figura 1.** Dispersão das espécies de acordo com a função discriminante canônica. As cores indicam as categorias sucessionais das espécies de acordo com o uso de nitrogênio. Espécies Iniciais em verde, Médias em azul e Avançadas em vermelho.

A espécie *Myrcia spectabilis* DC., *Guapira opposita* (Vell.) Reitz e *Euterpe edulis* Mart., por exemplo, alteraram seu enquadramento prévio quando avaliado seu uso de nitrogênio e isso pode ser resultante de estratégias flexíveis dependendo da disponibilidade do recurso e característica da área de estudo. *Myrcia spectabilis* variou de acordo com o uso de nitrogênio entre as parcelas, ou seja, na parcela K ela foi reclassificada de St para Inicial e na parcela T de St para Média. Essa reclassificação foi basicamente guiada pela ANR, uma vez que na parcela K a média de ANR foi 56,7 pkat g-1PF e o valor da espécie atingiu 65,4 pkat g-1PF, assim, como o valor da média da área foi inferior ao da *M. spectabilis*, a mesma foi enquadrada como Inicial baseada na análise discriminante comparativa. Na parcela T a média da ANR foi 97,9 pkat g-1PF e *M. spectabilis* atingiu o valor de 52,1 pkat g-1PF, por isso enquadrada como Média na sucessão. Smirnoff & Stewart (1985) verificaram uma ampla flexibilidade na capacidade das espécies em assimilar as formas químicas de N, destacando que a eficiência geralmente resulta em diferentes vantagens competitivas. Contudo ainda é incipiente e um campo promissor avaliar as razões para a flexibilidade ou especificidade, bem como qual o efeito dos ecossistemas ou grupos funcionais nessas estratégias (Russo et al. 2013).

## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

A dispersão das espécies por PCA fomentadas pelos índices e destacando a categorização sucessional clássica das espécies está representada na Figura 2A e a classificação por categoria sucessional de uso de N na Figura 2B, sendo essa análise eficiente para separar as parcelas quanto a fisiologia. Na figura 2B a parcela T (representada por quadrados) é basicamente composta por espécies médias e iniciais, enquanto a parcela K manteve-se com domínio de avançadas.



**Figura 2.** Dispersão das espécies na parcela K (círculo) e T (quadrado) de acordo com as variáveis de uso de nitrogênio – ANR, Gln e Arg. Em A., as espécies foram coloridas pelas categorias sucessionais clássicas (Pi, Si e St) e, em B., pelas categorias de uso de nitrogênio, obtidas através do teste de discriminante (Inicial, Média, Avançada).

A priori, baseado nos dados de levantamento fitossociológico da parcela T, a mesma foi enquadrada como pertencente ao estágio secundário inicial avançado em decorrência da abundância e diversidade de espécies nas categorias Si e St (Marchiori 2012). Entretanto, quando avaliada a forma com que as espécies utilizam o nitrogênio é possível supor que a área encontra-se em estágio secundário inicial médio, visto a quantidade de espécies com estratégias iniciais, realocadas pela análise discriminante. Outro ponto de destaque foi a maior separação de estratégias entre as parcelas, sendo que na faixa média da dispersão do gradiente sucessional encontram-se as espécies da parcela K em estágios médios e com estratégias flexíveis, as quais estão mais próximas do funcionamento das espécies da parcela T. Dessa forma, como muitas

vezes a classificação sucessional de uma espécie pode variar entre autores e ser controversa dependendo dos critérios escolhidos, acreditamos que essa nova categorização baseado em parâmetros mensuráveis relacionados ao funcionamento metabólico do nitrogênio possa contribuir para o sistema de classificação sucessional e servir de ferramenta de gestão para classificar espécies e áreas.

### CONCLUSÕES

A comparação dos estudos em floresta Madura (Parcela K - Ribeiro 2013) e secundária inicial (Parcela T - Marchiori 2012) possibilitou a definição de um índice agregado de uso de nitrogênio, destacando as estratégias particulares em cada área. Variáveis fisiológicas como atividade da enzima nitrato redutase, conteúdo de glutamina e arginina na seiva do xilema, ponderados pelo componente estrutural (área basal), foram eficazes na distinção entre as parcelas. Assim, associando o conhecimento da estrutura e composição da área obtida através de estudos taxonômicos e fitossociológicos com os parâmetros ecofisiológicos esperamos obter ferramentas mais eficazes para determinar o estágio de sucessão de uma área selecionada (ao nível das espécies e da comunidade) e, desse modo contribuir para a classificação de áreas, um tema ainda pouco estudado.

### AGRADECIMENTOS

Agradecimento especial a toda equipe do projeto ECOFOR. Este trabalho foi co-financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq (PELD Processo 403710/2012-0), pelo Natural Environment Research Council/NERC da Grã-Bretanha e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo/FAPESP no âmbito dos Projetos PELD/BIOTA e ECOFOR (Processos 2012/51509-8 e 2012/51872-5), que fazem parte do Programa BIOTA/FAPESP - O Instituto Virtual da Biodiversidade ([www.biota.org.br](http://www.biota.org.br)). Autorizações COTEC/IF 002.766/2013 e 010.631/2013.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aidar, M.P.M.; Schmidt, S.; Moss, G; Stewart, G.R. & Joly, C.A. 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant Cell and Environment*, 26: 389-399.

## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

- Joly, C.A.; Metzger, J.P. & Tabarelli, M.** 2014. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. *New Phytologist*. Tansley Review - doi: 10.1111/nph.12989
- Joly, C.A.; Assis, M.A.; Bernacci, L.C.; Tamashiro, J.Y.; Campos, M.C.R.; Gomes, J.A.M.A.; Lacerda, M.S.; Santos, F.A.M.; Pedroni, F.; Pereira, L.S. et al.** 2012. Floristic and phytosociology in permanent plots of the Atlantic Rainforest along an altitudinal gradient in southeastern Brazil. *Biota Neotropica*, 12. URL <http://www.biotaneotropica.org.br/v12n1/en/abstract?article+bn01812012012>.
- Gandolfi, S.; Leitão Filho, H. & Bezerra, C.L.F.** 1995. Levantamento Florístico e caráter sucessional das espécies arbustivo-arbóreas de uma Floresta Mesófila Semidecídua no município de Guarulhos, SP. *Revista Brasileira de Biologia*, 55(4):753-767.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M-L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C., Toussaint, J-P.** 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*. 85: 2630–2637.
- Hammer, O.; Harper, D.A.T. & Ryan, P.D.** 2001. PAST: Paleontological Statistic software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*, 4(1): 1-9.
- KOEPPEL, W.**, 1948, *Climatologia*. Fondo de Cultura. Economía, Mexico, 478 p.
- Manly, B.J.F.** 2008. Métodos estatísticos multivariados: uma introdução. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 229p.
- Marchiori, N.M.** 2012. Aspectos funcionais da Floresta Ombrófila Densa Montana, Parque Estadual Serra do Mar: estrutura, biomassa aérea, uso de nitrogênio e fotossíntese. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 112p.
- Martins, S.C.** 2010. Caracterização dos solos e serapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, estado de São Paulo. Tese de Doutorado. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP. 156p.
- Melo FPL, Arroyo-Rodríguez V, Fahrig L, Martínez-Ramos M, Tabarelli M.** 2013. On the hope for biodiversity-friendly tropical landscapes. *Trends in Ecology and Evolution* 28: 461–468.
- Padgurschi, DeC.G.; Pereira, L.Da., Tamashiro, J.Y., Joly, C.A.** (2011). Composição e similaridade florística entre duas áreas de Floresta Atlântica Montana, São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, v. 11, n. 2, p. pp. 139-152.
- Pickett, S. T. A. and White, P. S.**, 1985,(eds.), *The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics*. Academic Press, 472 p.
- Ribeiro, S.L.C.** 2013. Economia do nitrogênio em árvores tropicais. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 205 p.
- Russo, S.E; Kochsiek, A.; Olney, J.; Thompson, L.; Miller, A.E. & Tan, S.** 2013. Nitrogen uptake strategies of edaphically specialized Bornean tree species. *Plant Ecology*, 214:1405–1416
- Santos, F.A.M.; Pedroni, F.; Pereira, L.S. et al.** 2012. Floristic and phytosociology in permanent plots of the Atlantic Rainforest along an altitudinal gradient in southeastern Brazil. *Biota Neotropica*, 12. URL <http://www.biotaneotropica.org.br/v12n1/en/abstract?article+bn01812012012>.
- Shepherd, G.J.** 2010. Fitopac 2.1. Manual do usuário. Departamento de Botânica, Unicamp. Disponível para download em <http://pedroisenlohr.webnode.com.br/fitopac/>
- Schimann, H.; Ponton, S.; Hättenschwiler, S.; Ferry, B.; Lensi, R.; Domenach, A.M; Roggy, J.C.** 2008 Differing nitrogen use strategies of two tropical rainforest late 15 successional tree species in French Guiana: Evidence from N natural abundance and microbial activities *Soil Biology & Biochemistry* 40- 487–494.
- Smirnoff, N. & Stewart, G.R.** 1985. Nitrate assimilation and translocation by higher plants: Comparative physiology and ecological consequences. *Plant Physiology*, 64:133-140.
- Taiz, L. & Zeiger, E.** 2009. *Fisiologia Vegetal*. Artmed, Porto Alegre.
- Veloso, H.P.; Rangel-Filho, A.L.R. & Lima, J.C.** 1991. Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. IBGE, Rio de Janeiro.
- White, P. S.**, 1979, Pattern, Process and Natural Disturbance in Vegetation. *The Botanical Review*, 45(3): 229-299.
- Wright, I.J.; Cannon, K.** 2001. Relationships between leaf lifespan and structural defences in a low-nutrient, sclerophyll flora 15: 351-359.
- Wright, I.J., Peter, B.R., Mark, W., David, D.A., Zdravko, B., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexaas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gullias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M., Niinemets, Ü., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J., Villar, R.** 2004. The world-wide leaf economics spectrum. *Nature* 2403:1-6.



# 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

## “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### Algas epifíticas de rios costeiros com águas pretas e brancas: avaliação espacial e temporal

João Alexandre Saviolo Osti<sup>(1)</sup>, Andréa Tucci<sup>(2)</sup> & Antonio Fernando Monteiro Camargo<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Ecologia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) Rio Claro, SP & <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [jale.osti@gmail.com](mailto:jale.osti@gmail.com)

**Resumo:** A bacia hidrográfica do rio Itanhaém localiza-se no litoral sul do estado de São Paulo (Brasil) e possui rios de águas pretas, brancas e claras, com características físicas e químicas distintas. Apesar destas características distintas as comunidades de peixes e macrófitas não se distribuem de forma diferente entre esses rios. Estas comunidades se distribuem formando gradiente no sentido foz-cabeceira da bacia hidrográfica, independentemente do tipo de água. Assim, para avaliar se os diferentes tipos de água afetam a distribuição das algas epifíticas na escala temporal e espacial, avaliamos quantitativamente algas epifíticas associadas aos pecíolos de *Eichhornia azurea* Kunth em cinco estações com águas pretas e duas estações com águas brancas, obtidos de outubro de 2013 a julho de 2014, em intervalos de três meses. Concomitantemente, buscamos responder se o método indireto de mensuração quantitativa (clorofila *a*) pode ser utilizado para o monitoramento da bacia hidrográfica do rio Itanhaém. As variáveis abióticas da água foram obtidas dos estandes de macrófitas. As algas epifíticas foram amostradas em pecíolos adultos de *E. azurea*; analisados em microscópio invertido de acordo com Utermöhl. Os dados foram apresentados em densidade e biovolume. A biomassa foi determinada pela concentração de clorofila *a*. Identificamos 286 táxons distribuídos em 18 classes. Os rios de águas brancas apresentaram as maiores concentrações de nutrientes, com abundância de Chlorophyceae e Zygnematomyceae. As diatomáceas contribuíram com até 90% da densidade total nos rios de águas pretas no inverno (julho de 2014). Nossos resultados mostram que a comunidade de algas epifíticas responde distintamente entre os rios, diferente do que se foi registrado para as macrófitas aquáticas e peixes. Os dados de

biomassa (clorofila *a*) apresentam relação positiva e significativa com os dados do biovolume, evidenciando a possibilidade de utilização desta como mensuração quantitativa de algas para o monitoramento da bacia hidrográfica do rio Itanhaém.

**Palavras-Chave:** Biomassa perifítica, ecossistema lótico, *Eichhornia azurea*

#### INTRODUÇÃO

A bacia hidrográfica do rio Itanhaém localiza-se no litoral sul do estado de São Paulo (Brasil) e possui rios de águas pretas, brancas e claras, com características físicas e químicas distintas (Camargo et al. 1996; Camargo et al. 1997). As causas dessa variabilidade estão associadas a diferentes fatores, como: às origens de cada rio, aos terrenos percorridos com diferentes aspectos geológicos, geomorfológicos e vegetacionais, somados a diversos graus de influência antrópica (Camargo et al. 2002).

Apesar destas características distintas as comunidades de peixes e macrófitas aquáticas não se distribuem de forma diferente entre esses rios. Estas comunidades se distribuem formando gradiente no sentido foz-cabeceira da bacia hidrográfica, independentemente do tipo de água (Camargo & Biudes 2006; Ferreira & Petrere Jr. 2009). A macrófita *Eichhornia azurea* Kunth, é abundante tanto nos rios de águas pretas e brancas (Cancian 2012). Assim, para avaliar se os diferentes tipos de água afetam a distribuição das algas epifíticas na escala temporal e espacial, avaliamos quantitativamente algas epifíticas associadas aos pecíolos de *E. azurea* em estações do rio com águas pretas e brancas.

Considerando ainda, que a análise da comunidade de algas epifíticas pode ser realizada por métodos, determinados diretamente a partir da contagem (organismos.cm<sup>2</sup>) e/ou pelo biovolume celular (µm<sup>3</sup>.cm<sup>2</sup>) ou indiretamente através da concentração

de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*), buscamos responder, se o método indireto de mensuração por clorofila *a* pode ser utilizado para o monitoramento da bacia hidrográfica do rio Itanhaém.

## MATERIAL E MÉTODOS

A bacia hidrográfica do rio Itanhaém localiza-se no litoral sul do estado de São Paulo (Brasil) (23°50', 24°15'S; 46°35', 47°00'W) e possui rios de águas pretas, brancas e claras (Camargo et al. 1996; Camargo et al. 1997). Trimestralmente entre outubro de 2013 e julho de 2014, compreendendo as estações do ano (primavera, verão, outono e inverno), coletamos amostras de água e de algas epifíticas em sete estações, sendo os rios de águas pretas: Preto I, Preto II, Castro, Aguapeú, Mineiros e os rios de águas brancas: Branco I e Branco II.

Temperatura da água, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e pH foram aferidos por meio de sonda de multiparâmetros. Utilizamos metodologia descrita em APHA (2005) para determinação da concentração da série de nitrogênio e fósforo da água.

Amostramos as algas epifíticas a partir da raspagem de pecíolos adultos de *E. azurea*, como recomendado por Schwarzbald (1990), utilizando pincel fino e macio e jatos com água destilada. Seis pecíolos foram coletados em cada rio, três pecíolos designados para análise de biomassa epifítica (clorofila *a*) de acordo com método descrito por Marker *et al.* (1980) e Sartory & Grobbelar (1984), e três designadas para a análise quantitativa. As algas foram quantificadas usando microscópio invertido, segundo Utermöhl (1958). A densidade foi estimada de acordo com Pompêo & Moschini-Carlos (2003), e os resultados foram expressos em número de indivíduos por unidade de área (ind.cm<sup>-2</sup>). Estimamos o biovolume (µm<sup>3</sup>.cm<sup>-2</sup>) multiplicando a densidade de cada táxon pelo volume médio (n=20). O volume das células foi estimado baseando-se em formas geométricas semelhantes ao organismo, segundo Hillebrand *et al.* (1999), quando possível foi utilizado valores documentados para as espécies em literatura específica, como em Fonseca *et al.* (2014).

### Análise estatística

Para verificar a dispersão espacial dos rios em função das variáveis limnológicas, aplicamos a análise de componentes principais (ACP), com o auxílio do programa PC-ORD 6.0 para Windows

(McCune & Mefford 2011). Os dados transformados aplicando [log (x + 1)].

Para medir o grau de correlação linear entre os valores da densidade total e o biovolume total da comunidade de algas epifíticas com a biomassa (clorofila *a*), aplicamos o coeficiente de correlação linear de Pearson (r), com o auxílio do programa estatístico Statistica version 7.1.

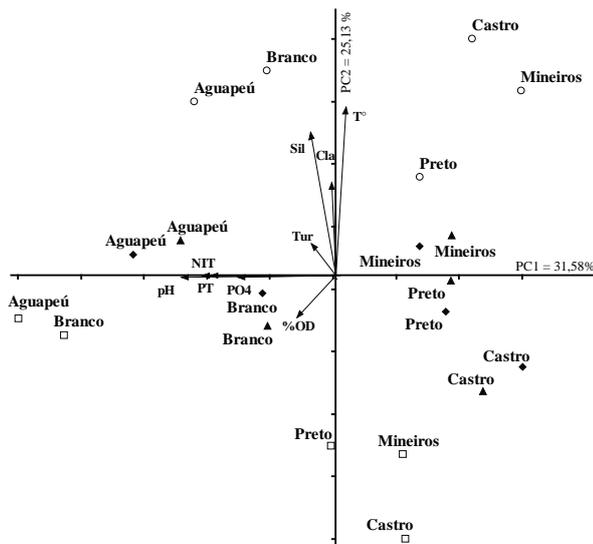
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação conjunta dos dados abióticos, por meio da ACP, sumarizou 57% da variabilidade total dos dados nos dois primeiros eixos de ordenação, estes eixos resumiram os gradientes ambientais, ao explicar a dispersão espacial dos rios e as variáveis limnológicas, esse em conjunto com as variações observadas ao longo do período sazonal (Figura 1). O primeiro eixo foi o mais importante por explicar a distribuição espacial dos rios em função das características limnológicas. O segundo eixo evidencia a distribuição dos rios em função das estações do ano. Ortossilicato, clorofila *a* e a temperatura da água foram as variáveis mais representativas do eixo, e o seus vetores mostram o aumento destas variáveis no sentido: inverno→primavera/outono→verão.

Observamos as maiores concentrações de nutrientes nos rios Branco e Aguapeú, independentemente do período amostrado. As maiores concentrações de nutrientes registradas no rio Branco já são esperadas, pois devido ao aporte de sedimentos constantemente erodidos das encostas suas águas são ligeiramente mais ricas em nutrientes. Já as elevadas concentrações de nitrogênio (NKT, NIT) e fósforo (PT e PO<sub>4</sub>) registrada no rio Aguapeú, provavelmente estão relacionados ao aumento da urbanização em seu entorno, descarga de efluentes de pesqueiros e a excedente das estações elevatórias de esgoto. Os menores valores de pH e de oxigênio dissolvido foram registrados nos rios com águas pretas: Preto, Castro e Mineiros, independentemente do período sazonal. Esses valores estão relacionados as altas concentrações de substâncias orgânicas dissolvidas, principalmente sob a forma de ácidos húmicos e fúlvicos provenientes da decomposição da matéria orgânica (Camargo *et al.* 1996; Camargo *et al.* 1997). A variação temporal esteve relacionada as diferentes estações do ano em função de verões quentes e chuvosos e invernos amenos e menos chuvosos.

Identificamos 286 táxons de algas epifíticas nos rios da bacia hidrográfica do rio Itanhaém, distribuídos em 18 classes taxonômicas. As classes mais representativas quantitativamente e qualitativamente foram: Bacillariophyceae,

Chlorophyceae, Cyanobacteria e Zygnematophyceae (Figura 2 a, b).

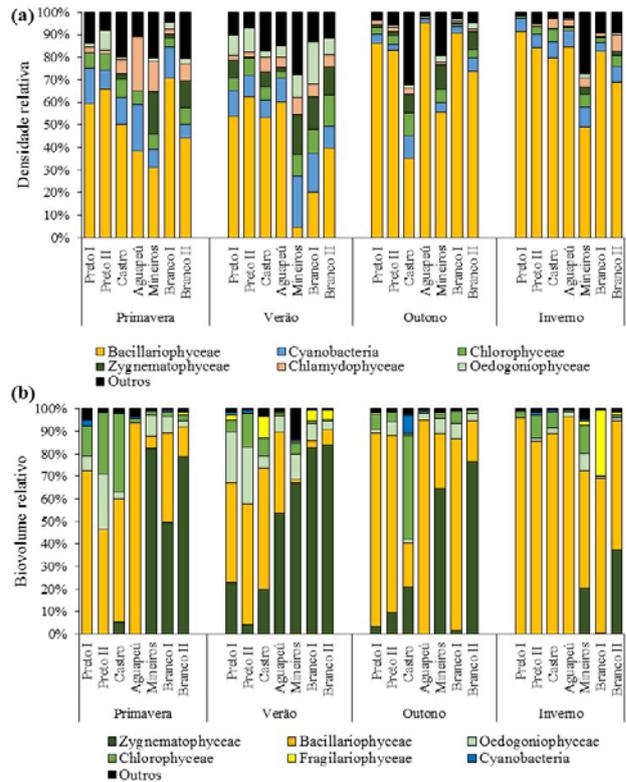


**Figura 1.** Ordenação biplot para a Análise de Componentes Principais (ACP), entre os valores médios das variáveis físicas e químicas da água de rios costeiros da Bacia Hidrográfica do rio Itanhaém (rio Preto, rio Castro, rio Aguapeú, rio Mineiros, rio Branco) ao longo de três ciclos sazonais completos, sendo: primavera (▲), verão (○), outono (◆) e inverno (□). Temperatura (T°); pH; Turbidez (Turb); Oxigênio dissolvido (%OD); Nitrogênio inorgânico total (NIT); Fósforo total (PT); P-Ostofosfato (P-PO<sub>4</sub>); Clorofila *a* (Cl<sub>a</sub>) e Ortossilicato (Sil).

Bacillariophyceae foi a classe mais representativa nos rios de águas pretas: Preto I, Preto II, Castro e Aguapeú. Já nos rios de águas brancas (Branco I e Branco II) e o rio Mineiros (rio de águas preta), além das diatomáceas, outras classes como: Chlorophyceae, Cyanobacteria e Zygnematophyceae, tiveram grande contribuição para a estrutura da comunidade, notadamente no verão. A densidade relativa de Bacillariophyceae foi elevada ao longo de todo período e rios amostrados (20-95%) (Figura 2 a, b). Quanto ao biovolume relativo, a Bacillariophyceae também apresentou maior participação na estrutura da comunidade epifítica dos rios estudados (36-96%). No entanto, Zygnematophyceae teve grande contribuição na estrutura da comunidade e com exceção feita ao inverno, a classe apresentou maior biovolume nas estações localizadas nos rios Mineiros (65-83%), Branco II (77-84%) e durante a primavera e verão na estação Branco I (50-83%).

Bacillariophyceae foi a classe com maior representatividade na bacia, provavelmente as características ambientais observadas nos rios de águas pretas, como a baixa disponibilidade de luz,

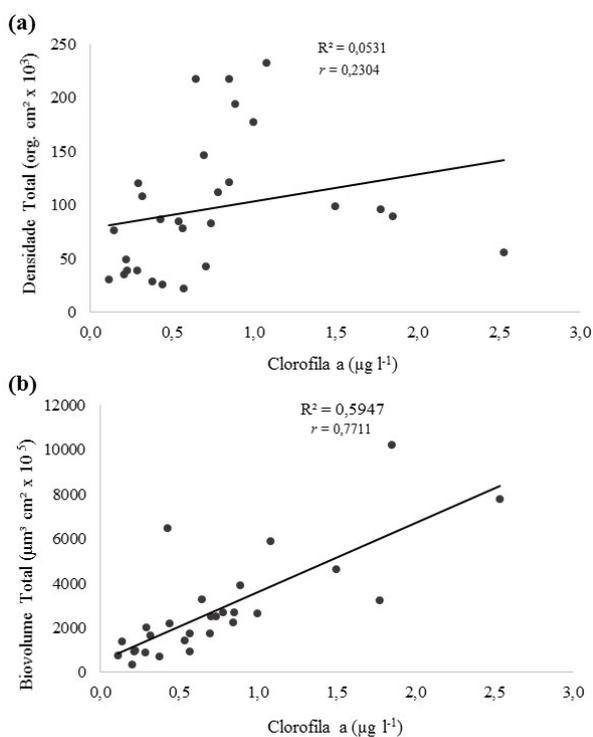
e os menores valores de temperatura da água registrada na região no inverno, foram favoráveis ao desenvolvimento do grupo.



**Figura 2.** Densidade relativa (a) e Biovolume relativo (b) de algas perifíticas em *Eichhornia azurea* Kunth durante o período de estudo, em rios da Bacia Hidrográfica do rio Itanhaém.

A disponibilidade de luz e a temperatura são consideradas variáveis importantes na distribuição do perifíton nos ambientes tropicais, uma vez que o processo sucessional é mais rápido durante períodos quentes e chuvosos (Bicudo *et al.* 1995). Assim, a maior contribuição das Cyanobacteria, Chlorophyceae e Zygnematophyceae filamentosas para comunidade epifítica nos rios Mineiros, Branco I e Branco II, principalmente no verão, provavelmente está relacionada a maior disponibilidade de nutrientes e luz.

A estrutura da comunidade de algas epifíticas diferiu entre os métodos de mensuração: biomassa, densidade total e biovolume total. Aplicamos o coeficiente de correlação de Pearson (*r*) para medir o grau de relação linear entre a densidade total e o biovolume total da comunidade de algas perifíticas com a biomassa (clorofila *a*). A correlação de Pearson mostrou que somente o biovolume total de algas perifíticas apresentou significativa relação linear de dependência com a clorofila *a* (*p* < 0,05); (Figura 3).



**Figura 3.** Diagrama de dispersão da biomassa (clorofila *a*) com a Densidade total de algas perifíticas (a) e com o Biovolume Total de algas perifíticas (b) em rios da Bacia Hidrográfica do rio Itanhaém. O símbolo *r* indica o coeficiente de correlação de Pearson e o  $R^2$  indica o coeficiente de determinação da regressão linear simples.

### CONCLUSÕES

Diferentemente do que foi registrado para as outras comunidades biológicas desta bacia, a estrutura da comunidade de algas perifíticas em *E. azurea* foi influenciada pelas características abióticas de cada rio e pela escala sazonal de variação das condições ambientais.

Os dados de biomassa de algas epifíticas (clorofila *a*) apresentam relação positiva e significativa com os dados de biovolume, demonstrando a possibilidade de utilização desta medida de mensuração de algas epifíticas para o monitoramento da Bacia Hidrográfica do rio Itanhaém.

### AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve o apoio do PELD/CNPq/FAPESP 34/2012 - processos (CNPq Nº 403723/2012-4 e FAPESP Nº 12/51511-2), J.A.S. Osti agradece a FAPESP (Processo Nº 2013/19847-3) pela bolsa de pós-doutorado. Nós agradecemos ao Carlos Fernando Sanches pela ajuda nas coletas de campo e análises laboratoriais.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA.** 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington, DC.
- Bicudo, D.C.** et al. 1995. Periphyton studies in Brazil: present status and perspectives. In: Tundisi, J. G. et al. (Ed.) Limnology in Brazil. Rio de Janeiro: ABC/SBL, p.37-58.
- Camargo, A.F.M., Pereira, L.A. & Pereira, A.M.M.** 2002. Ecologia da bacia hidrográfica do rio Itanhaém. In: Schiavetti, A. & Camargo A.F.M. (Ed). Conceitos de Bacias Hidrográficas. Ilhéus, Bahia: Editus. 293 pp.
- Camargo, A.F.M., & Biudes, J.F.V.** 2006. Influence of limnological characteristics of water in the occurrence of *Salvinia molesta* and *Pistia stratiotes* in rivers from the Itanhaém River basin (SP, Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia* 18: 239-246.
- Camargo, A.F.M. et al.** 1996. Influence of physiography and human activity on limnological characteristics of lotic ecosystems of the south coast of São Paulo, Brazil. *Acta Limnol. Brasil.* 231-243.
- Camargo, A.F.M. et al.** 1997. The influence of the geology on the limnological characteristics of some lotic ecosystems of the Itanhaém River Basin, SP, Brazil. *Stuttgart, Verh. Intertat. Verein. Limnol.* 26: 860-864.
- Cancian, L.F.** 2012. Modelagem de distribuição geográfica potencial de macrófitas aquáticas em bacias hidrográficas. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- Ferreira, F.C. & Petreire Jr., M.** 2009. The fish zonation of the Itanhaém river basin in the Atlantic Forest of southeast Brazil. *Hydrobiologia* 636: 11-34.
- Fonseca, B. M., Ferragut, C., Tucci, A., Crossetti, L. O., Ferrari, F., Bicudo, D. D. C., ... & Bicudo, C. E. D. M.** 2014. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes estados tróficos. *Hoehnea* 41: 9-30.
- Marker, A.F.H., Nusch, E.A., Rai, H. & Riemann, B.** 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Arch. Hydrobiologie* 14: 91-106.
- McCune, B. & Mefford, J.J.** 1997. PC-ord. *Multivariate analysis of ecological data*, version 3.0. Oregon MjM Software Design, 47pp.
- Pompêo, M.L.M. & Moschini-Carlos, V.** 2003. Macrófitas aquáticas e perifiton: aspectos ecológicos e metodológicos. Rima/Fapesp, São Carlos.
- Sartory, D.P. & Grobbelaar, J.U.** 1984. Extraction of chlorophyll *a* from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* 114: 177-187.
- Schwarzbold, A.** 1990. Métodos ecológicos aplicados ao estudo do perifiton. *Acta Limnologica Brasiliensia* 3: 545-592.
- Utermöhl, H.** 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen phytoplankton: methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.



# 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

## “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### Composição florística do estrato arbóreo de uma floresta baixa de restinga com base no gradiente gerado pelo efeito de borda

**Marcelo Augusto Meratti de Oliveira**<sup>(1)</sup>, André Cruz de Oliveira<sup>(1)</sup>, Lucia Rossi<sup>(2)</sup>, Eduardo Luis Martins Catharino<sup>(3)</sup> & Eduardo Pereira Cabral Gomes<sup>(4)</sup> & Nelson Augusto dos Santos-Junior<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica de São Paulo São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa - Curadoria do Herbário de São Paulo, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa – Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(4)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: mmeratti@gmail.com

**Resumo:** O processo de degradação das florestas altera a sucessão da área e subsequentemente a manifestação dos seus estágios numa comunidade ao longo do tempo e no espaço, entretanto, pouco se sabe sobre este dinamismo em florestas baixas de restinga. Este estudo teve por objetivo caracterizar a composição florística do estrato arbóreo de um remanescente de floresta baixa de restinga em resposta à ação do efeito de borda. Num trecho de floresta baixa de restinga, adjacente à uma área degradada em Ilha Comprida – SP, foi realizado o estudo fitossociológico com 25 parcelas de 10 x 10 m em uma área de 250 m<sup>2</sup> de vegetação e para verificar as variações da distribuição da vegetação em resposta ao efeito de borda, a mesma foi dividida em cinco gradientes de 10 x 50 m cada sendo o primeiro adjacente à área degradada e o quinto mais distante. As espécies foram então ranqueadas, por faixa, com base no valor da sua densidade relativa. Foram amostrados 361 indivíduos (11 famílias, 15 gêneros e 24 espécies). Das espécies, 63,88% foram representadas por *Erythroxylum amplifolium*, *Maytenus gonoclada*, *Myrcia splendens*, *Laplacea fruticosa*, *Psidium cattleianum* e *Myrcia ilheosensise* e a diversidade da área foi considerada alta. A distribuição espacial das seis espécies mais abundantes através da análise dos gradientes permitiu inferir que *E. amplifolium* e *M. gonoclada* ocupam todas as faixas da vegetação com abundância. *M. splendens*, entretanto, não é abundante no interior da mata, nas faixas 2 e 3, situação inversa à *L. fruticosa*, abundante nestas faixas. *P. cattleianum* é mais presente à medida que se distancia do fragmento, oposto a *M. ilheosensise* que é mais numerosa na faixa de borda, o que

destaca a importância dessas espécies para manutenção da formação vegetal que sofre com o efeito de borda. O efeito de borda influencia a distribuição das espécies mas não a riqueza da área.

**Palavras-Chave:** fitossociologia, formações vegetais litorâneas, restauração ecológica.

#### INTRODUÇÃO

O processo de degradação altera a dinâmica natural do ambiente, modificando a estrutura de populações, trazendo perdas do habitat de animais e de espécies vegetais nativas, que podem vir a ser substituídas por espécies exóticas (Rocha *et al.* 2007, Rodrigues 2013). Isso, por sua vez, altera a sucessão da área e subsequentemente a manifestação dos seus estágios numa comunidade ao longo do tempo e no espaço (Odum 1988).

Após uma perturbação, inicia-se o processo de regeneração natural, determinado pela presença de remanescentes florestais próximos que vão contribuir com a dispersão de diásporos (Ricklefs 2003).

Entretanto, pouco se sabe sobre esse dinamismo em florestas baixas de restinga.

Desta forma, este estudo visa caracterizar a composição do estrato arbóreo de um remanescente de floresta baixa de restinga em resposta à ação do efeito de borda, por meio de um gradiente de distância a partir do mesmo.

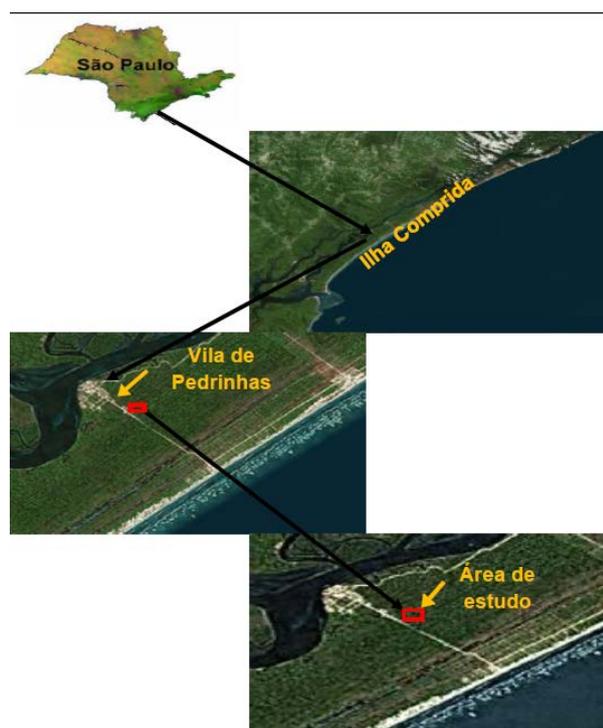
#### MATERIAL E MÉTODOS

##### Área de estudo

O estudo foi realizado na Área de Preservação Ambiental de Ilha Comprida, litoral sul do Estado de São Paulo, em trecho de floresta baixa de restinga,

assim classificada de acordo com a Resolução CONAMA 07/96, de 27/07/1996 (Brasil 1996). A região possui clima tropical úmido (Af), segundo a classificação de Köppen,, umidade relativa do ar variando entre 65 % e 97 % e a temperatura apresenta média anual de 24,3 °C (CEPAGRI 2013).

A área de estudo está localizada na ponta sul do município, na Vila de Pedrinhas, em aproximadamente 24°89'90''S e 47°79'00''W, à esquerda da estrada municipal aproximadamente a 1,2 km sentido Oceano Atlântico e limitada em um de seus lados por um corpo d'água, é vizinha a uma área degradada de 1,5 ha, e formado por Floresta baixa de restinga (Figura 1). O solo apresenta substrato arenoso de origem predominantemente marinha, fino úmido e de cor clara (branco-acinzentado) e topografia suavemente ondulada, onde na área central de aproximadamente 12 x 12 m, na qual pode-se encontrar um charco durante todo o ano formando uma clareira.



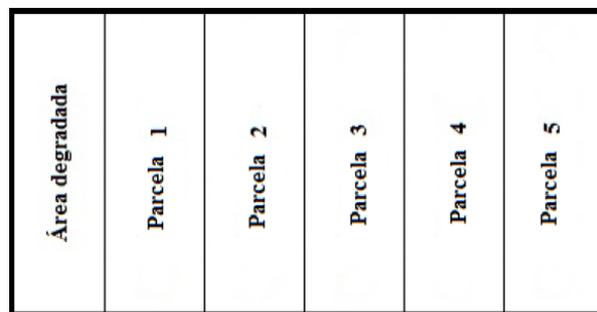
**Figura 1:** Localização da área experimental em Ilha Comprida, SP.

O dossel da vegetação arbórea é baixo e permite que os raios solares cheguem ao solo na maior parte da área e, no sub-bosque, há predominância de maciços de bromélias terrícolas, aráceas terrícolas e árvores jovens. O estrato arbóreo, em particular, apresenta indivíduos esparsos entre si, com caules e ramos

tortuosos e presença de vários indivíduos com ramificação desde a base, e árvores com 1,5 a 8,1m de altura. As epífitas mostram-se presentes na área com algumas bromeliáceas, orquidáceas, pteridófitas, briófitas e líquens.

