
**PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA
VEGETAL)**

**ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS DE SEMENTES DE ESPÉCIES DE CERRADO
RELACIONADOS AO FOGO**

RAMON MONTEIRO BAILON

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA
VEGETAL)**

**ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS DE SEMENTES DE ESPÉCIES DE CERRADO
RELACIONADOS AO FOGO**

RAMON MONTEIRO BAILON

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal).

Orientadora: Dra. Aline Redondo Martins

B158a

Bailon, Ramon Monteiro

Atributos morfológicos de sementes de espécies de Cerrado
relacionados ao fogo / Ramon Monteiro Bailon. -- Rio Claro, 2022
70 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Aline Redondo Martins

1. Morfologia Vegetal. 2. Anatomia Vegetal. 3. Anatomia de
Sementes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Atributos morfológicos de sementes de espécies de Cerrado relacionados ao fogo

AUTOR: RAMON MONTEIRO BAILON

ORIENTADORA: ALINE REDONDO MARTINS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA VEGETAL), área: Biologia Vegetal pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. ALINE REDONDO MARTINS (Participação Virtual)
Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - SP


Profa. Dra. JULIANA MARZINEK (Participação Virtual)
Departamento de Botânica - Instituto de Biologia/UFU


Profa. Dra. ALINE BERTOLOSI BOMBO (Participação Virtual)
Pós-Doutoranda do Departamento de Botânica / IB Rio Claro

Rio Claro, 30 de março de 2022

Dedico a Deus e a mim

Agradecimentos

A Deus por ter me concebido a vida, a todas as pessoas que me apoiaram nesta lida, meus pais e minha irmã e aos amigos Ana Flávia, Daniel Chaves e Silmara Moraes. À professora Dra. Rosana Kolb pela iniciação da minha carreira científica, à professora Dra. Aline Martins pela parceria, respaldo e orientação na produção deste projeto, à professora Dra. Alessandra Fidelis e à Me. Heloiza Zironi pelo fornecimento das sementes e a todos os professores que contribuíram para o meu crescimento intelectual. Às pessoas que me receberam em Ilha Solteira e no laboratório onde trabalhei.

Às instituições Unesp e agências financiadoras: processo nº 130691/2020-8, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e processo nº 19/09903-0, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), por terem sido o meio para a elaboração deste trabalho e por contribuírem para o desenvolvimento do Brasil.

Muito Obrigado!

“Eu pedi a ajuda do SENHOR, e ele me respondeu; ele me livrou de todos os meus medos”

Salmos 34:4.

RESUMO

No Brasil há uma considerável área de ecossistemas propensos ao fogo que exibem uma vegetação lenhosa esparsa com predominância de espécies herbáceas. São pertencentes majoritariamente ao domínio Cerrado. Os vegetais presentes certamente passaram por um processo de seleção natural para conseguirem suportar uma condição tão adversa. A adaptação gira em torno de estratégias vegetativas, com órgãos resistentes, protegidos e podendo apresentar gemas, e estratégias reprodutivas, como a floração pós-fogo, deiscência de frutos em função das chamas e produção de sementes cuja germinação responde positivamente ao fogo e/ou à fumaça. Este trabalho avaliou a anatomia de sementes de 18 espécies do estrato rasteiro em três famílias (Melastomataceae, Velloziaceae e Xyridaceae). Espécies responsivas ou não aos tratamentos com choque térmico e fumaça. O objetivo foi avaliar, com microscopia ótica e eletrônica, atributos teciduais que podem nortear o tipo de resposta. O estudo morfológico mostrou que há características peculiares em relação à forma da semente e ornamentação do tegumento, mas não revelou grandes diferenças entre espécies responsivas ou não responsivas a fumaça. A histoquímica revelou para família Melastomataceae que não há amido como substância de reserva, ao contrário de *Vellozia*, onde o mesmo teste acusou grande quantidade de amido. Para lipídios o resultado variou entre as espécies. Para as espécies de *Xyris* foi identificado o amido, já os lipídios ficaram restritos a membrana das células embrionárias. Com relação às análises fisiológicas em Melastomataceae não foi possível quantificar amido extraído enfatizando o que foi amostrado nos testes histoquímicos. Já as espécies de *Vellozia* tiveram altos índices de amido nas análises fisiológicas corroborando com o que foi observado nos testes histoquímicos, com exceção de *V. albiliflora* que não apresentou amido nas análises fisiológicas, porém grãos de amido foram verificados nos testes histoquímicos. Aparentemente não foi observada correlação direta entre espécies que respondem positivamente à fumaça com a presença ou não de amido, uma vez que há espécies com tal tipo de reserva que apresentam resposta positiva na germinação quando tratadas com a fumaça. O mesmo pode ser aplicado para lipídios e proteínas.

Palavras-chave: semente, anatomia, histoquímica, fumaça.

ABSTRACT

In Brazil, there is a considerable area of fire-prone ecosystems that exhibit sparse woody vegetation with a predominance of herbaceous species. The present vegetables have certainly gone through a process of natural selection to be able to withstand such an adverse condition. Adaptation revolves around vegetative strategies, with resistant, protected organs that may have buds, and reproductive strategies, such as post-fire flowering, fruit dehiscence due to flames, and production of seeds whose germination responds positively to fire and/or the smoke. This work evaluated the seed anatomy of 18 species from the low stratum in three families (Melastomataceae, Velloziaceae and Xyridaceae) with responsive species or not to treatments with thermal shock and smoke. The objective was to evaluate, with optical and electronic microscopy, tissue attributes that can guide the type of response. The morphological study showed that there are particular characteristics about seed shape and seed coat ornamentation, but did not reveal major differences between responsive and non-responsive species. Histochemistry revealed for the Melastomataceae family that there is no starch as a reserve substance, unlike *Vellozia*, where the same test showed a large amount of starch. For lipids, the result varied between species. Starch was identified for *Xyris* species, whereas lipids were restricted to the membrane of the embryo's cells. Regarding the physiological analyzes in Melastomataceae, it was not possible to quantify extracted starch, emphasizing what was sampled in the histochemical tests. The species of *Vellozia* had high levels of starch in the physiological analyzes corroborating what was observed in the histochemical tests, except *V. albiliflora* which did not show starch in the physiological analyses, but starch grains were verified in the histochemical tests. No direct correlation was observed between species that respond positively to smoke with the presence or absence of starch, since there are species with this type of reserve that present a positive response in germination when treated with smoke. The same can be applied to lipids and proteins.

Key-words: seed, anatomy, histochemistry, smoke.

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	9
<i>Fumaça e fogo</i>	10
Melastomataceae	11
Velloziaceae	12
Xyridaceae	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
CAPÍTULO 1. DESCRIÇÃO MORFOANATÔMICA DE SEMENTES PROPENSAS AO FOGO DO CERRADO	17
RESUMO	17
INTRODUÇÃO.....	17
MATERIAL E MÉTODOS.....	19
Material botânico.....	19
Microscopia Eletrônica de Varredura.....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO 2. ANÁLISE HISTOQUÍMICA E TIPOS DERESERVA DE SEMENTES DO CERRADO RESPONSIVAS À FUMAÇA	43
RESUMO	43
INTRODUÇÃO.....	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	45
Estudos anatômicos	45
Análises fisiológicas.....	46
Quantificação de proteína.....	46
Quantificação de aminoácidos.....	46
Quantificação de açúcares solúveis totais	46
Extração e Quantificação de Amido.....	46
Quantificação de Compostos fenólicos	47
RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado é um domínio fitogeográfico, constituído de uma considerável diversidade paisagística, começando por campos limpos e adensando para campo sujo, campo cerrado, cerrado sensu stricto até floresta (Coutinho, 1982). A maioria do seu vasto território, localizado principalmente no Brasil central (originalmente de 2.000.000 km², 21% do Brasil (Klink & Machado, 2005) é composto principalmente por savanas, que são caracterizadas pela falta de um dossel contínuo, o que permite a passagem abundante de luz, onde espécies herbáceas conseguem prosperar e compor cerca 80% da flora (Sano & Ribeiro, 2008; Coutinho 2002; Coutinho, 1978; Furley, 1999; Klein, 2002).