#### **Levantamento Florístico e Fitossociologia**

Nesta formação florestal, vizinha à área degradada que sofreu corte raso de vegetação, foi realizada a caracterização da vegetação em julho de 2012, para identificar como a vegetação se apresenta frente ao impacto da área degradada que causa o efeito de borda. A análise da composição do estrato arbóreo da vegetação estudada foi feita utilizando-se o método de parcelas contíguas, de acordo com Mueller-Dombois & Ellenberg (1974), em área de 50x50 m, subdividida em parcelas de 10x10 m (Carrasco 2003). Foram inventariados os indivíduos lenhosos vivos, com perímetro de altura do peito (1,30 m do solo) igual ou superior a 9 cm, das quais foram coletados dados biométricos. Os indivíduos com ramificações inferiores a 1,30 m tiveram seus perímetros dos ramos anotados individualmente. Foram calculados os parâmetros fitossociológicos convencionais juntamente com o índice de diversidade de Shannon (H') e Equabilidade (J'), e para comparar a área com outras áreas do litoral paulista foi utilizado o Índice de Similaridade de Sørensen (Is), dados publicados em Oliveira *et al.* (2015). As 25 parcelas da fitossociologia foram então reagrupadas formando cinco parcelas com 50x10 m cada, compondo um gradiente em relação à distância da área degradada (Figura 2). No presente estudo, calculou-se em cada parcela as densidades relativas de cada espécie e, à partir deste resultado, elas foram ranqueadas para verificar como as mesmas se comportam frente ao efeito de borda dada a sua proximidade com a área degradada.



**Figura 2:** Croqui de distribuição das parcelas em função da distância da área degradada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo fitossociológico, foram encontrados 361 indivíduos, distribuídos em 11 famílias, 15 gêneros e 24 espécies (Tabela 1). As famílias mais representativas foram Myrtaceae (9 espécies), Myrsinaceae e Theaceae (ambas com 2 espécies cada).

Apesar da vegetação estudada estar ao lado de um fragmento degradado, este estudo encontrou diversidade de espécies considerada elevada, porém menor em função da proximidade com este (Zaú 1998).

Através da análise dos gradientes, a vegetação apresenta mudanças de estrutura da vegetação conforme a distância da borda do fragmento (Tabela 1).

As seis espécies mais abundantes amostradas na fitossociologia através da análise dos gradientes, permite identificar que *E. amplifolium* e *M. gonoclada* ocupam todas as faixas da vegetação com grande quantidade de indivíduos. *M. splendens*, entretanto, não é abundante no interior da mata, nas faixas 2 e 3, situação inversa à *L. fruticosa*, abundante exatamente nestas faixas. Já *P. cattleianum*, torna-se mais presente à medida que se distancia do fragmento, oposto a *M. ilheoensis* que é mais numerosa na faixa de borda.

De forma análoga ao estudo no qual avaliou-se a área como um todo, *E. amplifolium* e *M. gonoclada* foram as espécies mais abundantes em grande parte dos gradientes, acompanhadas por *L. fruticosa* e *M. splendens*. Juntas foram as mais abundantes no ecótono entre a área degradada e o remanescente adjacente, o que aponta para a importância dessas espécies para a regeneração natural da área degradada e manutenção da formação vegetal que sofre com o efeito de borda.

Áreas próximas a um fragmento degradado sofrem ações como o efeito de borda que podem alterar características como densidade e riqueza de espécies, (Ricklefs 2003).

## CONCLUSÕES

Apesar do efeito de borda influenciar na distribuição das espécies no remanescente de

Floresta baixa de restinga, ele não alterou significativamente sua diversidade no presente estudo.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida durante a execução deste estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brasil.** 1996. Resolução CONAMA 007/96. CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, Brasília, DF, 23 jul. 1996. Disponível em: <<http://www.fflorestal.sp.gov.br/media/uploads/bertioga/Resolucao%20CONAMA%20n%2007-96.htm>>. Acesso em: 10 set. 2010.
- Carrasco, P. G.** 2003. Produção de mudas de espécies florestais de restinga, com base em estudos florísticos e fitossociológicos, visando a recuperação de áreas degradadas, em Ilha Comprida - SP. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista Julio Mesquita Filho. 216p. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas.
- CEPAGRI - Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura.** 2013. <[http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima\\_muni\\_235.html](http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_235.html)>. Acesso em 26.10.2013.
- Felfili, J.M. & Rezende, R.P.** 2003. Conceitos e métodos em fitossociologia. Comunicações Técnicas e Florestais, 5(1):1-68.
- Mueller-Dombois, D. & Ellenberg, H.** 1974. Aims and Methods of Vegetation ecology. Willey and Sons, New York. pp580.
- Odum, E.P.** 1988. Fundamentos de Ecologia. 4ed. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa. 927pp.
- Oliveira, M. A. M., Oliveira, A. C., Rossi, L., Catharino, E. L. M., Gomes, E. P. C. & Santos Junior, N. A.** 2015. Dinâmica da regeneração natural de uma floresta baixa de restinga degradada. Hoehnea, 42(4):759-774.
- Ricklefs, R.E.** 2003. A Economia da Natureza. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 503p.
- Rocha, C. F. D., Bergallo, H. G., Van Sluys, M., Alves, M. A. S. & Jamel, C. E.** 2007. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: habitat loss and risk of disappearance. Brazilian Journal of Biology 67 (2): 263-273.
- Rodrigues, E.** 2013. Ecologia da Restauração. Planta, Londrina. pp 300.
- Zaú, A. S.** 1998. Fragmentação da Mata Atlântica: aspectos teóricos. Floresta e Ambiente, 5(1): 160-70.

24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

**Tabela 1:** Indivíduos amostrados no remanescente adjacente à área degradada em Ilha Comprida, SP, dispostos em gradiente da borda da área degradada (Grupo 1) em direção ao interior da vegetação do remanescente (Grupo 5) ranqueados de acordo com suas densidades relativas (DR).

	Espécie	Grupo	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4		Grupo 5	
			DR	Ranking								
1	<i>Andira fraxinifolia</i> Benth.		4,2	15	8,3	11	0,0	14	0,0	13	4,2	11
2	<i>Clusia criuva</i> Cambess.		4,2	15	20,8	4	16,7	7	20,8	2	12,5	6
3	<i>Erythroxylum amplifolium</i> (Mart.) O.E. Schulz		54,2	1	70,8	1	120,8	1	45,8	1	91,7	1
4	<i>Eugenia</i> sp.		8,3	13	0,0	15	4,2	13	8,3	10	4,2	11
5	<i>Eugenia sulcata</i> Spring. ex Mart.		20,8	8	16,7	5	8,3	10	8,3	10	4,2	11
6	<i>Guapira opposita</i> (Vell.) Reitz		25,0	6	0,0	15	0,0	14	0,0	13	0,0	20
7	Indet sp. 2		0,0	20	4,2	12	0,0	14	0,0	13	4,2	11
8	Indet sp.3		0,0	20	0,0	15	0,0	14	0,0	13	4,2	11
9	Indet. sp1(morta)		4,2	15	4,2	12	8,3	10	0,0	13	4,2	11
10	<i>Laplacea fruticosa</i> (Schrad.) Kobuski		33,3	4	37,5	2	37,5	2	12,5	9	0,0	20
11	<i>Maytenus gonoclada</i> Reissek		45,8	2	16,7	5	33,3	3	20,8	2	25,0	4
12	<i>Miconia cinnamomifolia</i> (DC.) Naudin		0,0	20	16,7	5	16,7	7	20,8	2	0,0	20
13	<i>Myrcia ilheosensis</i> Kiaersk.		25,0	6	12,5	9	16,7	7	16,7	7	25,0	4
14	<i>Myrcia multiflora</i> (Lam.) DC.		4,2	15	25,0	3	4,2	13	16,7	7	12,5	6
15	<i>Myrcia</i> sp. 1		12,5	11	0,0	15	0,0	14	0,0	13	0,0	20
16	<i>Myrcia splendens</i> (Sw.) DC.		37,5	3	12,5	9	20,8	6	20,8	2	29,2	2
17	<i>Myrsine coriacea</i> (Sw.) R.Br. ex Roem. & Schult.		0,0	20	0,0	15	0,0	14	0,0	13	4,2	11
18	<i>Myrsine umbellata</i> Mart.		12,5	11	0,0	15	0,0	14	0,0	13	0,0	20
19	Myrtaceae sp. 2		0,0	20	0,0	15	0,0	14	0,0	13	4,2	11
Tabela 3 continuação...												
20	Myrtaceae sp. 3		4,2	15	0,0	15	0,0	14	4,2	12	4,2	11
21	<i>Ocotea pulchella</i> (Nees & Mart.) Mez		8,3	13	4,2	12	8,3	10	20,8	2	12,5	6
22	<i>Pera glabrata</i> (Schott) Poepp. ex Baill.		29,2	5	0,0	15	0,0	14	4,2	12	8,3	9
23	<i>Psidium cattleianum</i> Sabine		16,7	9	16,7	5	25,0	4	4,2	12	29,2	2
24	<i>Ternstroemia brasiliensis</i> Cambess		16,7	9	0,0	15	25,0	4	4,2	12	8,3	9



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

#### Agrotóxicos: efeito repelente e possíveis impactos para a espécie ameaçada de extinção *Melipona capixaba*

**Ingrid Naiara Gomes**<sup>(1)</sup>, Helder Canto Resende<sup>(1)</sup>, Lessando Moreira Gontijo<sup>(1)</sup>, Kamilla Ingrid Castellan Vieira<sup>(1)</sup>, Maria Augusta Lima Siqueira<sup>(2)</sup> & José Salazar Zanuncio Júnior<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Viçosa Campus Florestal, Florestal, Minas Gerais & <sup>(2)</sup> Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais & <sup>(3)</sup> Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER), Domingos Martins, Espírito Santo. E-mail para contato: ingomes00@gmail.com

**Resumo:** A abelha *Melipona capixaba* é uma espécie endêmica da Mata Atlântica brasileira com distribuição restrita a regiões montanhosas do Espírito Santo, atualmente encontra-se classificada na categoria Em Perigo – EM na lista de espécies brasileiras ameaçadas de extinção. Sua região de ocorrência é amplamente impactada pela presença de diversas culturas agrícolas e utilização de agrotóxicos. A utilização intensiva de pesticidas tem sido apontada como um dos principais fatores responsáveis pelo declínio das populações de abelhas. Um dos fatores que pode aumentar a exposição das abelhas aos agrotóxicos é a ausência do efeito repelente desses produtos. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito repelente dos três produtos comerciais mais utilizados na área de ocorrência natural de *M. capixaba*; Actara<sup>®</sup>, Manzate<sup>®</sup> e Roundap<sup>®</sup>. Para isso foram realizados bioensaios em laboratório com operárias de *M. capixaba*. As abelhas foram expostas por ingestão com o alimento contendo resíduos dos agrotóxicos e posteriormente com o alimento puro. As abelhas que não se alimentaram do xarope contaminado, porém posteriormente se alimentaram do xarope puro foram consideradas repelidas. Não houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo observada uma ausência de efeito repelente uma vez que 90% das abelhas se alimentaram dos tratamentos contendo agrotóxicos. Portanto a não repelência desses produtos possivelmente aumenta a exposição dessas abelhas sendo um dos fatores de ameaça para essa espécie.

**Palavras-Chave:** Abelhas nativas, Thiamethoxam, Mancozeb, Glifosato.

#### INTRODUÇÃO

Dentre os polinizadores as abelhas nativas desempenham funções fundamentais na manutenção dos ecossistemas naturais e no aumento da produtividade de diversas culturas (Devillers *et al.* 2003, Imperatriz-Fonseca & Nunes-Silva, 2010). A abelha *M. capixaba* (Hymenoptera: Apidae), popularmente conhecida como “uruçu-negra” ou “uruçu-capixaba”, é uma espécie endêmica da Mata Atlântica brasileira com distribuição restrita a pequenas áreas remanescentes nas regiões montanhosas do Espírito Santo. Sua área de distribuição é inferior a 5.000Km<sup>2</sup>, provavelmente a menor distribuição conhecida entre as abelhas sem ferrão (Resende *et al.* 2014). Em 2014 essa espécie foi reclassificada na Lista de Espécies Brasileiras Ameaçadas de Extinção (Brasil 2014) na categoria Em Perigo – EM. A distribuição limitada associada ao desmatamento são os principais fatores relacionados ao seu declínio. Entretanto, outra possível ameaça é a exposição dessa espécie aos agrotóxicos, que são amplamente utilizados em sua área de ocorrência natural (Chisté & Có 2003), incluindo em culturas utilizadas como fonte de recurso pela espécie (Serra *et al.* 2012). O inseticida thiamethoxam, o fungicida mancozeb e o herbicida glifosato são exemplos de pesticidas utilizados nas culturas próximas a regiões de ocorrência natural de *M. capixaba*.

Tem sido demonstrado que a utilização intensiva de pesticidas em ambientes agrícolas está relacionada com o declínio das populações de abelhas, incluindo abelhas nativas (Lima *et al.* 2016). A ausência do efeito repelente desses produtos pode elevar o impacto e exposição das abelhas aos agrotóxicos, uma vez que não evitará o forrageio desses polinizadores durante a aplicação em campo (Naumann *et al.* 1994). Portanto esse impacto associado ao atual estado de conservação da espécie *M. capixaba*, a ampla utilização de agrotóxicos em sua região de ocorrência

natural e a ausência de estudos na área para essa espécie reforça a necessidade da realização de pesquisas sobre o impacto dos agrotóxicos, a fim de compreender os possíveis riscos da exposição desses produtos para *M. capixaba*. Portanto o objeto desse trabalho foi avaliar o efeito repelente de três produtos comerciais Actara<sup>®</sup>, Manzate<sup>®</sup> e Roundap<sup>®</sup> contendo seus respectivos ingredientes ativos thiamethoxam, mancozeb e glifosato, para a abelha *M. capixaba*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Tratamentos e amostragens

Para a realização do teste de repelência foi definida a dose máxima recomendada para uso em campo de cada agrotóxico (AGROFIT, 2016). As concentrações dos agrotóxicos foram selecionadas de acordo com as culturas agrícolas e as aplicações mais comuns na região de ocorrência natural de *M. capixaba* conforme descrito na tabela 1 e pelo potencial forrageamento dessa espécie nesses cultivos (Serra *et al.* 2012), representando dessa forma um cenário de exposição próximo ao forrageio em campo.

**Tabela 1.** Produtos comerciais utilizados no controle de pragas, com respectiva indicação da cultura e praga para o qual é destinado a dosagem recomendada.

\*O herbicida o roundup é aplicado diretamente nas plantas infestantes e não em culturas como no caso de fungicidas e inseticidas.

Produto comercial	Cultura	Praga	Dose (g i.a./L)
ACTARA <sup>®</sup> (Thiamethoxam)	Tomate	<i>Bemisia argentifolii</i>	0,2
MANZATE <sup>®</sup> (Mancozeb)	citros	<i>Phyllocoptruta oleivora</i>	2,5
ROUNDAP <sup>®</sup> Glifosato	(*)	<i>Commelina benghalensis</i>	17,5

Os bioensaios de repelência foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Barbosa *et al.* (2014). Esse teste foi realizado no laboratório de entomologia do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural-Incaper (Domingos Martins, Espírito Santo). Foram coletadas operárias adultas para avaliar o efeito repelente dos três agrotóxicos para a espécie *M. capixaba*. Foram considerados quatro tratamentos: controle – xarope puro (água: açúcar

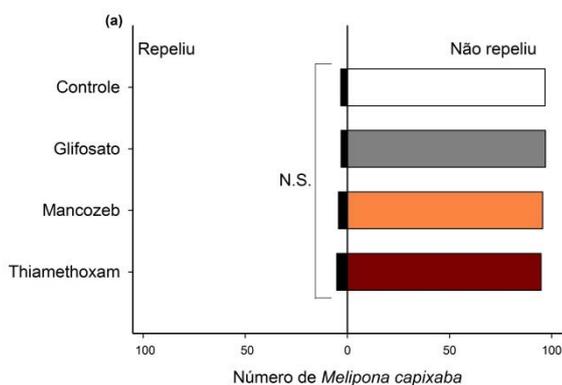
1:1); dose de campo de thiamethoxam - Actara<sup>®</sup> (0,2g/L); dose de campo de mancozeb - Manzate<sup>®</sup> (2,5g/L) e dose de campo de glifosato- Roundup<sup>®</sup> (17,5g/L), diluídos em xarope (alimento contaminado). Para cada tratamento foi utilizado um total de 100 abelhas coletadas de 5 colônias. Após a coleta as abelhas foram mantidas sem alimentação por aproximadamente 1 hora em um pote de plástico (15 × 15 × 10 cm) em estufa com condições de temperatura e umidade controlada (28 ± 2°C e umidade relativa 65 ± 5%). Após esse período, cada abelha foi transferida individualmente para um tubo de ensaio (2 cm de diâmetro x 10 cm de 17 comprimento) contendo 5 µL de cada tratamento. As soluções foram colocadas no fundo de cada recipiente e mantidas na posição horizontal. Uma fonte de luz foi fornecida na parte inferior dos tubos de ensaio para atrair as abelhas no sentido da solução. Os tubos foram fechados com um tecido e elásticos para impedir a fuga das abelhas e a exposição foi mantida durante 5 minutos. Após a exposição aos tratamentos e ao controle, cada abelha foi transferida para outro tubo de ensaio contendo 5 µL do alimento puro (água com açúcar 1:1), durante 5 minutos. As abelhas foram consideradas repelidas quando não se alimentaram do xarope contaminado, porém posteriormente se alimentaram do xarope puro. As abelhas que não se alimentaram da solução pura nem tratada não entraram como dados, admitindo-se que elas não se alimentaram por outro motivo.

### Análise estatística

Para os dados de repelência, foi realizado um modelo logístico, com distribuição binomial, sendo repelência o estado 1 (no qual as abelhas não se alimentam da solução contaminada, mas posteriormente consomem o controle) e não repelência o estado 0 (quando as abelhas consomem o alimento contaminado e se alimentam ou não do controle). O nível de significância utilizado foi de 5%. A análise foi realizada no software R (R Core Team 2016) e o gráfico no programa SigmaPlot<sup>®</sup> versão 11.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste estatístico indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação à proporção de indivíduos repelidos e não repelidos ( $\chi^2 = 0,8982$ , g.l = 3 e p = 0,8259). Observou-se que 90% das abelhas em todos os tratamentos se alimentaram dos alimentos contendo agrotóxicos, confirmando assim ausência de efeito repelente (Figura 1).



**Figura 1.** Repelência de *M. capixaba* após a exposição aos agrotóxicos thiamethoxam, mancozeb e glifosato.

Obs.: O lado esquerdo do gráfico indica o número de abelhas repelidas. O lado direito indica o número de abelhas que não foram repelidas.

Balbuena *et al.* (2015) também relataram a não rejeição de solução de sacarose contendo glifosato em diferentes concentrações, para a abelha *Apis mellifera*. Porém nenhum estudo de repelência foi realizado para a espécie *M. capixaba*. Nossos resultados sugerem que, ao forragearem, as operárias de *M. capixaba* não serão repelidas em campo após ou durante a aplicação dos produtos testados, ficando expostas e susceptíveis aos potenciais efeitos danosos dos agrotóxicos. Além disso, a ausência de repelência aumentará a probabilidade de transporte de recursos contaminados (resina, pólen e néctar), elevando o impacto uma vez que toda colônia potencialmente poderá se alimentar com recursos contaminados. Diversos estudos têm demonstrado à presença de resíduos de agrotóxicos em fontes de alimentos coletados pelas abelhas, como pólen e néctar (Chauzat *et al.* 2006, Mullin *et al.* 2010). Mesmo quando esses resíduos se encontram em níveis mais baixos e com ausência de mortalidade significativa das abelhas forrageiras, os riscos dessa exposição ainda devem ser considerados uma vez que doses mais baixas podem ocasionar efeitos subletais que também comprometem o desenvolvimento e manutenção da colônia (Desneux *et al.* 2007).

Levando em consideração o atual estado de ameaça de extinção da abelha *M. capixaba* e a importância ecológica exercida pelas abelhas sem ferrão torna-se indispensável estratégias de mitigação quanto ao uso desses agrotóxicos em prol da conservação desta espécie.

## CONCLUSÕES

A não repelência dos agrotóxicos testados, associados com a ampla utilização dos mesmos na região de ocorrência natural de *M. capixaba* e em culturas cujas famílias são visitadas por essa espécie, possivelmente representa uma das ameaças para a população dessa abelha.

## AGRADECIMENTOS

A coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES), pelo fornecimento de subsídios para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT.** Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento – Coordenação geral de agrotóxicos e afins/DFIA/DAS. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em 28/11/2015.
- Balbuena, M.S. Tison, L. Hahn, M.L. Greggers, U. Menzel, R. Farina, W.M.** 2015. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *The Journal of Experimental Biology* 218: 2799-2805.
- Barbosa, W.F. DE Meyer, L. Guedes, R.N.C. Smagghe, G.** 2014. Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology* 24: 130-142.
- Brasil.** Lista da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Instrução Normativa nº 444. 18 Dezembro, 2014.
- Chauzat, M.P. Faucon, J.P. Martel, A.C. Lachaize, J. Cougoule, N. Aubert, M.A.** 2006. Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. *J. Econ. Entomol* 99: 253-262.
- Chisté, A.M.D. & Có, L.O.** 2003. Percepção ambiental de uma comunidade pomerana em relação ao uso de agrotóxicos. *Natureza on line* 1: 7-11.
- Desneux, N. Decourtye, A. Delpuech, J.M.** 2007. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52, 81–106.
- Devillers, J. Decourtye, A. Budzinski, H. Pham-delègue, M.H. Cluzeau, S. Maurin, G.** 2003. Comparative toxicity and hazards of pesticides to Apis and non-Apis bees. A chemometrical study, SAR and QSAR in Environmental Research. 14: 389-403.
- Imperatriz-Fonseca, V.L. & Nunes-Silva, P.** 2010. As abelhas, os serviços ecossistêmicos e o Código Florestal Brasileiro. *Biota Neotrop* 10: 60-62.
- Lima, M.A.P. Martins, G.F. Oliveira, E.E. Guedes, R.N.C.** 2016. Agrochemical-induced stress in stingless bees: peculiarities, underlying basis, and challenges. *J Comp Physiol.* 202: 733-747.
- Mullin, C.A. Frazier, M. Frazier, J.L. Ashcraft, S. Simonds, R. Engelsdorp, D.V. Pettis, J.S.** 2010. High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health. *PLoS ONE.* 5: e9754 pp 19.
- Naumann, K. Currie, R.W. Isman, M.B.** 1994. Evaluation of the repellent effects of a neem insecticide on foraging

honey bees and other pollinators. The Canadian Entomologist 126: 225-230.

**Resende, H.C. Salomão, T.M.F. Tavares, M.G., Campos, L.A.O.** 2014. Geographic distribution, key challenges, and prospects for the conservation of threatened Stinglees Bee *Melipona capixaba* Moure and Camargo (Hymenoptera: Apidae:Meliponini). Sociobiology. 61: 529-535.

**Serra B.D.V. Da luz C.F.P. Campos L.A.O.** 2012. The use of polliniferous resources by *Melipona capixaba*, an endangered stingless bee species. *Journal of Insect Science*. 12: 1-14.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

### “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

## Variação temporal da comunidade fitoplanctônica em cinco reservatórios tropicais (SP, Brasil)

**Simone Alves de Oliveira**<sup>(1)</sup>, Carla Ferragut<sup>(2)</sup> & Carlos Eduardo de Mattos Bicudo<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. <sup>(2)</sup> Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ecologia, São Paulo – SP. E-mail para contato: simonemone123@hotmail.com

**Resumo:** O trabalho objetivou caracterizar a comunidade fitoplanctônica, relacionando com as variáveis ambientais. As amostragens foram realizadas no verão e no inverno do ano de 2014. Houve variação limnológica de acordo com a sazonalidade e também espacialmente (entre reservatórios). Os reservatórios apresentaram um gradiente trófico e a riqueza e diversidade de espécies foi influenciada pela trofia. Foram identificados 166 táxons em que a classe Chlorophyceae e Bacillariophyceae foram as mais representativas. As mudanças temporais na comunidade estiveram relacionadas com o aumento de nutrientes.

**Palavras-Chave:** riqueza, índice trófico, sazonalidade.

### INTRODUÇÃO

A comunidade fitoplanctônica tem fundamental importância para compreensão da limnologia em reservatórios e é considerada um indicativo das condições qualitativas da água (Gentil 2007). A produtividade fitoplanctônica depende, especialmente, das relações dos fatores físicos como temperatura e circulação, fatores químicos como nutrientes e íons dissolvidos na água e também fatores biológicos como interação das espécies e predação (Tundisi & Matsumura-Tundisi 2008).

As modificações nesta comunidade têm um caráter preditivo sobre as possíveis mudanças que ocorrem no meio onde vivem e seu curto tempo de vida serve para avaliar alterações tanto antrópicas, quanto naturais (Margalef 1983).

Estudos ecológicos, de composição e de distribuição espacial e temporal envolvendo fitoplâncton são fundamentais para conhecer os mecanismos que regem o funcionamento dos ecossistemas aquáticos (Padisák *et al.* 2006).

Devido aos impactos antrópicos que os ecossistemas aquáticos vêm sofrendo, o fitoplâncton ganha uma enorme relevância nos estudos, já que são bioindicadores da qualidade da água. A utilização dessa comunidade para ajudar na realização do monitoramento dos reservatórios de abastecimento, tem sido uma ferramenta eficiente.

Considerando a importância do fitoplâncton para o funcionamento dos reservatórios, este trabalho teve como objetivo avaliar a variação temporal e espacial da estrutura da comunidade fitoplanctônica em cinco reservatórios tropicais no Estado de São Paulo. As mudanças na estrutura taxonômica do fitoplâncton foram relacionadas com as variáveis ambientais, visando identificar os fatores determinante da variabilidade estrutural.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### *Área de Estudo*

Os cinco reservatórios do presente estudo são: Santa Helena, localizada no município de Votorantim; Itupararanga, localizada no curso do Alto Rio Sorocaba; Ipaneminha, no município de Sorocaba; Hedberg, localizada na Floresta Nacional de Ipanema (FLONA Ipanema), que abrange os municípios de Iperó, Araçoiaba da Serra e Capela do Alto; e Barra Bonita que se localiza na cidade de mesmo nome. De acordo com a Cetesb (2013) os reservatórios em questão fazem parte da bacia do Médio Tietê/Alto Sorocaba situada na região centro-sudeste do Estado de São Paulo.

#### *Tratamentos e amostragens*

As amostragens para o estudo das variáveis limnológicas e para a análise qualitativa e quantitativa do fitoplâncton foram realizadas em duas estações do ano distintas, verão (fevereiro e março/2014) e inverno (julho e agosto/2014). As amostras foram obtidas com garrafa de Van Dorn em três profundidades (superfície, meio e fundo) as estações de amostragem foram distribuídas no corpo central,

na entrada dos principais tributários e próximo de estações de captação de água. Nos reservatórios Barra Bonita e Itupararanga foram selecionados cinco locais de amostragem e para os reservatórios Santa Helena, Ipaneminha e Hedberg foram selecionados três locais.

Os perfis de temperatura, pH e condutividade elétrica foram obtidos *in situ* com auxílio de sonda multiparâmetro e a transparência com disco de Secchi. No laboratório, os procedimentos analíticos para alcalinidade, oxigênio dissolvido, nitrato, nitrito, amônio, ortofosfato, fósforo total dissolvido, silicato e, nitrogênio e fósforo totais seguiu métodos padrões (APHA 2005). A clorofila-*a* (corrigida da feofitina) conforme método do etanol 90% (Sartory & Grobellar 1984).

Para análise qualitativa a amostra do fitoplâncton foi preservada com formol 4% e a identificação realizada em microscópio binocular com ocular de medição e câmera fotográfica acoplada ao sistema óptico. Para a identificação taxonômica das espécies foram consultados trabalhos específicos. Para análise quantitativa, as amostras do fitoplâncton foram fixadas com lugol acético. O método de contagem seguiu Utermöhl (1958) em microscópio invertido com aumento de 400 vezes. Célula, filamento, colônia ou cenóbio foi considerado um indivíduo. Seguiram-se dois critérios de contagem: mínimo de 100 indivíduos da espécie mais abundante e curva de rarefação de espécies. Amostras dos estratos superfície, meio e fundo foram integrados para a contagem.

A estrutura do fitoplâncton foi avaliada através da composição de espécies, densidade e das espécies descritoras. Foi calculado o Índice do Estado Trófico de Carlson modificado por Lamparelli (2004), levando em consideração as variáveis: desaparecimento do disco de Secchi, concentrações superficiais de fósforo total e clorofila-*a*.

#### **Análise estatística**

Para análise estatística e descritiva dos dados foram utilizados médias e desvio padrão e para avaliar a relação entre a matriz dos dados bióticos e a matriz dos dados ambientais foi feita análise de correspondência canônica (CCA) com os dados previamente transformados por logaritmo ( $\log x+1$ ) para variáveis abióticas e os dados bióticos foram padronizados por meio da transformação de Hellinger.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O perfil térmico da coluna de água dos

reservatórios foi verticalmente heterogêneo no verão. A estratificação térmica da coluna d'água foi observada na maioria das estações amostrais. Entretanto, o reservatório Barra Bonita e as estações SH1 (Santa Helena), IP3 (Ipaneminha), HB1 (Hedberg) apresentaram perfil térmico homogêneo, indicando circulação.

No inverno, a maioria das estações amostrais apresentou perfil vertical homogêneo de temperatura, indicando circulação da coluna d'água. Nas estações SH3 (Santa Helena), IT2 e IT5 (Itupararanga), no reservatório Ipaneminha e HB2 e HB3 (Hedberg) ocorreu estratificação térmica.

Com relação a transparência da água, esta foi maior no inverno em todos os reservatórios do presente estudo.

Aplicando-se o Índice do Estado Trófico (IET) os reservatórios apresentaram um gradiente trófico sendo classificados de oligo a hipereutróficos (Figura 1).

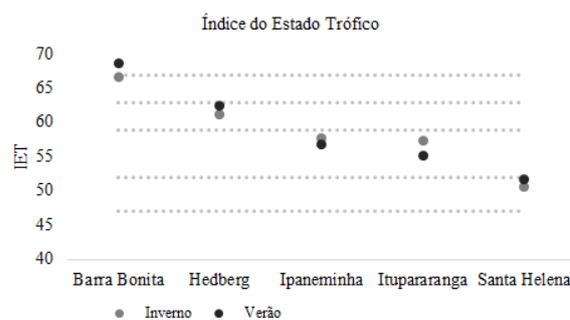


Figure 1. Índice do Estado Trófico dos reservatórios Santa Helena, Itupararanga, Ipaneminha, Hedberg e Barra Bonita (Média anual).

Com relação as variáveis abióticas, o pH na maioria das vezes oscilou entre valores próximos do neutro, porém, valores alcalinos foram observados durante o verão nos reservatórios Itupararanga e Barra Bonita e no inverno em Hedberg. A condutividade apresentou os maiores valores nos reservatórios Ipaneminha (IP2:  $179 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) Hedberg (HB2:  $163 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) e Barra Bonita (BB1:  $495 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) e os menores no reservatório Santa Helena ( $94 \mu\text{S cm}^{-1}$ ). Com relação ao oxigênio dissolvido maiores valores foram observados nos reservatórios Santa Helena e Itupararanga e os menores, em Barra Bonita.

Com relação aos nutrientes os maiores valores foram observados no reservatório hipereutrófico de Barra Bonita e os menores no oligotrófico Santa Helena. A clorofila-*a*, também variou entre os reservatórios e maiores valores foram observados em Barra Bonita durante o verão.

A comunidade planctônica foi representada por 166 táxons distribuídos em 10 classes taxonômicas. A classe Chlorophyceae foi a mais representativa com

relação ao número de espécies (24% no verão e 35% no inverno), seguida da classe Bacillariophyceae (12% no verão e 18% no inverno). As chlorophyceae constituem um grupo importante e é comum em ambientes aquáticos tropicais, sendo muitas vezes o grupo dominante (Oliveira & Calheiros 2000, Nabout *et al.* 2006). Da mesma forma, Bacillariophyceae denota importante contribuição para a composição de espécies em ambientes tropicais rasos (Huszar *et al.* 2000).

De maneira geral maior riqueza foi observada no verão, apenas o reservatório Hedberg e algumas estações de amostragem do reservatório Barra Bonita apresentaram maior riqueza no inverno (Figura 2).

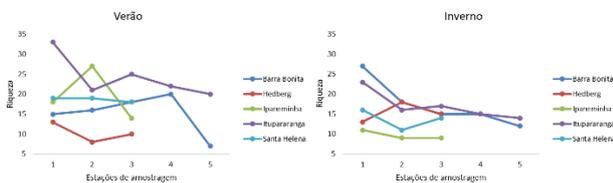


Figure 2. Riqueza específica de espécies nos períodos de verão e inverno dos reservatórios Santa Helena, Itupararanga, Ipaneminha, Hedberg e Barra Bonita.

Com relação a densidade total os maiores valores também foram observados no verão, excetuando o reservatório Hedberg que apresentou maiores densidades no inverno (figura 3). Os maiores valores de densidade total observados neste período estiveram relacionados com a menor transparência devido possivelmente, as precipitações pluviométricas mais elevadas. A variação temporal do fitoplâncton em regiões tropicais pode ser controlada por disponibilidade de nutrientes e radiação sub-aquática, além de fatores externos como precipitação, vento e fatores internos como turbulência, estratificação e desestratificação da coluna d'água (Esteves 2011).

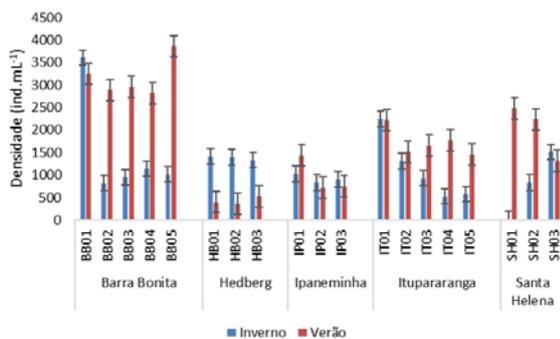


Figure 3. Densidade total nos períodos de inverno e verão dos reservatórios Santa Helena, Itupararanga, Ipaneminha, Hedberg e Barra Bonita.

Algumas espécies se destacaram de maneira

expressiva nos reservatórios (Figura 4). No verão, no reservatório Barra Bonita, a espécie *Pseudanabaena mucicola* (PMUCI) foi a que mais se destacou em termos de densidade, enquanto que no inverno, *Ceratium furcoides* (CEFUR) foi a mais representativa. Em Hedberg, a comunidade fitoplanctônica obteve uma contribuição expressiva no verão de *Dolichospermum solitarium* (DOSO) e no inverno *Oscillatoria tenuis* (OTENU). Ipaneminha tanto no verão como no inverno esteve representada principalmente pela espécie *Discostella stelligera* (DSTE). Itupararanga por sua vez, apresentou maiores densidades da espécie *Merismopedia tenuissima* (MTENU) e *limnothrix planctonica* (LIMPLA) no verão, enquanto que no inverno maiores contribuições foram de *Chlamydomonas planctogloea* (CHPLA), *Ceratium furcoides* (CEFUR) e *Dolichospermum planctonicum* (DOPL). O reservatório Santa Helena foi maior representado no verão pela espécie *limnothrix planctonica* (LIMPLA) e no inverno por *Rhodomonas lacustris* (RLACU).

Foi possível observar que as espécies que mais contribuíram para a densidade total são tipicamente de ambientes eutróficos (Sant'Anna *et al.* 1997), podendo ser considerado uma alerta principalmente para os reservatórios classificados como oligo e mesotrófico.

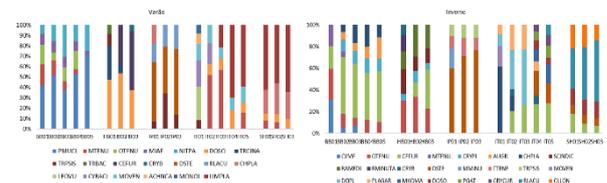


Figure 4. Abundância relativa das espécies fitoplanctônicas consideradas descritoras da comunidade nos dois períodos de estudo.

A análise de correspondência canônica (CCA) foi realizada para as espécies fitoplanctônicas descritoras e quatro variáveis abióticas (fósforo total, nitrato, condutividade e temperatura). Resumiu 27.1% da variabilidade dos dados (figura 5) e apresentou autovalores significativos de acordo com o teste de monte carlo ( $p = 0.001$ ), indicando correlações significantes entre as variáveis abióticas e as espécies fitoplanctônica.

Do lado positivo do eixo 1 foram agrupadas principalmente as estações de amostragem que foram classificadas como oligo e mesotróficas associadas aos menores valores de nutrientes e condutividade e as maiores densidades de *Monoraphidium komarkovae* ( $r > 0.5$ ). No lado negativo do mesmo eixo posicionaram as unidades amostrais que foram classificadas como eutróficas e

hipereutróficas associadas aos maiores valores de nutrientes e condutividade e as maiores densidades ( $r > 0.7$ ) de *Microcystis aeruginosa*, *Nitzschia palea* e *Oscillatoria tenuis*. O eixo 2 por sua vez, houve uma tendência em separar as unidades amostrais de acordo com a sazonalidade. Do lado positivo, agrupou-se a maioria das unidades amostrais referentes ao período de inverno, associada aos menores valores de temperatura e as maiores densidades ( $r > 0.7$ ) de *Ceratium furcoides*. Do lado negativo agrupou-se a maioria das unidades amostrais referentes ao verão, associadas aos maiores valores de temperatura e as maiores densidades ( $r > 0.7$ ) de *Limnithrix planctonica* e *Desmodesmus communis*.