Nas fisionomias mais abertas, o fogo ocorre naturalmente, por consequência de raios, no início e ao final da estação chuvosa (Ramos-Neto & Pivello, 2000). Tal distúrbio selecionou, há cerca de 4 milhões de anos, espécies com uma adaptação característica e eficiente (Simon *et al.*, 2009). O papel ecológico do fogo foi alertado por Durigan & Ratter (2016), onde frisaram que políticas de supressão total do fogo são uma ameaça para o Cerrado.

Há duas estratégias adaptadas a suportar a passagem do fogo para proteger o indivíduo e suas gemas. Em arbóreas e arbustivas consiste, mais notadamente, em uma periderme caulinar espessa, agindo como uma barreira física de proteção de gemas (Coutinho, 1982). Em espécies sublenhosas ou não lenhosas, o próprio solo atua como isolante térmico (Coutinho, 1982). A parte aérea da planta pode ser completamente destruída, mas a presença de estruturas subterrâneas de armazenamento com potencial regenerativo, como rizomas, bulbos, xilopódios e tubérculos, confere à planta um caráter tenaz, sendo adequado para regenerar (Coutinho, 1982; Ferri, 1960).

Clarke et al. (2013) mostraram que a estratégia formada por barreiras físicas isolantes pode ser definida como de “resistência” enquanto a que é baseada em órgãos subterrâneos de rebrote é uma estratégia de “resiliência”. Sementes com dormência física podem apresentar um meio para proteger não o indivíduo, mas a espécie, já que são capazes de prover uma germinação heterogênea ao longo do tempo, como uma estratégia reprodutiva (Lacerda et al., 2004).

A morfologia da semente, de uma maneira geral, consiste em envoltório, endosperma e embrião. O tegumento de semente é oriundo dos integumentos do saco embrionário, podendo ser dividido em duas camadas (testa e tégmen). Possui cicatrizes como hilo e micrópila, sendo o hilo a mais visível. O envoltório pode ser lignificado quando completamente desenvolvido. O endosperma quase sempre é triploide, oriundo da fecundação dos núcleos polares do óvulo

pelo segundo núcleo vegetativo do grão de pólen. O endosperma tem por função nutrir o embrião e a plântula. O embrião, por sua vez, tem origem da fecundação do primeiro núcleo espermático com a oosfera (Raven et al., 2001, Baskin & Baskin, 1998, Tobe & Raven, 1988).

A entrada de água na semente é pré-requisito para a germinação, uma vez que a embebição possibilita processos metabólicos na semente, órgão mais desidratado de toda a planta (Bradford, 1995). A embebição favorece a atuação da giberelina, que em quantidade pertinente, consegue desencadear sua atividade promotora sobre o embrião (Baskin & Baskin, 2004), culminando na germinação. A entrada de água na semente é possibilitada por sítios específicos. As cicatrizes do tegumento (*water gaps*) podem servir de canal: hilo (antiga ligação da semente com o funículo), micrópila (poro de passagem dos núcleos polar e espermático na fase de óvulo, mas que persiste na semente e pode ser funcional para a embebição), e outros mais específicos de determinados clados como lente, que consiste numa protuberância que pode se sensível a condições ambientais, pleurograma, que é uma estrutura da região extra-hilar comum em Fabaceae que pode ser funcional ou não, e até diversos microporos que se distribuem pela testa (Omar & Albornoz, 2013, Jaganathan, 2015; Rodrigues-Júnior et al., 2019; Baskin, 2003), indicando que a morfologia da semente também tem um papel na entrada de água.

As espécies foram escolhidas por fazerem parte de ecossistemas do Cerrado que são propensos ao fogo. A fim de ratificar a convergência evolutiva em espécies mostradas por Zironi et al. (2019a; 2019b), as famílias Melastomataceae e Velloziaceae foram objeto deste estudo e houve a adição da família Xyridaceae com o mesmo propósito. As sementes passaram por experimentos com solução de fumaça e choque térmico Zironi et al. (2019a; 2019b).

Assim, o presente estudo pretende responder se a anatomia, morfologia ou histoquímica das sementes pode influenciar na resposta germinativa já relatada em estudos sobre a fumaça e o choque térmico. Espera-se encontrar algum tipo de atributo que possa ajudar a explicar as respostas mediante à fumaça e ao choque térmico.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Fumaça e fogo

Em ecossistemas propensos ao fogo é esperado que espécies sejam danificadas pelo fogo, porém com plena capacidade de regeneração de espécimes e da população (Frost & Robertson 1987). Sementes estão sujeitas a perda de viabilidade por desnaturação proteica ou até mesmo

carbonização dos tecidos numa situação extrema (Blank, 2001), entretanto a duração das chamas em incêndios naturais é bastante limitada, o que atenua seu efeito deletério sobre as sementes, porém pode ser elevado devido a espécies introduzidas para pastagem que contribuem para o aumento da biomassa, favorecendo incêndios mais duradouros cujas sementes são inevitavelmente prejudicadas (Fidelis, 2020).

O incêndio natural é comum no fim da estação seca ocasionado por raios e sucedido por vigorosas chuvas, o que favorece a pronta extinção das chamas, logo efeitos do fogo podem ser suportados pelas sementes em condições normais devido ao processo adaptativo de seleção natural. Nesses ecossistemas as sementes podem ter a viabilidade inalterada ou até mesmo a germinação estimulada pelo fogo e/ou pela fumaça (Herranz 1998; Williams *et al.*, 2003; Keeley & Bond, 1997). Experimentos com espécies de Cerrado mostram espécies que também resistem a altas temperaturas: *Vellozia glauca*; *Xyris hymenachne*; *Hiptis crenata* (Fichino *et al.*, 2016), *Bauhinia dumbosa*; *Mimosa leioccephala* (Zupo *et al.*, 2016).

Levando em consideração a predominância de espécies não lenhosas ou sublenhosas do Cerrado, estudos sobre sementes do estrato graminoso/herbáceo/arbustivo são mais escassos frente aos de espécies arbóreas. Dessa forma, este trabalho visa avaliar aspectos morfológicos, fisiológicos e histoquímicos de sementes de espécies não arbóreas (Melastomataceae, Velloziaceae e Xyridaceae) procurando relacioná-los ao efeito do fogo e da fumaça que foram previamente publicados por Zironi *et al.* 2019 para quase todas as espécies aqui abordadas, investigando motivos para tal efeito sobre a semente. Espera-se uma particularidade por espécie em relação ao possível “water gap”, uma similaridade organização dos tecidos em eudicotiledôneas e monocotiledôneas e uma distinção para espécies responsivas ao fogo e à fumaça.

Caracterização morfológica

Melastomataceae

Melastomataceae é uma família de Eudicotiledôneas e possui cerca de 5750 espécies distribuídas em 177 gêneros. Presente na zona tropical e subtropical, evitando ambientes áridos. Dois terços das espécies estão no continente americano em diversas formas de vida. Pode ser epífita, rupícola ou terrícola (AGP, 2016)

Acisanthera alsiefolia (Mark & Schrank ex DC.) Triana é arbustiva (Kriebel & Rocha, 2015). Também são arbustivas as espécies: *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Silva-Gonçalves *et al.*, 2015), *Pleroma cardinale* (Bonpl.), *Pleromafrigidula* (DC.) Cogn. (Zironi *et al.*, 2019). *Pleroma stenocarpum* (Schranket Mart. ex DC.) Triana (Zironi *et al.*, 2019). Por

fim, *Tibouchina melastomoides* (Naudin) Cogn. é subarbastiva (Guimarães, 2015).

As sementes de Melastomataceae são pequenas e apresentam variadas formas (Becquer et al. 2014). No Cerrado, são frequentemente dispersas por ornitocoria (Pinheiro & Ribeiro, 2001). O embrião ocupa todo o interior da semente, podendo apresentar rafe como em *Miconia albicans*, que também apresenta uma testa com três camadas e tégmen ausente (Cortez & Carmello-Guerreiro, 2008), a testa sendo lisa como no gênero *Rupestrea* (Goldenberg et al. 2015), mas comumente é bastante sinuosa, o que varia juntamente com a forma e outros atributos dentro dos cinco “seed type” descritos por Whiffin & Tomb (1972).

Por fim, *Stenodon sp.* e *Microlicia sp.* O primeiro é um gênero, arbustivo ou subarbastivo (Silva-Gonçalves, 2015) e o segundo mais diverso em formas de vida e distribuição (Romero & Woodgyer, 2015).

Velloziaceae

Velloziaceae é uma família de monocotiledôneas que possui cerca de 260 espécies distribuídas em cinco gêneros, dois deles presentes no Brasil (Melo-Silva, 2018). É essencialmente tropical, rupícola e em presente em altitudes de 1000 a 2000 m. No Brasil, é comum em biomas do domínio Cerrado, como campo rupestres e campo sujo seco (Alves & Kolbek, 1994). É perene, tolerantes à seca e adaptadas ao fogo (Franceschinelli et al. 2006). *Vellozia albiflora* Pohl e *Vellozia glochidea* Pohl são subarbastos. *Vellozia squamata* Pohl, *Vellozia goiasensis* L.B. Sm. e *Vellozia seubertiana* Goethard & Henrard são espécies arbustivas, endêmicas. *Vellozia compacta* Mart. ex Schult. & Shult. f. arbustiva, enquanto o subarbasto *Vellozia variabilis* Mart. ex Schult. & Shult. tem uma distribuição bem maior, sendo a única entre as anteriores que não é endêmica do Brasil (Mello-Silva, 2015).

Suas sementes são relativamente pequenas num formato irregular e único: as sementes possuem uma alta variação intraespecífica devido à grande combinação de ângulos que formam e tamanhos e apresenta vários tipos de tegumento, sendo o com quatro camadas o mais comum (testa e tegmen duplos) (Souza-Baena & de Menezes, 2014). O embrião é pequeno e globular ou elipsoide com o endosperma abundante e amiláceo a seu redor (Kubitzki, 1998). A camada de aleurona da semente pode estar visível e algumas vezes, como em *V. albiflora* e *V. hirsula*. Dependendo do corte, fica visível o procâmbio no embrião (Silva, 2013).

Xyridaceae

É uma família de monocotiledôneas, herbáceas, possuindo aproximadamente 400 espécies dentro de cinco gêneros com nicho predominantemente tropical. Maioria perenes,

heliófilas, crescem normalmente em solos rasos, presentes, portanto, no campo rupestre, se estendendo ao campo limpo e cerrado. Também podem ocupar a margem de corpos d'água, possuindo espécies aquáticas (Mota & Wanderley, 2013).

Xyris hilariana Malme é endêmica do Brasil, distribuída entre campos de SP, MG e BA, já *Xyris jupicai* Rich. não é endêmica e está distribuída por todos os estados. *Xyris paradisiaca* Wand. é endêmica de campos rupestres de GO e DF (Wanderley et al., 2015).

As sementes são diminutas, exibindo muita similaridade interespecífica a olho nu, mas com diferenças sutis na sua forma, cor e na textura da testa em suas cristas e sulcos, sendo características de grande relevância taxonômica (Nardi et al., 2016). Internamente elas têm um embrião muito reduzido numa extremidade afunilada e do lado oposto está a região calazal, mas nem sempre os dois são visíveis concomitantemente (Nardi et al., 2015).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASKIN, Carol C. Breaking physical dormancy in seeds: focussing on the lens. *New Phytologist*, p. 229-232, 2003.

BASKIN, Jerry M.; BASKIN, Carol C. A classification system for seed dormancy. *Seed science research*, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2004.

BASKIN, Carol C.; BASKIN, Jerry M. **Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination**. Elsevier, 1998.

BLANK, Robert R. Fire Ecology and Interactions Important in Restoration. *Science*, v. 276, n. 5316, p. 1248-1250, 2001.

BRADFORD, Kent J. Water relations in seed germination. In: **Seed development and germination**. Routledge, 2017. p. 351-396.

BROWN, N. A. C. Promotion of germination of fynbos seeds by plant-derived smoke. *New Phytologist*, v. 123, n. 3, p. 575-583, 1993.

CLARKE, Peter J. et al. Resprouting as a key functional trait: how buds, protection and resources drive persistence after fire. *New phytologist*, v. 197, n. 1, p. 19-35, 2013.

CONCEIÇÃO, Abel Augusto; ORR, Barron J. Post-fire flowering and fruiting in *Vellozia sincorana*, a caulescent rosette plant endemic to Northeast Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 26, p. 94-100, 2012.

CORTEZ, Priscila Andressa; CARMELLO-GUERREIRO, Sandra Maria. Ontogenia e estrutura do pericarpo e do envoltório da semente de *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) do cerrado, Brasil. *Brazilian Journal of Botany*, v. 31, n. 1, p. 71-79, 2008.

COUTINHO, Leopoldo M. Ecological effects of fire in Brazilian cerrado. In: **Ecology of tropical savannas**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1982. p. 273-291.

KLEIN, A. L.; COUTINHO, L. M. O bioma do Cerrado. **Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois**, p. 77-91, 2002.

COUTINHO, Leopoldo M. Ecological effects of fire in Brazilian cerrado. In: **Ecology of tropical savannas**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1982. p. 273-291.

DAIBES, L. Felipe et al. Fire and legume germination in a tropical savanna: ecological and historical factors. **Annals of botany**, v. 123, n. 7, p. 1219-1229, 2019.

DURIGAN, Giselda; RATTER, James A. The need for a consistent fire policy for Cerrado conservation. **Journal of Applied Ecology**, v. 53, n. 1, p. 11-15, 2016.

EGERTON-WARBURTON, Louise M. A smoke-induced alteration of the sub-testa cuticle in seeds of the post-fire recruiter, *Emmenanthe penduliflora* Benth. (Hydrophyllaceae). **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 325, p. 1317-1327, 1998.