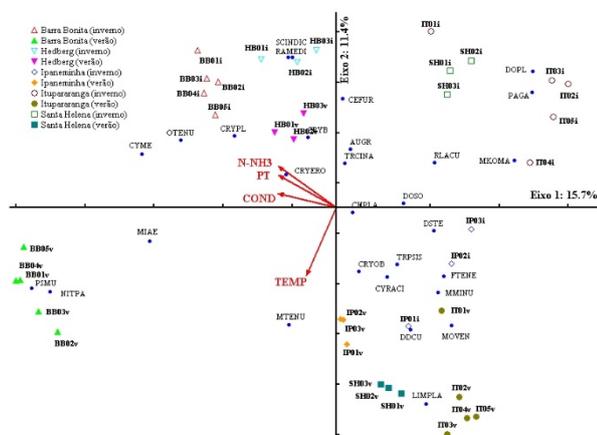


Figure 5. Ordenação das unidades amostrais dos reservatórios Santa Helena (SH), Itapararanga (IT), Ipaneminha (IP), Hedberg (HB) e Barra Bonita (BB) em função dos dois primeiros eixos da CCA.

## CONCLUSÕES

Evidenciou-se a variabilidade temporal (inverno/verão) e espacial das condições limnológicas nos reservatórios. Os reservatórios apresentaram diferentes estados tróficos e diferenças na riqueza e abundâncias foram observados. A composição da comunidade fitoplanctônica foi influenciada pela trofia, e as mudanças temporais na comunidade estiveram relacionadas com o aumento de nutrientes.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa de doutorado concedida a primeira autora.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of water and wastewater, 21<sup>st</sup> edition. American Public Health Association, Washington DC, pp. 1368.
- Gentil, R.C. 2007. Estrutura da comunidade fitoplanctônica de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo, SP, em dois períodos: primavera e verão. Tese de doutorado, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Huszar, V.L.M., Silva, L.H.S., Marinho, M.M., Domingos, P. & Sant'Anna, C.L. 2000. Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian Waters. In: C.S. Reynolds, M. Dokulil, & J. Padisák (eds). The trophic spectrum revisited: the influence of trophic state on the assembly of phytoplankton communities. Dordrecht, Academic Publishers, pp. 67-77.
- Lamparelli, M.C. 2004. Graus de trofia em corpos d'água do Estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Margalef, R. 1983. Limnologia. 1 Ed. Omega AS, Barcelona, (1983), 1100p.
- Nabout, J.C., Nogueira, I.S. & Oliveira, L.G. 2006. Phytoplankton Community of floodplain lakes of the Araguaia River, Brazil, in the rainy and dry seasons. Journal of Plankton Research 28(2): 181-193.
- Oliveira, M.D. & Calheiros, D.F. 2000. Flood pulse influence on phytoplankton communities of the South Pantanal floodplain, Brazil. Hydrobiologia 427: 101-112.
- Padisák, J., I. Grigorszky, G. Borics & É. Soróczki-Pintér. 2006. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the Water Framework Directive: The assemblage index. Hydrobiologia 553: 1-14.
- Sant'Anna, C.L., Sormus, L., Tucci, A. & Azevedo, M.T.P. 1997. Variação sazonal do fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, SP. Hoehnea 24: 67-86.
- Tundisi, J. G., Matsumura-Tundisi, T. 2008. Limnologia. São Paulo: Oficina de Textos, 631p
- Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen phytoplankton: methodik. Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 9: 1-38.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas”

### Ultraescultura e demais caracteres palinológicos auxiliam na taxonomia de *Tephrosia* Pers. (Leguminosae – Papilionoideae – Millettieae)

**Higor Antonio-Domingues**<sup>(1)</sup>, Monica Lanzoni Rossi<sup>(2)</sup>, Adriana Pinheiro Martinelli<sup>(2)</sup>, Rubens Teixeira de Queiroz<sup>(3)</sup> & Cynthia Fernandes Pinto da Luz<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup>Laboratório de Histopatologia e Biologia Estrutural de Plantas, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, <sup>(3)</sup>Departamento de Sistemática e Ecologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. E-mail para contato: [higor.domingues@hotmail.com](mailto:higor.domingues@hotmail.com)

**Resumo:** *Tephrosia* Pers. é conhecido por ser um dos maiores gêneros dentre as Leguminosae e por apresentar um complexo histórico taxonômico. A classificação infragenérica mais recente dividiu o gênero em dois subgêneros: *Tephrosia* e *Barbistyla*, com base na presença e ausência de tricomas no estilete e no estigma, porém algumas espécies sobrepõem essas características diagnósticas. Nesse sentido, os caracteres polínicos, considerados estáveis, podem ajudar na compreensão da taxonomia do gênero, em um esforço conjunto para o avanço da Sistemática. Os trabalhos palinológicos para *Tephrosia* são escassos e deixaram muitas lacunas por tratarem de poucas espécies e pela ausência da análise morfológica detalhada que incluísse a ultraescultura de seus grãos de pólen. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi descrever a morfologia polínica de 14 espécies de *Tephrosia*, com base em 29 coleções de herbário, buscando características diferenciais entre elas. As espécies escolhidas abrangeram os dois subgêneros *Tephrosia* e *Barbistyla* ocorrentes na América do Sul, incluindo uma africana cultivada no Brasil. Os materiais polínicos foram preparados de acordo com a metodologia padrão para análises em microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura. Para avaliar a significância das diferenças polínicas na definição dos agrupamentos foram realizados tratamentos estatísticos para a tendência central da amostra, assim como análises multivariadas com as variáveis quantitativas e qualitativas. Foram reconhecidos 49 estados de caráter distribuídos em 16 características palinológicas. Nem todos os caracteres se mostraram úteis para delimitar as

espécies analisadas. No entanto, os detalhes morfológicos que foram peculiares a grupos e subgrupos de espécies em *Tephrosia*, como escultura da exina e detalhes das aberturas polínicas, demonstraram valor taxonômico, podendo contribuir em futuros estudos sistemáticos e evolutivos. Apesar de ser possível a separação dos grupos pelos caracteres polínicos, não foi possível distinguir os dois subgêneros propostos.

**Palavras-Chave:** Grãos de pólen, Morfologia polínica, Millettioideae, Sistemática.

#### INTRODUÇÃO

Os caracteres polínicos apresentam bons resultados em estudos filogenéticos por serem mais estáveis que outras características morfológicas e pelos grãos de pólen serem amplamente preservados nos registros fósseis de distintos tempos geológicos (Walker & Doyle 1975, Grímsson *et al.* 2017). Por seu grande valor na Taxonomia, os grãos de pólen são fontes de importantes informações nas propostas recentes de classificação, como revela o APG IV (2016) para as Angiospermas e o LPWG (2017) para as Leguminosae.

*Tephrosia* Pers. é um dos grandes gêneros da família Leguminosae, subfamília Papilionoideae, Tribo Millettieae. Apresenta cerca de 350 espécies de distribuição pantropical, concentradas na América Central e do Norte (45 spp.), África e Madagascar (170 spp.), Ásia (40 spp.) e Austrália (90 spp.) (Schrire 2005). Para a América do Sul são citadas 17 espécies (Queiroz *et al.* 2013), sendo 12 descritas para o Brasil, dessas, três são endêmicas (Queiroz & Tozzi 2015). A classificação infragenérica mais recente de Brummitt (1981) dividiu o gênero em dois subgêneros: *Tephrosia* e *Barbistyla*, com base na presença e

ausência de tricomas no estilete e no estigma, porém algumas espécies sobrepõem essas características diagnósticas (Lakshmi 2008).

Para a flora brasileira a morfologia polínica permitiu reconhecer que os grãos de pólen são uma ferramenta taxonômica para o gênero *Tephrosia* (Salgado-Labouriau 1973, Carreira *et al.* 1996, Buriel *et al.* 2011), porém poucas espécies foram analisadas, faltando também a inclusão de dados quantitativos detalhados, como por exemplo, os valores de espessura das camadas da esporoderme, e dados da ultraestrutura, demonstrando uma grande lacuna no conhecimento palinotaxonômico.

Apesar do gênero ser considerado monofilético por Hu *et al.* (2002) com base em poucas espécies analisadas, os dados citogenéticos e moleculares apresentados por eles e por outros autores (Brummitt 1981, Raina *et al.* 1985, Acharya *et al.* 2004, Lakshmi 2008) apontaram a necessidade de mais trabalhos taxonômicos.

Sendo assim, os dados palinológicos poderão ser úteis na delimitação taxonômica das espécies de *Tephrosia*, podendo contribuir em futuros estudos filogenéticos. Visando preencher essa lacuna palinotaxonômica foram estudados os grãos de pólen de 13 espécies de *Tephrosia* Pers. ocorrentes na América do Sul e, uma da África e cultivada no Brasil, para assim descrevê-los e reconhecer os possíveis estados de caráter que sejam relevantes para o gênero.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os grãos de pólen foram retirados de exsicatas que foram depositadas nos herbários SP, RB, MBM, conforme a seguir: *Tephrosia adunca* (SP37777, SP36389), *T. candida* DC (SP49907, SP46915, MBM321071), *T. cinerea* L. Pers (SP50291, SP26070, RB605721), *T. domingensis* (Willd.) Pers. (SP123359, SP118290), *T. egregia* Sandwith (SP31518, SP118287), *T. marginata* Hassl. (SP40849), *T. nitens* Benth (SP56770, SP118287), *T. noctiflora* Bojer ex Baker (SP47028, RB413273, RB353973), *T. purpurea* (L.) Pers subsp. *purpurea* (SP360269), *T. rufescens* Benth. (SP64790, SP64742, MBM79846), *T. sessiliflora* (Poir.) Hassl. (SP217149), *T. sinapou* (Buc'hoz) A. Chev (RB44118, SP46899, SP48517, SP35236, SP48517), *T. vogelii* Hook. f. (SP80229, MBM270192). O exemplar africano cultivado no Brasil e aqui estudado foi *T. elata* Deflers (SP66333).

Para a microscopia óptica os grãos de pólen foram acetolisados de acordo com Erdtman (1960), com adaptações de Melhem *et al.* (2003). Os caracteres mensurados se basearam em 25 medidas dos eixos polar e equatorial em vista equatorial e, 10 medidas do comprimento e largura do colpo, comprimento e largura das endoaberturas, tamanho dos lúmens e, espessura da sexina e nexina.

Para a microscopia eletrônica de varredura as anteras foram dissecadas e os grãos de pólen foram lavados em água destilada, com posterior aplicação de álcool a 70%. Os grãos de pólen foram depositados em "stubs" de metal e revestidos por pulverização catódica, sendo observados no microscópio JEOL JSM-IT300LV, com digitalização das imagens.

Os caracteres dos grãos de pólen foram descritos respeitando a sequência descritiva proposta por Barth & Melhem (1988), atualizando-se os termos técnicos, quando necessário, com os apresentados em Punt *et al.* (2007) e Hesse *et al.* (2009) traduzidos para o português.

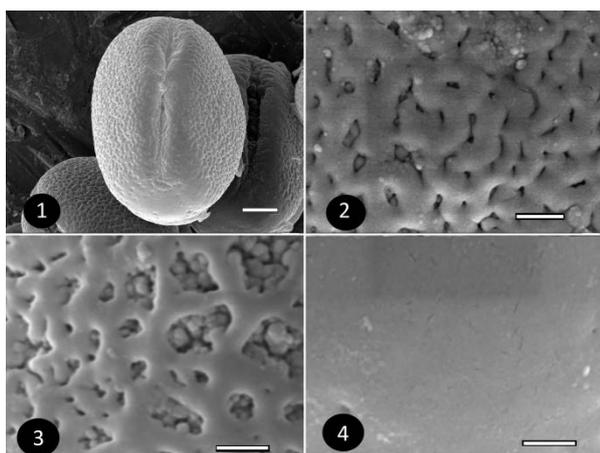
As análises estatístico-descritivas foram aplicadas conforme os padrões em Palinotaxonomia, assim como as análises multivariadas com as variáveis quantitativas e qualitativas (PCA), e apresentadas em Antonio-Domingues (2017). Os caracteres polínicos categorizados foram diferenciados como úteis ou não úteis para serem usados em matrizes de futuros trabalhos cladísticos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A separação das 14 espécies estudadas de *Tephrosia* Pers. foi possível através dos dados qualitativos e quantitativos dos grãos de pólen apresentados em Antonio-Domingues (2017). Foram reconhecidos 49 estados de caráter distribuídos em 16 características palinológicas, como se pode observar na lista a seguir:

- 1: TAMANHO: pequeno (0), médio (1), grande (2).
- 2: FORMA: oblato (0), suboblato (1), oblato esferoidal (2), prolato esferoidal (3), subprolato (4), prolato (5).
- 3: CONTORNO EM VISTA EQUATORIAL: circular (0), elíptico (1).
- 4: OPÉRCULO: ausente (0), granulado (1), areolado-granulado (2), areolado (3).
- 5: MEMBRANA DO CÓLPORO: ausente (0), granulada (1), areolado-granulada (2).
- 6: MARGEM: ausente (0), psilada (1), psilado-perfurada (2).
- 7: ARCO: ausente (0), presente (1).
- 8: ENDOABERTURA: circular (0), lolongada (1), lalongada (2), muito lolongada (3), muito lalongada

- (4).  
 9: FASTÍGIO: ausente (0), presente (1).  
 10: PADRÃO DE ORNAMENTAÇÃO DA SEXINA NO MESOCOLPO: reticulado (0), rugulado (1), perfurado (2).  
 11: PADRÃO DOS RETÍCULOS NO MESOCOLPO: ausente (0), nanorretículo (1), microrretículo (2), retículo (3).  
 12: MUROS DOS RETÍCULOS NO MESOCOLPO: ausente (0), retos (1), curvos (2).  
 13: LUMENS DOS RETÍCULOS NO MESOCOLPO: ausente (0), circulares (1), poligonais (2).  
 14: PERFURAÇÕES NO MESOCOLPO: ausente (0), presente sem báculos (1), presente com báculos (2).  
 15: PADRÃO DE ORNAMENTAÇÃO DA SEXINA NO APOCOLPO: psilado (0), reticulado (1), rugulado (2).  
 16: PERFURAÇÕES NO APOCOLPO: ausente (0), presente (1).



**Figuras 1–4** Análise ultraespectral dos grãos de pólen de *Tephrosia* Pers. **1** *T. cinerea* (SP26070) em vista equatorial. **2** *T. rufescens* (MBM79846), detalhe da sexina no mesocolpo. **3** *T. egregia* (SP118287), detalhe da sexina no mesocolpo. **4** *T. adunca* (SP36389), detalhe da sexina no apocolpo. Barras: 5  $\mu$ m (1); 1  $\mu$ m (2, 3, 4).

O padrão de ornamentação da sexina no mesocolpo permitiu estabelecer dois grandes grupos: um com seis espécies nativas do Brasil (*T. adunca*, *T. cinerea*, *T. domingensis*, *T. egregia*, *T. marginata*, *T. nitens*) e uma exótica (*T. purpurea*) e, outro com cinco espécies exóticas (*T. candida*, *T. eleta*, *T. noctiflora*, *T. rufescens*, *T. vogelii*) e duas nativas (*T. sessiliflora*, *T. sinapou*). Essas características são estáveis entre os espécimes e não se sobrepõem entre as espécies dos dois grupos palinológicos.

O padrão dos retículos no mesocolpo, perfurações no mesocolpo, padrão de ornamentação da sexina no apocolpo e perfurações no apocolpo auxiliaram secundariamente na separação de subgrupos palinológicos e no reconhecimento de espécies. O opérculo, membrana do cólpore, margem, presença de arco e fastígio não foram úteis para separar grupos palinológicos, porém auxiliaram na delimitação específica. Sendo assim também possuem relevância taxonômica em análises filogenéticas.

Nem todos os 16 caracteres listados se mostraram úteis para delimitar as espécies analisadas. O tamanho do pólen, sua forma, seu contorno em vista equatorial, tipo de endoabertura, tipos de muros dos retículos no mesocolpo e tamanho dos lúmens dos retículos no mesocolpo foram estados de caráter que se sobrepuseram entre as espécies, não sendo aconselhável utilizá-los em matrizes filogenéticas.

Apesar de ser possível a separação das espécies de *Tephrosia* pelos caracteres polínicos, não foi possível distinguir os dois subgêneros propostos por Brummitt (1981).

## CONCLUSÕES

Foi possível preencher a lacuna no conhecimento palinotaxonômico sobre as espécies de *Tephrosia* Pers. ocorrentes na América do Sul e da espécie africana cultivada no Brasil com o reconhecimento dos detalhes morfológicos e estados de caráter dos grãos de pólen.

Nossos resultados indicaram que *Tephrosia* é um gênero euripolínico devido à variação nos padrões de ornamentação da sexina e em diversas características das aberturas.

Apesar de ser possível a separação pelos caracteres polínicos em grupos, subgrupos e espécies, não foi possível distinguir *Tephrosia* subgênero *Tephrosia* e *Tephrosia* subgênero *Barbistyla*.

Devido a sua relevância na delimitação de táxons, os resultados palinológicos poderão contribuir em futuros estudos sistemáticos e evolutivos em *Tephrosia*.

## AGRADECIMENTOS

Aos curadores dos herbários (SP, RB, MBM). Ao Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado ao primeiro autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de “Produtividade em Pesquisa” (Processo Número 302766/2016-2) ao quinto autor. A M.Sc. Carin Stanki do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Paraná por gentilmente coletar os botões florais herborizados das exsicatas do MBM.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antonio-Domingues, H.** 2017 Palinotaxonomia de espécies brasileiras de *Aeschynomene* L. e de espécies sul americanas de *Tephrosia* Pers. Dissertação de mestrado. Instituto de Botânica. São Paulo, SP. 104p.
- APG IV.** 2016 An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society 181: 1 – 20.
- Acharyaa, L.A., Mukherjeeb, A.K. & Pandaa, P.C.** 2004. Genome Relationship among Nine Species of Millettieae (Leguminosae: Papilionoideae) Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Z. Naturforsch. 59c, 868-873.
- Barth, O.M. & Melhem, T.S.** 1988. Glossário ilustrado de palinologia. Editora da Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Brumitt, R.K.** 1981. Reconsideration of the genera *Ptycholobium*, *Caulocarpus*, *Lupinophyllum* and *Requinea* in relation to *Tephrosia*. Kew Bull. 35: 459-473.
- Buril, M.T., Alves, M. & Santos, F.A.R.** 2011. Tipificação polínica em Leguminosae de uma área prioritária para conservação da Caatinga: Caesalpinioideae e Papilionoideae. Acta Bot. Bras. 25(3): 699-712.
- Carreira, L.M.M., Silva, M.F., Lopes, J.R.C. & Nasciento, L.A.S.** 1996. Catálogo de Pólen das Leguminosae da Amazônia Brasileira. Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém do Para. Coleção Adolpho Ducke.
- Erdtman, G.** 1960. The acetolysis method. A revised description. Svensk Botanisk Tidskrift 54: 561-564.
- Grimsson, F. Grimm, G.W. & Zetter, R.** 2017. Evolution of pollen morphology in Loranthaceae. Grana: 1 – 101.
- Hesse, M., Halbritter, H., Zetter, R., Weber, M., Buchner, R., Frosch-Radivo, A. & Ulrich, S.** 2009. Pollen Terminology: an illustrated handbook. Springer Wien, New York.
- Hu, J., Lavin, M., Wojciechowski, M.F. & Sanderson, M.J.** 2002. Phylogenetic Analysis of Nuclear Ribosomal ITS/5.8S Sequences in the Tribe Millettieae (Fabaceae): Poecilanthe-Cyclolobium, the core Millettieae, and the Callerya Group. Syst. Bot. 27(4): pp. 722–733.
- Laksmi, P., Khan, A.A.P., Reddy, P.N., Lakshminarayana, K. & Ganapaty, S.** 2008. Genetic Relationship Among *Tephrosia* Species as Revealed by RAPD Analysis. Asian J. Biol. Sci. 1 (1): 1-10
- LPWG (2017).** A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. TAXON 66(1): 44–77.
- Melhem, T.S., Cruz-Barros, M.A.V., Corrêa, A.M.S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M.S.F. & Gonçalves-Esteves, V.L.** 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão. Boletim do Instituto de Botânica, São Paulo, v.16.
- Punt, W.; Hoen, P.P.; Blackmore, S.; Nilsson S. & Le Thomas, A.** 2007. Glossary of pollen and spore terminology. Review of Paleobotany and Palynology 143: 1-81.
- Queiroz, R.T., Tozzic A.M.G.A, & Lewis G.P.** 2013. Seed morphology: an addition to the taxonomy of *Tephrosia* (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae) from South America. Plant Syst Evol. 299:459–470.
- Queiroz, R.T. & Tozzi, A.M.G.A.** 2015. *Tephrosia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Raina, S.N., Srivastav, P.K. & Rao, S.R.** 1985. Nuclear DNA variation in *Tephrosia*. Genetica 69: 27-33.
- Salgado-Labouriau, M.L.** 1973. Contribuição à palinologia dos Cerrados. Academia Brasileira de Ciências: Rio de Janeiro.
- Schrire B. D.** 2005. Tribe Millettieae. Pages 367-387. in GP Lewis, BD Schrire, BA MacKinder, M Lock, eds. Legumes of the world. Royal Botanic Gardens, London, Kew.
- Walker J. W. & Doyle J. A.** 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: palynology. Ann. Mo. Bot. Gard. 62: 664-723.



# 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

## “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### Espécies de Bombacoideae Burnett. (Malvaceae) endêmicas da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil

Vania Nobuko Yoshikawa<sup>(1)</sup> & Marília Cristina Duarte<sup>(1),(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Laboratório de Sistemática Vegetal, Núcleo de Ciências Ambientais, Universidade de Mogi das Cruzes Mogi das Cruzes, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa e Curadoria do Herbário, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [vania\\_nobuko@hotmail.com](mailto:vania_nobuko@hotmail.com)

**Resumo:** A subfamília Bombacoideae possui 18 gêneros, dos quais 13 ocorrem no Brasil, sendo caracterizada principalmente pelo hábito predominantemente arbóreo e folhas geralmente compostas por 1 a 9 folíolos. Foi objetivo deste trabalho averiguar o endemismo de duas espécies de Bombacoideae: *Ceiba jasminodora* e *Eriotheca parvifolia* na Cadeia do Espinhaço no estado de Minas Gerais. As análises foram realizadas no Laboratório de Sistemática Vegetal da Universidade de Mogi das Cruzes, SP, em que caracteres morfológicos (vegetativos e reprodutivos) foram analisados com auxílio de estereomicroscópio, pinças e agulhas de ponta fina. O endemismo apenas de *Eriotheca parvifolia* foi comprovado, porém *Ceiba jasminodora* não foi encontrada apenas na Cadeia do Espinhaço. Políticas públicas devem ser realizadas para preservar estas e outras espécies endêmicas da Cadeia do Espinhaço, uma vez que a perda desses táxons pode ser irreversível.

**Palavras-Chave:** Clado Kapok, embiruçu, endemismo, exsicatas, paineira.

#### INTRODUÇÃO

A Cadeia do Espinhaço possui um elevado nível de endemismo e mantém a diversidade genética da Serra das sempre-vivas, porém sofre com ação antropogênicas e devido a isso sua conservação tem caráter prioritário (Silva 2008).

Bombacoideae é uma das famílias de fanerógamas que ocorre na Cadeia do Espinhaço, engloba 160 espécies dentro de 18 gêneros, sendo distribuídos na região neotropical do globo terrestre, ocorrendo também no Paleotrópico (Carvalho-Sobrinho *et. al.* 2016). No Brasil ocorrem aproximadamente 13 gêneros e 80 espécies, distribuindo-se em todas as regiões,

sendo as regiões Norte e Nordeste as mais representativas e com altas taxas de endemismo (Duarte 2010). Com relação à sua morfologia, Bombacoideae possui um hábito predominantemente arbóreo, tronco geralmente aculeado a inerme e pode apresentar-se ventricosos. Suas folhas são palmaticompostas e seu pólen achatado e triangular, sem espinhos (Judd *et. al.* 2009).

Gibbs & Semir (2003) relatam em seu trabalho o endemismo de *Ceiba jasminodora* na Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais assim como Duarte (2010) cita *Eriotheca parvifolia* como a única espécie do gênero a habitar essa localidade.

Deste modo, este estudo tem por objetivo realizar um levantamento em herbários sobre a ocorrência e endemismo de *Ceiba jasminodora* (A. St.-Hil.) K. Schum. e *Eriotheca parvifolia* (Mart. & Zucc.) (Bombacoideae) na Cadeia do Espinhaço no estado de Minas Gerais, Brasil.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram visitados herbários de referência para a região das Serra do Cipó, Serra de Grão Mogol, Serra do Espinhaço, Serra do Cabral, Parque Nacional das Sempre Vivas (SP, SPF, BHCB, BHZB, MBM, R e RB) (acrônimos segundo Thiers, continuamente atualizado).

Para a análise do material, exsicatas selecionadas durante as visitas aos herbários foram solicitadas via empréstimo ao Herbário Mogiense (HUMC), das quais foram analisadas no Laboratório de Sistemática Vegetal (LSV) da Universidade de Mogi das Cruzes, SP. Foram utilizados estereomicroscópio, pinças, agulhas de ponta fina e câmera digital para análise de caracteres vegetativos e reprodutivos dos espécimes.

Os mapas foram confeccionados no software QGIS 2.18 a partir das localidades provenientes das etiquetas presentes nas exsicatas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas espécies foram encontradas em exsicatas (*Ceiba jasminodora* (A. St.-Hil.) K. Schum. e *Eriotheca parvifolia* (Mart. & Zucc.) A. Robyns), somando 18 exsicatas analisadas (excluindo-se as duplicatas examinadas).

### Diagnose para as espécies endêmicas da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais

#### 1. *Ceiba jasminodora* (A. St.-Hil.) K. Schum. in Mart, (ed.), Fl. Bras. 12: 213(1886)

Fig. 1: A e B, Fig. 2

São árvores a arvoretas com tronco e ramos jovens aculeados, geralmente 3-folioladas, seus folíolos possuem ápice geralmente mucronado, seu cálice é mais claro no ápice dos lobos. Possui flores cremes, estames livres, tubo estaminal com um tufo de tricomas até o ponto dos estames ficarem livres.

Em herbários, há uma significativa quantidade amostrada dessa espécie.

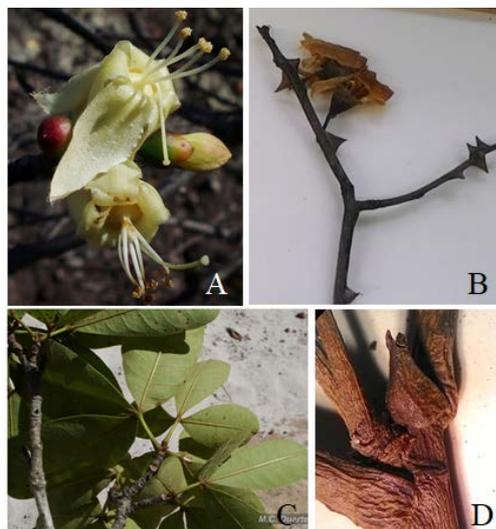
Material examinado: **BRASIL, Minas Gerais, MUNICÍPIO DE JOAQUIM FELÍCIO**, Serra do Cabral, subindo a estrada para a Várzea da Palma, *Pirani et. al.*, 13219, 17/VI/1990 (SPF). **MUNICÍPIO DE VÁRZEA DA PALMA**, Serra do Cabral, Agro-Indústria, *Hatschbach et. al.*, 64889, 16/IV/1996 (MBM). **MUNICÍPIO DE BALNEÁRIO VEREDAS**, *Grosso et. al.*, 804, 19/V/2001 (SPF). **MUNICÍPIO DE DIAMANTINA**, entrada para Conselheiro da Mata, *Atui et. al.*, 09, 13/VII/1996 (SPF); *Barros, 1084*, 04/VI/1985 (SP). **MUNICÍPIO DE GRÃO MOGOL**, Vale do Rio Itacambiruçu, Jambreiro, 660m alt., *Pirani et. al.*, 4320, 14/V/1998 (SPF). **MUNICÍPIO DE PRESIDENTE KUBITSCHKE**, Rodovia Datas-Serro, ramal para a Costa Senna, 1000m alt. *Pirani et. al.*, 4078, 01/III/1998 (SPF). Do município de ITABIM para Itinga, *Duarte, 10452*, 03/VI/1867 (RB). **MUNICÍPIO DE ARAÇUAÍ**, *Magalhães, 1554*, s/data (RB). **MUNICÍPIO DE BUENÓPOLIS**, Serra do Cabral, Região da Lapa Pintada III (em frente à Lapa Pintada), *Pangaio et. al.*, 1225, 13/IX/2007 (R). **MUNICÍPIO DE TURMALINA**, *Carvalho et. al.*, 888, 05/XII/1991 (BHCB). **MUNICÍPIO DE CRISTÁLIA**, *Carvalho et. al.*, 370, 17/VII/1991 (BHCB). **MUNICÍPIO DE OLHOS D'ÁGUA**, Parque Nacional das Sempre Vivas, Região do rio e da cachoeira Inhá-Cica, *Almeida et. al.*, 1423, 21/VI/2008 (BHCB). **MUNICÍPIO DE MEDINA**, *Brina, s/n. BHCB36375*, 1995 (BHCB).

#### 2. *Eriotheca parvifolia* Mart. & Zucc.) A. Robyns, Bull. Jard. Bot. Etat 33 (1/2): 150. 1963.

Fig. 1: C e D, Fig. 2

Se apresenta como árvores de tronco liso, suas estípulas possuem o ápice bifido, seus folíolos são fortemente coriáceos, estreito elípticos, com margem revoluta e ápice mucronado, indumento do tipo lepidoto em ambas as faces. Suas sementes possuem 2 estrias verticais.

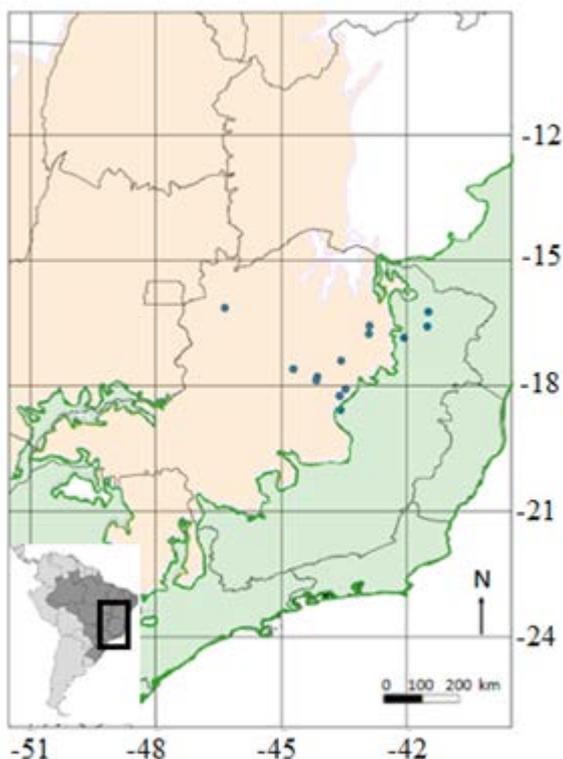
Material examinado: **BRASIL, Minas Gerais, MUNICÍPIO DE DIAMANTINA**, *Giulietti et. al.*, s/n. *SPF43884*, 26/VII/1986 (SPF). **MUNICÍPIO DE GRÃO MOGOL**, *Assis et. al.*, s/n. *SPF64432* 04/IX/1987 (SPF); Vale do Rio das Mortes, a oeste da cidade, *Zappi et. al.*, s/n. *R173736*, 24/VII/1986 (R). **MUNICÍPIO DE GOUVEIA**, *Hatschbach et. al.*, 68218, 24/VII/1998 (MBM).



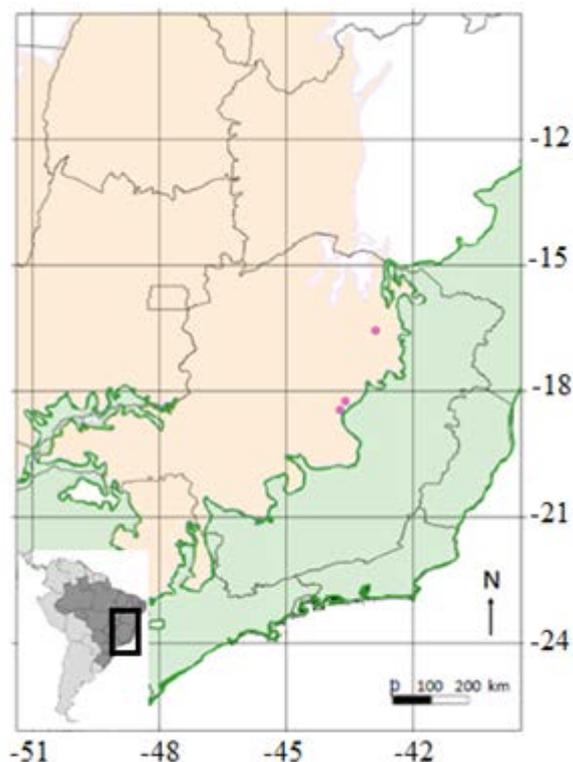
**Figura 1.** Caracteres diagnósticos de *Ceiba jasminodora* e *Eriotheca parvifolia*.

*Ceiba jasminodora*. Em A: ramo com flores, B: acúleos nos ramos terminais. *Eriotheca parvifolia*. C: ramos com folhas coriáceas e sésseis, D: estípula com ápice bifido.

Fonte: A: Machado (2008); B e D: da autora; C: Duarte (2014).



**Figura 2.** Distribuição de *Ceiba jasminodora* na área de estudos.



**Figura 3.** Distribuição de *Eriotheca parvifolia* na área de estudos.

## Discussão

*C. jasminodora* ocorre no Sul da Cadeia do Espinhaço, sendo associada a regiões altas em Minas Gerais (Campos Rupestres), além disso, Gibbs & Semir (2003) relatam sobre sua síndrome de polinização realizada por mariposas. Porém há pontos em que esta espécie ocorre em domínio de Mata Atlântica, como demonstrado na Fig. 2 (direita), todavia, a Mata Atlântica, assim como o Cerrado sofre constantemente com a perda de vegetação, podendo ocasionar o avanço do Cerrado em áreas desmatadas. Esta espécie, morfologicamente, assemelha-se a *Ceiba rubriflora* Carv.-Sobr. & Queiroz (2008) por suas flores pequenas (*C. jasminodora* com 26 a 40mm e *C. rubriflora* com 48 a 53mm), porém estas se diferenciam principalmente pela coloração das pétalas, cremes na primeira e vermelho-intenso na segunda.

*E. parvifolia* ocorre em solo arenoso-pedregoso na Cadeia do Espinhaço (Fig. 2), sendo a única espécie do gênero a ocorrer nesta localidade (Duarte 2010). Exemplares de *E. parvifolia* são frequentemente confundidos com *E. gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns em herbários, pois ambas as espécies possuem tricomas simples negros na face abaxial dos folíolos, além de serem árvores de pequeno porte, não passando dos 5m de altura, porém, estas se diferem principalmente pela distribuição geográfica, sendo a primeira a única espécie de *Eriotheca* a habitar a Cadeia do Espinhaço, possuir folíolos sésseis e flores curtamente pediceladas (até 1,5cm), enquanto que a segunda espécie se distribui por quase toda a extensão do Cerrado, possui folíolos curtamente peciolados e suas flores possuem pedicelos de 1-4,5cm.

## CONCLUSÕES

A partir de análises das exsicatas provenientes dos herbários visitados, foi confirmada a ocorrência dessas duas espécies na Cadeia do Espinhaço, cujo local abriga um grande número de espécies endêmicas como relatado por Silva (2008) e o endemismo de *E. parvifolia* foi confirmado.

Coletas fazem-se necessárias para averiguar se há mais populações/indivíduos de *E. parvifolia* distribuídos ao longo da Cadeia do Espinhaço e para observar as localidades em que *C. jasminodora* aparentemente habita regiões de Mata Atlântica.

Sendo assim, políticas públicas para a manutenção e proteção deste habitat tornam-se necessárias, uma vez que a degradação deste ambiente pode causar

perdas permanentes na biodiversidade da Cadeia do Espinhaço.

#### AGRADECIMENTOS

À Universidade de Mogi das Cruzes, à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida, aos curadores dos herbários visitados pela hospitalidade e pelos empréstimos; e ao Ariel Augusto de Faria pela confecção do mapa.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Carvalho-Sobrinho, J.G. & Queiroz, L.P.** 2008. *Ceiba rubriflora* (Malvaceae, Bombacoideae), a new species from Bahia, Brazil. *Kew Bulletin* 63: 649-653.

**Duarte, M.C.** 2010. Análise filogenética de *Eriotheca* Schott & Endl. e gêneros afins (Bombacoideae, Malvaceae) e estudo taxonômico de *Eriotheca* no Brasil. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e

Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo.

**Gibbs, P. & Semir, J.A.** 2009. Taxonomic Revision of the Genus *Ceiba* Mill. (Bombacaceae). *Anales Jardín Botánico de Madrid* 60. Nº 2.

**Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. & Donoghue, M.J.** 2009. *Sistemática Vegetal, Um Enfoque Filogenético*. 3ª ed. Artmed. Porto Alegre.

**Machado, M.** 2008. *Ceiba jasminodora*. Disponível em:

<<http://picssr.com/photos/63557536@N02/interesting/page6?nsid=63557536@N02>>. Acesso em: 05 de set. 2008.

**Silva, J.M.C.** 2008. Megadiversidade. Cadeia do Espinhaço: avaliação do conhecimento científico e prioridades de conservação. Belo Horizonte: Ed. Conservação Nacional. 270p.