COUTINHO, Leopoldo M.; FERRI, Mario G. Transpiração e comportamento estomático de plantas permanentes de cerrado em Campo do Mourão (Est. do Paraná). **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Botânica**, p. 117-130, 1960.

FICHINO, Betânia Santos et al. Does fire trigger seed germination in the Neotropical Savannas? Experimental tests with six Cerrado species. **Biotropica**, v. 48, n. 2, p. 181-187, 2016.

FIDELIS, Alessandra; DAIBES, Luís Felipe; MARTINS, Aline Redondo. To resist or to germinate? The effect of fire on legume seeds in Brazilian subtropical grasslands. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 147-151, 2016.

FLEMATTI, Gavin R. et al. A compound from smoke that promotes seed germination. **Science**, v. 305, n. 5686, p. 977-977, 2004.

FROST, P. H. G.; ROBERTSON, F. The ecological effects of fire in savannas. In 'Determinants of Tropical Savannas'. (Ed. BH Walker) pp. 93-141. 1987.

FURLEY, Peter A. The nature and diversity of neotropical savanna vegetation with particular reference to the Brazilian cerrados. **Global Ecology and Biogeography**, v. 8, n. 3-4, p. 223-241, 1999.

GOLDENBERG, Renato et al. *Rupstrea*: a new Brazilian genus of Melastomataceae, with anomalous seeds and dry indehiscent fruits. **Systematic Botany**, v. 40, n. 2, p. 561-571, 2015.

GRAVEN, Peter et al. Functional aspects of mature seed coat of the Cannaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 205, n. 3, p. 223-240, 1997.

HERRANZ, José M.; FERRANDIS, Pablo; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, Juan J. Influence of heat on seed germination of seven Mediterranean Leguminosae species. **Plant Ecology**, v. 136, n. 1, p. 95-103, 1998.

JAGANATHAN, Ganesh K. Are wildfires an adapted ecological cue breaking physical dormancy in the Mediterranean basin? **Seed Science Research**, v. 25, n. 2, p. 120-126, 2015.

KEELEY, Jon E.; BOND, William J. Convergent seed germination in South African fynbos and Californian chaparral. **Plant Ecology**, v. 133, n. 2, p. 153-167, 1997.

KLEIN, Aldo Luiz. **Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois**. Unesp, 2000.

KLINK, Carlos A.; MACHADO, Ricardo B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KUBITZKI, K. Velloziaceae. In: **Flowering Plants· Monocotyledons**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1998. p. 459-467.

KULKARNI, M. G.; SPARG, S. G.; VAN STADEN, J. Germination and post-germination response of Acacia seeds to smoke-water and butenolide, a smoke-derived compound. **Journal of Arid Environments**, v. 69, n. 1, p. 177-187, 2007.

LACERDA, Daniela R. et al. Seed-dormancy variation in natural populations of two tropical leguminous tree species: *Senna multijuga* (Caesalpinoideae) and *Plathymenia reticulata* (Mimosoideae). **Seed Science Research**, v. 14, n. 2, p. 127-135, 2004.

NARDI, Kaire de Oliveira; SCATENA, Vera L.; ORIANI, Aline. Development of ovule, fruit and seed of *Xyris* (Xyridaceae, Poales) and taxonomic considerations. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 4, p. 619-628, 2015.

NARDI, Kaire de Oliveira; ORIANI, Aline; SCATENA, Vera Lucia. Seed micromorphology and its taxonomic significance to *Xyris* (Xyridaceae, Poales). **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 721-727, 2016.

OMAR VARELA, Rodolfo; ALBORNOS, Patricia Liliana. Morpho-anatomy, imbibition, viability and germination of the seed of *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Fabaceae). **Revista de biologia tropical**, v. 61, n. 3, p. 1109-1118, 2013.

RAMOS-NETO, Mário Barroso; PIVELLO, Vânia Regina. Lightning fires in a Brazilian savanna National Park: rethinking management strategies. **Environmental management**, v. 26, n. 6, p. 675-684, 2000.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. 6ª edição Guanabara Koogan. **Rio de Janeiro**, 2001.

RIBEIRO, Rafaella C.; OLIVEIRA, Denise MT; SILVEIRA, Fernando AO. A new seed coat water-impermeability mechanism in *Chaetostoma armatum* (Melastomataceae): evolutionary and biogeographical implications of physiophysical dormancy. **Seed Science Research**, v. 25, n. 2, p. 194-202, 2015.

RODRIGUES-JUNIOR, Ailton G. et al. A function for the pleurogram in physically dormant seeds. **Annals of botany**, v. 123, n. 5, p. 867-876, 2019.

SANO, Sueli Matiko; DE ALMEIDA, Semiramis Pedrosa; RIBEIRO, José Felipe. **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008., 2008.

SILVA, Shelka Alcântara da et al. Germinação e morfoanatomia do desenvolvimento pós-seminal de espécies de *Vellozia* Vand. de campos rupestres brasileiros. 2013.

SIMON, Marcelo F. et al. Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 48, p. 20359-20364, 2009.

TOBE, Hiroshi; RAVEN, Peter H. Seed morphology and anatomy of Rhizophoraceae, inter- and infrafamilial relationships. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, p. 1319-1342, 1988.

SVOMA, Erika. Seed morphology and anatomy in some Annonaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 209, n. 3, p. 177-204, 1998.

VAN DE VENTER, H. A.; ESTERHUIZEN, Aletta D. The effect of factors associated with fire on seed germination of *Erica sessiliflora* and *E. hebecalyx* (Ericaceae). **South African Journal of Botany**, v. 54, n. 3, p. 301-304, 1988.

WHIFFIN, Trevor; TOMB, A. Spencer. The systematic significance of seed morphology in the neotropical capsular-fruited Melastomataceae. **American Journal of Botany**, v. 59, n. 4, p. 411-422, 1972.

WILLIAMS, Paul R. et al. Fire-related cues break seed dormancy of six legumes of tropical eucalypt savannas in north-eastern Australia. **Austral Ecology**, v. 28, n. 5, p. 507-514, 2003.

ZIRONDI, Heloiza Lourenço et al. Heat and smoke affect the germination of flammable resprouters: *Vellozia* species in the Cerrado. **Folia Geobotanica**, v. 54, n. 1, p. 65-72, 2019.

ZIRONDI, Heloiza L.; SILVEIRA, Fernando AO; FIDELIS, Alessandra. Fire effects on seed germination: Heat shock and smoke on permeable vs impermeable seed coats. **Flora**, v. 253, p. 98-106, 2019.

ZUPO, Talita; BAEZA, M. Jaime; FIDELIS, Alessandra. The effect of simulated heat-shock and daily temperature fluctuations on seed germination of four species from fire-prone ecosystems. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 514-519, 2016.