**Thiers, B.** [continuamente atualizado]. *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/ih/>>. Acesso em 31 de maio de 2017.



## 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

“Vulnerabilidade da biodiversidade  
frente às mudanças climáticas”

### Atividades biológicas e sesquiterpenos de *Dictyopteris delicatula* J.V. Lamouroux (Dictyotaceae-Phaeophyta)

Mayara Resende de Souza<sup>(1)</sup>, **Victor Franca**<sup>(1)</sup>, Cinthia Diniz de Oliveira<sup>(1)</sup>, Erika Mattos Stein<sup>(2)</sup>, Angelica Nunes Garcia<sup>(1)</sup>, Nair Sumie Yokoya<sup>(1)</sup>, Pio Colepicolo Neto<sup>(2)</sup> & Luciana Retz de Carvalho<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Departamento de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. victor.franca107@gmail.com

**Resumo:** As algas pertencentes ao gênero *Dictyota* são conhecidas por produzirem diterpenos, muitos dos quais portadores de interessantes atividades biológicas. De *Dictyopteris delicatula* Lamouroux foram isolados heterofucanos com atividades anticoagulante, antioxidante e antitumoral, o monoterpeno dihidrocarveol e quatro sesquiterpenos: o torreiol, a 3-cubenolona, o cubenol e o 4 $\beta$ , 5 $\alpha$ -dihidroxicubenol. Com o objetivo de prospectar potenciais fármacos, os extratos em hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol de *D. delicatula* foram avaliados, por métodos bioautográficos, quanto à presença de substâncias com ações anticolinesterásica, antioxidante e antifúngica; foram também analisados por cromatografia planar, para caracterização de seus componentes químicos. O extrato hexânico foi submetido à cromatografia gasosa/espectrometria de massas e à fracionamento em coluna aberta de gel de sílica, monitorada por cromatografia planar. No extrato em diclorometano foram detectadas duas substâncias com ação anticolinesterásica e uma, no extrato em acetato de etila além de substâncias antioxidantes e antifúngicas nos extratos em diclorometano, acetato de etila e metanol. Foram identificados, no extrato hexânico, mais de 16 sesquiterpenos. Esse é o primeiro registro dessas substâncias em *Dictyopteris*.

**Palavras-Chave:** sesquiterpenos, extrato hexânico, bioautografia, cromatografia gasosa.

#### INTRODUÇÃO

O litoral brasileiro abriga uma notável variedade de macroalgas (Bicudo & Menezes, 2010), as quais tem sido objeto de estudos

químicos e biológicos voltados à pesquisa de novas moléculas que possam ser agentes terapêuticos para tratamento de diversas doenças humanas ou insumos para fins tecnológicos (Fujii *et al.* 2011; Mattos *et al.* 2011). Dentre essa notável população, selecionamos a macroalga marinha *Dictyopteris delicatula* Lamouroux (Dictyotaceae-Phaeophyta) como objeto de nosso estudo. Sobre essa espécie existem estudos que relatam as atividades anticrustante (Deepa *et al.* 2014), citotóxica e antioxidante (Costa *et al.* 2010) e antifitofágica (Vinayak *et al.* 2011) de seu extrato metanólico e a ação antiviral, frente ao vírus herpes simplex do extrato em diclorometano). Também foram detectadas as atividades anticoagulante, antioxidante e antitumoral em heterofucanos (Magalhães *et al.* 2011) e em polissacarídeos sulfatados (Costa *et al.* 2010) extraídos desta alga.

Quanto ao isolamento de substâncias, König & Wright (1995) identificaram em *D. delicatula* quatro sesquiterpenos; o torreiol, a 3-cubenolona, o cubenol e o 4 $\beta$ , 5 $\alpha$ -dihidroxicubenol e Fleury *et al.* (1994a e 1994b) polifenóis e esteróis, porém nenhum desses compostos foi submetido a ensaios biológicos.

Nosso estudo tem como objetivo caracterizar substâncias com atividades antifúngica frente ao fungo *Cladosporium cladosporioides*, e com ação anticolinesterásica nos extratos em diclorometano, acetato de etila e metanol de *D. delicatula* e também pesquisar a presença de terpenos em seu extrato hexânico.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *D. delicatula* J.V. Lamouroux foram coletados em Itapemirim (21° 04' 31,6" S, 40° 34' 43,6" W), litoral do estado do Espírito Santo, em março de 2016, pela Dra. Nair S. Yokoya. A biomassa coletada foi limpa, identificada e seca à sombra.

Amostras desse material foram destinadas à confecção de exsiccatas, a serem depositadas no herbário do Instituto de Botânica.

A biomassa algácea foi moída, pesada e submetida à extração assistida por ultrassom (5 x, 30 s, 100 W), com os seguintes solventes: hexano (EH), diclorometano (ED), acetato de etila (EAE) e metanol (EM). Cada um dos extratos foi submetido à filtração em papel de filtro GF/C e concentrado (Conserva *et al.* 2011).

**Prospecção, por bioautografia, de substâncias com atividade antifúngica, frente ao fungo *Cladosporium cladosporioides*.** Esses ensaios foram realizados em todos os extratos, segundo o protocolo de Agripino *et al.* (2004).

**Prospecção de substâncias com atividade anticolinesterásica, por bioautografia.** Todos os extratos foram submetidos aos ensaios preconizados por Rhee *et al.* (2001) e modificados por Marston.

**Ensaio cromatográfico para avaliação de atividade antioxidante.** Estas análises seguiram o protocolo de Hostettmann *et al.* (2003).

**Estudo dos extratos, por cromatografia planar, para determinação da classe química de componentes de interesse.**

Alíquotas dos extratos de *D. delicatula* foram aplicadas sobre placas de gel de sílica (20x20 cm, 0,20 mm, Kieselgel 60GF254, E.Merck) e desenvolvidas em fases móveis adequadas. Para determinação da classe química foram empregados os seguintes derivatizantes: p-hidroxibenzaldeído – revelador de terpenos, que confere a essas substâncias coloração roxa a lilás; vanilina - revelador de álcoois superiores, fenóis, esteroides e óleos essenciais, que aparecem como manchas rosadas, azuis ou roxas; ninidrina (Merck 1971). Antes da derivatização, as placas foram observadas sob luz UV de comprimento de onda  $\lambda$  264 e 365 nm. Este procedimento determinou as etapas seguintes do estudo.

**Fracionamento de extratos por cromatografia líquida em coluna, em pressão ambiente.**

Alíquotas dos extratos submetidos a estudo por cromatografia planar foram aplicadas a colunas cromatográficas empacotadas com gel de sílica (60, 0,2-0,5 mm, Vetec) e desenvolvidas com fases móveis previamente escolhidas; as frações coletadas monitoradas por cromatografia planar e reunidas segundo as semelhanças de seus componentes químicos, observados sob luz UV e após a derivatização das placas cromatográficas (Rf's e coloração das manchas).

**Análise de EH por cromatografia em fase gasosa/**

**espectrometria de massas (CG-EM).**

O extrato EH, em concentração de 5 mg/mL, foi analisado por CG-EM, em cromatógrafo a gás Agilent (série 6890) acoplado a espectrômetro de massas quadrupolo (5973), com coluna capilar HP 5-MS (30 m x 0,25 mm de diâmetro interno, com 0,25  $\mu$ m de espessura), operando a 70 eV. O injetor e o detector foram ajustados à temperatura de 280 °C. A programação da temperatura foi a seguinte: a temperatura inicial de 70 °C foi assim mantida por 5 min; a seguir, foi elevada à razão de 5 °C por minuto, até atingir 280 °C; a temperatura de 280 °C foi mantida por 8 minutos, sendo o tempo total de análise de 52 minutos. Como gás de arraste, foi utilizado o hélio (1 mL min<sup>-1</sup>), com faixa de velocidade de 37 cm/seg. O índice de retenção (IR) foi calculado em coluna HP 5-MS, utilizando série homóloga de n-alcenos (C8 a C30) submetidas às mesmas condições de análise cromatográfica. A identificação das substâncias foi feita por comparação entre os espectros de massas obtidos e os registrados na base de dados das bibliotecas NIST e WILLEY e também com os espectros encontrados na literatura.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram detectadas substâncias ativas frente ao fungo *Cladosporium cladosporioides* nos extratos EH e EAE e EM. A figura 1 mostra a prospecção, por bioautografia, de substâncias com atividade antifúngica, sendo estas, manchas brancas em fundo negro.

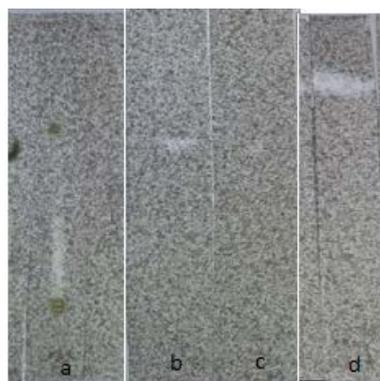


Figura 1. Bioautografias dos extratos EH (a), EAE (b e c) e EM (d). Teste para detecção de antifúngico

Foram também detectadas substâncias com ação anticolinesterásica nos extratos EH e ED (Figura 2) e substâncias antioxidantes nos extratos ED, EAE e EM (Figura 3).

Com assistência dos testes químicos (cromatografia planar e derivatização) foi possível determinar que a substância com ação anticolinesterásica, presente no extrato EAE é um

terpeno.

A figura 4 mostra o cromatograma do extrato EH, gerado por CG/EM; os espectros obtidos permitiram identificar seis sesquiterpenos, cujos dados estão mostrados na tabela 1. São eles o alfa-cubebeno, o selinol, o tau-cadinol, beta-cadinol, o torreiol e o cadaleno. Desses, apenas o torreiol havia sido isolado de *D.delicatula*, anteriormente (Konig & Wright 1995).



Figura 2. Bioautografias dos extratos EH (a), EAE (b) mostrando os resultados dos testes para detecção de substâncias com ação anticolinesterásica.

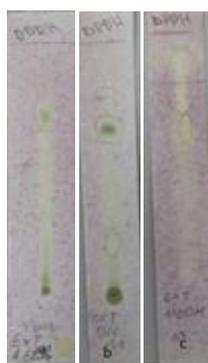


Figura 3. Cromatogramas dos extratos ED (a), EAE(b) e EM (c). As manchas amarelas correspondem às substâncias antioxidantes.

## CONCLUSÕES

*D. delicatula*, que produz sesquiterpenos do tipo cadinano, diferencia-se quimiossistematicamente das outras espécies do gênero *Dictyopteris* que sintetizam diterpenos, com esqueleto do tipo perihidroazuleno.

## AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro - CAPES/AUXPE-CIMAR 1991/2014 e concessão de bolsa de Iniciação Científica CNPq/PIBIC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agripino, D.G., Lima, M.E.L., Silva, M.R., Meda, C.I., Bolzani, V.S., Cordeiro, I., Young, M.C.M. & Moreno, P.R.H. 2004. Screening of Brazilian plants for antimicrobial and Dna- damaging activities. I.

Atlantic Rain Forest – Ecological Station Juréia- Itatins. Botaneotropica.

Bicudo, C.E.M. & Menezes, M. 2010. Introdução: As algas do Brasil. In: Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Vol. 1: p. 49-60. ISBN 978-85-8874-242-0. Available from SciELO Books

Conserva, G.A.A., Sant'Anna, C.L., Cambui, C.C.N., Brunetti, R.L., Rangel, M., Torres, L.M.B., Young, M.C.M. & Carvalho, L.R. 2011. Prospecção de atividades toxicológicas e farmacológicas em cepas de cianobactérias da Coleção de Culturas do Instituto de Botânica.

Choi, H.S., Kondo, Y. & Sawamura, M. 2001. Characterization of the odor-active volatiles in Citrus Hyuganatsu. Journal of Agricultural Food Chemistry 49:2404-2408.

Costa, L.S., Fidelis, G.P., Cordeiro S.L., Oliveira, R.M., Sabry, D.A., Câmara, R.B.G., Nobre, L.T.D.B., Costa, M.S.S.P., Almeida-Lima, J., Farias, E.H.C., Leite, E.L. & Rocha, H.A.O. 2010. Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. Biomedicine & Pharmacotherapy 64: 21-28.

Davies, N.W. 1990. Gas chromatography retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases. Journal of Chromatography 503: 1-24.

Deepa, S., Srikumar, M. & Padmakumar K.P. 2014. Antifouling potential of selected macroalgae from the Gulf of Mannar, India. International Journal of Bioassays 3 (11): 3479-3487.

Fleury, B.G., Kelecom, A., Pereira, R.C. & Teixeira, V.L. 1994a. Polyphenols, terpenes and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Phaeophyta). Botanica Marina 37(5) 457-462.

Fleury, B.G., Pereira, R.C., Silva, J.R.P., Kaisin, M., Teixeira, V.L. & Kelecom, A. 1994b. Sterols from Brazilian marine brown algae. Phytochemistry 37(5): 1447-1449.

Fujii, M.T., Cassano, V. Stein, E.M. & Carvalho, L.R. 2011. Overview of the taxonomy and of the major secondary metabolites and their biological activities related to human health of the Laurencia complex (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 21(2): 268-282.

Hostettmann, K.; Queiroz, E. F.; Vieira, P. C. 2003. Princípios ativos de plantas superiores – Série de textos da escola de verão em química, São Carlos: Edufscar 6: 152

Konig, M.G. & Wright, A.D. 1995. Concerted application of a shift reagent and 2D NOESY to the structure determination of new natural products from the tropical alga *Dictyopteris delicatula*. Magnetic Resonance in Chemistry 33: 178-183.

Magalhães, K.D., Costa, L.S., Fidelis, G.P., Oliveira, R.M., Nobre, L.T.D.B., Dantas-Santos, N., Camara, R.B.G., Albuquerque, I.R.L., Cordeiro, S.L., Sabry, D.A., Costa, M.S.S.P., Alves, L.G. & Rocha, H.A. 2011. Anticoagulant, antioxidant and antitumor activities of heterofucans from the seaweed *Dictyopteris delicatula*. International Journal of Molecular Sciences 12: 3352-3365.

Marston, A., Kissling, J. & Hostettmann, K. 2002. A rapid TLC bioautographic method for the detection of

acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants. *Phytochemical Analysis* 13: 51-54.  
**Merck, E.** 1971. Dyeing reagents for thin layer and paper chromatography, Darmstadt, Germany.  
**Rhee, I.K., Van de Meent, M., Ingkaninan, K. & Verpoorte, R.** 2001. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity

staining. *Journal of Chromatography A* 915 (1-2): 217-223.  
**Vinayak, R.C., Sudha, SA. & Chatterji, A.** 2011. Bioscreening of a few green seaweeds from India for their cytotoxic and antioxidant potential. *Journal of Science Food Agriculture* 91: 2471-2476

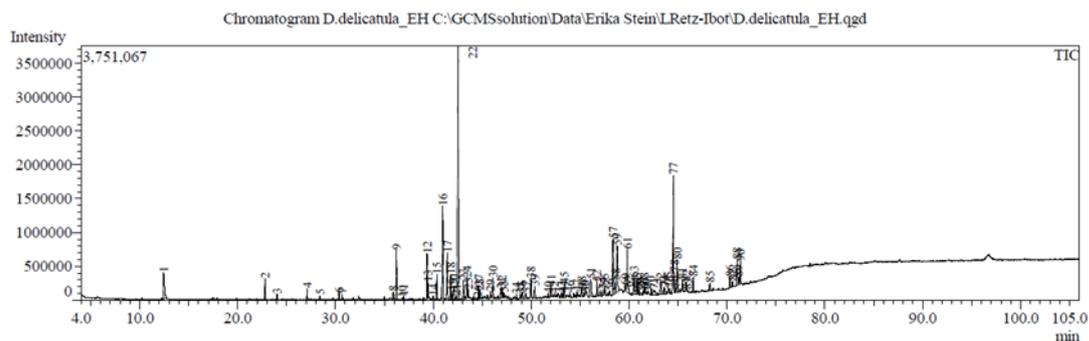


Figura 4. Cromatograma do extrato hexânico de *D. delicatula*, obtido por Cromatografia Gasosa.

Tabela 1. Identificação dos sesquiterpenos presentes no extrato hexânico de *D. delicatula*, analisado por CG/EM.

Nº	Tr (min)	Massa (e/z)	IS	IK*	IK**	Nome	Bibliografia
1	24,025	204	88	1330,3	1345,0	$\alpha$ -cubebeno	Choi <i>et al.</i> 2001
2	39,992	222	85	2134,9	2136,0	selinol	NIST
3	40,358	204	88	2145,0	2136,0	Tau-cadinol	Davies, 1990
4	40,950	204	88	2161,2	2150,0	$\gamma$ -cadinol	Davies, 1990
5	41,433	204	90	2174,5	2150,0	torreiol	Davies, 1990
6	41,775	198	95	2183,9	2203,0	cadaleno	NIST

IS – Índice de similaridade; IK\* - Índice de Kovats calculado; IK\*\* - Índice de Kovats da literatura



# 24ª Reunião Anual do Instituto de Botânica

## “Vulnerabilidade da biodiversidade frente às mudanças climáticas”

### Quem é e onde está *Astraea lobata* (Euphorbiaceae)?: redelimitação de uma espécie invasora de ampla distribuição

**Otávio Luis Marques da Silva**<sup>(1)</sup>, Pedro Dias<sup>(2)</sup> & Inês Cordeiro<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário SP, Instituto de Botânica, São Paulo, SP <sup>(2)</sup> Escola de Artes, Humanidades e Ciências, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

E-mail para contato: otaviolmarques@gmail.com

**Resumo:** *Astraea lobata* (L.) Klotzsch é, do ponto de vista taxonômico, a mais complexa espécie desse gênero, devido à sua ampla distribuição e o grande número de sinônimos associados à sua circunscrição atual. Neste trabalho, utilizamos sequências dos marcadores moleculares ITS (nrDNA), trnL-trnLF e psbA-trnH (cpDNA), juntamente com a análise de mais de 4.500 exsiccatas, incluindo tipos nomenclaturais e protólogos de seus vários sinônimos, para apresentar uma delimitação melhor justificada desta espécie. Com base nos resultados aqui apresentados, propomos uma nova delimitação de *A. lobata*, e como consequência, o reconhecimento de uma nova espécie em um contexto filogenético e morfológico. Também discutimos a posição de *Brasiliocroton* na tribo Crotonaeae, com base em uma ampla amostragem de *Astraea* e análises filogenéticas baseadas em alinhamento bidimensional.

**Palavras-Chave:** *Brasiliocroton*, Crotonaeae, nomenclatural notes, taxonomy.

#### INTRODUÇÃO

*Astraea* Klotzsch é um pequeno gênero com 13 espécies (Caruzo *et al.* 2014) que pertence à tribo Crotonaeae (Euphorbiaceae: Crotonoideae) e foi por muito tempo reconhecido como uma das seções do gigante gênero *Croton* L. nas mais importantes e tradicionais monografias de Euphorbiaceae (Müller Argoviensis 1866, 1874, por exemplo).

Hipóteses filogenéticas recentes, baseadas em dados moleculares (Wurdack *et al.* 2005, Berry *et al.* 2005, Riina *et al.* 2014), sugerem que *Brasiliocroton* P.E.Berry & Cordeiro e *Croton* seriam gêneros irmãos, com a exclusão de *Croton* sect. *Astraea* (Klotzsch) Baill. e sua consequente elevação ao nível de gênero. Wurdack *et al.* (2005) e Berry *et al.* (2005) também apresentaram novidades sobre as relações de *Astraea* com os demais gêneros de

Crotonaeae: ao invés de irmão de *Croton* e *Brasiliocroton*, como se supunha, pela similaridade de suas flores e inflorescências, *Astraea* revelou-se mais próximo de *Acidocroton* Griseb. (incluindo *Ophellantha* Standl.), gênero da América Central, Caribe e norte da América do Sul.

*Astraea lobata* é a espécie de mais ampla distribuição geográfica do gênero, ocorrendo ao longo de toda a região Neotropical, com registros também nos paleotrópicos como invasora (Gaikwad *et al.* 2012, Caruzo *et al.* 2014). Em sua atual delimitação, possui 33 sinônimos, certamente propostos em virtude das folhas profundamente lobadas de diferentes espécies de *Astraea*, que por apresentarem esta marcante característica, foram indevidamente sinonimizadas. Assim, táxons distintos estavam escondidos sob este nome (Silva & Cordeiro 2017). Além disso, algumas das variedades propostas por Müller Argoviensis (1866, 1874) para *Croton lobatus* foram baseadas em espécimes distribuídos ao longo de toda a região Neotropical, indicando também um componente geográfico por trás delas.

Como parte dos estudos com o gênero *Astraea*, foi revisada a circunscrição de *Astraea lobata* em um contexto filogenético e morfológico, com base na análise de sequências dos marcadores moleculares ITS (nrDNA), trnL-trnLF e psbA-trnH (cpDNA), no estudo dos tipos, coleções provenientes de toda sua área de ocorrência, descrições originais de todos os nomes envolvidos, inclusive nas obras citadas por Lineu (1753).

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas coleções depositadas nos herbários A, ALCB, ASE, B, BHCB, BHZB, BM, BOTU, BR, C, CEN, CEPEC, CESJ, CGMS, COL, CTES, CVRD, DAV, E, EAC, ESA, F, FHI, FTG, FUEL, G, GH, HAL, HB, HBG, HCF, HEPH, HNBU, HRB, HRCB, HUEFS, HUEM, HUFU, IAC, IBGE, IEB, INPA, IPA, JPB, K, L, LE, LINN,

M, MA, MAC, MBM, MBML, MICH, MO, MPU, NY, P, PACA, PAMG, PEUFR, R, RB, RSA, S, SJRP, SP, SPF, SPSF, TCD, TOGO, TUB, U, UB, UC, UEC, UESC, UFG, UFP, UFRN, US, USZ, VIES, W, WIS (acrônimos de acordo com Thiers (2017), constantemente atualizado, exceto por UESC – Herbário da Universidade Estadual de Santa Cruz [Bahia: Ilhéus]), totalizando mais de 4.500 espécimes. Foram realizadas também viagens de campo para observação de populações em seu hábitat natural.

No estudo filogenético foram incluídas sete amostras representativas de dois morfotipos de *Astraea lobata*: quatro delas similares ao tipo de *Croton lobatus* (Herb. Clifford: 445, BM 000647404!; morfotipo A); e outras três correspondentes à descrição apresentada por Müller Argoviensis (1866) para *Croton lobatus* var. *lobatus* (morfotipo B). Para representar o restante do gênero, foram incluídas amostras únicas de três outras espécies (*A. comosa*, *A. macroura* e *A. praetervisata*). Para grupo externo, foram selecionadas amostras dos demais gêneros de Crotonaeae, segundo a circunscrição da tribo aceita por Berry *et al.* (2005) e Riina *et al.* (2014), das duas seções de *Acidocroton* e dos quatro subgêneros de *Croton*. Para enraizamento foram utilizadas sequências de *Jatropha*, representando a tribo irmã de Crotonaeae, Jatrophaeae.

A extração, amplificação e sequenciamento de material genético seguiu a metodologia proposta nas publicações recentes envolvendo a tribo Crotonaeae (Berry *et al.* 2005, Riina *et al.* 2014), utilizando as regiões ITS (nrDNA), trnL-trnLF e psbA-trnH (cpDNA). Os contigs foram montados utilizando o pacote *phred/phrap/consed* (Ewing & Green 1998, Ewing *et al.* 1998, Gordon *et al.* 1998), considerando *phred* 20 como menor valor de qualidade para as bases. O alinhamento múltiplo de sequências foi realizado no Clustal  $\Omega$  (Sievers *et al.* 2011), aplicando alinhamento bidimensional com base na estrutura de RNA através do RNASalsa (Stocsits *et al.* 2009) no caso das regiões cloroplastidiais, utilizando sequências de *Suregada boiviniana* Baill. (Crotonoideae: Gelonieae).

A inferência filogenética por máxima verossimilhança (ML) foi realizada no RAXML (Stamatakis 2014) e por método Bayesiano no MrBayes v.3.2.5 (Ronquist & Huelsenbeck 2003). Foi utilizado o modelo evolutivo GTR+I+G em ambos os casos. Para a inferência Bayesiana foram utilizados os seguintes parâmetros: quatro cadeias independentes, com quatro cadeias simultâneas cada (três aquecidas e uma fria), 10 milhões de iterações, amostras a cada centésima iteração e burn-in de 25%. Para a máxima verossimilhança

foram realizadas 1 milhão de réplicas de bootstrap. Para os valores de suporte, consideramos como moderado suporte  $\geq 75$  a  $<95\%$  BS (ML) ou  $\geq 0.75$  to  $<0.95$  PP (Bayesiana) e como alto suporte  $\geq 95$  BS (ML) ou  $0.95$  PP (Bayesiana).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tipo de *Astraea lobata* (Herb. Clifford: 445, BM 000647404!) apresenta o indumento das porções jovens do caule composto por tricomas estrelado-porrectos (com o raio central não ultrapassando 5 mm compr.) e o cálice das flores femininas às vezes com mais de seis lobos, com tricomas simples curtos (até 5 mm compr.) na face exterior e fortemente acrescentes, ultrapassando o fruto. A descrição e ilustração apresentadas em Martyn (1728), são consistentes com o tipo. Em nossa hipótese filogenética (Fig. 1), as quatro amostras do morfotipo A agrupam-se com alto suporte na inferência Bayesiana e moderado suporte na ML (clado A; 0,99 PP / 84 BS).

Portanto, com base no tipo de *Astraea lobata* e na descrição detalhada apresentada por Martyn (1728), referida em Lineu (1753), é proposta aqui a delimitação de *Astraea lobata* com o seguinte conjunto de características: ervas, de até 1,5 m de altura, indumento das porções jovens dos ramos composto por tricomas estrelado-porrectos, com o raio central não ultrapassando 5 mm em comprimento; folhas 3-5-partidas, glabras ou pilosas na face adaxial e pubescentes na face abaxial; tirsos com até 15 cm de comprimento, com 3-6 flores pistiladas na base e címulas estaminadas com 1-3 flores, cada; flores pistiladas com cálice 5-7(-9)-lobado e fortemente acrescentes no fruto, chegando a 3 cm de comprimento e frutos opacos e glabros a esparsamente pilosos, com tricomas simples ou estrelados geralmente concentrados no ápice.

Na circunscrição aqui proposta, *Astraea lobata* ocorre na América do Norte (Flórida), América Central, Caribe (Bahamas, Cuba, Haiti, República Dominicana e Porto Rico) e na América do Sul (Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, sudoeste do Brasil, Paraguai e Argentina). Apesar de Van Ee (2011) ter indicado a localidade típica de *Astraea lobata* em Veracruz (México) como duvidosa, nós a consideramos como correta, com base nas coleções encontradas em Veracruz e considerando que independentemente de o tipo representar uma planta cultivada, ainda assim as sementes seriam de Veracruz.

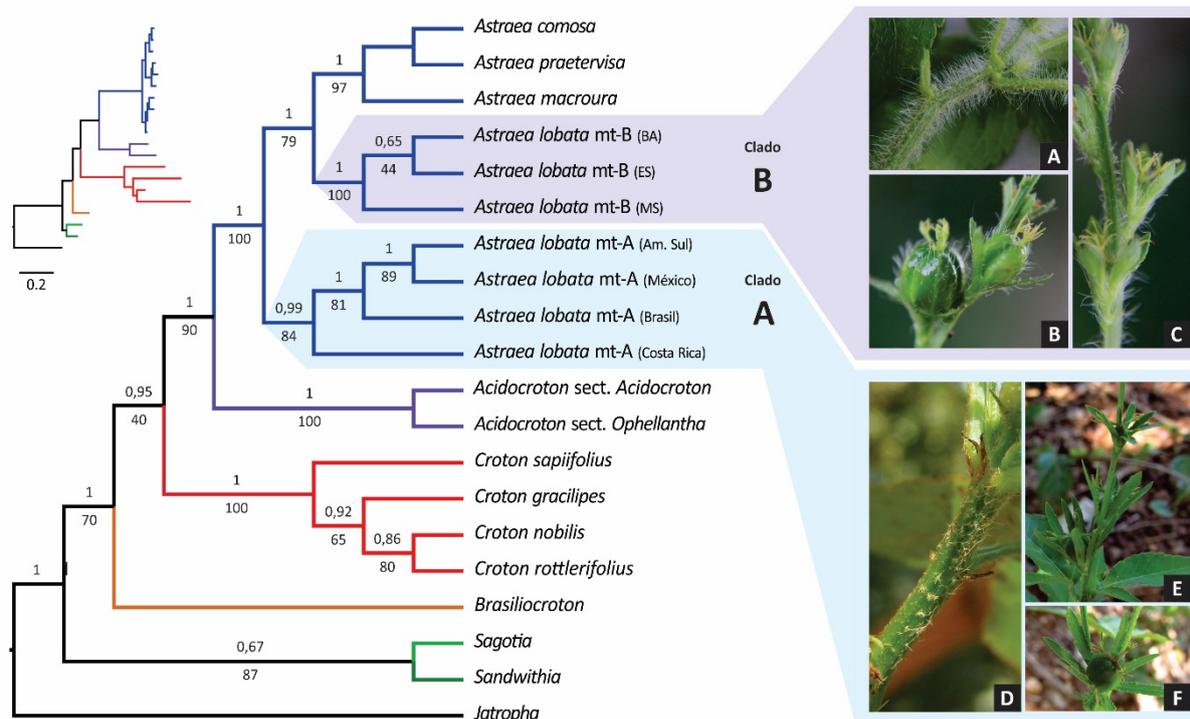


Figura 1. Árvore de consenso de maioria obtida por inferência bayesiana com dados combinados de cloroplasto (*trnL-trnF* e *psbA-trnH*) e nucleares (*ITS*). Valores acima dos ramos correspondem aos valores de probabilidade posterior (PP) e abaixo dos ramos aos valores de bootstrap. No canto superior esquerdo, a mesma árvore é apresentada na forma de filograma, com a escala indicando o número médio de substituições de nucleotídeos por lóculo. Do lado direito são apresentadas características morfológicas diagnósticas para os morfotipos (*mt*) A – *Astraea lobata* (D-F) e B – *Croton lobatus* var. *lobatus* (A, D: indumento das porções jovens do caule, B, E: flores pistiladas, C, F: fruto imaturo).

Quando Müller Argoviensis (1866) publicou o primeiro tratamento mais abrangente de *Astraea* para o *Prodromus de Candolle*, foram propostas oito variedades para *Croton lobatus* baseadas majoritariamente em espécies previamente descritas. Entretanto, a descrição de *Croton lobatus* var. *lobatus*, não corresponde ao tipo de *Croton lobatus* e tão pouco à descrição e ilustração de Martyn (1728).

*Croton lobatus* var. *lobatus*, de acordo com a descrição de Müller Argoviensis (1866) e a análise das coleções por ele citadas, seria caracterizado pelo indumento das porções jovens dos ramos composto por tricomas estrelado-porrectos, cujo raio central ultrapassa 5 mm de compr. (descrito por Müller Argoviensis como simples, alongados e hispídeos), cálice das flores pistiladas raramente com mais de 5 lobos, tricomas simples alongados (> 5 mm compr.) e, apesar de acrescente, nunca ultrapassando o tamanho do fruto (ca. 1[-1,5] cm compr.), e frutos brilhantes e esparsamente pubescentes, com tricomas simples e alongados.

Do ponto de vista filogenético, as amostras similares a *Croton lobatus* var. *lobatus* (morfotipos B) emergem como um clado fortemente sustentado (Clado B; 1 PP / 100 BS), claramente separadas dos

acessos de *Astraea lobata* na delimitação morfológica apresentada neste trabalho. Além disso, o clado B é mais próximo das demais espécies de *Astraea* (clado C) do que de *Astraea lobata*, com as quais compartilha os frutos lustrosos.

A relação entre *Astraea* e *Acidocroton* já publicada anteriormente foi corroborada, porém na presente análise, *Brasiliocroton*, ao invés de emergir como irmão de *Croton*, aparece como irmão de um clado formado por *Croton* + (*Astraea* + *Acidocroton*). A inclusão de dados biológicos na definição de homologia primária (alinhamento múltiplo de sequências) leva, como mostrado por Stocsits *et al.* (2009), a diferenças significativas em reconstruções filogenéticas pela ênfase em regiões não ambíguas, melhorando, assim, o sinal filogenético.

No cenário filogenético atual, a provável sinapomorfia morfológica do clado *Croton* + *Brasiliocroton* seria a presença de nectários extraflorais entre o pedicelo e o limbo (Riina *et al.* 2014). Esta característica, porém, não está presente em muitas das espécies ou mesmo seções inteiras de *Croton*. Sem qualquer estudo de evolução de caracteres foi publicado até o momento para a tribo, não há ainda nenhuma hipótese clara sobre a morfologia do ancestral de *Croton* + *Brasiliocroton*.

Portanto, dois diferentes cenários seriam possíveis: múltiplos eventos de aquisição ou então múltiplos eventos de perda destes nectários em *Croton*. Além disso, *Brasiliocroton* compartilha com os gêneros mais basais de Crotonae (*Sagotia* Baill. e *Sandwithia* Standl.) o hábito estritamente arbóreo e tirso paniculiformes, com cimas de eixos bem evidentes, enquanto predominam em *Astraea*, *Acidocroton* e *Croton* os hábitos arbustivo e herbáceo, com cimas dos tirso de eixos reduzidos.

## CONCLUSÕES

Este é um primeiro passo em direção à completa revisão de *Astraea*, no qual apresentamos uma circunscrição filogeneticamente e morfologicamente justificada de *Astraea lobata*, espécie tipo do gênero. Ainda existem mais táxons ocultos sob a atual delimitação de *Astraea lobata*, os quais, assim como *Astraea* sp. (morfotipos do clado B) serão publicados posteriormente.

O diferente cenário em relação ao posicionamento de *Brasiliocroton* dentro de Crotonae deve-se ao alinhamento bidimensional aqui utilizado. Entretanto, uma amostragem mais ampla de *Astraea* e *Croton* seria necessária, juntamente com estudos de reconstrução de estados de caracteres, para confirmar o posicionamento deste resultado.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa de doutorado (processo 2013/26501-6) concedida ao primeiro autor, pelo apoio financeiro (processo 2014/18002-2) e ao CNPq pela bolsa de produtividade do terceiro autor (processo 309917/2015-8).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Berry, P.E., Hipp, A.L., Wurdack, K.J., van Ee, B. & Riina, R.. 2005. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and trnL-trnF DNA sequence data. *American Journal of Botany* 92(9): 1520–1534.

Caruzo, M.B.R., O.L.M. Silva, P.E. Berry & I. Cordeiro. 2014. Nomenclatural novelties in *Astraea* (Euphorbiaceae). *Phytotaxa* 159(2): 127–128.

Ewing, B. & Green, P.. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Research* 8: 186–194.

Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C. & Green, P. 1998. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Research* 8: 175–185.

Gaikwad, S.P., Gore, R.D. & Garad, K.U. 2012. *Astraea lobata* (Euphorbiaceae), a new record for India. *Rheedea* 22(2): 131–132.

Gordon, D., Abajian, C. & Green, P. 1998. Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Research* 8: 195–202.

Klotzsch, J.F. 1841. Neue und weniger gekannte südamerikanische Euphorbiaceen-Gattungen. *Archiv für Naturgeschichte* 7(1): 175–204.

Linnaeus, C. 1753. *Species plantarum*. Laurentius Salvius, Stockholm, 1200 pp.

Martyn, J. 1728. *Historia Plantarum Rariorum*. R. Reily, London, 42 pp.

Müller Argoviensis, J. 1866. Euphorbiaceae. Pp. 1–1286 in *Prodromus Syfstematics Universalis Regni Vegetabilis* 15(2), ed. A.L.P.P. de Candolle. Paris: Victor Masson.

Müller Argoviensis, J. 1874. Euphorbiaceae. Pp. 1–752 in *Flora Brasiliensis* vol 11(2), eds. C. F. P.von Martius and A. W. Eichler. München: Frid. Fleischer.

Riina, R., Carneiro-Torres, D.S., Peirson, J.A., Berry P.E. & Cordeiro, I. 2014. Further support for the Crotonae Phylogeny: A New Species of *Brasiliocroton* (Euphorbiaceae) Based on Morphological, Geographical, and Molecular Evidence. *Systematic Botany* 39(1): 227–234

Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574

Sievers, F., Wilm, A., Dineen, D.G., Gibson, T.J., Karplus, K., Li, R., Lopez, W. McWilliam, H. Remmert, M. Söding, J. Thompson, J.D. & Higgins, D.G. 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Molecular Systems Biology* 7: 539.

Silva, O.L.M. & Cordeiro, I. 2017. Disentangling *Astraea lobata*: three new names in *Astraea* based on previous varieties of *Croton lobatus* (Euphorbiaceae). *Phytotaxa* 317(4): 297-300.

Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetics analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9): 1312–1313.

Stocsits, R.R., Letsch, H. Hertel, J. Misof, B. & Stadler, P.F. 2009. Accurate and efficient reconstruction of deep phylogenies from structured RNAs. *Nucleic Acids Research* 37(18): 6184-6193.

Thiers, B. (continuamente atualizado). *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. The New York Botanical Garden, New York. Available from <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed: 15 February 2017).

Wurdack, K.J., Hoffman, P. & Chase, M.W. 2005. Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae sensu stricto) using plastid rbcL and trnL-F DNA sequences. *American Journal of Botany* 92(8): 1397–1420.