CAPÍTULO 1. DESCRIÇÃO MORFOANATÔMICA DE SEMENTES PROPENSAS AO FOGO DO CERRADO

RESUMO

O Cerrado possui ecossistemas ricos em espécies rasteiras, uma vez que muita luminosidade chega ao solo pela falta de um dossel, principalmente em áreas denominadas campo sujo, campos úmidos e campos rupestres, onde a presença de árvores é incomum. Nelas, embora a propagação vegetativa seja mais evidente, há uma grande diversidade de morfologia de sementes e supõe-se que tal característica possa influenciar em fatores relacionados à germinação. Este trabalho avaliou a anatomia de sementes de 18 espécies do estrato rasteiro em três famílias (Melastomataceae, Velloziaceae e Xyridaceae) cujas espécies são responsivas ou não aos tratamentos com choque térmico e fumaça, de acordo com a literatura, visando analisar atributos teciduais que podem nortear o tipo de resposta. Para tanto, as sementes foram coletadas em diferentes áreas de Cerrado, fixadas, desidratadas em série etílica e incluídas em resina sintética. Posteriormente foram emblocadas e seccionadas em micrótomo rotativo. Algumas amostras foram desidratadas em série etílica, passaram por ponto crítico e metalização com ouro, e posteriormente analisadas em microscópio eletrônico de varredura. Definimos morfotipos para as sementes de Melastomataceae: cocleada, cócleo-alongada e alongada, sendo o tegumento foveolado, muriculado ou papilado com compostos fenólicos presentes. *Vellozia* tem um formato tipicamente angulado, um tegumento menos sinuoso, em relação às demais espécies estudadas, com lignina no tegumento, apresentando embriões globulares rodeados pelo endosperma. *Xyris*, com formas de semente parecidas, mas com sensíveis diferenças que podem categorizá-las em elipsoidais. Não houve uma diferença morfológica significativa capaz de justificar as diferentes respostas à fumaça nos grupos responsivos e indiferentes. Para o choque térmico, as espécies do gênero *Vellozia* que têm o tegumento mais fino tiveram a germinação prejudicada quando exposta a 200°C por um minuto.

INTRODUÇÃO

Com alto grau de endemismo, o domínio Cerrado possui os ecossistemas savânicos mais ricos do mundo, sendo assim o é um grande “hotspot” (Myers et al., 2000). Com isso, Klink & Machado (2008) alertam para a conservação: com poucas unidades de proteção e áreas de reserva legal insuficientes, o Cerrado fica vulnerável. A degradação era de 55% da área original no ano de 2002. Outro problema é criar áreas de conservação usando políticas que

alterem/combata/exclua a dinâmica dos incêndios naturais acarretando perda de diversidade vegetal, como ocorreu no Horto Florestal de Assis – SP (Durigan, 2016).

Sendo o Cerrado um ponto global de grande biodiversidade geral e vegetal, é possível que haja uma gama de sementes dos mais variados tamanhos, formas e cores, até mesmo entre espécimes (Mattermeier et al., 2005; Ferreira et al., 2011). Atributos anatômicos das sementes influenciam no processo de germinação, uma vez que a espessura e a constituição geral do tegumento são determinantes para a embebição (Ribeiro et al., 2015). Dessa forma, a espessura do tegumento é relacionada a dormência física (Li et al, 1999), por exemplo, que por sua vez está relacionada com a resistência ao fogo (Daibes et al., 2019).

Respostas da germinação ao fogo são mais conhecidas na região da bacia do Mediterrâneo (Herranz 1998), Austrália (Williams et al., 2003) e Califórnia (EUA) (Keeley & Bond, 1997), tanto para o fogo propriamente dito, quanto para seus produtos (cinzas e fumaça). No Brasil, experimentos com choque térmico seco indicam, em geral, a resistência às temperaturas que são passíveis de ocorrer num incêndio, no entanto sem quebra de dormência (Fichino et al., 2016; Fidelis et al., 2016; Zupo et al., 2016). No estudo realizado por Daibes et al. (2019) com 46 espécies de *Fabaceae* do Cerrado, apenas 6 tiveram a dormência física (tegumentar) quebrada após serem expostas a altas temperaturas (100°C por 3 minutos e 200°C por 1 minuto), mas a grande maioria resistiu às altas temperaturas. Dentre as seis, quatro eram do gênero *Mimosa*. Coutinho & Jurkevics (1978) registraram quebra de dormência para *Mimosa* sp. No Cerrado, o fogo também atua indiretamente na germinação, facilitando a deiscência de frutos e dispersão de sementes Coutinho (1977), agindo também como gatilho para o florescimento de várias espécies, como por exemplo *Vellozia sincorana* (Conceição & Orr, 2012).

A fumaça também pode estimular a germinação (em sementes permeáveis) através de substâncias contidas como o etileno, amônia e outras menos conhecidas, tais como componentes isolados como os butenolídeos (Van de Venter & Esterhuizen, 1988; Brown, 1993; Kulkarni et al. 2007; Flematti et al., 2004). Em espécies do Cerrado, a resposta à fumaça registrada até o presente é em geral, baixa. Fichino et al. (2016), através de seis espécies de fisionomias abertas do Cerrado relataram que nenhuma foi estimulada.

Por outro lado, Zironi et al. (2019a) mostraram o estímulo da fumaça em espécies de Melastomataceae, tal como sua interação com o choque térmico para algumas espécies. Para Velloziaceae, Zironi et al. (2019b) também registraram estímulo pela fumaça em três espécies. Egerton-Warburton (1998) demonstrou que o tratamento com fumaça foi capaz de colapsar a cutícula da semente e células da própria testa de *Emmenanthe penduliflora*, mostrando o

surgimento fissuras e sugerindo que tratamento provocou escarificação química, alterando a morfologia da semente.

Quanto à morfologia de sementes, ocorre a derivação de integumentos do óvulo para tegumentos da semente (Corner, 1976). A testa pode oferecer resistência mecânica e proteção geral para o endosperma e embrião, conferindo proteção contra parasitas e viabilidade à semente. O endosperma é o local de armazenamento de recursos nutritivos. Onde o endosperma é escasso ou ausente, o estoque fica alocado nos cotilédones do embrião (Cutter, 1987).

Pensando no estabelecimento de novas plântulas no Cerrado, será feita uma análise tecidual da semente a fim de caracterizar e elucidar a capacidade de responder a estímulos como choque térmico e solução de fumaça. A hipótese do presente trabalho é que ocorram diferenças estruturais entre sementes responsivas e não responsivas em relação à fumaça e ao choque de temperatura. Diante disso, o objetivo do trabalho foi delinear os caracteres anatômicos passíveis de serem relacionados com as respostas já conhecidas à fumaça e ao choque térmico.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

Foram utilizadas sementes de 18 espécies nativas do Cerrado coletadas por Zironi et al. (2019a e 2019b) em áreas campestres em diferentes locais: Serra do Cipó 19° 17' S, 43° 33' W; Reserva Nacional da Serra do Tombador 13° 35'–38' S, 47° 45'–51' W; Parque Estadual do Jalapão, 10° 36' S, 46° 04' W; Estação Ecológica de Itirapina, 22° 11'–22° 15' S, 47° 51'–48° 00' W; Estação Ecológica de Assis 22°33'–22°36' S; 50°22'–50°23' W. Essas sementes foram coletadas de diferentes espécies e de pelo menos 10 indivíduos por espécie a partir de diferentes populações (de acordo com Pérez-Harguindeguy *et al.* 2013). Posteriormente as sementes foram armazenadas em sacos ziplock® em local refrigerado (20°C) com umidade relativa do ar <40%.

Resultados de germinação com controle e tratamentos de choque térmico e solução de fumaça foram realizados por Zironi et al. (2019a e 2019b) estão expressos na Tabela 1. A partir de tais dados as sementes foram analisadas em lupa e microscópio eletrônico de varredura (MEV) para verificar possíveis características em comum entre os grupos testados. A partir de imagens obtidas em lupa com câmera acoplada, foi feita a medição do comprimento da semente com o software Digimizer®.

Tabela 1. Espécies estudadas, suas respectivas famílias, fisionomia de coleta e se responde à fumaça e ao choque térmico. Os traços (-) significam dados indisponíveis, a seta para baixo (↓) decréscimo da germinação após na temperatura indicada, “✓” para resposta positiva da germinação e “×” para indiferente (Zirondi *et al.*, 2019a e b, Motta, 2021). EEA= Estação Ecológica de Assis; EEI = Estação Ecológica de Itirapina; RNST = Reserva Nacional da Serra do Tombador; PNSC = Parque Nacional da Serra do Cipó; PEJ = Parque Estadual do Jalapão.

Espécie	Família	Coleta	Local	Fisionomia	Fumaça	Choque
<i>Acisanthera alsinaefolia</i>	Melastomataceae	jan/20	EEA	Campo sujo	↓	-
<i>Cambessedesia hilariana</i>	Melastomataceae	set/15	EEI	Campo sujo	✓	×
<i>Microlicia</i> sp.	Melastomataceae	jul/16	PNSC	C. rupestre	✓	×
<i>Pleroma cardinale</i>	Melastomataceae	fev/15	EEI	C. rupestre	✓	×
<i>Pleroma frigidula</i>	Melastomataceae	set/15	EEI	Campo sujo	×	×
<i>Pleroma stenocarpum</i>	Melastomataceae	set/15	EEI	Campo sujo	×	×
<i>Stenodon campestre</i>	Melastomataceae	out/19	RNST	Campo sujo	×	-
<i>Tibouchina melastomoides</i>	Melastomataceae	set/15	RNST	Campo sujo	✓	×
<i>Vellozia albiflora</i>	Velloziaceae	fev/15	PNSC	C. rupestre	✓	200°C↓
<i>Vellozia compacta</i>	Velloziaceae	fev/15	PNSC	C. rupestre	✓	200°C↓
<i>Vellozia glochidea</i>	Velloziaceae	jul/14	RNST	Campo sujo	✓	×
<i>Vellozia goiasensis</i>	Velloziaceae	jul/14	PEJ	C. rupestre	✓	200°C↓
<i>Vellozia seubertiana</i>	Velloziaceae	jul/14	PEJ	Campo sujo	✓	×
<i>Vellozia squamata</i>	Velloziaceae	mai/14	RNST	C. Rupestre	✓	×
<i>Vellozia variabilis</i>	Velloziaceae	mai/15	PNSC	C.rupestre	×	200°C↓
<i>Xyris hilariana</i>	Xyridaceae	ago/19	PNSC	Campo sujo	×	-
<i>Xyris jupicai</i>	Xyridaceae	fev/20	EEA	Campo sujo	×	-
<i>Xyris paradisiaca</i>	Xyridaceae	out/18	RNST	Campo úmido	✓	-

Microscopia Eletrônica de Varredura

A análise ultraestrutural da superfície e da espessura do tegumento das 18 espécies foi realizada através de técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do departamento de Física e Química da FEIS, de modo a comparar o tegumento de espécies responsivas e não responsivas à fumaça e ao choque de temperatura de acordo com a Tabela 1. Para tanto, as amostras com cinco sementes foram fixadas em Karnovsky (Karnovsky, 1965), desidratadas em série etílica, seguida de desidratação por ponto crítico de CO₂ Leica EM CPD300 e as cinco foram destinadas à mensuração de espessura tegumentar foram partidas ao meio transversalmente com navalha. As amostras foram

fixadas em suportes de alumínio por meio de fita condutiva de carbono, metalizadas com ouro de 30 a 40 nm no Quorum Q150T E e analisadas ao microscópio eletrônico EVO LS15 da Carl Zeiss

Microscopia de luz

As análises anatômicas foram realizadas nas sementes das espécies citadas acima. As amostras foram fixadas em Karnovsky (Karnovsky, 1965). Para melhor fixação, as amostras foram levadas a uma bomba de vácuo para a retirada do ar contido nos tecidos. Posteriormente, as amostras foram incluídas em hidróxi-etil-metacrilato (LeicaHistoresin) e os blocos obtidos seccionados em micrótomo rotativo na espessura de 2 a 5 μm .

Para a coloração do material foi utilizado o corante Azul de Toluidina 0,05% em tampão fosfato e ácido cítrico pH entre 4,5-6,0 (Sakai, 1973), e as lâminas foram montadas com resina sintética “Entellan”.

As fotomicrografias dos materiais preparados em lâminas foram feitas em fotomicroscópio Zeiss Primo Star com a câmera AxioCam ERc5s acoplada e com as escalas micrométricas fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas a serem utilizadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes foram agrupadas considerando tais descrições na Tabela 2, de forma a comparar os caracteres das sementes de espécies que respondem à fumaça e ao choque térmico (Figs. 1 a 9). A morfologia das espécies de Melastomataceae mostra sementes cujo tegumento apresenta cores variando entre amarelo, bege, alaranjado e marrom (Fig. 1). São curvadas, o que reflete na curvatura do embrião que ocupa todo o interior da semente (Fig. 8A - I).

Tabela 2. Médias de comprimento e de espessura do tegumento com o respectivo erro padrão; características morfológicas externas das sementes de Melastomataceae, Velloziaceae e Xyridaceae.

Espécie	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Esp. Tegumento (μm)	Características morfológicas
<i>Acisanthera alsinaefolia</i>	0,66 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,03	49,44 $\pm$ 2,20	Alongada, foveolada com poros, hilo aproximadamente terminal.
<i>Cambessedesia hilariana</i>	0,72 $\pm$ 0,01	0,33 $\pm$ 0,008	28,33 $\pm$ 3,33	Alongada, papilada e hilo terminal.
<i>Microlicia</i> sp.	0,76 $\pm$ 0,01	0,44 $\pm$ 0,008	50,75 $\pm$ 3,68	Alongada, foveolada com poros, hilo terminal.
<i>Pleroma cardinale</i>	0,67 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,01	15,37 $\pm$ 1,51	Cócleo-alongada, muriculadas, hilo terminal.
<i>Pleroma frigidula</i>	0,54 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,008	12,38 $\pm$ 1,0	Alongada. Varia de papilada a muriculada na mesma semente. Hilo alongado longitudinalmente.
<i>Pleroma stenocarpum</i>	0,63 $\pm$ 0,01	0,3 $\pm$ 0,008	12,15 $\pm$ 1,25	Alongada, muriculada, podendo ser papilada em algumas regiões. Hilo terminal.
<i>Stenodon campestre</i>	1,05 $\pm$ 0,0	0,52 $\pm$ 0,01	39,99 $\pm$ 4,01	Alongada, foveolada, com uma cicatriz alongada (possível hilo) e outra terminal (possível micrópila).
<i>Tibouchina melastomoides</i>	1,26 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,01	49,32 $\pm$ 7,35	Cocleada, papilada, hilo terminal.
<i>Vellozia albiliflora</i>	2,08 $\pm$ 0,08	1,46 $\pm$ 0,07	26,26 $\pm$ 2,96	Angulada.
<i>Vellozia compacta</i>	1,4 $\pm$ 0,0	1,01 $\pm$ 0,05	19,52 $\pm$ 0,98	Angulada, hilo depressionado.
<i>Vellozia glochidea</i>	1,61 $\pm$ 0,0	1,07 $\pm$ 0,07	33,56 $\pm$ 4,8	Angulada, concavidades superficiais.