## **Vegetação arbórea densa como refúgio para a brioflora em área urbana: o caso do parque Ibirapuera**

**Sandra Regina Visnadi**<sup>(1)</sup>

*<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Briologia / Centro de Pesquisa em Plantas Avasculares e Fungos, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: svsnadi@uol.com.br*

O parque Ibirapuera possui 158,4ha de área e foi inaugurado em 21 de agosto de 1954 e eleito, em 2013, o melhor parque da América do Sul. As áreas verdes urbanas se destacam como ilhas de conforto térmico, em comparação com o entorno urbano, que é mais quente. Conseqüentemente, essas áreas contribuem com a redução do aquecimento global, firmada no Acordo de Paris (2015), que enfatiza a importância dos esforços em limitar a elevação da temperatura média global a 1,5 graus centígrados. O trabalho inédito tem por objetivo conhecer e comparar a brioflora nas diferentes áreas do parque, que possuem vegetação arbórea densa e poucas edificações e onde a vegetação arbórea é esparsa entre as muitas edificações (Prefeitura do município de São Paulo, proc. DEPAVE nº 2015-0.285.147-0). A vegetação do parque Ibirapuera se enquadra em bosque heterogêneo, cuja arborização implantada, com predomínio de espécies arbóreas nativas ou exóticas, possui copas que se encontram, podendo apresentar sub-bosque ou não. O estudo de todo o material coletado em 2016 não foi ainda concluído. Para parte do material já estudado (151 exsicatas), encontraram-se 30 espécies de briófitas. Desse total, verificou-se que a brioflora predomina nas áreas com vegetação arbórea densa e poucas edificações (26 espécies, em 125 exsicatas), sendo menos comum nas áreas com vegetação arbórea esparsa e muitas edificações (13 espécies, em 26 exsicatas). Esses dados preliminares evidenciam que a ocorrência de poucas espécies nas áreas com muitas edificações deve-se a menor disponibilidade de substratos naturais (vegetação arbórea esparsa). As briófitas são sensíveis à poluição urbana e, nessas últimas áreas, o trânsito de carros é muito intenso. Portanto, os resultados já obtidos subsidiam a defesa das causas ambientais, como uma maior arborização nas áreas com vegetação esparsa que, então, poderiam abrigar uma brioflora mais rica em espécies.

**Palavras-Chave:** antrópico, arborização, briófitas, cidade de São Paulo.

# Palinotaxonomia de espécies de Canellaceae ocorrentes no Brasil

**Marcus Vinicius Ruiz Lima**<sup>(1)</sup>, Angela Maria da Silva Corrêa Pando <sup>(1)</sup> & Fabio de Barros <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP Email para contato: markusvrl@hotmail.com

Canellaceae é uma família pertencente as Angiospermas Basais, composta aproximadamente de cinco gêneros e 21 espécies distribuídas entre o leste da África e em regiões neotropicais, incluindo o Caribe e a América do Sul. No Brasil está representada pelo gênero *Cinnamodendron* Endl. incluindo cinco espécies (*C. axillare* (Nees) Endl. ex Walp., *C. dinisii* (Schwacke) Occhioni, *C. occhionianum* F. Barros & J. Salazar, *C. sampaioanum* Occhioni e *C. sp.* J. Salazar & F. Barros). O presente trabalho tem como objetivo, caracterizar palinologicamente as espécies de *Cinnamodendron* Endl, a fim contribuir com a taxonomia do gênero, servir como material de referência para áreas afins à Palinologia, enriquecer a Palinoteca do Instituto de Botânica e subsidiar estudos filogenéticos. Os grãos de pólen foram acetolisados segundo método de Erdtman 1960, medidos e fotografados digitalmente e sob microscopia eletrônica de varredura. As medidas foram submetidas à análise estatística, sendo calculada a média aritmética ( $\bar{x}$ ), o desvio padrão da amostra ( $s$ ), o desvio padrão da média ( $s_x$ ), o coeficiente de variabilidade ( $V$ ) e o intervalo de confiança a 95% (IC). Os resultados mostraram que de acordo com a ornamentação da exina, *C. sp.* separa-se de todas as espécies estudadas por ser a única a apresentar exina rugulado-perfurada. As demais espécies separaram-se em dois grupos: com exina rugulada (*C. axillare*, *C. occhionianum*) e exina microrreticulado-rugulada (*C. dinisii*, *C. sampaioanum*). Conclui-se neste estudo que os grãos de pólen analisados apesar de apresentarem morfologia polínica bastante homogênea sendo considerado um gênero estenopolínico, foi possível separar uma espécie além de dois grupos através da ornamentação da exina.

**Palavras-chave:** *Cinnamodendron*, palinologia, pólen.

**Orgão financiador:** CNPq/PIBIC.

# Análise quantitativa de ácido docosaenoico em Thraustochytriales do Parque Estadual da Ilha do Cardoso, São Paulo

**Marcela Castilho Boro**<sup>(1,3)</sup>, Aline Paternostro Martins<sup>(2)</sup>, Pio Colepicolo<sup>(2)</sup>, Carmen Lidia Amorim Pires-Zottarelli<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Micologia, Av. Miguel Stéfano 3687, CEP 04301-012, São Paulo, SP, Brasil. <sup>(2)</sup> Instituto de Química, Departamento de Bioquímica, Universidade de São Paulo, Caixa Postal 26077, 05599-970 São Paulo, SP, Brasil. E-mail para contato: marcelaboro@gmail.com

Thraustochytriales são organismos heterotróficos marinhos pertencentes ao filo Labyrinthulomycota do Reino Chromista (Straminipila *pro parte*). Ocorrem em águas marinhas e salobras, onde atuam principalmente como sapróbios. São produtores de diversos ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), principalmente o ácido docosaenoico (DHA), substância importante no desenvolvimento de bebês e peixe jovens, o que gerou um grande aumento no interesse de se estudar o grupo. Atualmente a demanda por DHA é suprida principalmente pelo óleo de peixe, porém uma fonte alternativa deste PUFA torna-se cada vez mais importante devido à limitação do ecossistema marinho em relação à atividade pesqueira. Embora seja mais caro fazer a extração de lipídeos destes microrganismos, eles apresentam um maior conteúdo de DHA do que o óleo de peixe e um alto grau de pureza. No Brasil, o conhecimento do grupo é extremamente escasso, com um único estudo de taxonomia realizado na década de 70, onde foram relatadas quatro espécies. Este o primeiro estudo sobre a produção de DHA por isolados brasileiros de Thraustochytriales. O objetivo deste trabalho é extrair e quantificar o DHA de espécimes de *Aurantiochytrium* provenientes do Parque Estadual da Ilha do Cardoso (São Paulo, Brasil). Para tal, foram selecionados 12 espécimes e a produção de biomassa foi realizada por meio da inoculação destes em 100 mL de meio PYGs líquido em erlenmeyers de 250 mL mantidos sob agitação de 120 rpm por aproximadamente duas semanas em temperatura de 25-27°C. As biomassas produzidas foram coletadas por centrifugação (3500 rpm/10 min.), congeladas e liofilizadas para extração dos lipídios totais e posterior transesterificação. A quantificação de DHA foi feita por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) e a identificação por comparação com o tempo de retenção do padrão utilizado (Supelco 37 - Sigma). Os espécimes de *Aurantiochytrium* selecionados produziram de 15,04 a 80,65 mg/g de DHA, uma quantidade considerada alta e compatível com a literatura existente.

Palavras chave: *Aurantiochytrium*, Labyrinthulomycota, DHA

# Sesquiterpene lactones and a novel sesterpene from leaves of *Hedyosmum brasiliense* Mart. ex Miq. (Chloranthaceae) and their antifungal activity

Cynthia Murakami<sup>(1)</sup>, Rodrigo Sant'Anna Cabral<sup>(1)</sup>, Inês Cordeiro<sup>(2)</sup>, João Henrique Ghilardi Lago<sup>(3)</sup>, Vanderlan da Silva Bolzani<sup>(4)</sup>, **Maria Cláudia Marx Young**<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Post Graduation in Plant Biodiversity and Environment, Institute of Botany, São Paulo, Brazil, <sup>(2)</sup>Institute of Botany, São Paulo, Brazil; <sup>(3)</sup>Center for Natural and Human Sciences, Federal University of ABC, São Paulo, Brazil; <sup>(4)</sup>Nucleus of Bioassays, Biosynthesis and Ecophysiology of Natural Products - NuBBE, - Chemistry Institute, São Paulo State University – UNESP, Araraquara, Brazil. E-mail para contato: cynmurakami@gmail.com

*Hedyosmum brasiliense* (Chloranthaceae), popularly known as “chá-de-bugre”, is a dioecious shrub, widely distributed in Central, Southeastern and Southern Brazilian regions. Their leaves are used in folk medicine to treat headache, stomach pain, ovarian dysfunction, rheumatism and foot fungi. Previous study have revealed antimicrobial activity of the ethanolic extract against gram-positive bacteria and phytochemical investigations have led to the isolation of sesquiterpene lactones and demonstrated their aphrodisiac, analgesic, anxiolytic and antidepressive properties. In a preliminary investigation we have detected antifungal activity in an ethanolic extract from leaves of *H. brasiliense*. In the present work dried leaves of *H. brasiliense* were extracted by maceration with EtOH, the solvent was removed and the crude extract was partitioned with solvents of increasing polarity. Dichloromethane fraction was subjected to chromatographic column, providing subfractions that were selected by HPLC-DAD and purified by semi-preparative HPLC. Six compounds were isolated and determined based on 1D and 2D NMR spectroscopic and MS data, as well as comparison with published data. These compounds were tested by bioautography against the filamentous fungi *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. Among the six compounds isolated, one was a new sesterpene determined as hedyosulide and the other five were known sesquiterpene lactones the elemanolides 15-acetoxy-isogermafurenolide and linderolide F, the guaianolide hedyosumin D, the eudesmanolide neolitacumone B and the lindenanolide oxynoseriolide. This was the second time that a sesterpene was isolated from a Chloranthaceae species. Three sesquiterpene lactones, hedyosumin D, linderolide F and neolitacumone B, showed antifungal activity.

**Keywords:** chá-de-bugre, Atlantic Forest, antifungal, sesquiterpene lactones, sesterpene.

**Acknowledgements:** CNPq and FAPESP.

## Revisão dos tipos de fungos cifeloides descritos por Rick

Larissa Trierweiler Pereira<sup>(1)</sup> & Adriana de Mello Gugliotta<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, Av. Miguel Stéfano, 3687, Vila Água Funda, CEP 04301-902, São Paulo, SP, Brasil. E-mail para contato: Lt\_pereira@yahoo.com.br

Os fungos cifeloides correspondem à homobasidiomicetos relacionados ao conceito morfológico tradicional do gênero *Cyphella* Fr. No passado, essas espécies foram agrupadas na família polifilética *Cyphellaceae* Lotsy, e atualmente, cerca de 40 gêneros são conhecidos e aceitos. As espécies cifeloides podem produzir basidiomas com diferentes formas (discoide, tubuliforme, cupuliforme, globosa, etc.), o himênio é geralmente liso ou com veias, e crescem sobre matéria vegetal em decomposição. Johannes Rick (1869–1946) foi um jesuíta austríaco que realizou um importante inventário de macrofungos na região sul do Brasil, mais especificamente, no estado do Rio Grande do Sul, onde residiu desde o início do século XX. Rick descreveu espécies de fungos cifeloides no início e em meados do século XX, e os tipos são mantidos em sua coleção Fungi Rickiani, atualmente sob curadoria do Herbário PACA (Instituto Anchietano de Pesquisa, São Leopoldo, RS). O objetivo desse estudo foi realizar uma revisão taxonômica dos tipos de fungos cifeloides descritos por Rick, a saber: *Cyphella grisea* Rick, *Cyphella congregatissima* Rick, *Porothelium griseum* (Rick) Rick e *Solenia minima* Rick. Os espécimes foram primeiramente fotografados sob microscópio estereoscópio e depois examinados macro- e microscopicamente, segundo técnicas tradicionais de taxonomia de fungos. Nossas análises revelaram que os nomes das espécies precisam ser atualizados e combinações para diferentes gêneros (*Lachnella* Fr., *Resupinatus* S.F. Gray e *Henningsomyces* Kuntze) são necessárias.

**Palavras-Chave:** *Cyphella*, *Cyphellaceae*, micota neotropical, taxonomia de fungos.

**Órgão financiador:** CNPQ (bolsa PDJ)

## Palinologia de algumas espécies de *Cryptanthus* Otto & Dietr. (Bromeliaceae Juss. Bromelioideae Mez)

Valéria Leobina dos Santos<sup>(1)</sup>, Maria das Graças Lapa Wanderley<sup>(2)</sup>, Rafael Batista Louzada<sup>(3)</sup> & Cynthia Fernandes Pinto da Luz<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(3)</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. E-mail para contato: [valerialeobina@hotmail.com](mailto:valerialeobina@hotmail.com)

*Cryptanthus* é um gênero monofilético endêmico do Brasil com cerca de 72 espécies. São plantas rupícolas ou terrícolas que habitam a Caatinga, Campos Rupestres, Mata Atlântica e Restinga. Tradicionalmente é dividido em dois subgêneros: *Cryptanthus* e *Hoplocryptanthus*, contudo, em estudo filogenético recente foi constatado que o subgênero *Hoplocryptanthus* é polifilético. Com base nisso e em vários caracteres morfológicos, incluindo dados polínicos, alguns autores propuseram o desmembramento de *Cryptanthus* com a elevação a gênero de parte do subgênero *Hoplocryptanthus* e a criação de dois novos gêneros: *Forzzaea* e *Rokautskyia*. No presente trabalho será adotado o conceito mais amplo para o gênero, seguindo a “Flora do Brasil”. O objetivo foi descrever os aspectos polínicos de espécies de *Cryptanthus* do Campo Rupestre [*Cryptanthus schwackeanus* Leme e *Cryptanthus tiradentensis* Leme], tratadas como o novo gênero *Hoplocryptanthus* e, da Mata Atlântica [*Cryptanthus microglazioui* I. Ramírez], tratada como *Rokautskyia*, para auxiliar na taxonomia. Os grãos de pólen foram acetolisados, medidos em microscopia óptica e fotomicrografados. As mensurações foram submetidas aos tratamentos estatísticos. Os grãos de pólen são mônades, médios a grandes, heteropolares, *Amb* elíptico, plano-convexos em vista equatorial, monossulcados, sulcos longos, sem margem definida, sexina sempre mais espessa que a nexina, muros simplescolumelados. A exina variou de rugulado-perfurada em *C. schwackeanus* a microrreticulada em *C. tiradentensis*. A espécie *C. microglazioui* exibiu dois tipos de ornamentação: microrreticulada-verrucada em 86,3% do total analisado e microrreticulada em 13,7%. Na PCA dos dados quantitativos as espécies também se separaram, com os maiores grãos de pólen e maior espessura de exina em *C. microglazioui* e as menores dimensões em *C. tiradentensis*. No estudo que definiu a nova circunscrição genérica foi apontado que os grãos de pólen dessas espécies apresentaram somente exina microrreticulada a perfurada, não corroborando nossos resultados. Sugere-se que os detalhes palinológicos aqui descobertos sejam considerados na taxonomia do grupo.

**Palavras-Chave:** bromélias, grãos de pólen, *Hoplocryptanthus*, morfologia polínica, *Rokautskyia*.

# Morfologia dos esporos de samambaias e licófitas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo – SP: Família Hymenophyllaceae Mart.

**Kauê Fonseca**<sup>(1)</sup>, Carolina Brandão Coelho<sup>(1)</sup> & Luciano Mauricio Esteves<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Av. Miguel Stefano, 3687, Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: kauefonsecaibt@hotmail.com

A família Hymenophyllaceae possui nove gêneros e cerca de 600 espécies, sendo caracterizado pelas lâminas foliares, geralmente com a espessura de uma única célula. O grupo pertence à classe Polypodiopsida, ordem Hymenophyllales, sendo reconhecido como uma família monofilética e basal dentro do clado das samambaias leptosporangiadas. É representada na área do PEFI por seis gêneros e nove espécies: *Hymenophyllum* (*H. caudiculatum* Mart., *H. hirsutum* (L.) Sw., *H. microcarpum* Desv., *H. polyanthos* Sw.), *Abrodictyum* (*A. rigidum* (Sw.) Ebihara & Dubuisson), *Didymoglossum* (*D. reptans* (Sw.) C. Presl), *Polyphlebium* (*P. angustatum* (Carmich.) Ebihara & Dubuisson), *Trichomanes* (*T. polypodioides* Raddi) e *Vandenboschia* (*V. radicans* (Sw.) Copel). Pequenas amostras de folíolos e esporângios férteis foram obtidas a partir de material herborizado, depositado no Herbário Científico do Estado “Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo” (SP). Os esporos foram preparados pelo método da acetólise clássica e acetólise láctica. Sempre que possível, foram realizadas 25 medidas dos diâmetros equatorial e polar, comprimento da lesão, largura da margem e largura da esporoderme. Os dados foram tratados estatisticamente determinando-se o intervalo de confiança a 95%. As imagens dos esporos foram digitalizadas, mostrando diferentes aspectos morfológicos. Os esporos são clorofilados, triletes esferoidais com simetria radial e braços da lesão se estendendo até a margem. As espécies de *Hymenophyllum* são caracterizadas pela presença de papilas associadas a estelas mais altas que largas (equinado). Em *Abrodictyum*, *Didymoglossum* e *Trichomanes* as papilas também estão presentes, mas diferem quanto à distribuição em relação a parede. Os esporos de *Didymoglossum* são extremamente frágeis, e não resistem ao processo de acetólise. *Polyphlebium*, *Trichomanes* e *Vandenboschia* não apresentaram variações significativas no padrão de escultura. As características da esporoderme, aliadas às observações da estrutura da parede, e ao tamanho dos esporos, não permitem a identificação entre as espécies *Abrodictyum rigidum*, *Trichomanes polypodioides* e *Hymenophyllum hirsutum*.

**Palavras-Chave:** palinotaxonomia, trilete, papilado, microscopia.

## Palynological and archaeological evidence of land use by the Owu people in Motako, southern Nigeria

**Cynthia Fernandes Pinto da Luz**<sup>(1)</sup>, Marcia Aguiar de Barros<sup>(2)</sup>, Jeanne Cordeiro<sup>(3)</sup> & Kingsley C. Daraojimba<sup>(4)</sup>

*<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, <sup>(2)</sup>Laboratório de Palinologia, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, <sup>(3)</sup>Laboratório de Arqueologia Brasileira, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, <sup>(4)</sup>Department of Archaeology and Anthropology, University of Ibadan, Nigeria. E-mail para contato: cyluz@yahoo.com.br*

Owu is one of the oldest and most important Yoruba speaking societies in Nigeria. There are about 43 Owu communities, Motako is one of them. This site is located in the Osun State, southwestern part of Nigeria. Family farming, hunting, and oil palm production are the main economic activities. This site was studied within a palynological, archaeological, and chemical set of studies aimed at understanding the human influence on the landscape over time. Twelve soil samples collected from different layers of the northern wall of an excavated refuse mound of 120cm depth were subjected to standard pollen preparation treatment. Pollen and spores were counted alongside charcoal particles and phosphate content of the samples. Five pollen zones were established according to the pollen, lithological and archaeological data. Zone I (120-85 cm) - lower phosphate content, coupled with few objects and organic remains found, mainly hammer stones and palm kernels, and the low pollen diversity indicates that the area was likely to be used for activities related to palm oil production. Zone II (85-70 cm) - we suspected that the deposit is gradually turning into a refuse mound as indicated by the increase in organic matter content which corresponds to the increased concentration of phosphate and other cultural materials, in addition to the increase of pollen grains percentages of ruderal species. Zone III (70-45 cm) - the refuse mound is fully established with high activity as reflected in the peak in phosphate content, increased diversity of kitchen wares, organic remains and pollen of ethnobotanical significance. Zone IV (45-25 cm) - probably the refuse mound is beginning to be deactivated and/or used for another activity such as gardening for the cultivation of plants with several domestic purposes. Zone V (25-0 cm) - there was a reduction of both organic and inorganic materials. However, a further increase was noted in the frequency of the unbroken palm kernel which got to its peak in this horizon, a possible indication of decreasing palm kernel breaking activity in the area and a signal of abandonment of the mound as a refuse dump site. Comparing the results of the evaluated site we suppose the management and land use were different from time to time.

**Palavras-Chave:** Africa, Anthropocene, Archaeopalynology, Ethnobotany, Human Influence, Medicinal plants.

**Órgão financiador:** CNPq.

## **Vigor de sementes de *Eugenia brasiliensis* (Lam.) e *E. involucrata* (DC.) (Myrtaceae) após armazenamento.**

**Camila Rivero Alonso**<sup>(1)</sup>, Claudio José Barbedo<sup>(1)</sup>, José Marcos Barbosa<sup>(1)</sup> & Nelson Augusto dos Santos Júnior<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica-SMA, São Paulo, SP. Brasil. E-mail para contato: [camila.biounic@yahoo.com.br](mailto:camila.biounic@yahoo.com.br)

As sementes de *Eugenia* (Myrtaceae) apresentam baixa longevidade em armazenamento, pois não toleram dessecação a níveis que reduzam seu metabolismo e impeçam o início da germinação. Em estudos anteriores verificou-se que a maior parte dessas sementes perde a viabilidade após nove meses mesmo sob condições de refrigeração. Visando a avaliar a conservação de sementes de *Eugenia brasiliensis* (Eb) e *Eugenia involucrata* (Ei), sementes obtidas em outubro de 2015 de matrizes plantadas no Parque Estadual Fontes do Ipiranga (PEFI) foram armazenadas a 10°C por 1,5 anos e, então, avaliadas quanto a germinação e vigor. Para este, foram instalados testes de envelhecimento acelerado a 35 (EA35), 40 (EA40), 45 (EA45) e 50°C (EA50) por 24h para Ei e 12h para Eb. Visando a avaliar a manutenção da regenerabilidade, típica do gênero, amostras das sementes de Eb tiveram sua radícula removida e, então, foram submetidas a EA40 e EA50. Ao final dos tratamentos, as sementes foram colocadas para germinar a 25°C sob luz constante e avaliadas em intervalos de 3 dias por 3 meses. Após o armazenamento, o teor de água em Eb manteve-se em torno de 50%, porém em Ei aumentou de 57% para 68%. A germinação de Eb após o armazenamento decresceu de 86% para 42% e, após EA35, EA40 e EA45, reduziu para valores próximos a 30%; em EA50 caiu para 7%. A regeneração de raízes foi elevada em EA40 (55%) e mais baixa em EA50 (28%). Em Ei, a germinação foi elevada (85%) após armazenamento, mas caiu para 65% após EA35, 54% após EA40 e 0% após EA45 e EA50. Concluiu-se que sementes de Eb e de Ei podem ser armazenadas a 10°C por até 510 dias, porém apenas Eb mantendo vigor elevado. Além disso, em Eb ainda se verifica alguma capacidade regenerativa mesmo após 1,5 anos de armazenamento.

**Palavras-Chave:** grumixama, cereja-do-rio-grande, regeneração, conservação.

**Órgão financiador:** CNPq.

## Germinação de sementes de *Eugenia* spp (Myrtaceae) sob condições de déficit hídrico

**Mariane Cristina Inocente**<sup>(1)</sup>, Marina Crestana Guardia<sup>(1)</sup>, Fatima Conceição Marquéz Piña-Rodrigues<sup>(2)</sup> & Claudio José Barbedo<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica (IBt), São Paulo, SP & <sup>(2)</sup> Departamento de Ciências Ambientais, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Sorocaba, SP. E-mail para contato: mariane.inocente@gmail.com

As plantas podem enfrentar diversas condições ambientais desfavoráveis ao seu estabelecimento. Dentre as principais está o déficit hídrico que pode afetar a planta já na fase de germinação das sementes. É essencial, portanto, mensurar a resistência das sementes a esse déficit. Este trabalho teve como objetivo avaliar limites de resistência de três espécies de *Eugenia*, *E. involucrata* (Ei), *E. pyriformis* (Ep) e *E. uniflora* (Eu), a diferentes níveis de déficit hídrico. As sementes foram coletadas no Parque Estadual Fontes do Ipiranga e colocadas para germinar, a 25°C, em rolos de papel umedecidos com água (controle, 0,0 MPa) ou com soluções osmóticas de -0,5, -1,0, -1,5, -2,0 e -4,0 MPa. As soluções foram obtidas por diferentes concentrações de polietileno glicol 6000. Foram analisadas a porcentagem, o tempo médio e a frequência relativa de germinação. Em Ei e Eu a germinação manteve-se acima de 60% nas soluções de -1,0 MPa ou superiores, enquanto em Ep a germinação foi baixa até mesmo no controle ( $\pm 40\%$ ). Sementes de Eu germinaram até em soluções de -1,5 MPa, mas não em -2,0 MPa; Ei foi capaz de germinar em até -1,0 MPa, mas não em inferiores e Ep germinou somente em soluções iguais ou superiores a -0,5 MPa. Considerando a baixa germinação de Ep em água, é possível que o lote já apresentasse um acentuado grau de deterioração, portanto com baixo vigor, tornando tais sementes mais sensíveis a adversidades. O aumento da negatividade das soluções prolongou o tempo de germinação de todas as sementes. Os resultados permitiram verificar as diferenças entre as espécies em relação à resistência ao déficit hídrico, sendo Eu a mais resistente e Ep a mais sensível.

**Palavras-Chave:** Deficiência hídrica, *Eugenia involucrata*, *Eugenia pyriformis*, *Eugenia uniflora*.

**Órgão financiador:** CAPES

# **Cultivo *in vitro* e aclimatização de plantas *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms em diferentes concentrações de nitrato de amônio**

Sabrina Vanessa de Andrade dos Santos<sup>(1)</sup>, **Jorge Luiz Marx Young**<sup>(1)</sup> & Vívian Tamaki<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP  
E-mail para contato: [jlmyoung@yahoo.com.br](mailto:jlmyoung@yahoo.com.br)

*Alcantarea imperialis* é uma bromélia de grande porte muito utilizada em projetos paisagísticos. Embora seja produzida comercialmente, é uma planta ameaçada pelo extrativismo ilegal devido ao seu alto valor comercial. O cultivo *in vitro* é considerado uma estratégia eficiente para a conservação de espécies raras e/ou ameaçadas, principalmente para plantas de crescimento lento. Entretanto, o processo de aclimatização é determinante para o sucesso dessa forma de cultivo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi otimizar o crescimento e a fase de aclimatização de plantas da espécie *A. imperialis* cultivadas *in vitro*, utilizando diferentes concentrações de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . Plantas obtidas a partir de sementes foram cultivadas em meio Murashige & Skoog (MS) com alterações nas concentrações de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (3,75 mM, 7,5 mM e 15 mM) por 180 dias, permanecendo em sala de cultura com fotoperíodo de 12 h, radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e temperatura de  $26\pm 2$  °C. Após este período, as plantas foram aclimatizadas em casa de vegetação por 365 dias, sob PAR de aproximadamente  $450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e adubação nas mesmas concentrações descritas na fase *in vitro*. Os tratamentos influenciaram no crescimento das plantas durante o cultivo *in vitro*, assim como no processo de aclimatização, sendo as melhores concentrações 7,5mM e 15mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , respectivamente. Aclimatização em 15 mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  foi satisfatória com 97% de sobrevivência, recomendando-se assim, esta concentração para a obtenção de plantas de *A. imperialis*.

**Palavras-Chave:** Bromélia, Nitrogênio, Propagação *in vitro*

**Órgão financiador:** CNPq

## First record of *Rhizoclostridium globosum* for Brazil

Ana Lucia de Jesus<sup>1</sup> & Carmen Lidia Amorim Pires-Zottarelli<sup>1</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. Eletronic mail: [analuciajesus@hotmail.com](mailto:analuciajesus@hotmail.com)

The genus *Rhizoclostridium* (Chytridiales, Chytridiomycota) was described by H.E. Petersen in 1903. It is comprised by four species (*R. aurantiacum* Sparrow, *R. globosum* H.E. Petersen, *R. hyalinum* Karling and *R. marinum* Kobayasi & M. Ôkubo) commonly found as saprophytes in chitinous substrates in water and/or parasites of marine green algae. The type species of the genus is *Rhizoclostridium globosum* that is characterized by spherical or subspherical zoosporangia, extensive rhizoids, subspherical resting spore and colorless lipidic globule of the zoospore. In a diversity study of the zoosporic fungi in Brazilian Atlantic Rainforest areas (“Parque Estadual das Fontes do Ipiranga” and “Mosaico de unidades de Conservação da Juréia-Itatins”), we isolated this species from samples of water, bottom sediment and mixed leaf litter, using the multiple baiting technique. The specimens were morphologically and molecularly characterized (partial LSU and total ITS regions of the rDNA), maintained in the culture media and incorporated in the CCIBt Culture Collection (“Coleção de Culturas de Algas, Cianobactérias e Fungos”) of the Instituto de Botânica, São Paulo State, Brazil. *Rhizoclostridium globosum* was very common and abundant in chitinous and celulosic substrates in the samples analysed. This is the first record of the genus and the species in Brazil.

**Keywords:** Atlantic Rainforest, Chytridiales, Chytridiomycota, Morphology, Phylogeny

**Financial supports:** FAPESP & CAPES

# Registro de espécies do Filo Oomycota (Straminipila) em tanques de cultivo da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) e seus ovos na cidade de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil

**Sarah Cristina Oliveira Rocha**<sup>(1)</sup> & Carmen Lidia Amorim Pires Zottarelli<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP E-mail para contato: sahtininha@gmail.com

Espécies do filo Oomycota (Reino Straminipila), juntamente com os fungos e bactérias, são responsáveis por enfermidades em peixes e seus ovos, causando danos na piscicultura e consequentes perdas econômicas, onde o cultivo em massa permite a proliferação destes organismos por garantir um ambiente rico em nutrientes. Saprolegnirose é uma doença conhecida na piscicultura causada por espécies do gênero *Saprolegnia*, embora a presença de outros gêneros de oomicetos seja registrada nestes ambientes. Este estudo objetivou o levantamento de espécies do filo Oomycota em sistemas de cultivo da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), seja como sapróbios e/ou parasitas. Para tanto, duas truticulturas foram selecionadas, ambas em Campos do Jordão. Amostras de água foram coletadas, em triplicatas, nas entradas e saídas dos sistemas, bem como nos tanques de criação; ovos com a presença de micélio também foram amostrados. Em laboratório, as amostras foram iscadas com substratos celulósicos e queratinosos, tais como semente de *Sorghum* sp., palha de milho, ecdise de cobra e epiderme de cebola, para facilitar o isolamento dos espécimes. Para os ovos colonizados foi realizado cultivo imediato do micélio em meio de cultura (MP<sub>5</sub> - maltose, peptona e ágar). As amostras foram analisadas para identificação morfológica e molecular dos espécimes isolados. Onze gêneros foram registrados nos sistemas: *Achlya*, *Aphanomyces*, *Dictyuchus*, *Leptolegnia*, *Newbya*, *Olpidiopsis*, *Plectospora*, *Pythium*, *Phytopythium*, *Phytophthora* e *Saprolegnia*. Cinco espécies foram identificadas dos ovos colonizados (*Achlya radiosa* Maurizio, *Saprolegnia aenigmatica* Sandoval-Sierra & Diéguez-Uribeondo, *Saprolegnia diclina* Humphrey e *Leptolegnia* sp.) e uma nova citação para o Brasil foi registrada nos tanques de cultivo: *Newbya oblongata* (de Bary) Mark A. Spencer. Nossos resultados são inéditos para a truticultura no Brasil e demonstram a diversidade de gêneros de oomicetos presente nos sistemas estudados, contribuindo assim para o entendimento da dinâmica da entrada de eventuais patógenos em cultivos de truta arco-íris.

**Palavras-Chave:** piscicultura, parasita, Oomicetos, peixe

**Órgãos financiadores:** CNPq, FAPESP, CAPES

## Morfologia de esporos de Pteridófitas do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo – SP.: Família Cyatheaceae

Wesley da Silva Dias dos Santos<sup>(1)</sup>, Carolina Brandão Coelho<sup>(2)</sup>, Luciano Mauricio Esteves<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo-SP. <sup>(2)</sup>E-mail para contato: luciano.esteves@uol.com.br

A família Cyatheaceae pertence à ordem Cyatheales e compreende boa parte da diversidade das samambaias arborescentes caracterizadas pela presença de escamas na base do pecíolo, no indumento e nas nervuras. Abrange cinco gêneros e 600 espécies distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas. O Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), São Paulo, SP, é uma área remanescente de floresta atlântica de planalto, que apesar da acentuada influência antrópica recebida nos últimos anos, ainda guarda muitas espécies nativas e originais. Foram registrados e estudados para a área do PEFI dois gêneros e cinco espécies da família Cyatheaceae: *Cyathea* (*C. corcovadensis* (Raddi) Domin, *C. atrovirens* (Langsd & Fisch.) Domin e *C. delgadii* Sternb.) e *Alsophila* (*A. sternbergii* (Sternb.) D. S. Conant e *A. setosa* Kaulf.). Os esporos foram coletados de exsicatas do Herbário Científico do Estado “Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo” (SP) e foram tratados sob o método de acetólise. As medidas foram feitas ao acaso em pelo menos 25 esporos e tratadas estatisticamente, determinando-se as médias aritméticas ( $\bar{X}$ ), o desvio padrão da média ( $S_x$ ) e o intervalo de confiança a 95%. Para o registro dos diferentes aspectos de ornamentação das paredes dos esporos, imagens de microscopia óptica foram digitalizadas. Os esporos desta família são triletes, tetraédricos, com perispofo tênue, indo de psilado e levemente granuloso. O exosporo apresentou poucas variações significativas na escultura da esporoderme dentre as espécies analisadas. Em *Alsophila* a margem da lesão é inconspícua, enquanto que em *Cyathea* se apresenta espessa e bem conspícua. As diversas características morfológicas dos esporos desta família mostram grande valor taxonômico, sendo importante subsídio para outras pesquisas na área do PEFI, como em análise de sedimentos, precipitação esporo-polinica, entre outros.

**Palavras-Chave:** Cyatheaceae, *Alsophila*, *Cyathea*, esporos.

**Órgão financiador:** O trabalho não está vinculado ao programa de iniciação científica (PIBIC) e, portanto, não possui órgão financiador.

## **Efeito da fenologia e posição de realocação na sobrevivência da bromélia *Aechmea distichantha* Lem. no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, SP**

Catarina Carvalho Niévola<sup>(1)</sup>, Janaína Pinheiro Costa<sup>(2)</sup>, Marina Crestana Guardia<sup>(3)</sup>, Nelson Augusto dos Santos Junior<sup>(3)</sup>, Rogério Mamoru Suzuki<sup>(4)</sup>, Shoey Kanashiro<sup>(1)</sup>, Vivian Tamaki<sup>(1,2)</sup>, Waldyr Baptista<sup>(3)</sup> & Yoshito Shidomi<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Centro de Pesquisa em Ecologia e Fisiologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(4)</sup> Núcleo de Pesquisa – Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: vtamaki@gmail.com

Nas obras de construção do Rodoanel Mario Covas - Trecho Norte, trabalhos de pesquisas científicas foram desenvolvidos visando gerar conhecimentos para mitigar os impactos causados pela supressão da vegetação no trecho de implantação do eixo rodoviário. Um desses trabalhos é este que objetivou avaliar a fenologia, o estágio de crescimento ou de florescimento e a sobrevivência em relação à posição de realocação (no solo da mata ou fixação nos troncos e galhos das árvores) da bromélia *Aechmea distichantha* Lem. As plantas em estudo foram resgatadas de trechos de florestas suprimidas e mantidas no viveiro até o momento de montagem do experimento, quando foram realocadas no Parque Estadual da Cantareira - Núcleo do Engordador. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em fatorial 1x2x2 (tempo x fenologia x posição de realocação) com parcelas compostas de 6 plantas. As variáveis avaliadas foram porcentagem de sobrevivência, número de folhas e emissão de brotações laterais durante um período aproximado de um ano. Os resultados mostraram que no período entre 0 a 381 dias de observação, as plantas apresentaram maior número de folhas no momento da realocação (19,78 folhas) do que após a realocação (12,04 folhas). Quanto à fenologia, as plantas com flor se destacaram estatisticamente com 17,63 folhas, enquanto que as plantas sem, mostraram em média 13,45 folhas. No que se refere à sobrevivência dos exemplares após a realocação, os dados analisados mostraram que não houve diferença significativa ao longo do tempo, permanecendo próximo de 100% de sobrevivência das plantas realocadas nas duas posições do experimento e, independentemente, do estágio fenológico dos exemplares. Diante disto, recomenda-se a realocação de exemplares de *A. distichantha* tanto em solo quanto em troncos no interior de matas.

**Palavras-Chave:** epífitas vasculares, medidas compensatórias no licenciamento, flora resgatada, realocação na forma epífita ou terrícola.