<i>Vellozia goiasensis</i>	2,42±0,11	1,71±0,09	32,04±3,80	Angulada.
<i>Vellozia seubertiana</i>	2,78±0,13	2,39±0,14	42,83±3,89	Angulada.
<i>Vellozia squamata</i>	1,96±0,11	1,26±0,07	34,08±6,66	Angulada, hilo depressionado.
<i>Vellozia variabilis</i>	1,10±0,09	0,87±0,02	27,17±3,10	Angulada, concavidades superficiais, hilo depressionado.
<i>Xyris hilariana</i>	0,40±0,01	0,19±0,00	6,96±0,80	Ovoide com cristas longitudinais suaves, estrias longitudinais inconspícuas e hilo terminal.
<i>Xyris jupicai</i>	0,51±0,009	0,24±0,00	5,38±0,39	Elipsoidal com cristas longitudinais moniliformes, estrias longitudinais conspícuas e hilo terminal.
<i>Xyris paradisiaca</i>	0,66±0,006	0,32±0,00	6,29±0,52	Oblonga com cristas longitudinais suaves estrias longitudinais conspícuas e hilo terminal.



Figura 1. Morfologia externa de sementes sem tratamento. Melastomataceae: A-H. Velloziaceae: I. Formato alongado: A, B, C, E, F. Cócleo-alongado: D. Cocleado: H. Angulado: I. *Acisanthera alsinaeflora* (A), *Cambessedesia hilariana* (B), *Microlicia* sp. (C), *Pleroma cardinale* (D), *Pleroma frigidula* (E), *Pleroma stenocarpum* (F), *Stenodon* sp (G), *Tibouchina melastomoides* (H), *Vellozia albiliflora* (I).

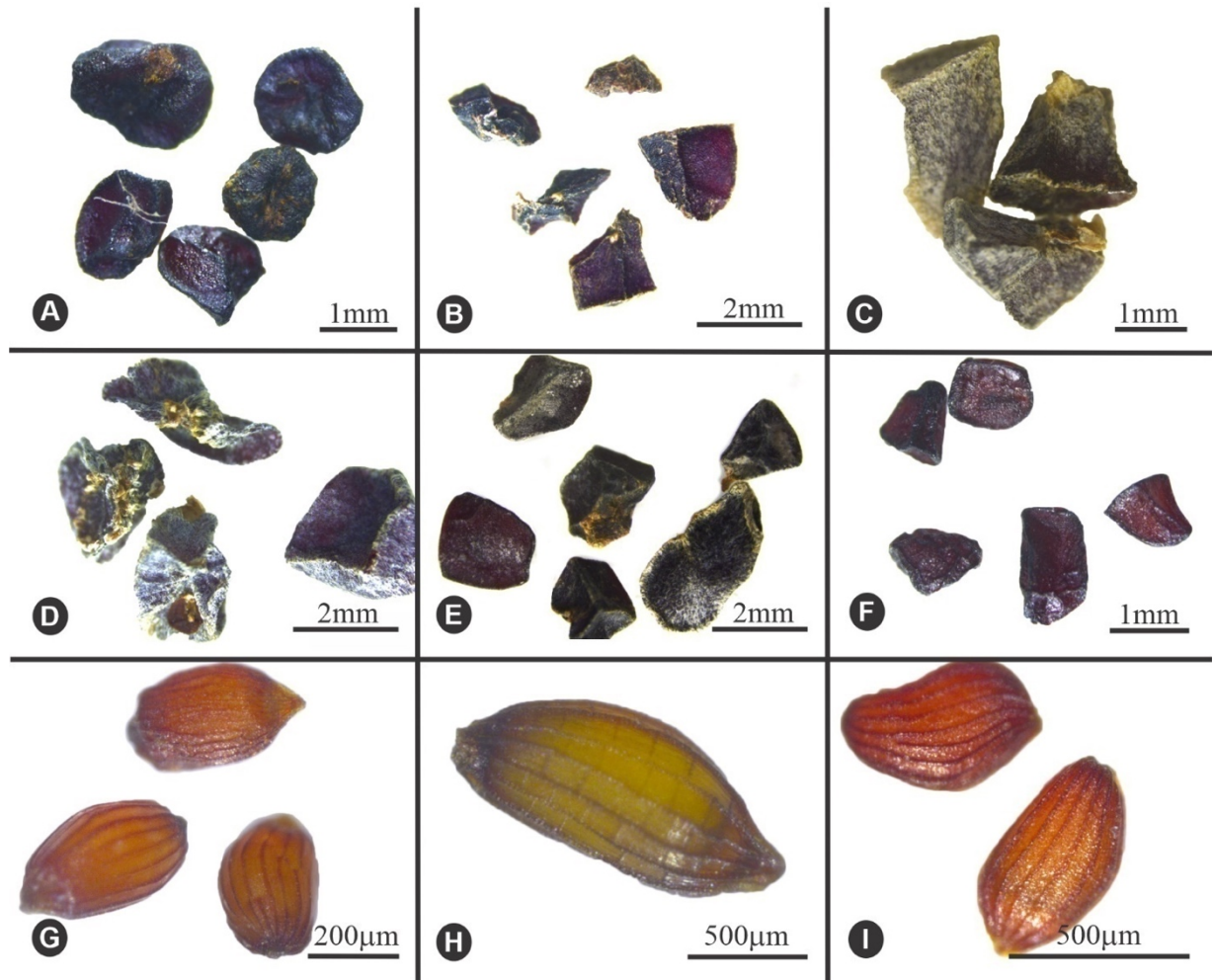


Figura 2. Morfologia externa de sementes sem tratamento. Velloziaceae: A-F. Xyridaceae: G-I. Fomato angulado: A-F. Ovoide: G. Elipsoidal: H. Oblongo: I. *Vellozia compacta* (A), *Vellozia glochidea* (B), *Vellozia goiasensis* (C), *Vellozia seubertiana* (D), *Vellozia squamata* (E), *Vellozia variabilis* (F), *Xyris hilariana* (G), *Xyris jupicai* (H), *Xyris paradisiaca* (I).