**Órgão financiador:** Dersa.

## Realocação de *Sauroglossum nitidum* (Vell.) Schltr. no Parque Estadual da Cantareira

Rogério Mamoru Suzuki <sup>(1)</sup>, Catarina Carvalho Nievola <sup>(2)</sup>, Janaína Pinheiro Costa <sup>(3)</sup>, Marina Crestana Guardia <sup>(4)</sup>, Nelson Augusto dos Santos Junior <sup>(4)</sup>, Shoey Kanashiro <sup>(2)</sup>, Waldyr Baptista <sup>(4)</sup>, Yoshito Shidomi <sup>(1)</sup> & Vivian Tamaki <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa – Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Centro de Pesquisa em Ecologia e Fisiologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(4)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: rogeriomsuzuki@yahoo.com.br

A construção de rodovias causa vários impactos sobre o ambiente. Uma ação mitigadora é o resgate de plantas e a realocação em áreas protegidas. Neste contexto, as orquídeas representam um importante componente vegetal devido à ocorrência restrita, seu ciclo de vida altamente especializado e à dificuldade de se estabelecer em uma nova área a partir da semente. Muitos indivíduos da orquídea *Sauroglossum nitidum* (Vell.) Schltr. foram resgatados durante a construção do trecho norte do Rodoanel Mário Covas, que possibilitou estudar a realocação desta orquídea no PEC - Parque Estadual da Cantareira – Núcleo Engordador. Foram utilizados dez lotes de plantas, cada lote contendo cinco plantas. Quinzenalmente, por dois meses antes da realocação realizada em local selecionado no PEC (Núcleo Engordador), cinco lotes foram submetidos à adubação via borrifação (ca 1mL.planta<sup>-1</sup>) de fertilizante foliar NPK 10-52-10 (1g.L<sup>-1</sup>); outros cinco lotes (não adubados) foram borrifados com água. Estas plantas foram analisadas quanto à % de sobrevivência, número de folhas, conteúdo de pigmentos fotossintéticos (via clorofilômetro), % de brotações e % de floração; durante 11 meses subsequentes à realocação (início adubação set2015, avaliações dez2015 a nov2016). Ao final do estudo, a sobrevivência das orquídeas foi de 92%. O número médio de folhas foi maior nas plantas adubadas. O uso do clorofilômetro para estimar o teor de pigmentos foi eficiente e comprovado pela análise colorimétrica de pigmentos realizada em amostras retiradas de plantas realocadas de *Sauroglossum nitidum*. O conteúdo de clorofila *a* foi maior nas plantas adubadas, embora significativo apenas nos primeiros meses. O teor de clorofila *b* foi inicialmente maior nas plantas não adubadas. A porcentagem de floração foi significativamente maior nas plantas adubadas. Os resultados mostraram que a realocação de *Sauroglossum nitidum* foi bem-sucedida, com elevada sobrevivência, o uso do clorofilômetro eficaz e a adubação importante, pois promoveu significativamente a floração.

**Palavras-Chave:** Resgate de plantas, Orchidaceae, Conservação, Adubação

**Órgão financiador:** Dersa

## A possibilidade de uso da bromélia epífita *Vriesea carinata* Wawra no enriquecimento de áreas recuperadas

Vívian Tamaki<sup>(1)</sup>, Ivomar Aparecido Medina<sup>(1)</sup>, Alan Borges de Souza<sup>(2)</sup> & Rogério Mamoru Suzuki<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Centro Administrativo, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa – Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: vtamaki@gmail.com

Na recuperação de áreas degradadas, além de exemplares arbóreos, pode-se utilizar epífitas como algumas bromélias, principalmente as que possuem os fitotelmos (reservatórios de água). Esses reservatórios, além de aumentarem a umidade local, podem ser utilizados pela fauna na alimentação e na reprodução. No entanto, pouco se sabe sobre a realocação dessas epífitas adultas em árvores. A *Vriesea carinata* Wawra é uma dessas bromélias que poderia ser utilizada na recuperação de áreas degradadas. Neste sentido, o presente trabalho objetivou verificar o enraizamento de *V. carinata* em dois estágios fenológicos, florido e vegetativo, visto que a fixação nas árvores se efetiva por meio das raízes. Foram utilizados 150 exemplares, de cada um dos estágios fenológicos, e foram divididos em 4 tratamentos, além do controle (n=30): controle - água destilada; T1 - adubo Peters® 20-20-20 1g.L<sup>-1</sup>; T2 - 0,03 g de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; T3 - 0,3 g de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>.L<sup>-1</sup>; e T4 - AIB (hormônio de enraizamento - ácido indolilbutírico) 200 mg.L<sup>-1</sup>. As plantas foram dispostas em telas do tipo sombrite e colocadas em estufa agrícola. Em todos os tratamentos foram aplicados 15 mL por fitotelmo, mensalmente, por 6 meses, além da irrigação diária. A quantidade de raízes novas emitidas foi analisada ao final de 6 meses. Os resultados mostraram que plantas floridas não emitiram raízes em nenhum dos tratamentos, mas as condições T1, T2 e T3 triplicaram a floração dos brotos novos, podendo favorecer a fixação destes exemplares nas árvores. As plantas em estágio vegetativo emitiram raízes novas em todos os tratamentos, menos em T3. Em T4 (AIB) as plantas apresentaram 3 vezes mais raízes novas do que no controle, mas não seria recomendado pelo alto custo do produto. Indica-se a realocação de exemplares de *V. carinata* floridos, pelo rápido surgimento de brotos que poderiam se fixar nas árvores, além do uso de fertilizantes nitrogenados.

**Palavras-Chave:** recuperação de matas, adubação, enraizamento.

**Órgão financiador:** Instituto de Botânica

## Palinotaxonomia de *Microstachys* A. Juss. (Euphorbiaceae)

Gabriela Cristina Sakugawa<sup>(1)</sup>, Inês Cordeiro<sup>(2)</sup>, Allan Carlos Pscheidt<sup>(3)</sup> & Cynthia Fernandes Pinto da Luz<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup>Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário-SP, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup>Faculdades Metropolitanas Unidas, Campus Liberdade, São Paulo, SP. E-mail para contato: [gabisakugawa@gmail.com](mailto:gabisakugawa@gmail.com)

Na tribo Hippomaneae da família Euphorbiaceae, encontra-se o gênero pantropical *Microstachys* A. Juss., composto por 24 espécies subarbustivas, a maioria delas brasileiras. *Microstachys* foi tratado na Flora brasiliensis como uma seção de *Sebastiania* Spreng., mas a última revisão da tribo, restabeleceu o gênero, incluindo nele as seções *Elachocroton* (F. Müll.) Pax, *Microstachys* e *Microstachyopsis* (Müll. Arg.) Pax. de *Sebastiania*. O objetivo deste estudo foi descrever a morfologia polínica de *Microstachys* e encontrar possíveis características diferenciais entre suas espécies. Foram analisadas 11 espécies do gênero: *M. anisodonta* Müll.Arg., *M. bidentata* (Mart. & Zucc.) Esser, *M. corniculata* (Vahl) Griseb., *M. crotonoides* Klotzsch ex Benth., *M. ditassoides* (Didr.) Esser, *M. glandulosa* (Mart. & Zucc.) Esser & M. J. Silva, *M. heterodoxa* (Müll.Arg.) Esser, *M. marginata* (Mart.) Klotzsch ex Müll. Arg., *M. nummularifolia* (Cordeiro) Esser, *M. revoluta* (Ule) Esser e *M. salicifolia* (Mart. & Zucc.) M. J. Silva & Pscheidt, representadas por 23 coleções de herbário. Seus grãos de pólen foram acetolisados, medidos e fotografados. As espécies analisadas possuem pólen em mônades, de tamanho pequeno a médio, isopolares, âmbito subcircular ou subtriangular lobado (fossaperturado), variando de oblato-esferoidal, prolato-esferoidal a subprolato, 3-colporados, com colpos muito longos, com margem espessa, às vezes os colpos parecem ser unidos nos polos devido a uma invaginação. Endoaberturas alongadas. Exina microrreticulada, com muros simplescolumelados. No mesocolpo, a sexina se afasta da nexina, formando cavea. Sexina sempre mais espessa que a nexina. Na PCA (Principal Component Analysis) com 13 variáveis quantitativas, as espécies se separaram em grupos conforme as características medidas nos espécimes. Os maiores grãos de pólen foram encontrados em *M. anisodonta* e *M. crotonoides* e os menores em *M. bidentata*. Apesar de *Microstachys* ser um gênero estenopolínico, foram observados detalhes morfológicos que parecem ser característicos de cada uma das espécies, demonstrando valor taxonômico, podendo contribuir em futuras análises sistemáticas.

**Palavras-Chave:** Biodiversidade, Morfologia polínica, Palinologia, Sistemática, Taxonomia.

**Órgão financiador:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

# Pteridófitas como indicadores ecológicos: uma revisão

Aline Possamai Della<sup>(1)</sup> & Daniel de Barcellos Falkenberg<sup>(1)</sup>

(1) *Laboratório de Sistemática Vegetal (Departamento de Botânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina). E-mail para contato: alinepossamaidella@hotmail.com*

Indicadores ecológicos podem ser definidos como uma espécie ou grupo de espécies que prontamente refletem o estado abiótico ou biótico de um ambiente, sendo usados principalmente quando pesquisas abrangentes não podem ser realizadas. As pteridófitas, por terem sua distribuição correlacionada com variáveis abióticas, pela elevada riqueza de espécies e pela relativa facilidade com que o grupo é reconhecido no campo, apresentam grande potencial como indicadores ecológicos. Nosso objetivo foi revisar estudos publicados em artigos, sites ou livros que as tivessem tratado com a finalidade de indicação. Realizamos buscas em cinco bases de dados e no Google, sendo selecionados 114 artigos, quatro sites, quatro monografias e quatro capítulos de livros, totalizando 126 trabalhos. Há estudos com pteridófitas como indicadores em todos os continentes, e o país com maior número é o Brasil. As metodologias empregadas foram muito similares, bem como parte considerável dos estudos apresentou espécies como indicadores, sendo usualmente consideradas várias espécies, não somente uma. Todos os estudos analisados têm uma associação lógica do indicador com *indicandum*, e consideraram, em sua maioria, um nível de indicação regional. Agrupamos esses estudos em sete tipos de indicação: 1- classificação de vegetações, solos, ambientes e ecossistemas (64 estudos), 2- integridade (ou qualidade) de ambientes (17), 3- perturbação (13), 4- regeneração/restauração de ambientes (10), 5- mudanças climáticas (10), 6- contaminação (poluição) do ar, do solo e da água (12), 7- outros grupos de organismos (11), com os seis primeiros indicando condições do ambiente e o sétimo indicando a presença de outras plantas. Desses estudos, pouquíssimos apresentaram critérios para a seleção de indicadores ecológicos, e a grande maioria apenas hipotetizou o potencial de indicação das pteridófitas, sendo que somente dois realmente as empregaram como indicadoras. Há, portanto, necessidade de maior aplicação das pteridófitas como indicadores ecológicos e de discussão sobre as dificuldades deste uso.

**Palavras-Chave:** samambaias, licófitas, tipos de indicação.

**Órgão financiador:** bolsa da Universidade Federal de Santa Catarina.

## **Aumento da longevidade de flores de corte da bromélia *Vriesea carinata* Wawra com “pulsing” de sacarose**

**Vanessa Rebouças dos Santos**<sup>(1)</sup>, Ivomar Aparecido Medina<sup>(1)</sup> & Vívian Tamaki<sup>(1)</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [vanessareb21@yahoo.com.br](mailto:vanessareb21@yahoo.com.br)

As bromélias são plantas ornamentais, geralmente utilizadas na forma envazada ou em canteiros de jardins. Apesar da beleza de suas inflorescências há poucos estudos sobre o uso como flores de corte, principalmente devido ao longo período em que muitas espécies permanecem no estado vegetativo. Diversas flores de corte têm a vida de vaso prolongada quando açúcares são supridos às hastes florais. Assim, o presente trabalho objetivou analisar o efeito de soluções de “pulsing” de sacarose na longevidade da haste floral da bromélia *Vriesea carinata* Wawra. Foram utilizadas 150 hastes florais de *V. carinata* divididas em tratamentos contendo três concentrações de sacarose 2%, 10% e 20% nas quais as hastes ficaram imersas por 6, 18 ou 24 horas e no tratamento controle foi utilizada apenas água destilada. As hastes florais tiveram seus comprimentos padronizados em 20 cm (desde a base até o ápice da bráctea), antes da imersão nos tratamentos. Cada tratamento foi composto por cinco frascos contendo cinco hastes florais em cada frasco. Cerca de 33% das hastes florais, que ficaram em solução de “pulsing” com sacarose 10% por 24h, apresentaram longevidade comercial acima de 80 dias, sem sinais de senescência. Este tempo foi muito acima do tratamento controle (30 dias) e de outras flores de corte como *Strelitzia reginae* Aiton (14 dias), *Epidendrum ibaguense* Kunth (10 dias) e *Gerbera jamesonii* Bolus (12 dias). Diante disso, *V. carinata* possui alto potencial para ser utilizada como flor de corte.

**Palavras-Chave:** pós-colheita, longevidade, Bromeliaceae.

**Órgão financiador:** IBt

## Is *Beenakia* (Gomphales) a monophyletic genus?

**Viviana Motato-Vásquez**<sup>(1)</sup>, Ricardo Matheus Pires<sup>(1)</sup>, Alex Almeida Alcântara<sup>(1)</sup>,  
Adriana de Mello Gugliotta<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato:  
vimovaz@gmail.com

The genus *Beenakia* was described by Reid (1956) with *B. dacostae* D.A. Reid as the type species. *Beenakia* includes species characterized by stalked hydroid basidiomes, monomitic hyphal system, generative hyphae with clamps and basidiospores broadly ellipsoid to pip-shaped, ornamented. Currently, seven species are accepted in the genus worldwide. In the Neotropics, there are two species described from the Brazilian Atlantic Rainforest biome: *B. informis* (Rick.) Maas Geest. from Rio Grande do Sul state in 1974 and *B. subglobospora* Núñez & Ryvar den from São Paulo state in 1994. Phylogenetic analyzes including morphological and molecular data (mitochondrial and nuclear rDNA) have been used to infer inter- and intra specific relationships among genera with cantharelloid/gomphoid and ramarioid morphologies. Only *B. fricta* Maas Geest. has been included in these phylogenetic studies and the results suggested that the best phylogenetic positioning for the genus is within the order Gomphales, in a clade including the genera *Beenakia*, *Kavinia* Pilát and *Lentaria* Corner. This study present morphological and molecular analyzes of recent collections of specimens in the Brazilian Atlantic Rainforest. The morphological results suggest that 43 years after its description, the species *B. informis* has been collected again and its geographical occurrence has been extended. Phylogenetic analyses based on a concatenated molecular matrix composed by three *loci* showed that the Brazilian specimens do not group with *B. fricta* (only specimen with sequences available) and form a separate clade within the order Gomphales. Although our results are preliminary, this data suggests that the genus *Beenakia* as currently defined is not monophyletic. This study presents results of an ongoing research project, future examination of the type specimens, as well as the addition of more molecular data, will be carried out to propose a more rigorous hypothesis about the phylogenetic positions of the specimens of this remarkable genus.

**Palavras-Chave:** Brazilian Atlantic Forest, Gomphoid fungi, Neotropical fungi, Systematics.

**Órgão financiador:** CAPES, Roufford Foundation.

# Comparação da comunidade de diatomáceas dos rios Xingu e Iriri (bacia Amazônica, Brasil): abordagem paleolimnológica topo-base

**Samantha Borges Faustino**<sup>(1)</sup>, Krysna Stephanny de Morais Ferreira<sup>(1)</sup>, Paulo Eduardo de Oliveira<sup>(2)</sup>, Carlos Eduardo de Mattos Bicudo<sup>(1)</sup> & Denise de Campos Bicudo<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto de Botânica, Seção de Ecologia, Av. Miguel Estéfano 3687, 04301-012, São Paulo, SP, Brasil & <sup>(2)</sup> Instituto de Geociências, Departamento de Geologia Sedimentar e Ambiental, R. do Lago, 562, 05508-080, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail para contato: [sbfaustino@gmail.com](mailto:sbfaustino@gmail.com)

A reconstrução do histórico ambiental a partir da paleolimnologia tem comprovado ser uma valiosa ferramenta para acessar as condições de referência dos ecossistemas aquáticos e, entre os vários indicadores de condições pretéritas, as diatomáceas despontam como o grupo mais adequado. Os rios Xingu e Iriri pertencem à bacia hidrográfica amazônica, estando entre os maiores afluentes do rio Amazonas. Esses rios contêm trechos ainda preservados, porém se encontram ameaçados devido à Hidrelétrica Belo Monte. O presente estudo tem como objetivo comparar as alterações das comunidades de diatomáceas a partir da abordagem paleolimnológica topo-base antes da influência da Hidrelétrica Belo Monte. Os dois testemunhos coletados em lagoas marginais localizadas nos rios Xingu e Iriri foram fatiados a intervalos de 2 cm e datados pela Luminescência Opticamente Estimulada, que registrou sedimentos do Holoceno Médio com cerca de  $6923 \pm 523$  anos para o rio Xingu e  $6569 \pm 1146$  anos para o rio Iriri. A estrutura da comunidade das diatomáceas foi analisada na base (comunidade pretérita) e no topo (comunidade recente) dos testemunhos. O número de táxons encontrados no rio Iriri (56) foi maior do que no rio Xingu (46). Na base, dominaram três espécies de um mesmo gênero: *Aulacoseira granulata*, *A. pusilla* e *A. ambigua*. No topo de ambos os testemunhos houve dominância de *Aulacoseira granulata*, *Naviculadicta sassiana* e *Staurosira construens*. Os resultados demonstraram que a base apresentou dominância de espécies planctônicas de *Aulacoseira*, sugerindo um ambiente turbulento, provavelmente da fase rio. A comunidade mais recente dos testemunhos apresentou grande variabilidade de gêneros bentônicos, sugerindo ambientes não enriquecidos, com baixa produtividade e águas ligeiramente ácidas e rasas. O estudo é pioneiro para a região, inexistindo estudos específicos sobre a comunidade de diatomáceas dos rios Xingu e Iriri. O estudo será expandido para toda a escala temporal representada nos dois testemunhos.

**Palavras-Chave:** reconstrução ambiental, testemunho, Belo Monte, biodiversidade.

**Órgão financiador:** CAPES e FAPESP (Processo nº 2016/02656-9).

# ***Gomphrena marginata* Seub. (Amaranthaceae): occurrence of levan-type fructans and anatomy of the underground reserve organ**

Emanuela de Oliveira Joaquim<sup>(1,3)</sup>, Adriana Hissae Hayashi<sup>(2)</sup>, Luce Maria Brandão Torres<sup>(3)</sup>, Rita de Cássia Leone Figueiredo-Ribeiro<sup>(3)</sup>, Norio Shiomi<sup>(4)</sup>, João Henrique Ghilardi Lago<sup>(5)</sup> & **Maria Angela Machado de Carvalho**<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica, São Paulo-SP, Brazil; <sup>(2)</sup>Núcleo de Pesquisa em Anatomia, Instituto de Botânica, São Paulo-SP, Brazil, <sup>(3)</sup>Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo-SP, Brazil, <sup>(4)</sup>Department of Food and Nutrition Sciences, Graduate School of Dairy Science Research, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Japan & <sup>(5)</sup>Universidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas, Santo André- SP, Brazil. E-mail: mam.carvalho@gmail.com

*Gomphrena marginata* Seub. (Amaranthaceae), an endemic species from Brazilian *campos rupestres*, accumulates high amounts of fructans in the underground reserve organ. In this work, we analyzed the soluble carbohydrates by high performance anion exchange chromatography (HPAEC) and identified the chemical structure and type of fructan polymer by NMR. Structural analyses of the underground organ in samples included in historesin revealed mainly a tuberous root, in which the vascular cylinder presents an “unusual growth pattern”. Fructan crystals were visualized in freehand cross-sections, under polarized light, mostly in the cortex and vascular cylinder, including inside vessel elements. NMR data confirmed the presence of levan-type fructans, and HPAEC allowed to estimate a degree of polymerization up to approximately 50 fructose units. In addition to other data in the literature concerning the Amaranthaceae, the results here obtained suggest that fructans are a trait in this family while *Gomphrena* species could be new potential plant sources of levan-type fructans.

**Keywords:** soluble carbohydrates, plant anatomy, *campos rupestres*, fructo-polysaccharides.

**Acknowledgments:** CAPES, CNPq and FAPESP.

# **Aumento da temperatura dos tecidos da bromélia *Acanthostachys strobilacea* (Schultz f.) Klotzsch & Otto em condições de falta de água**

**Joyce Soares de Oliveira** <sup>(1)</sup>, Victória Carvalho <sup>(1)</sup>, Fernanda Menezes <sup>(1)</sup> & Catarina Carvalho Nievola <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [joyce.soaresoliveira@hotmail.com](mailto:joyce.soaresoliveira@hotmail.com)

*Acanthostachys strobilacea* (Schultz f.) Klotzsch & Otto é uma bromélia epífita e, portanto, sujeita a períodos prolongados de falta de água. Isto a torna apropriada a estudos de respostas fisiológicas às alterações climáticas que têm sido associadas ao aumento dos períodos de seca no planeta. O objetivo deste estudo foi verificar quando ocorre o aumento de temperatura foliar após dias sem rega, relacionando-a ao conteúdo hídrico e potencial osmótico das folhas. Utilizaram-se plantas de 4 meses de idade acondicionadas em sala de cultura a 25°C, foto-período de 12 horas e intensidade luminosa de 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  em bandejas com casca de *Pinus* como substrato. O tratamento de seca consistiu na suspensão de rega de um lote de plantas e irrigação diária de outro, denominado controle. As coletas ocorreram nos 7 primeiros dias, e após o 14º, 21º e 35º dia. Foram utilizadas 4 plantas por tratamento para as medidas foliares. Verificou-se uma queda significativa de 23% do conteúdo hídrico do substrato no 2º dia, diminuindo para 14% aos 35 dias. A temperatura foliar das plantas sob seca aumentou aproximadamente 2°C em relação ao controle no 1º dia, e manteve-se até 35 dias. O conteúdo relativo de água e o potencial osmótico das folhas decaíram significativamente no 14º dia, apresentando valores de 86% de conteúdo relativo de água no controle e 54% nas submetidas a seca e de -0,7 MPa de potencial osmótico no controle e -1,3MPa nas submetidas a seca. Ambos os valores permaneceram similares até o 35º dia. Os resultados demonstraram resistência a seca pelas plantas, que sobreviveram aos 35 dias, ocorrendo queda no conteúdo hídrico apenas após 14 dias. Pode-se supor que, antes dos 14 dias, as plantas utilizaram mecanismo de fechamento estomático, o que explicaria o aumento da temperatura foliar durante os períodos de seca progressiva.

**Palavras-Chave:** alterações climáticas, bromélias epífitas e seca.

**Órgão financiador:** CNPq.

## **Efeito da fenologia e posição de realocação da bromélia *Wittrockia cyathiformis* (Vell.) Leme no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, SP**

Catarina Carvalho Niévola <sup>(1)</sup>, Janaína Pinheiro Costa <sup>(2)</sup>, Marina Crestana Guardia <sup>(3)</sup>, Nelson Augusto dos Santos Junior <sup>(3)</sup>, Rogério Mamoru Suzuki <sup>(4)</sup>, Shoey Kanashiro <sup>(1)</sup>, Vivian Tamaki <sup>(3)</sup>, Waldyr Baptista <sup>(3)</sup> & Yoshito Shidomi <sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Centro de Pesquisa em Ecologia e Fisiologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(4)</sup> Núcleo de Pesquisa – Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: vtamaki@gmail.com

As ações de resgate e realocação de plantas são importantes na conservação da flora. E parcerias como a desenvolvida entre o Instituto de Botânica e DERSA, para realização de trabalhos de orientação e pesquisa científica nas obras desenvolvidas no Rodoanel Mário Covas- Trecho Norte, contribuem para a preservação. Assim, foram desenvolvidos estudos sobre a influência da fenologia, estágio de crescimento ou de florescimento e a forma de realocação (realocação no solo da floresta ou fixação nos troncos e galhos das árvores). Neste trabalho foram utilizadas bromélias da espécie *Wittrockia cyathiformis* (Vell.) Leme. As plantas foram resgatadas de trechos de florestas suprimidas e experimento foi implantado no Parque Estadual da Cantareira. O delineamento experimental utilizado foi o de inteiramente casualizado, em fatorial 1 x 2 x 2 (tempo x fenologia x posição de realocação) com parcelas compostas de 6 plantas. As variáveis avaliadas foram a porcentagem de sobrevivência, número de folhas e emissão de brotações laterais durante um período aproximado de um ano. Os resultados mostraram que de 196 a 381 dias após a realocação na floresta não houve diferença significativa em relação ao número de folhas e da mesma forma essa mesma variável não mostrou diferença significativa entre as formas de realocação. Quando se trata da condição fenológica, os resultados mostraram maior número de folhas em plantas floridas (13,33 folhas) do que nas plantas em crescimento vegetativo (8,38 folhas). Quanto à sobrevivência os dados mostraram que variaram significativamente dos 100% a 60%, com tendência de diminuir. A análise mostra, ainda, que as plantas epífitas apresentaram significativamente maior valor com 83,81% de sobrevivência, enquanto as terrícolas apresentaram 76,19%, mostrando melhor performance aquelas alocadas em troncos e galhos. Recomenda-se a fixação, de exemplares de *W. cyathiformis* em troncos e forquilhas para um melhor sucesso na atividade de realocação desta espécie.

**Palavras-Chave:** epífitas, licenciamento, resgate, realocação.

**Órgão financiador:** Dersa.

# O gênero *Trichaptum* (Agaricomycetes, Basidiomycota) na Mata Atlântica do Estado de São Paulo, Brasil

**Leticia dos Santos Dantas Lima**<sup>(1)</sup>, Adriana de Mello Gugliotta<sup>(1)</sup>, Ricardo Matheus Pires<sup>(1)</sup> & Viviana Motato-Vásquez<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP  
E-mail para contato: leticia.lima.1001@gmail.com

O gênero *Trichaptum* Murrill (Polyporales) é caracterizado pelos basidiomas anuais a perenes, ressupinados a pileados, de himenóforo variável, podendo ser irpicoide, dedaloide ou com poros, sistema hifal dimítico a trimítico, basidiósporos cilíndricos a elipsoides e cystídios abundantes projetando-se no himênio. Amplamente distribuído na região tropical e abundante na Mata Atlântica brasileira, desenvolve um papel ecológico importante como decompositor de madeira além de participar na manutenção dos ecossistemas terrestres. Este projeto buscou compreender as características morfológicas que definem o gênero e suas espécies através da revisão de materiais depositados no Herbário SP e coletas complementares recentes, as quais serão utilizadas futuramente em análises filogenéticas. Durante primeiro semestre de 2017 foram estudados espécimes de *Trichaptum biforme*, *T. perrottetii*, *T. sector* e *T. trichomallus* (= *T. perrottetii*) do Herbário SP, além de dois espécimes de *T. byssogenum* coletados no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga. Também foram previamente citadas para o estado *T. abietinum* e *T. fumosoavellaneum*, não localizados no herbário ou coletados no período de execução do projeto. Para o estudo das microestruturas, foram realizados cortes a mão livre, hidratados com KOH e corados em Floxina 5%, e, com Melzer foi verificada reação dextrinoide ou amiloide. Descrições detalhadas das espécies foram elaboradas, confrontando-se os dados obtidos com as descrições já existentes em literatura. Dentre as características importantes na delimitação das espécies destacam-se, macroscopicamente, o tamanho e forma dos poros e a pilosidade da superfície abhimenial, e microscopicamente, a forma dos basidiósporos e cystídios, além do tipo e densidade de sistema hifal. Até o presente momento, estas características foram bem delimitadas, mas estudos aprofundados com análise molecular e de materiais definidos como “tipo” foram iniciados para complementar o estudo, pois muitos destes caracteres obtidos se repetem ou não possuem diferenciação considerável a nível de espécie.

**Palavras-Chave:** Basidiomycota, diversidade, Neotrópico, Polyporales, taxonomia

**Órgão financiador:** PIBIC-CNPq, FAPESP

## **Efeito do tamanho da planta e da adubação no sucesso na realocação de *Rhipsalis teres* (Vell.) Steud e *Rhipsalis puniceodiscus* G. Lindb. no Parque Estadual da Cantareira, São Paulo, SP**

Catarina Carvalho Niévola <sup>(1)</sup>, **Janaina Pinheiro Costa** <sup>(2)</sup>, Marina Crestana Guardia <sup>(3)</sup>, Nelson Augusto dos Santos Junior <sup>(3)</sup>, Rogério Mamoru Suzuki <sup>(4)</sup>, Shoey Kanashiro <sup>(1)</sup>, Vivian Tamaki<sup>(3)</sup>, Waldyr Baptista <sup>(3)</sup> & Yoshito Shidomi <sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Centro de Pesquisa Jardim Botânico e Reservas, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(4)</sup> Núcleo de Pesquisa – Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [njunior@ibot.sp.gov.br](mailto:njunior@ibot.sp.gov.br)

Grandes obras rodoviárias geralmente causam considerável impacto ambiental e, por conta disso, no processo de licenciamento, diversas são as medidas mitigadoras e compensatórias. Especificamente sobre a obra do Rodoanel Trecho Norte, entre os condicionantes por parte dos órgãos licenciadores, foi recomendada a parceria com o Instituto de Botânica, por meio da qual foram desenvolvidas diversas pesquisas, entre elas sobre a realocação de plantas oriundas dos remanescentes florestais suprimidos. Neste sentido, no presente trabalho foi estudado o efeito do porte das plantas e da adubação como forma de viabilizar a realocação de *Rhipsalis teres* e *Rhipsalis puniceodiscus*. Para tanto, foram utilizadas 32 plantas de cada espécie, resgatadas de remanescentes suprimidos localizados próximo à Rodovia Fernão Dias e mantidas em viveiro por cerca de 6 meses. As plantas foram divididas em duas classes de tamanho: *R. teres* - de 30 a 200, e 230 a 2480g; *R. puniceodiscus* – de 35 a 100, e 120 a 270g. Cada classe foi subdividida em grupo adubado ou não, o que constituiu um fatorial 2 x 2 (porte x adubação), com 8 plantas por tratamento. A adubação, realizada quinzenalmente e previamente à realocação, constou da borrifação do fertilizante foliar NPK (10-52-10) na concentração de 1g.L<sup>-1</sup>. Estas plantas foram realocadas no Parque Estadual da Cantareira/ Núcleo do Engordador em novembro de 2015 e avaliadas quanto à sobrevivência, enraizamento, formação de brotos e comprimento do ramo maior, mensalmente pelo período de 1 ano. *R. teres* apresentou maior sobrevivência (45%) quando comparada à *R. puniceodiscus* (11,2%). O porte maior das plantas demonstrouse importante fator na sobrevivência de *R. teres*, com valores cerca de 25% maiores que aqueles observados para de menor porte. Não foi verificado efeito da adubação, tanto neste parâmetro quanto no desenvolvimento inicial. Já para *R. puniceodiscus*, o porte da planta parece não influenciar na sobrevivência e, em contrapartida, a adubação demonstrou-se prejudicial à sobrevivência da espécie. Os dados obtidos permitiram verificar a viabilidade no processo de realocação de ambas as espécies, desde que respeitadas as particularidades e exigências de cada uma.

**Palavras-Chave:** epífitas vasculares, medidas compensatórias no licenciamento, flora resgatada, adubação.

**Órgão financiador:** Dersa.

## **Palinologia da turfeira do Rio Preto, Minas Gerais: Reconstituição paleoambiental da Transição Pleistoceno Superior/Holoceno Recente – Resultados preliminares**

Camila Rodrigues Costa<sup>(1)</sup>, **Cynthia Fernandes Pinto da Luz**<sup>(2)</sup>, Carlos Victor Mendonça Filho<sup>(1)</sup>, Ingrid Horák-Terra<sup>(1)</sup>, Uidemar Morais Barra<sup>(1)</sup>, Aparecido de Penafort Abreu Filho<sup>(1)</sup> & Alexandre Christófaros Silva<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais  
& <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo. E-mail para contato: [camilarodc@yahoo.com.br](mailto:camilarodc@yahoo.com.br)

Turfeiras são ecossistemas transicionais entre os sistemas terrestres e aquáticos, e devido à lenta decomposição, a matéria orgânica se acumula sequencialmente, o que faz destes ambientes, excelentes arquivos de mudanças paleoambientais. O objetivo desse trabalho foi reconstituir a cobertura vegetal durante a transição Pleistoceno Superior e Holoceno Recente, a partir da Turfeira do Rio Preto (18°14'5.25"S; 43°19'7.24"O) situada a 1.593 metros de altitude, Parque Estadual do Rio Preto, na Serra do Espinhaço Meridional, Minas Gerais. Para a reconstituição da vegetação o sedimento turfoso foi submetido ao procedimento físico-químico usual em Palinologia do Quaternário. As datações radiocarbônicas foram realizadas por espectrometria de cintilação líquida de baixa radiação de fundo. Na profundidade de 342 - 343 cm, foi determinada uma idade radiocarbônica entre 14.809 – 15.202 anos cal AP, abrangendo o final do Pleistoceno Superior, sendo caracterizada por uma maior riqueza esporo/polinica, com o predomínio de espécies de hábito arbóreo e arbustivo, sendo as mais representativas *Eremanthus*, típica do Bioma Cerrado, e *Gaylussacia*, típica de fisionomias de Campo Rupestre, turfeiras e brejos. Dentre as herbáceas, *Xyris* e *Baccharis* predominaram, corroborando a presença das formações campestres (Campo Rupestre e Campo Cerrado). Foi registrado, ainda que em quantidade baixa, taxa de Floresta Montana (*Drymis* e *Weinmannia*), característicos de clima frio. Na profundidade de 169-170 cm, entre 11.108 – 11.224 anos cal AP, na transição Pleistoceno/Holoceno, foi encontrado em abundância pólen de *Vernonia*, gênero de hábito variado, podendo ocorrer desde ambientes mais úmido até os mais secos. Foi observado também, grande número de algas e plantas aquáticas, típicas de turfeira, evidenciando maior umidade no ambiente. Observou-se ainda, a presença do pólen de *Podocarpus* uma conífera tropical indicando uma provável mudança de um clima mais frio e seco durante o Pleistoceno Superior, para um mais quente e úmido na transição Pleistoceno Superior e Holoceno Recente. As análises palinológicas permitiram verificar a sucessão da vegetação na turfeira do Rio Preto, que estão em consonância com estudos desenvolvidos em outras regiões de Minas Gerais.

**Palavras-chave:** Clima pretérito, Grãos de pólen, Parque Estadual do Rio Preto, Palinologia do Quaternário, Serra do Espinhaço Meridional.

**Órgãos financiadores:** FAPEMIG, CAPES, CNPq.

## **Bromélia imperial produzida em cultivo pode se assemelhar à do ambiente natural?**

**Adriana Maria Vieira Jorge**<sup>(1)</sup>, Luciana Mollo<sup>(1)</sup> & Catarina Carvalho Nievola<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais – Centro de Pesquisa em Ecologia e Fisiologia – Instituto de Botânica – São Paulo/SP. E-mail para contato: [adriana.vieira.jorge@gmail.com](mailto:adriana.vieira.jorge@gmail.com)

Devido ao elevado valor ornamental, muitas espécies de bromélias são retiradas do ambiente natural e disponibilizadas no comércio, como é o caso da bromélia imperial *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms. Medidas de conservação como a produção de mudas para abastecimento do mercado de ornamentais podem diminuir a procura por espécies do ambiente natural, além de poderem ser utilizadas em programas de restauração ecológica. Contudo, é importante que se avalie se as plantas produzidas em cultivo mantêm as características dos exemplares presentes no ambiente natural, o que pode ser indicado por análises bioquímicas como determinação de compostos nitrogenados, açúcares e ácidos orgânicos que são indicadores fisiológicos de crescimento. O objetivo deste trabalho foi comparar plantas coletadas na Serra dos Órgãos (RJ) à outras produzidas por meio da germinação de sementes em dois tipos de cultivo: substrato casca de *Pinus* e *in vitro*. Estas últimas foram avaliadas quando atingiram 10,2 cm de altura, para serem comparadas àquelas coletadas na Serra dos Órgãos (n=10). Os lotes das plantas cultivadas em laboratório foram mantidos em câmara de crescimento ajustada para 27 °C/17 °C, fotoperíodo 11 horas (semelhante ao ambiente natural no momento da coleta das plantas do RJ). As análises foram feitas em triplicatas. Verificou-se que as plantas do ambiente natural mostraram 3x mais nitrato e 2x mais amônio em relação às plantas cultivadas. Porém, as plantas da Serra dos Órgãos se assemelharam àquelas mantidas *in vitro* em relação ao malato, citrato, glicose e sacarose. Os resultados indicam que as diferenças observadas podem ter sido devidas ao fornecimento de nitrogênio empregado nos cultivos em relação ao disponibilizado no ambiente natural na ocasião da coleta das plantas. Contudo, os resultados mostram que plantas produzidas em cultivo se assemelham aquelas oriundas do ambiente natural, favorecendo o interesse pelo mercado de ornamentais e em programas de repovoamento.

**Palavras-Chave:** Afloramentos rochosos, Bromeliaceae, Serra dos Órgãos, *in vitro*, nitrogênio.

**Órgão financiador:** CNPq.

## Morfologia polínica de espécies de Rubiaceae do estado do Paraná aplicada em estudos paleoecológicos

Carin Stanski<sup>(1)</sup>, Yoshiko Saito Kuniyoshi<sup>(1)</sup> & Cynthia Fernandes Pinto da Luz<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-graduação em Engenharia Florestal - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR & <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Palinologia- Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: carin.stansk@gmail.com

Os grãos de pólen de Rubiaceae são encontrados com frequência em amostras sedimentares quaternárias, cuja similaridade entre *Borreria*, *Emmeorhiza*, *Galianthe* e *Galium* e *Psychotria* e *Palicourea* dificultam as identificações polínicas, reforçando a importância de estudos morfopolínicos que contribuam para a correta identificação desses táxons. Com esse intuito, foram estudados nove espécies distribuídas em *Borreria*, *Emmeorhiza*, *Galianthe* e *Galium* e 14 em *Palicourea* e *Psychotria* (ambos heterostílicos), ocorrentes nas formações vegetacionais do Paraná. O material polínico foi acetolisado, mensurado, descrito e fotografado em microscopia óptica e eletrônica de varredura. Verificou-se que os grãos de pólen das espécies de *Borreria*, *Emmeorhiza*, *Galianthe* e *Galium* são isopolares, pequenos a grandes, suboblatos, oblatos-esferoidais ou prolato-esferoidais, 5-6-7-8-9-10-zonocolporados, com endoaberturas lalongadas (*Borreria poaya* e *Emmeorhiza umbellata*) ou zonocolpados (*B. verticillata*). Em *Galianthe chodatiana*, *G. cymosa* e *G. verbenoides* as endoaberturas são endocinguladas com orifício oblongo provido de costa na intersecção da endoabertura com o colpo. Em *Galium equisetoides*, *G. hypocarpium* e *G. megapotamicum* os grãos de pólen são 4-5-6-7-8-colpoidados, sem endoabertura. A sexina é granulada-perfurada em *Borreria*, microrreticulada em *Emmeorhiza*, microrreticulada a reticulada heterobrocada em *Galianthe* e espiculada-perfurada em *Galium*. Os grãos de pólen de *Psychotria* e *Palicourea* são apolares, inaperturados, esferoidais, médios a muito grandes, com sexina microrreticulada a reticulada, com exceção de *Psychotria cartagenensis* e *Psychotria fractistipula* que são isopolares, 3-4-colpados, suboblatos a subprolatos, com sexina microrreticulada a reticulada. Apesar das semelhanças dos grupos de gêneros estudados, os resultados caracterizaram Rubiaceae como euripolínica, permitindo a identificação dos grãos de pólen depositados em sedimentos atuais e quaternários o que pode auxiliar nas reconstituições paleoambientais.

**Palavras-Chave:** Grãos de pólen, Palinotaxonomia, Quaternário.

**Órgão financiador:** Capes.

## ***Bidens segetum* Mart. ex Colla: Identificação de flavonoides no extrato etanólico de folhas com potencial antioxidante**

**Simone Dias Franco** <sup>(1)</sup> & Dra. Luce Maria Brandão Torres <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Fisiologia e Bioquímica Vegetal, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [si.simonefranco@gmail.com](mailto:si.simonefranco@gmail.com)

*Bidens segetum* (Asteraceae) é uma planta herbácea de Cerrado (Brasil) rica em poliacetilenos, flavonoides e terpenoides, com funções específicas de defesa da planta contra herbivoria e nas interações com o meio ambiente. Os flavonoides atuam como antioxidantes e protetores da luz ultravioleta. O objetivo do trabalho foi identificar no extrato de folhas (185 g) de *B. segetum*, cultivada no Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica – IBt/SP, coleta - set/2015, flavonoides com potencial antioxidante. Folhas frescas selecionadas e liofilizadas foram maceradas a frio com etanol 93° obtendo-se o extrato etanólico (EEtOH, 13,22%). O fracionamento em coluna cromatográfica flash do EEtOH (Silica 200-500 µm, Merck) com hexano (H), acetato de etila (AcEt), metanol (MeOH) e água (H<sub>2</sub>O) forneceu 6 frações: FH, 2,02 g; FH+FAcEt (1,34 g); FAcEt (1,22 g); FAcEt+FMeOH (3,42 g); FMeOH, (2,31 g) e FAcEt+MeOH+H<sub>2</sub>O (0,24 g). O fracionamento de FMeOH em cromatografia líquida de exclusão (Sephadex LH-20, Pharmacia) e FAcEt (30 mg) em cromatografia preparativa (PF<sub>254</sub> Merck, clorofórmio: metanol 8:2) forneceram respectivamente 32 subfrações (M1-M32), e 9 subfrações (PP1–PP9). O monitoramento desses fracionamentos em cromatografia em camada delgada (F<sub>254</sub> Merck, n-butanol: ácido acético: água, 1:4:5) e revelador NP-PEG detectou-se os flavonoides em FAcEt, FAcEt+FMeOH e FMeOH e nas subfrações M9 a M22. A atividade sequestradora de radical livre DPPH que indica o potencial antioxidante foi detectada em FMeOH nos Rf 0,47; 0,64; 0,70; FAcEt+MeOH 0,47; 0,64; 0,70; FAcEt Rf 0,64; 0,70 e nas subfrações (M3 a M22). A quantificação em microplaca da atividade de sequestro do radical livre DPPH (%), em relação ao padrão quercetina das subfrações (PP5-PP8) nas concentrações de 25 µl, 50 µl, 100 µl mostrou que a subfração PP7 foi a mais eficiente no sequestro do DPPH. *Bidens segetum* é rica em compostos bioativos, destacando-se neste trabalho o forte potencial antioxidante dos flavonoides presentes nas folhas da espécie.

**Palavras-Chave:** produtos naturais, biodescoberta, potencial antioxidante, flavonoides.

**Órgão financiador:** PIBIC/ CNPq

## A influência da falta de água sobre a atividade da enzima nitrato redutase em duas espécies de *Kalanchoe*

**Antônio Azeredo Coutinho Neto**<sup>(1)</sup>, Dêvisson Luan Oliveira Dias<sup>(2)</sup>, Ayslan Trindade Lima<sup>(3)</sup>, Adler Santana de Medeiros<sup>(4)</sup> & Élen Roberta de Carvalho<sup>(5)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) - Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências – Departamento de Botânica, São Paulo, SP. <sup>(2)</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) - Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências – Departamento de Botânica, São Paulo, SP. <sup>(3)</sup> Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação – Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, SE. <sup>(4)</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN. <sup>(5)</sup> FATEC Capão Bonito, Capão Bonito, SP. E-mail para contato: antonioacneto@biologo.bio.br

Uma família botânica com diversas espécies que vivem em locais com disponibilidade intermitente de água é a família Crassulaceae. Dentre estas espécies podemos ressaltar as espécies do gênero *Kalanchoe* que são utilizadas na ornamentação e agrega valor nutracêutico. Objetivou-se avaliar a influência de diferentes fontes nitrogenadas inorgânicas sobre a atividade da enzima nitrato redutase (NR), quando as espécies *Kalanchoe tubiflora* e *Kalanchoe rotundifolia* foram submetidas a falta de água. Plantas jovens foram mantidas durante duas semanas em câmara de crescimento com 5 mM de nitrato ou 5 mM de amônio, acrescidas na solução de Knudson. Após o tempo de tratamento com nitrato ou amônio as plantas foram divididas em quatro tratamentos. Utilizou-se 5 plantas por tratamento, pré tratadas com nitrato ou amônio e mantidas em falta de água ou bem regadas. As plantas permaneceram nos tratamentos durante 15 dias e verificou-se a atividade da NR nas folhas, das 2 espécies. Os resultados demonstraram que as duas espécies previamente tratadas com  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NH}_4^+$ , quando submetidas a falta de água apresentam maior atividade da enzima NR, em comparação com as que não sofreram restrição de água. O aumento na atividade da NR redutase em plantas em déficit hídrico poderia ser uma forma para adquirir nitrogênio mesmo em uma condição que o veículo do nitrogênio está em falta. Ou ainda, uma maneira das plantas serem mais rápidas na metabolização das fontes de nitrogênio, quando volte o suprimento de água. Sugere-se que a atividade na presença de amônio que não é o substrato natural da enzima NR, seja devido ao aumento da síntese proteica ou uma quantidade endógena armazenada de nitrato. Também há possibilidade de uma isoforma da enzima NR, que poderia ser ativada quando as plantas são submetidas ao amônio. Conclui-se que uma condição de falta de água pode também influenciar o metabolismo nitrogenado. Mais estudos são necessários relacionando plantas tratadas com fontes nitrogenadas e a condição de falta de água.

**Palavras chave:** fontes nitrogenadas; déficit hídrico; atividade enzimática; *Kalanchoe*.

**Órgão financiador:** Bolsas concedidas através da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## **Ação dos fungos *Ganoderma* em sibipirunas utilizadas na arborização do Município de São Paulo**

**Luci Kimie Okino**<sup>(1)</sup>, Vera Maria Valle Vitali<sup>(1)</sup>, Ricardo Gomes de Freitas<sup>(2)</sup>, Sérgio Brazolin<sup>(2)</sup> & Adriana de Mello Gugliotta<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(2)</sup>Laboratório de Árvores, Madeiras e Móveis, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, SP. Email para contato: lucikimieokino@gmail.com

As árvores de sibipiruna (*Poincianella pluviosa* (DC.) L.P. Queiroz) são comuns na floresta urbana da cidade de São Paulo e, quando seu lenho é deteriorado por fungos basidiomicetos, correm o risco de queda. Os objetivos deste trabalho foram avaliar as alterações nas propriedades anatômicas do lenho promovidas pelo fungo *Ganoderma australe* (Fr.) Pat., e o comportamento lignocelulolítico desse fungo no cerne e no alburno. Três árvores adultas, com basidiomas e risco iminente de queda, foram utilizadas para a análise ao nível macroscópico e microscópico dos processos de biodeterioração do lenho. Dos basidiomas foram isoladas culturas e avaliadas suas atividades enzimáticas oxidativas (lacases, peroxidases, manganês peroxidases) e hidrolíticas (xilanases, exoglucanases e endoglucanases) em cultivos com serragem do cerne e do alburno, incubados por 28 dias. Foram, também, quantificadas as reduções nas porções de lignina solúveis e insolúveis. O apodrecimento do lenho ocorreu no cerne da sibipiruna, sendo mais intenso próximo à medula (lenho juvenil) e em maior extensão no colo da árvore, de onde foram coletados os basidiomas. Os fungos apresentaram degradação simultânea dos componentes da parede celular (celulose, hemicelulose e lignina), causando erosão da camada S<sub>2</sub>, a partir do lume da célula, fato confirmado pela predominância das atividades de lacases e xilanases. Nesse estudo observou-se o melhor desenvolvimento dos fungos na serragem do alburno por ser a porção mais rica em nutrientes e também mais suscetível à deterioração, devido ausência de extrativos. Entretanto, quando a colonização ocorre em árvore viva observa-se a formação de linhas de reação, um mecanismo de resistência da árvore, denominada como compartimentalização, destinado à proteger o alburno e garantir a sua sobrevivência. Após 28 dias de cultivo notou-se que não houve diminuição da lignina insolúvel, mas sim nos extraíveis e lignina solúvel. Os resultados analisados indicaram que árvores novas e sadias conseguem conter a colonização fúngica através dos seus mecanismos fisiológicos, contudo com o envelhecimento do hospedeiro, ocorre o aumento do apodrecimento do lenho, que proporcionará reduções significativas na resistência mecânica da árvore a esforços externos, como o vento.

**Palavras-chave:** florestas urbanas, lignina, risco de queda.

**Órgão financiador:** (FAPESP: processo 2014/02066-1).

## Palinotaxonomia de espécies de *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae R.Br.) do Rodoanel Mario Covas, São Paulo, Brasil

Jonathan Henrique da Silva<sup>(1)</sup>, Lia de Oliveira Barbuglio-Santiago<sup>(2)</sup>, Valéria Leobina dos Santos<sup>(2)</sup>, Mizue Kirizawa<sup>(3)</sup> & Cynthia Fernandes Pinto da Luz<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Anatomia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: jonathanhen@outlook.com

O gênero *Dioscorea* apresenta cerca de 141 espécies de ervas ou subarbustos, geralmente lianas, que ocorrem majoritariamente em regiões tropicais e subtropicais. As espécies de *Dioscorea* são subdivididas em 60 seções, grande parte com problemas taxonômicos devido às semelhanças morfológicas e à dificuldade em amostrar espécies trepadeiras, sobretudo as dioicas e, pelo fato de que, muitas vezes, as plantas com flores pistiladas e estaminadas foram descritas como sendo de espécies diferentes. Este trabalho objetivou analisar a morfologia polínica de nove espécies de *Dioscorea* [*D. altissima* Lam., *D. amaranthoides* C. Presl, *D. dodecaneura* Vell., *D. laxiflora* Mart. ex Griseb., *D. monadelpha* (Kunth) Griseb., *D. multiflora* Griseb., *D. olfersiana* Klotzsch ex Griseb., *D. tauriglossum* R. Knuth e *D. trilinguis* Griseb.], com base em 27 espécimes que crescem nos trechos Norte e Sul do Rodoanel Mario Covas (rodovia SP-21), para avaliar a aplicabilidade da morfologia polínica na taxonomia do grupo. Os grãos de pólen foram acetolisados, medidos em microscopia óptica, fotomicrografados e eletromicrografados. As mensurações foram submetidas aos tratamentos estatísticos. Os grãos de pólen são mônades, de tamanho pequeno a médio, heteropolares, *Amb* circular a elíptico, bi-convexos em vista equatorial, dissulcados, com sulcos longos, sem margem definida, sexina mais espessa que a nexina, muros simplescolumelados. A ornamentação da exina variou de psilado-perfurada [*D. altissima*], rugulado-perfurada [*D. monadelpha*], microrreticulada [*D. tauriglossum*] a estriada [*D. amaranthoides*, *D. laxiflora*, *D. olfersiana*, *D. trilinguis*]. Na PCA dos dados quantitativos e qualitativos as espécies se separaram, com os maiores grãos de pólen em *D. dodecaneura* e a maior espessura da exina em um espécime de *D. monadelfa*. Os menores tamanhos foram observados em *D. amaranthoides* e a menor espessura da exina em um espécime de *D. altissima*. Comprovou-se que o gênero *Dioscorea* é euripolínico, portanto, sugere-se que os detalhes palinológicos aqui apresentados sejam considerados na taxonomia do grupo.

**Palavras-Chave:** Dioscoreales, grãos de pólen, morfologia polínica, palinologia, Rodoanel Metropolitano de São Paulo.

# Diversidade de fungos lignícolas (Basidiomycota) de uma área em processo de restauração no município de Mogi-Guaçu, SP, Brasil

**Alex Almeida Alcântara<sup>(1)</sup>**, Eduardo Pereira Cabral Gomes<sup>(2)</sup>, Marcia Regina Ângelo<sup>(3)</sup> & Adriana de Mello Gugliotta<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP

<sup>(2)</sup>Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP

<sup>(3)</sup>CERAD, Instituto de Botânica, São Paulo, SP.

Email para contato: alex.ex100@gmail.com

Os fungos basidiomicetos lignícolas são conhecidos popularmente por orelhas-de-pau devido ao hábito do basidioma, podendo degradar os principais componentes da madeira, como hemicelulose, celulose e lignina. Em projetos de restauração ecológica, o monitoramento é essencial para certificar o sucesso do reflorestamento e fornece subsídios para verificar se as ações restauradoras alcançaram seus objetivos. Nesse contexto, a escolha de indicadores que forneçam boas informações é fundamental para o monitoramento. Tendo em vista a importância dos fungos na ciclagem dos nutrientes e na manutenção dos ecossistemas terrestres, o presente estudo pretende avaliar a diversidade desses fungos como parâmetro de monitoramento da restauração. As coletas foram realizadas bimestralmente durante um ano na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Parque Florestal São Marcelo (240 ha) em Mogi-Guaçu, formada a partir de um reflorestamento com espécies nativas em 2002. A coleta e preservação do material seguiu recomendações usuais para o grupo. Os espécimes foram identificados com base em análises morfológicas do basidioma. A diversidade da RPPN foi comparada, através do coeficiente de Jaccard, com áreas na Reserva Biológica de Mogi-Guaçu, onde duas áreas, com diferentes estados de preservação, foram estudadas quanto à diversidade de fungos. Foram coletados 224 espécimes, 41 identificadas, pertencentes às ordens Auriculariales (2), Gloeophyllales (1), Hymenochaetales (6), Polyporales (30) e Agaricales (2). As espécies mais comuns foram *Coriolopsis floccosa*, *Trametes villosa* e *Pycnoporus sanguineus* que são amplamente distribuídas no estado de São Paulo e também nas áreas. Apesar do índice de Jaccard ter mostrado baixa similaridade entre a RPPN e as áreas da Reserva Biológica, a similaridade foi maior com a área mais preservada (0,33) do que com a área menos preservada (0,24), revelando que a restauração está sendo eficiente e que a diversidade fungica local está se restabelecendo. Ainda foi encontrada uma espécie nova e duas novas ocorrências para o estado, ressaltando a importância da restauração na conservação da biodiversidade.

**Palavras-Chaves:** basidiomicetos, diversidade, monitoramento, reflorestamento

**Orgão financiador:** International Paper/Brasil, Instituto de Botânica, CNPq

## Levantamento florístico na zona de amortecimento do parque municipal Francisco Affonso de Mello, Mogi das Cruzes, SP

**Fernando dos Reis Barbosa**<sup>(1)</sup> & Renata Jimenez de Almeida Scabbia<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade de Mogi das Cruzes, Laboratório de Sistemática Vegetal (LSV), Mogi das Cruzes, SP. E-mail para contato fernandoreis\_bar@outlook.com

A Mata Atlântica apesar da perda expressiva de habitat abriga uma parcela da diversidade biológica brasileira, o que justifica a sua preservação e recuperação. A manutenção de fragmentos remanescentes é de extrema importância para preservação da biodiversidade. Em Mogi das Cruzes, na Serra do Itapeti, destacam-se estudos florísticos com briófitas, pteridófitas, flora fanerogâmica e a família Orchidaceae. Os objetivos deste trabalho foram: levantar as espécies herbáceas, arbustivas e arbóreas de áreas que ocorrem fragmentos florestais em diferentes estágios de sucessão, ao longo de uma estrada de 5km, na face sul da zona de amortecimento do Parque Municipal Francisco Affonso de Mello; auxiliando na elaboração de Políticas Públicas de Conservação e Restauração da Biodiversidade na Bacia Hidrográfica do Alto Tietê. Foram realizadas viagens semanais, durante quatro meses (outubro de 2016 até janeiro de 2017), utilizando-se o método do caminhamento, anotando-se a presença de espécies de fácil reconhecimento e coletando indivíduos em estado fértil. Foram identificadas 47 espécies distribuídas em 29 famílias. Das amostras coletadas foram identificadas espécies endêmicas da Mata Atlântica como palmito-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) paineira-rosa (*Ceiba speciosa* (A.St.-Hil.) Ravenna) e também alguns cafeeiros (*Coffea arabica* L.) o que mostra a presença de antigas práticas de monocultura no entorno do Parque. Espécies como *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, *Euterpe edulis* Mart., que são endêmicas e altamente vulneráveis acabam perdendo seus agentes de dispersão por conta das barreiras urbanas. Este levantamento florístico mostrou que espécies pioneiras indicadoras de regeneração ainda são abundantes, como a embaúba-vermelha (*Cecropia glasiiovii* Snethl.) e embaúba-prateada (*Cecropia hololeuca* Miq.). A construção de pequenos corredores ecológicos estratégicos ao longo da Zona de Amortecimento conectaria os fragmentos de mata atlântica que estão em grau médio de regeneração auxiliando na restauração da biodiversidade. A lista gerada auxiliará na escolha de espécies mais adequadas aos processos de restauração florestal.

**Palavras-chave:** biodiversidade, políticas-públicas, restauração.

**Órgão financiador:** Fundação de Apoio ao Ensino e Pesquisa de Mogi das Cruzes (FAEP).

## Regeneração *in vitro* de sementes de *Eugenia pyriformis*: ácido gálico e elágico em extratos por HPLC-DAD

Talita Silveira Amador<sup>(1)</sup>, Luce Maria Brandão Torres<sup>(2)</sup> & Claudio José Barbedo<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu-SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo-SP & <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo-SP. E-mail para contato: talitamador@hotmail.com

Sementes de espécies de *Eugenia*, após fracionamento apresentam potencial regenerativo formando novas raízes ou plântulas. Esse processo é regulado por metabolitos secundários que induzem ou inibem a germinação. O objetivo do trabalho foi identificar e quantificar esses metabolitos nos extratos das sementes de *E. pyriformis* (uvaia) no processo de regeneração realizado *in vitro*. Os frutos foram coletados em outubro/2011 (Campinas-SP, Brasil), despulpados e as sementes foram selecionadas e separadas. Coleções de sementes intactas, semi-fracionadas e fracionadas foram colocadas para germinar e amostras foram preparadas com material coletado em diferentes fases germinativas, ou seja, sem germinar; com raiz primária e com raiz primária e epicótilo. Dez extratos foram obtidos com as partes de cada uma (cotilédone, raiz e parte aérea). Os extratos brutos foram obtidos por maceração com etanol (EtOH, 70%), concentrados sob vácuo (50 °C) e liofilizados. Amostras de 10 mg dos extratos brutos foram solubilizados em metanol: H<sub>2</sub>O (1:1) e filtradas (PTFE, 0.45 mm). Os extratos foram limpos (cleanup) em cartucho SepPak (SPE, RP 18) e a eluição para obter as frações polares foi com MeOH: H<sub>2</sub>O (2:8) e as menos polares com MeOH (100%). Perfis cromatográficos foram obtidos por HPLC-DAD (PDA detector), Coluna C-18 e a eluição foi com gradiente linear de H<sub>2</sub>O + 0.1 % ácido fórmico (A) MeOH + 0.1 % ácido fórmico (B), detecção  $\lambda_{max} = 254\text{nm}$ , fluxo 1 mL/ min. vol. injeção 20 $\mu\text{L}$ , em 60 minutos. Os resultados mostraram que as frações polares eram ricas em ácido gálico e as menos polares em ácido elágico indicando que extratos de sementes germinantes são ricos em ácidos gálico e elágico e apresentam quantidades diferentes, conforme a parte analisada. Esses dois ácidos atuam sobre a  $\beta$ -galactosidase. Essa enzima atua no processo da germinação o que nos sugere serem os reguladores do processo de regeneração *in vitro* de *E. pyriformis*.

**Palavras-Chave:** Myrtaceae, capacidade regenerativa, produtos naturais, fitoquímica

**Órgão financiador:** CNPq

## As macroalgas marinhas e os contaminantes emergentes

**Angelica Nunes Garcia**<sup>(1)</sup>, Erika Mattos Stein<sup>(2)</sup>, Wilson Vieira Lopes Junior<sup>(1)</sup>, Mayara Resende de Souza<sup>(1)</sup>, Nair S. Yokoya<sup>(1)</sup>, Pio Colepicolo Neto<sup>(2)</sup> & Luciana Retz de Carvalho<sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto de Botânica, São Paulo – SP

<sup>(2)</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade de São Paulo – SP. E-mail para contato: [angelsgarcia@uol.com.br](mailto:angelsgarcia@uol.com.br)

O ambiente em que as macroalgas marinhas vivem recebe aporte de água das mais diversas origens. Nas últimas décadas, as análises dessas águas têm mostrado que, além da contaminação pelos poluentes tradicionais, há significativo crescimento dos contaminantes emergentes, cuja pesquisa e mensuração não estão incluídas na legislação atual. Entretanto, as algas possuem a capacidade de adsorver e acumular substâncias com as quais estejam em contato direto. Por esse motivo, nosso objetivo foi identificar possíveis contaminantes emergentes adsorvidos pelas macroalgas, das águas do mar. Para isso, selecionamos as espécies *Dichotomaria marginata* (J.Ellis & Solander) Lamarck (Rhodophyta, Nemaliales), coletada no litoral de Ubatuba, SP, *Colpomenia sinuosa* (Mertens ex Roth) Derbès & Solier (Ochrophyta, Ectocarpales) e *Dictyopteris delicatula* J.V.Lamouroux (Ochrophyta, Dictyotales), ambas coletadas no litoral do Espírito Santo, ES. As biomassas foram secas, moídas e submetidas à extração com hexano; dos extratos concentrados foram retiradas alíquotas que foram submetidas à cromatografia gasosa/espectrometria de massas (CG/EM). O extrato hexânico da *D. marginata* também foi fracionado por cromatografia em coluna aberta, tendo como fase estacionária gel de sílica e como fase móvel, diclorometano/metanol, em gradiente. As frações eluídas, após secagem, foram reunidas por semelhança de características físico-químicas. Uma das frações reunidas, a de maior quantidade, foi refracionada em coluna de gel de sílica, em condições idênticas à anterior. Tanto os extratos das três macroalgas quanto as subfrações resultantes de *D. marginata* foram analisadas por CG/EM. Estas análises permitiram, além da identificação de substâncias sintetizadas pela alga, como fitol, também a detecção dos seguintes contaminantes emergentes: ftalatos (plastificantes), salicilatos de 2-etilhexila e de homomentila (componentes de cosméticos e de fotoprotetores), éter metílico da pregnenolona e homomentilsalicilato (componentes de fármacos). Nossos estudos mostram que as macroalgas, por terem a capacidade de adsorverem contaminantes emergentes da água do mar, são indicadoras do nível de contaminação antrópica do ambiente.

**Palavras-Chave:** algas, poluentes emergentes, bioindicadoras, adsorção.

**Órgãos financiadores:** CAPES/AUXE-CIMAR 1991/2014; CNPq (310672/2016-3); PIBIC-CNPq

# Acompanhamento fenológico de espécies ameaçadas de extinção no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga - PEFI – São Paulo(2016-2017)

Sergio Moreno Biasoli<sup>(1)</sup> & Eduardo Pereira Cabral Gomes<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ecologia, São Paulo – SP.  
E-mail para contato: [smbiasoli@gmail.com](mailto:smbiasoli@gmail.com)

Em consonância a resolução SMA nº 32 de abril de 2014, que estabelece orientações, diretrizes e critérios sobre a restauração ecológica no Estado de São Paulo e providências correlatas, visando a preservação da Mata Atlântica, a presente pesquisa visa determinar os padrões fenológicos reprodutivos e vegetativos para espécies arbóreas ameaçadas, exigidas para a restauração ecológica. A partir da listagem de espécies arbóreas presentes em uma parcela permanente no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga em São Paulo, SP (PEFI), latitudes 23°38'08"S - 23°40'18"S e as longitudes 46°36'48"W - 46°38'00"W, zona sudeste do município de São Paulo foram selecionadas oito espécies ameaçadas *Duguetia salicifolia*, *Euterpe edulis*, *Sloanea obtusifolia*, *Inga sellowiana*, *Ocotea catarinensis*, *Odorifera*, *Trichilia emarginata*, *T. silvatica*, *Brosimum glaziovii*, *Virola bicuhyba*, *Eugenia pruinosa*, e *Podocarpus sellowii*. A categoria das espécies ameaçadas foi obtida das seguintes publicações: Lista das espécies ameaçadas do Estado de São Paulo de 2016, o Livro Vermelho das espécies Brasileiras e a Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN. As fenofases brotamento de folhas, frutificação, floração e queda foliar, vem sendo quinzenalmente acompanhadas desde de outubro de 2016. Para o conjunto das espécies foi verificado que o brotamento apresentou diminuição no mês de maio, mantendo-se aproximadamente constante nos demais meses. Os picos de floração, frutificação e queda foliar foram, respectivamente, nos meses de dezembro, janeiro/fevereiro e março. Foi feita correlação climática (temperatura, precipitação, vento) no período. Consta aqui salientar que para a definição de padrões será necessário um período de observação mais longa.

**Palavras-Chave:** restauração, Mata atlântica, floresta urbana, dinâmica florestal, espécies raras.

## Summer Course in Mycology: an extension project in biology of fungi and zoosporic organisms

Ricardo Matheus Pires<sup>(1)</sup>, Ana Lucia de Jesus<sup>(1)</sup>, Viviana Motato-Vásquez<sup>(1)</sup>, Marcela Castilho Boro<sup>(1)</sup>, Alex A. Alcântara<sup>1</sup>, Danilo Reis Gonçalves<sup>(1)</sup>, Flávia Ribeiro Santos<sup>(1)</sup>, Gustavo Henrique Jerônimo<sup>(1)</sup>, Larissa Bernardino Moro<sup>(1)</sup>, Letícia S. Lima<sup>(1)</sup>, Luiz Antônio S. Ramos<sup>(1)</sup> & Sarah Cristina Oliveira Rocha<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Micologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. Eletronic mail: [sals.bio@gmail.com](mailto:sals.bio@gmail.com)

Considering the role of scientists in the academic area, extension activities play a fundamental tool of transformation, acquisition and knowledge exchange between academy and society. In Brazil, extension courses in the area of mycology are little explored or almost nonexistent, which exacerbates the lack of knowledge about the biology of fungi and zoosporic organisms, especially in undergraduate courses where the study of these organisms is not effectively contemplated in the curricular grade. In order to share knowledge in mycology, an extension course was developed for undergraduate students of biological sciences and related areas, with the aim of covering areas of taxonomy, ecology, systematic and biotechnology of fungi and zoosporic organisms. The postgraduate students (Masters and PhD) of the “Núcleo de Pesquisa em Micologia” from Instituto de Botânica de São Paulo organized the course. Divulgation was made by electronic means, such as social networks and website. In two editions of the course (January, 2016 and 2017), there were 161 inscribed students, of which 40 students were selected from 13 Brazilian states and one Paraguayan state. The students participated in activities such as field expeditions in the Brazilian Atlantic Rainforest, practical and theoretical classes, and guided tours to the herbarium SP and the Culture Collection CCIBt (“Coleção de Culturas de Algas, Cianobactérias e Fungos do Instituto de Botânica”). In addition, these activities provided a space for the graduate students could practice teaching, getting involved in the organization, preparation and execution of classes, lectures and laboratory activities. The course contributed in the academic formation of the participants, with the complementation of the knowledge and stimulated the discussion and exchange of experiences and ideas.

**Keywords:** Fungi, Graduate students, Neotropical Mycology, Undergraduate students

**Financial support:** The Rufford Foundation, Instituto de Botânica

# Sucessão Ecológica em Fragmento de Mata Atlântica em São Paulo, Brasil

Vilmar Guerra<sup>(1)</sup> & Eduardo Pereira Cabral Gomes<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Centro de Pesquisa em Ecologia e Fisiologia - Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [vilmarguerra@prof.educacao.sp.gov.br](mailto:vilmarguerra@prof.educacao.sp.gov.br)

O processo de fragmentação florestal causa inúmeros prejuízos aos sistemas naturais, sendo o de maior importância a perda da biodiversidade. No Estado de São Paulo, a área de vegetação remanescente representa 13,94% (3.457.301 ha) de toda a área do Estado, sendo 5,75% (1.427.678 ha) correspondente aos fragmentos de matas estruturalmente complexas. A cidade de São Paulo é a maior e mais complexa mancha urbana da América Latina e, assim como a maioria das grandes cidades do mundo, sofre com os problemas advindos da grande emissão de poluentes na atmosfera e do excesso de edificações. Dentro destes remanescentes está o fragmento vegetal de Mata Atlântica situado no Instituto Butantan, antiga Fazenda Butantã, adquirida pelo governo do Estado no princípio do Século XX. Com aproximadamente 60 ha, apresenta cerca de 40 ha de floresta secundária, em parte sob eucaliptos. Foram estabelecidas transecções em duas áreas: Eucaliptais e Remanescentes. Instalou-se 20 transecções de 2 x 50 m, 10 nos Eucaliptais e 10 em Remanescentes. Foram amostrados indivíduos com altura  $\geq$  a 1,30 m e DAP  $\geq$  2,5 cm. As coletas se deram com o auxílio de poda manual e identificados com o auxílio de materiais depositados em herbários, além de consulta a especialistas. Espécies identificadas: Cafezeiro (*Coffea arabica* L.), Palmeira (*Archontophoenix cunninghamiana* H.Wendl & Drude), e Eucalipto (*Eucaliptus* sp.). Análises quantitativas: Densidade e Área Basal. Área Basal total de 71 m<sup>2</sup>/ha, 40 m<sup>2</sup>/ha para Eucaliptal e 31 m<sup>2</sup>/ha em Remanescentes. Os valores encontrados mostram que Eucalipto apresenta Área Basal maior em relação as espécies de Cafezeiro e Palmeira. Área Basal de Cafezeiro e Palmeira apresentam valor maior para as Palmeiras quanto ao Cafezeiro. As duas espécies mais abundantes foram *C. arabica* (18%) e palmeira *A. cunninghamiana* com 13%, ambas exóticas. Conclui-se que 46% dos indivíduos ocupam 87% da Área Basal.

**Palavras-chave:** Fragmentação, Biodiversidade, Sucessão, Perturbações.

## **Realocação da bromélia epífita *Vriesea gigantea* Gaudich resgatada durante a supressão da vegetação para a construção do Rodoanel Trecho Norte**

Catarina Carvalho Niévola <sup>(1)</sup>, **Janaina Pinheiro Costa** <sup>(2)</sup>, Marina Crestana Guardia <sup>(3)</sup>, Nelson Augusto dos Santos Junior <sup>(3)</sup>, Rogério Mamoru Suzuki <sup>(4)</sup>, Shoey Kanashiro <sup>(1)</sup>, Vivian Tamaki <sup>(1)</sup>, Waldyr Baptista <sup>(3)</sup> & Yoshito Shidomi <sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Centro de Pesquisa Jardim Botânico e Reservas, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa em Sementes, Instituto de Botânica, São Paulo, SP & <sup>(4)</sup> Núcleo de Pesquisa – Orquidário do Estado, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: ccnievola@uol.com.br

O resgate, e posterior realocação de plantas provenientes do desmatamento para construção de obras viárias, é um importante método para conservação de germoplasma e preservação da vegetação nativa. A realocação de epífitas de grande porte como a bromélia *Vriesea gigantea* Gaudich é bastante dificultosa devido ao tamanho e hábito epifítico que ocupam na natureza, em geral encontradas no dossel. O objetivo deste trabalho foi avaliar a realocação de *V. gigantea* em diferentes alturas, fixadas ou não diretamente à arbóreas, afim de facilitar a realocação dessa espécie. As plantas utilizadas foram resgatadas da supressão da vegetação para construção do trecho norte do rodoanel Mário Covas (Lote 1, Brasilândia, SP) e mantidas em viveiro por 6 meses. Foram então separadas em 2 classes (30 plantas cada), conforme o tamanho do diâmetro da roseta (1 a 74 e 75 a 150 cm), sendo cada uma referente à realocação em 2 alturas (0,5 a 1,0 e 2,0 a 2,5 metros do solo), constituindo um fatorial 2x2 (porte x altura). Foram realocadas em área do Parque Estadual da Cantareira (Núcleo Pedra Grande) e observadas por 12 meses quanto à porcentagem de sobrevivência e desenvolvimento de brotos ou inflorescências, indicadores de adaptação à realocação. Os resultados apontaram pouco sucesso da realocação dessa espécie para esse método pois menos de 10% sobreviveu no total (5,83% das grandes realocadas na maior altura, 2,5% das maiores realocadas na menor altura; 0,83% das pequenas realocadas na maior altura), não houve sobreviventes entre as pequenas realocadas na menor altura. Não foram observadas inflorescências, que poderiam contribuir para a dispersão de sementes e tampouco, o surgimento de brotos após a morte da planta mãe, comum em bromélias. Esses resultados mostram que outros fatores devem ser considerados na tentativa de realocar essa espécie de modo a obter-se sucesso na ação de conservação.

**Palavras-Chave:** medidas compensatórias, licenciamento, flora resgatada, conservação.

**Órgão financiador:** Dersa (Desenvolvimento Rodoviário S.A.).

## Plantas utilizadas por benzedeiros e rezadeiras de Mogi das Cruzes, SP

Sergio Zanata Carvalho<sup>(1)</sup>, Luci Mendes de Melo Bonini<sup>(2)</sup> & Renata Jimenez de Almeida Scabbia<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Ciências Ambientais da Universidade de Mogi das Cruzes, São Paulo, SP  
& <sup>(2)</sup> Núcleo de Ciências Sociais Aplicada da Universidade de Mogi das Cruzes, São Paulo, SP. E-mail para contato: sergiozanata20@gmail.com

As benzedeiros e rezadeiras utilizam vegetais e em alguns casos rezas e orações para a cura e proteção. Nas décadas de 50 a 70 ocorreu o combate contra essas práticas, que eram consideradas ilícitas, tendo como foco benzedeiros e outros grupos que curavam ou medicavam através da medicina popular, dessa forma diminuindo a procura e conseqüentemente o conhecimento sobre as plantas e sua utilização por esses grupos. Para o resgate desse conhecimento, o objetivo deste trabalho foi levantar o conhecimento sobre as plantas utilizadas com seus métodos e funções. Foram realizadas entrevistas semi estruturadas, com aplicação de questionários em maiores de 18 anos. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética sob o nº 1.602.959. Foram realizadas sete entrevistadas, quatro rezadeiras e três benzedeiros. O tempo de ofício de cada participante variou e foi dividido de um a nove anos, com 57% dos participantes, de 10 a 20 anos, com 29%, e com mais de 20 anos de prática, 14%. As famílias mais citadas foram Asteraceae (*Mikania* sp – guaco e *Vernonia* sp – assa-peixe), Lamiaceae (*Mentha* sp – hortelã e poejo) e Moraceae (*Ficus* sp – figueira e *Morus nigra* L. – amoreira). Observou-se que as funções indicadas pelas rezadeiras e benzedeiros também são utilizadas em outras regiões do país, além de apresentarem também diferentes espécies e métodos não encontrados na pesquisa efetuada. Esta pesquisa foi importante devido ao resgate cultural de informações que tendem a ser perder ao longo do tempo.

**Palavras-Chave:** Etnobotânica, Alto Tietê, plantas medicinais.

## **Análise quantitativa e qualitativa dos carboidratos estruturais e não estruturais da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**

**Bianca Barna Fernandes**<sup>(1)</sup>, Aline Salla Sá<sup>(1)</sup>, Gustavo Colucci Oliveira<sup>(1)</sup>, Aline Andréia Cavalari Corete<sup>(1)</sup>, Marcos Silveira Buckeridge<sup>(2)</sup> & Luciana Alves de Oliveira<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>UNIFESP, Diadema, SP, <sup>(2)</sup>USP, São Paulo, SP & <sup>(3)</sup>EMBRAPA, Cruz das Almas, BA  
E-mail para contato: bibi\_barna@hotmail.com

A mandioca é um arbusto da família das Euforbiáceas que tem como principal órgão de consumo alimentício suas raízes tuberosas, as quais possuem grande reserva de amido, sendo este componente seu mais importante carboidrato de reserva e disponibilidade energética. Não menos importante, sendo um dos focos desse presente trabalho, as fibras, componente presente na mandioca, vêm sendo vastamente exploradas em estudos de alimentos funcionais. Assim, este projeto tem como objetivo analisar quantitativamente e qualitativamente os polissacarídeos estruturais e não estruturais de três variedades comerciais com baixo tempo de cocção e três híbridos com alto tempo de cocção. Foram utilizadas técnicas colorimétricas e cromatografia de alto desempenho (HPAEC/PAD) para os carboidratos não estruturais. A determinação dos carboidratos das fibras estruturais foi feita através de técnicas de fracionamento de parede celular. Nos resultados obtidos em relação aos carboidratos não estruturais, houve destaque das variedades comerciais quando comparadas aos híbridos, o mesmo se deu por apresentarem as maiores diferenças nas proporções dos açúcares de composição. Em relação aos carboidratos que constituem a parede celular, mesmo com a dificuldade de separação exata dos polissacarídeos, foi possível observar pouca variação das suas frações (pectina, hemicelulose, celulose e resíduo) entre os híbridos, mas as variedades comerciais diferem muito entre si. Em conclusão, compreender as características dos carboidratos que compõe as raízes de mandioca se torna muito importante para seleção, prospecção de novas variedades da cultura e cumprimento das exigências sensoriais e tecnológicas do consumidor (sabor, textura e cocção), pois os mesmos as interferem diretamente.

**Palavras-Chave:** mandioca, oligossacarídeos, parede celular, amido, carboidratos.

# Morfologia polínica de três populações de *Aechmea cylindrata* Lindm. (Bromeliaceae) do Sul e Sudeste do Brasil

**Karen Caroline Calçada dos Santos-Teixeira**<sup>(1)</sup>, Rebeca Politano Romanini<sup>(2)</sup>, Maria das Graças Lapa Wanderley<sup>(3)</sup> & Cynthia Fernandes Pinto da Luz<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Palinologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP & <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário-SP, Instituto de Botânica. E-mail para contato: karenline.santos@gmail.com

*Aechmea cylindrata* é endêmica da Mata Atlântica de São Paulo, Paraná e Santa Catarina. A espécie é representada por plantas epífitas ou terrícolas que apresentam variações foliares ligadas ao ambiente, e grande variação quanto ao tamanho e compressão da inflorescência. Este trabalho tem como objetivo analisar a morfologia polínica de três populações de *A. cylindrata*, considerando possíveis variações entre elas. Foram examinados oito espécimes, seis procedentes do Parque Estadual do Pico do Morumbi, Morretes-PR; um de Embu-Guaçu, São Paulo-SP; e o outro do Parque Estadual da Serra do Mar, Cunha-SP. Os grãos de pólen foram acetolisados (ACLAC), medidos em microscopia óptica e fotomicrografados. As medições foram tratadas estatisticamente. Os grãos de pólen são mônades, de tamanho médio (30,56 a 40,21 µm), simetria bilateral, subisopolares, âmbito elíptico (com alguns grãos de pólen esferoidais), contorno ligeiramente plano-convexo em vista equatorial, 2-porados. A exina variou de reticulada heterobrocada a predominantemente microrreticulada. Muros simples columelados estreitos e lumens arredondados a poligonais. Algumas vezes o retículo apresentou muros interrompidos. Sexina mais espessa que a nexina. Apesar da espécie ser estenopolínica, o espécime de Cunha-SP se destacou na PCA pelos maiores grãos de pólen e exina menos espessa, seguido pelo espécime de Embu-Guaçu-SP, enquanto que os de Morretes-PR exibiram maiores espessuras da exina e ampla variação nos tamanhos dos grãos de pólen, porém, sempre menores em tamanho que os das outras duas localidades. Com relação a ornamentação da exina, o espécime de Cunha-SP foi o único que apresentou grãos de pólen predominantemente microrreticulados. Dentre os reticulados, as maiores e menores malhas do retículo se deram em espécimes de Morretes-PR. Verificou-se, portanto, que variações nas dimensões polínicas e na ornamentação podem ocorrer de acordo com as populações e, por isso, devem ser melhor avaliadas. Sugere-se que os detalhes palinológicos aqui adquiridos sejam considerados na taxonomia do grupo.

**Palavras-Chave:** Bromélias, Grãos de pólen, Monocotiledôneas, Palinologia, Palinotaxonomia.

**Órgão financiador:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

## Type analysis of two *Achnantheidium* species (Bacillariophyta) and description of a new species in Brazilian reservoirs

Gisele C. Marquardt<sup>(1)</sup>, **Lívia F. Costa**<sup>(1)</sup>, Denise C. Bicudo<sup>(1)</sup>, Carlos E. de M. Bicudo<sup>(1)</sup>, Saúl Blanco<sup>(2)</sup>, Carlos E. Wetzel<sup>(3)</sup> & Luc Ector<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto de Botânica, Ecology Department, São Paulo, SP, Brazil, <sup>(2)</sup> University of León, Biodiversity and Environmental Management Department, León, Spain & <sup>(3)</sup> Luxembourg Institute of Science and Technology (LIST), Environmental Research and Innovation Department (ERIN), Belvaux, Luxembourg. E-mail para contato: giselecmarquardt@gmail.com

*Achnantheidium* Kützing comprises more than 200 taxa of monoraphid diatoms with many species having been described worldwide and more new species being regularly described. However, the genus has received relatively little attention in Brazil, where *A. minutissimum* (Kütz.) Czarn. and *A. catenatum* (Billy & Marvey) Lange-Bert. are among the most commonly recorded species. During a diatom survey in reservoirs of the São Paulo state, a commonly occurring *Achnantheidium* species morphologically ascribable to *A. catenatum* was found. Its morphological features were described based on light and scanning electron microscope observations, and it is described as a new species. Periphytic material was scrapped from stones during the summer and winter 2014, whereas surface sediment (2 cm) was collected using a gravity core during the winter. The new *Achnantheidium* was compared to the type material of *A. catenatum* and *A. minutissimum*, and geometric morphometric techniques were applied to evaluate any difference in shape among them. Comparisons with the most related species based in literature were also provided. Traditional weighted-averaging approaches (WA) were applied to model ecological optima. To test differences in the ecological optima with respect to the similar species *A. catenatum*, their ecological profiles against common limnological variables (pH, conductivity and total phosphorus) were compared using a weighted comparison of means. The new *Achnantheidium* species is characterized by a set of distinct morphological and ecological features that can well separate it from all other similar species. Morphometric analysis of valve shape also supported the taxa separation. This new species was found to occur in neutral waters with low electrolyte content. With the increasing use of diatoms as ecosystem health indicators, establishing the identity of at least the most common taxa shall improve the accuracy of ecological diagnostic tools relying heavily on the most inclusive taxonomic categories as the basic units expressing environmental change.

**Palavras-Chave:** Distribution, ecological optimum, geometric morphometry, new species, taxonomy

**Órgão financiador:** FAPESP

## Primeira ocorrência de *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans em um reservatório do Sudeste do Brasil

Andréa Sampaio Dias<sup>(1)</sup>; Andréa Tucci<sup>(1)</sup>; Gianmarco Silva David<sup>(2)</sup>; Clóvis Ferreira do Carmo<sup>(3)</sup>, Cacilda Thais Janson Mercante<sup>(3)</sup> & Reinaldo José da Silva<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup>Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo. Brasil. <sup>(2)</sup>Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, APTA Jaú. Brasil. <sup>(3)</sup>Instituto de Pesca de São Paulo, São Paulo. Brasil. <sup>(4)</sup>Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu. Brasil. Email para contato: andreas.dias@yahoo.com.br / atuccic@gmail.com

Espécies do gênero *Ceratium* são predominantemente marinhas, com poucos representantes de água doce, tipicamente registrados no hemisfério norte. *Ceratium furcoides*, tem sido considerada como espécie invasora. Esta espécie foi registrada pela primeira vez, no Brasil, em 2007 no reservatório de Furnas, Minas Gerais e relatos sobre a ocorrência desta espécie em ambientes lacustres brasileiros têm se tornado frequentes. Neste trabalho, registramos pela primeira vez a ocorrência de *Ceratium furcoides* no reservatório de Nova Avanhandava (21°07'01"S e 50°12'06"O), bacia hidrográfica do Baixo Tietê, Estado de São Paulo (Região Sudeste, Brasil). Trata-se de um reservatório classificado como oligotrófico/mesotrófico. As amostras de água para análise físicas, químicas e da comunidade fitoplanctônica foram coletadas a 1 m de profundidade e em três estações (P1, P2, P3), em março e outubro de 2015 e março e outubro de 2016. O primeiro registro da espécie ocorreu em outubro de 2015, na amostra da estação P3 e, no ano seguinte, verificou-se a dispersão da espécie para as outras estações de amostragens. Os valores de densidade registrados para *C. furcoides* foram de 28 org mL<sup>-1</sup> (biovolume 0,44 mm<sup>3</sup> L<sup>-1</sup>) em outubro de 2016. Valores de densidades semelhantes aos registrados neste estudo foram documentados em outros reservatórios oligotróficos (ex. Furnas - MG, Ilha Solteira - SP) e florações desta espécie foram registradas em reservatórios eutróficos (ex. Billings - SP). Assim, estudos sobre a dinâmica de *C. furcoides* e os potenciais impactos sobre as comunidades aquáticas são essenciais para entender as respostas desta espécie às condições ambientais.

**Palavras-chave:** bioinvasão, estratégias adaptativas, impactos.

**Órgão financiador:** Fapesp (2014/19860-2); CAPES

# A família Acanthaceae nos trechos norte e sul do Rodoanel Mário Covas

Ulisses Gonçalves Fernandes<sup>(1)</sup> & Cintia Kameyama<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [ulisses\\_gfernandes@hotmail.com](mailto:ulisses_gfernandes@hotmail.com)

O Rodoanel Mário Covas (SP-21) é um anel viário com aproximadamente 180 quilômetros de extensão que está sendo construído em torno do centro da Região Metropolitana de São Paulo. O Rodoanel tem como finalidade ordenar o tráfego de transposição da RMSP, separando os fluxos internos e aliviando o sobrecarregado sistema viário metropolitano, e interligar as principais rodovias que chegam à capital paulista. O Trecho sul do Rodoanel, com aproximadamente, 57 km de extensão, encontra-se inserido em área composta por Mata Atlântica. O Trecho Norte do Rodoanel, com aproximadamente, 44 km de extensão, encontra-se inserido em área composta por Mata Atlântica, campos naturais e fragmentos de Cerrado. Acanthaceae é uma família com cerca de 221 gêneros e 4000 espécies distribuídas pelos trópicos e subtropicais de todo o mundo. No Brasil ocorrem cerca de 40 gêneros e 450 espécies, a maioria ocorrentes nas formações florestais do Sudeste e Centro-Oeste, especialmente em florestas mesófilas. No Estado de São Paulo ocorrem 17 gêneros e cerca de 80 espécies. A família é representada por ervas, arbustos e lianas, raramente árvores, com folhas, geralmente, opostas, flores pentâmeras com cálice gamossépalo, corolas gamopétalas e zigomorfas, androceu oligostêmone e fruto, geralmente, cápsula loculicida com deiscência explosiva. Antes e durante a construção do trecho sul e norte do rodoanel foram feitos levantamentos florísticos com o intuito de caracterizar a vegetação existente na área diretamente afetada e indicar espécies para resgate e restauração. Nestes dois trechos estudados do Rodoanel foram encontradas 15 espécies de Acanthaceae: *Aphelandra longiflora*, *Clistax* cf. *brasiliensis*, *Dicliptera squarrosa*, *Herpetacanthus rubiginosus*, *Hygrophila costata*, *Justicia carnea*, *Justicia catharinensis*, *Mendoncia puberula*, *Mendoncia velloziana*, *Ruellia brevifolia*, *Ruellia elegans*, *Ruellia makoyana*, *Staurogyne eustachya*, *Staurogyne sylvatica* e *Thunbergia alata*.

**Palavras chave:** Acanthaceae, Rodoanel, Vegetação, São Paulo.

# Interação entre óxido nítrico e metabolismo de nitrogênio na arquitetura de raízes de *Arabidopsis thaliana* L.

Alessandra Harumi Urakawa<sup>(1)</sup> & Ione Salgado<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: harumi.kiedis@gmail.com

Os íons nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) são as principais fontes de nitrogênio (N) para as plantas e alteram a arquitetura das raízes. A enzima nitrato redutase (NR) é responsável pela redução de nitrato a nitrito e é considerada a principal enzima envolvida na produção de óxido nítrico (NO). Evidências recentes sugerem que o NO é capaz de influenciar a diferenciação de raízes e, assim, controlar o desenvolvimento da planta. A enzima S-nitrosoglutatona redutase (GSNOR), por sua vez, controla os níveis de GSNO, o principal reservatório de NO. Este trabalho objetivou avaliar se as diferenças na arquitetura de raízes de *Arabidopsis thaliana* crescidas em diferentes fontes de nitrogênio estariam relacionadas aos níveis de NO/GSNO na planta. Para tal, foram cultivados os genótipos selvagens (Col-0 e WS-2) e mutantes com alterações no teor de NO (*nia1nia2*, *gsnor+* e *gsnor-*) em placas contendo meio Hoagland com diferentes fontes de N (nitrato, amônio e nitrato de amônio). Os resultados indicam que o cultivo na presença de amônio como única fonte de N levou à redução do comprimento da raiz principal, bem como das raízes laterais, quando comparado ao cultivo apenas com nitrato. As reduções causadas por amônio foram revertidas com nitrato de amônio. Por outro lado, o número de raízes laterais e de pelos radiculares não difere entre os tratamentos. Estes resultados estão de acordo com observações anteriores, onde o efeito inibitório do amônio decorre de uma inibição no alongamento celular.

**Palavras-Chave:** nitrato, amônio, óxido nítrico, nitrato redutase, S-nitrosoglutatona redutase

**Órgão financiador:** CNPq

# Anatomia das bractéolas do epicállice aplicada à circunscrição genérica de *Peltaea* (C.Presl) Stand. (Malvaceae, Malvoideae, Malvavisceae)

Aluisio José Fernandes Júnior<sup>(1)</sup>, Gerleni Lopes Esteves<sup>(2)</sup> & **Adriana Hissae Hayashi**<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Coordenação de Botânica, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário SP, Instituto de Botânica, São Paulo, São Paulo & <sup>(3)</sup> Núcleo de Pesquisa em Anatomia, Instituto de Botânica, São Paulo, São Paulo. E-mail para contato: [ajfernandesjunior@gmail.com](mailto:ajfernandesjunior@gmail.com)

*Peltaea* pertence à tribo Malvavisceae (Malvaceae) e compreende 21 espécies com distribuição Neotropical, desde o México até o sul do Brasil, com maior diversidade na América do Sul, especialmente no Brasil (13 spp.). *Peltaea* é caracterizado pelas bractéolas do epicállice diferenciadas morfológica e anatomicamente em haste e lâmina, com formas peltadas ou espatuladas. A circunscrição do gênero envolve sua separação de *Malachra* L., *Pavonia* Cav. e *Phragmocarpidium* Krapov. com base na morfologia das bractéolas do epicállice, entretanto, estudos anatômicos dessas estruturas ainda são escassos. O objetivo deste trabalho foi estudar a anatomia das bractéolas do epicállice de quatro espécies de Malvavisceae a fim de identificar caracteres que auxiliem na circunscrição genérica deste grupo. Foram analisadas hastes e lâminas das bractéolas de *Pavonia communis* A.St.-Hil., *Pavonia boisiana* Krapov., *Phragmocarpidium heringeri* Krapov. e *Peltaea trinervis* (C.Presl) Krapov. & Cristóbal. As amostras foram processadas segundo técnicas usuais em microscopia fotônica. A haste em todas as espécies apresenta organização anatômica semelhante em relação à epiderme, hipoderme com presença de drusas em ambas as faces, parênquima lacunoso e feixes vasculares, diferindo-se apenas na presença de idioblastos mucilaginosos em *Phragmocarpidium heringeri*. A lâmina apresenta parênquima paliádico na face adaxial e parênquima lacunoso na face abaxial e idioblastos mucilaginosos no mesofilo em *Peltaea trinervis*, *Phragmocarpidium heringeri* e *Pavonia boisiana*, enquanto *Pavonia communis* possui somente parênquima lacunoso em ambas as faces e ausência de idioblastos mucilaginosos. Portanto, apenas *Pavonia communis* tem estrutura anatômica homogênea em toda a extensão da bractéola, enquanto as outras três espécies apresentam diferenciação anatômica entre a haste e a lâmina. A ocorrência dessa diferenciação de tecidos entre haste e lâmina das bractéolas corrobora a circunscrição do gênero *Peltaea* encontrada em recente estudo filogenético, sendo esta diferenciação uma sinapomorfia anatômica, reforçando desta forma, a inclusão de *Pavonia boisiana* e *Phragmocarpidium heringeri* em *Peltaea*.

**Palavras-Chave:** idioblastos mucilaginosos, parênquima, *Pavonia*, *Phragmocarpidium*, sinapomorfia anatômica.

**Órgãos financiadores:** CAPES e CNPq.

## Plantas vasculares sem sementes do Parque Estadual Monte Alegre, Pará, Brasil

**Sebastião Maciel**<sup>(1)</sup>, Aline Possamai Della<sup>(2)</sup> & Marcio Roberto Pietrobon<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia (Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA), <sup>(2)</sup> Programa de Pós-Graduação em Botânica (Universidade de São Paulo, São Paulo, SP) & <sup>(3)</sup> Instituto de Estudos Costeiros (Universidade Federal do Pará, Bragança, PA). E-mail para contato: [macielbio@yahoo.com.br](mailto:macielbio@yahoo.com.br)

As licófitas e samambaias (plantas vasculares sem sementes) apresentam ampla distribuição geográfica que está correlacionada com variáveis abióticas, o que as tornam potenciais bioindicadoras de preservação ambiental. Esse potencial de indicação ecológica pode contribuir para ações conservacionistas, principalmente em Unidades de Conservação, como o Parque Estadual Monte Alegre (PEMA), localizado no estado do Pará. Como forma de contribuir com o plano de manejo do PEMA, verificamos a riqueza e diversidade de licófitas e samambaias, destacando os hábitos e habitats desses grupos no parque. Para isso empregamos o método de caminhamento em áreas com vegetação de terra firme nas encostas, em áreas abertas, em afloramentos rochosos e nas grotas. Obtivemos 43 indivíduos pertencentes a 20 espécies (2 licófitas e 18 samambaias). As famílias mais representativas foram Pteridaceae, Anemiaceae e Polypodiaceae, com 5, 3 e 3 espécies, respectivamente. A maioria das espécies possui hábito herbáceo, apenas *Lygodium volubile* Sw. é escandente. Quanto ao substrato, predominaram as espécies rupícolas (12 spp.), seguida das terrícolas (5 spp.) e 3 espécies foram observadas como rupícola/terrícola. Algumas espécies foram consideradas típicas de afloramentos rochosos, como: *Anemia buniifolia* (Gardner) T. Moore, *A. elegans* (Gardner) C. Presl, *A. oblongifolia* (Cav.) Sw., *Cheilanthes pohliana* Mett., *C. eriophora* (Fée) Mett. e *Selaginella simplex* Baker. Grande parte das espécies verificadas tem um padrão de distribuição correspondente ao continente Americano (13 espécies). Estudos com licófitas e samambaias visando sua utilização em planos de manejo são ainda incipientes, portanto, este estudo torna-se muito significativo nesse sentido e contribui com o conhecimento da flora de licófitas e samambaias local.

**Palavras-Chave:** samambaias, licófitas, biodiversidade, Amazônia.

**Órgão financiador:** Universidade Federal do Pará.

## Avaliação de espécies arbóreas cultivadas em solo de fragmento urbano de Mata Atlântica com adição de Zn e Ni

Omar Santiago Lakis Santos<sup>(1)</sup>, Solange Eulália Brandão<sup>(1)</sup> & Mirian Cilene Spasiani Rinaldi<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ecologia, São Paulo, SP. E-mail para contato: [contatoomarlakis@gmail.com](mailto:contatoomarlakis@gmail.com)

Os fragmentos florestais urbanos são afetados por uma diversidade de poluentes, como os metais traço adsorvidos ao material particulado suspenso na atmosfera. Assim, é cada vez maior a necessidade de se realizar pesquisas para buscar possíveis associações entre o acúmulo de metais traço na vegetação com os presentes no solo. Assim, utilizando uma espécie arbórea pioneira (*Solanum granuloso-leprosum*) e uma espécie não pioneira (*Esenbeckia leiocarpa*) nativas do fragmento urbano de Mata Atlântica localizado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) e utilizando solo proveniente do mesmo local, neste estudo objetivamos: avaliar a capacidade de plantas jovens em acumular os metais traço Ni e Zn adicionados no solo; avaliar a biodisponibilidade de Ni e Zn no solo utilizado no cultivo das plantas jovens, após a adição dos mesmos; avaliar taxas de crescimento em altura e diâmetro das plantas, após adição dos metais. O experimento foi realizado em casa de vegetação com ar filtrado e temperatura controlada, no Instituto de Botânica, localizado no PEFI. As espécies foram submetidas a quatro tratamentos: solo com adubação (controle; 0,05 mg Zn/kg solo); adição de Zn ([Zn] = 258 mg/kg solo); adição de Ni (90 mg Ni/kg solo) e adição de Ni + Zn (0,05 mg Zn/kg solo + 90 mg Ni/kg solo). Foram avaliadas sete arbóreas, com cinco réplicas, para cada espécie e tratamento. Os resultados indicam que os metais adicionados ao solo permaneceram principalmente nas formas disponíveis para as plantas. Taxas de crescimento relativo de altura e diâmetro apontaram que as espécies pioneira e não pioneira tratadas com metais apresentaram crescimento reduzido em relação ao controle. As concentrações dos metais em folhas, raízes e caule foram superiores nas espécies submetidas aos tratamentos, em relação ao controle. Porém, a espécie não pioneira apresentou menor translocação dos metais das raízes para a parte aérea que a pioneira.

**Palavras-Chave:** metais traço, solo, disponibilidade, poluição.

**Órgão financiador:** CNPq.

## **Levantamento da apifauna na Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal - MG.**

**Kamilla Ingrid Castelan Vieira**<sup>(1)</sup>, Ingrid Naiara Gomes<sup>(1)</sup> & Helder Canto Resende<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal – Rodovia LMG 818, Km 06, Florestal – MG. E-mail para contato: kamillacastelan@yahoo.com.br

O papel funcional dos serviços ecossistêmicos prestados pelos polinizadores é fundamental na manutenção da biodiversidade. Cerca de 75% da alimentação humana depende direta ou indiretamente de plantas polinizadas ou beneficiadas pela polinização animal, e as abelhas são os principais polinizadores. Estima-se existir cerca de 20.000 espécies de abelhas, contudo este número é bem maior, sendo necessário realizar estudos de levantamento da apifauna nos diversos biomas. Entretanto, devido à redução das fontes de alimentos e locais de nidificação, ocupação intensiva das terras e uso de defensivos agrícolas, as populações de abelhas silvestres têm sido reduzidas drasticamente. Esse trabalho teve como objetivo realizar um levantamento da diversidade de abelhas na Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal, para posteriormente conscientizar a população do Campus sobre a importância da sustentabilidade e conservação das mesmas. As coletas foram feitas 3 dias por semana, duas vezes ao dia, no período da manhã e tarde, por 6 meses de julho a dezembro de 2014, com auxílio de puçá entomológico, e armadilhas com essências de cheiro. Após as coletas os indivíduos eram colocados em câmara mortífera para sua posterior fixação. A comunidade de abelhas foi representada por 16 espécies, totalizando 434 indivíduos coletados. Foi usado índice de Shannon-Wiener, para calcular a diversidade encontrada. As espécies mais abundantes foram *Trigona spinipes* (Fabricius), seguida de *Euglossa stelfeldi* (Stellfeld) e *Apis mellifera* (Linnaeus). A amostragem indicou um baixo número de espécimes e espécies encontradas durante o período do levantamento, indicando uma população reduzida nas áreas pesquisadas. Assim concluímos que as áreas urbanizadas podem afetar de forma significativa a riqueza e diversidade da apifauna, uma vez que produzem mudanças profundas na composição florística local. Outro fator muito importante seria a baixa diversidade de plantas com flores durante os dias de coleta, o que pode estar comprometendo diretamente a diversidade das abelhas.

**Palavras-Chave:** Levantamento, apifauna, abelhas, polinização, diversidade, Florestal.

**Órgão financiador:** Esse trabalho não contou com nenhum tipo de financiamento.

# Levantamento da entomofauna do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI)

**Cássia Adriana Bazi**<sup>(1)</sup>, Nicolas Lavor de Albuquerque<sup>(2)</sup> & Eduardo Pereira Cabral Gomes<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP. E-mail para contato: bazicassia@gmail.com

Os artrópodes correspondem ao grupo de maior biomassa do planeta, de grande significado ecológico destacam-se em termos de diversidade de espécies. Desempenham diferentes funções nos ambientes naturais e são considerados bioindicadores da qualidade e da degradação ambiental. O presente estudo tem como objetivo comparar o levantamento da entomofauna do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI), fragmento florestal da Floresta Ombrófila Densa, em uma área mais perturbada (TB) e outra mais preservada (TC). As campanhas foram realizadas sazonalmente, com uma coleta a cada estação do ano, totalizando quatro coletas por área de estudo. Foram instaladas 10 armadilhas do tipo *pitfall*, dispostas em um transecto medindo 200 metros de comprimento, em cada área, distantes 15 metros da borda e 20 metros de distância entre si para evitar a pseudoreplicação. Foram coletados no total 5.786 insetos nas duas áreas estudadas, pertencentes a 12 ordens: Coleoptera (36,93%), Hymenoptera (34,01%), Diptera (14,81%), Collembola (9,92%), Hemiptera (1,68%), Orthoptera (1,47%), Blattodea (0,47%), Isoptera (0,38%), Lepidoptera (0,26%), Dermaptera e Tricoptera (0,02%) e Mantodea (0,03%). Na área TB foram coletados 2.158 insetos pertencentes a 10 ordens e na área TC, 3.628 pertencentes a 12 ordens. Os índices de diversidade de Shannon-Wiener e de Simpson e o Índice de Equabilidade de Pielou revelaram valores muito próximos entre as áreas, exceto o mês de Julho no qual os índices indicaram um período menos heterogêneo na área mais preservada. Na estação úmida, a riqueza de espécimes foi significativamente maior em relação à estação seca, porém as ordens coletadas apresentaram maior similaridade em relação à sazonalidade do que em relação ao grau preservação das áreas de estudo. Este resultado corrobora o fato de não haver diferença significativa de riqueza de insetos entre a área mais perturbada e a área em melhor estado de conservação.

**Palavras-Chave:** entomofauna urbana, biodiversidade de insetos, educação ambiental, insetos.

**Órgão financiador:** CNPq

# Efeito de geada sobre o recrutamento e mortalidade de espécies vegetais em uma Floresta Atlântica Urbana

Eduardo Pereira Cabral Gomes<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: [epcgomes@ibot.sp.gov.br](mailto:epcgomes@ibot.sp.gov.br)

Aos efeitos do aquecimento global soma-se nas cidades o efeito de ilha urbana de calor. No Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI) são disponíveis dados climáticos desde janeiro de 1933. Nestes 85 anos a temperatura se elevou 3,5 vezes mais do que o verificado globalmente e a precipitação aumentou em aproximadamente 50%. Em 2016 ocorreu uma forte geada no PEFI sendo o junho mais frio dos últimos 40 anos. Os dois anos anteriores foram os mais quentes registrados em toda a série. Variações bruscas já são previstas nos modelos de mudanças climáticas globais e áreas urbanas são um laboratório para testar estas previsões. Em treze transecções de 2 x 50m anualmente recenseadas no PEFI desde 2006 comparamos o recrutamento e mortalidade entre 2015 e 2016 de todas as plantas, exceto lianas, com mais de 1m de altura. As medições foram realizadas sempre na 2ª quinzena de agosto e os dados, tanto de mortalidade como recrutamento se referem ao período entre setembro do ano anterior e agosto do presente ano. As densidades variaram (média±erro padrão) de 6400±751 ind.ha<sup>-1</sup> em 2014 (1º de setembro) a 6700 ind.ha<sup>-1</sup> em 2015 e 6890±779 ind.ha<sup>-1</sup> em 2016. As taxas de mortalidade entre 2015 e 2016, respectivamente 4,3%/ano e 2,1%/ano, não diferiram significativamente (teste T, p=0,9) bem como as taxas de recrutamento, respectivamente, 6,4%/ano e 2,1%/ano (p=0,2). No interior da floresta as temperaturas máximas são mais baixas e as mínimas mais elevadas, provavelmente sob o dossel das árvores as temperaturas mínimas foram mais elevadas do que as registradas em campo aberto na estação meteorológica. Análises para toda a série histórica quando esta tiver ao menos 20 anos e separada para grupos funcionais e formas de vida poderão responder melhor qual a magnitude destes eventos climáticos extremos sobre a comunidade vegetal.

**Palavras-Chave:** demografia arbórea, dinâmica de comunidades, dinâmica florestal, Mata Atlântica, mudanças climáticas, parcelas permanentes.

**Órgão financiador:** Instituto de Botânica.

## **Metabolismo de frutanos em *Gomphrena agrastis* Mart. (Amaranthaceae) nas épocas de seca e de chuvas**

**Karina Lima Delmondes**<sup>(1)</sup>, Emanuela de Oliveira Joaquim<sup>(2)</sup>, Geraldo Aclécio Melo<sup>(3)</sup> & Maria Angela Machado de Carvalho<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto Federal de São Paulo, Suzano, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Fisiologia e Bioquímica, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(3)</sup> Departamento de Biologia Geral/CCBS, Universidade Estadual de Montes Claros, MG. E-mail para contato: delmondes.karina@gmail.com

Campos rupestres são caracterizados por campos altos e rochosos, com sazonalidade climática marcante e pouca disponibilidade de nutrientes e compostos orgânicos no solo. *Gomphrena agrastis* Mart. possui órgão subterrâneo espessado que acumula frutanos do tipo levano, como sugerido por estudos preliminares. O trabalho teve como objetivo analisar o teor de carboidratos solúveis e as atividades das enzimas de síntese (SST e FFT) e degradação (FEH) de frutanos no órgão subterrâneo de *G. agrastis* em diferentes épocas do ano. As plantas foram coletadas em campo rupestre, na Serra de Itacambira (Cadeia do Espinhaço-MG) nas épocas de seca e início e fim das chuvas. Os carboidratos solúveis foram extraídos e quantificados por métodos colorimétricos. As enzimas foram extraídas em tampão MacIlvane e incubadas com os substratos: sacarose e 1-cestose para as frutossiltransferases SST e FFT, respectivamente, e levanos extraído de *G. marginata* para a FEH. Os produtos de incubação enzimática foram quantificados por cromatografia aniônica de alta resolução. Os maiores teores de frutose total foram detectados no final do período chuvoso, sendo as maiores variações encontradas nos fruto-oligossacarídeos. A atividade da SST foi detectada apenas no período da seca, quando também foi identificada maior atividade da FFT e menores teores de açúcares totais. Os teores de açúcares totais e frutose total/frutanos foram semelhantes, exceto no período de início das chuvas, quando o teor de frutanos foi inferior. Neste período, referente à brotação, houve maior atividade da FEH e aumento de açúcares redutores, indicando despolimerização dos frutanos. Atividade da SST na época da seca sugere a necessidade em aumentar a proporção de frutanos de cadeias curtas, com maior atividade osmótica, permitindo melhor adaptação das plantas aos períodos de estiagem ocorrentes nas regiões de campos rupestres.

**Palavras-Chave:** órgão subterrâneo, carboidrato de reserva, campos rupestres, polissacarídeos.

**Órgão financiador:** CNPq e FAPESP.

## **Antocianinas em folhas de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms cultivadas sob diferentes concentrações de nitrogênio**

**Sabrina Vanessa de Andrade dos Santos**<sup>(1)</sup>, Jorge Luiz Marx Young<sup>(1)</sup>, Silvia Ribeiro de Souza<sup>(2)</sup> & Vívian Tamaki<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica, São Paulo, SP

<sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP

E-mail para contato: [andrade.sabrina@hotmail.com](mailto:andrade.sabrina@hotmail.com)

A espécie *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms conhecida como “bromélia-imperial” é uma planta de grande porte e alto valor comercial. Suas folhas comumente são verdes, porém alguns indivíduos apresentam coloração rubra. Quando cultivada em casa de vegetação sob adubação com variações nas concentrações de nitrogênio suas folhas tornam-se vermelhas, principalmente na face adaxial. A coloração vermelha em órgãos fotossintetizantes normalmente resulta do acúmulo de antocianinas, pigmentos presentes nos tecidos superficiais ou no mesofilo. Por se tratar de uma espécie com grande potencial ornamental, a alteração em sua coloração pode influenciar de forma positiva a sua comercialização. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi identificar o pigmento responsável pela coloração rubra em plantas da espécie *A. imperialis*, cultivadas em casa de vegetação sob diferentes concentrações de nitrogênio. Plantas obtidas a partir de sementes por propagação *in vitro* foram cultivadas em meio MS (Murashige & Skoog) com alterações nas concentrações de macronutrientes por 6 meses. Após este período foram aclimatizadas e mantidas em casa de vegetação por 12 meses, sendo adubadas semanalmente com solução contendo as concentrações 3,75, 7,50 e 15,00 mM de nitrogênio e tratamento controle. Após este período foi realizada a análise de antocianinas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD). A extração das antocianinas foi realizada com metanol acidificado, sendo a amostra submetida a etapas de sonificação e centrifugação. Constatou-se com base em padrões analíticos a presença de cianidina-3-glicosídeo e pelargonidina-3,5-diglicosídeo. O presente estudo confirma que reduções nas concentrações de N favorecem a coloração rubra em folhas de *A. imperialis* cultivadas em casa de vegetação.

**Palavras-Chave:** Bromélia, cianidina-3-glicosídeo, compostos fenólicos, cromatografia líquida, pelargonidina-3,5-diglicosídeo

**Órgão financiador:** CNPq

## Regeneração natural no sub-bosque de eucaliptal em um fragmento de Mata Atlântica

**Janaina Pinheiro Costa**<sup>(1)</sup>, Elisabete Aparecida Lopes<sup>(2)</sup>, Péricles Freitas Alves<sup>(3)</sup>, Simone Sayuri Sumida<sup>(4)</sup>, Evandro Pereira Fortes<sup>(1)</sup>, Giuliano Lorenzini<sup>(1)</sup>, Diego Fernandes Maia<sup>(4)</sup> & Eduardo Pereira Cabral Gomes<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Centro de Pesquisa Jardim Botânico e Reservas, Instituto de Botânica, São Paulo, SP, <sup>(2)</sup> Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário de São Paulo, Instituto de Botânica, São Paulo, SP,

<sup>(3)</sup> Colaborador externo & <sup>(4)</sup> Núcleo de Pesquisa em Ecologia, Instituto de Botânica, São Paulo, SP. E-mail para contato: janaina.pinheiro.ibt@gmail.com

As florestas tropicais são o habitat de grande parte da biodiversidade mundial, no entanto, a influência das atividades humanas tem causado mudanças na sua extensão, estrutura e composição. A contínua degradação, fragmentação e perda das florestas naturais, principalmente pela conversão de suas áreas para culturas agrícolas, proporcionam uma grande preocupação quanto ao declínio dessa biodiversidade. Por outro lado, as florestas plantadas (cultivadas com árvores nativas ou exóticas), principalmente para fins comerciais, continuam em expansão em diversos países. Grandes extensões de terras (monoculturas) com espécies de rápido crescimento, como as do gênero *Eucalyptus* L'Hér., sempre receberam inúmeras críticas como sendo o pior uso da terra para a conservação da biodiversidade, no entanto, estudos nas últimas três décadas demonstraram que as plantações florestais podem ser redutos da biodiversidade, em determinadas condições, facilitando o processo de regeneração natural nos sub-bosques e se tornando uma alternativa para a restauração florestal. O objetivo deste trabalho foi avaliar a regeneração natural nos sub-bosques de eucaliptais localizados na área administrada pelo Parque de Ciência e Tecnologia da Universidade de São Paulo (CienTec), no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo. Para a realização do levantamento fitossociológico e florístico, foram inseridas 14 parcelas de 1 X 10 m, totalizando 140 m<sup>2</sup>. Foram medidos e coletados todos os indivíduos com altura entre 0,30 e 1,30 m. Na área amostrada foram mensurados 346 indivíduos, com densidade de 24714,3 ind./ha e altura média de 0,60 m. Os resultados preliminares indicaram o potencial de regeneração natural da vegetação nos sub-bosques dos eucaliptais.

**Palavras-Chave:** biodiversidade, *Eucalyptus*, regeneração natural, sub-bosque.

**Órgão financiador:** Instituto de Botânica

**Instituto de Botânica**  
Av. Miguel Estefano, 3687 - Água Funda - São Paulo - Brasil