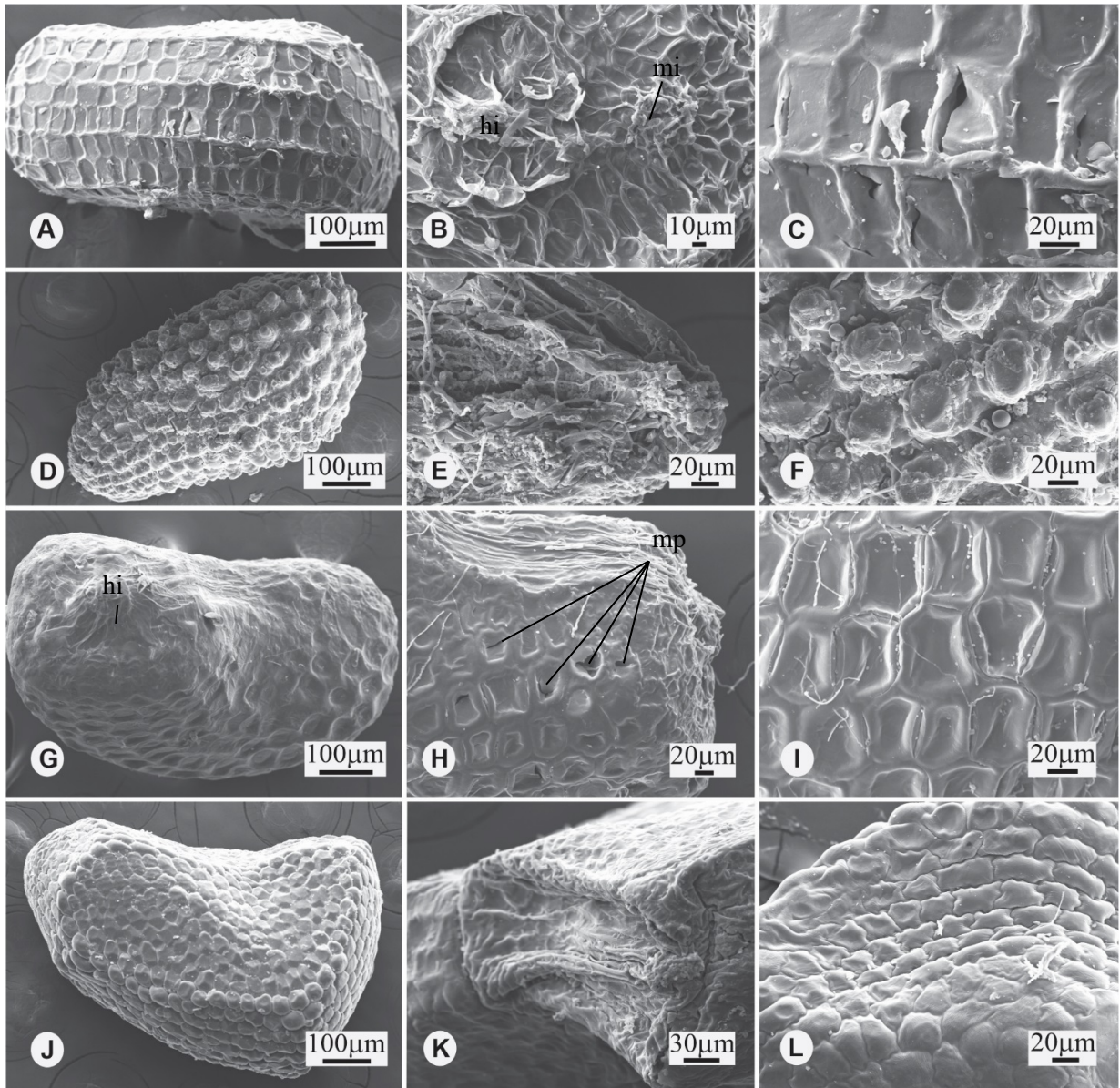


Figura 3. Eletromicrografia de varredura de sementes de Melastomataceae. *Acisanthera alsinaeflora* (A, B, C), *Cambessedesia hilariana* (D, E, F), *Microlicia* sp. (G, H, I), *Pleroma cardinale* (J, K, L). A, D, G, J: visão geral da semente inteira. B, E, H, K: região hilar. C, F, I, L: detalhes do tegumento. Mp = microporos; hi = hilo; mi = micropila

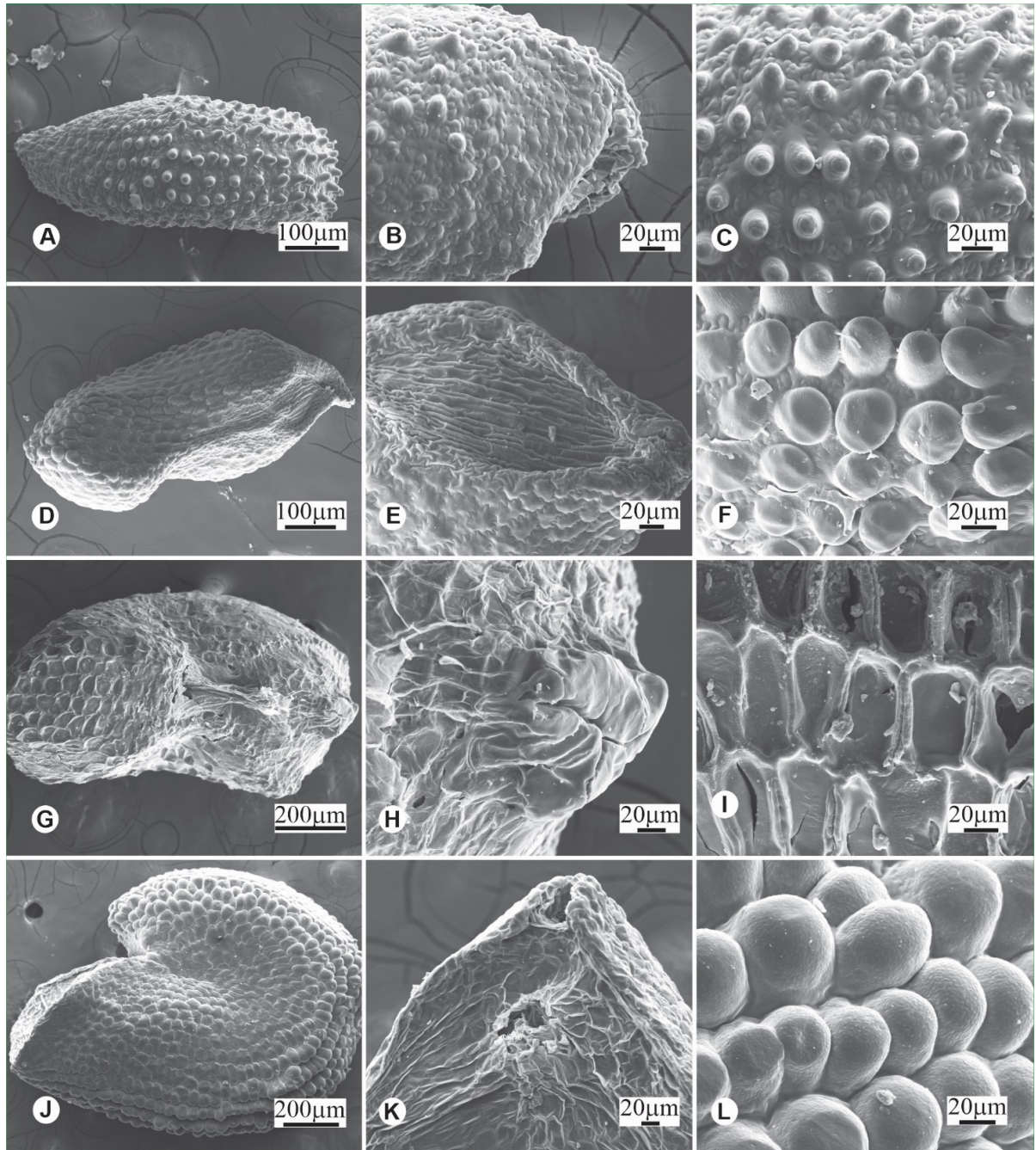


Figura 4. Eletromicrografia de varredura de sementes de Melastomatacae. *Pleroma frigidula* (A, B e C), *Pleroma stenocarpum* (D, E, F), *Stenodon* sp. (G, H, I), *Tibouchina melastomoides* (J, K, L). (G, H, I), *Pleroma cardinale* (J, K, L). A, D, G, J: visão geral da semente inteira. B, E, H, K: região hilar. C, F, I, L: detalhes do tegumento.

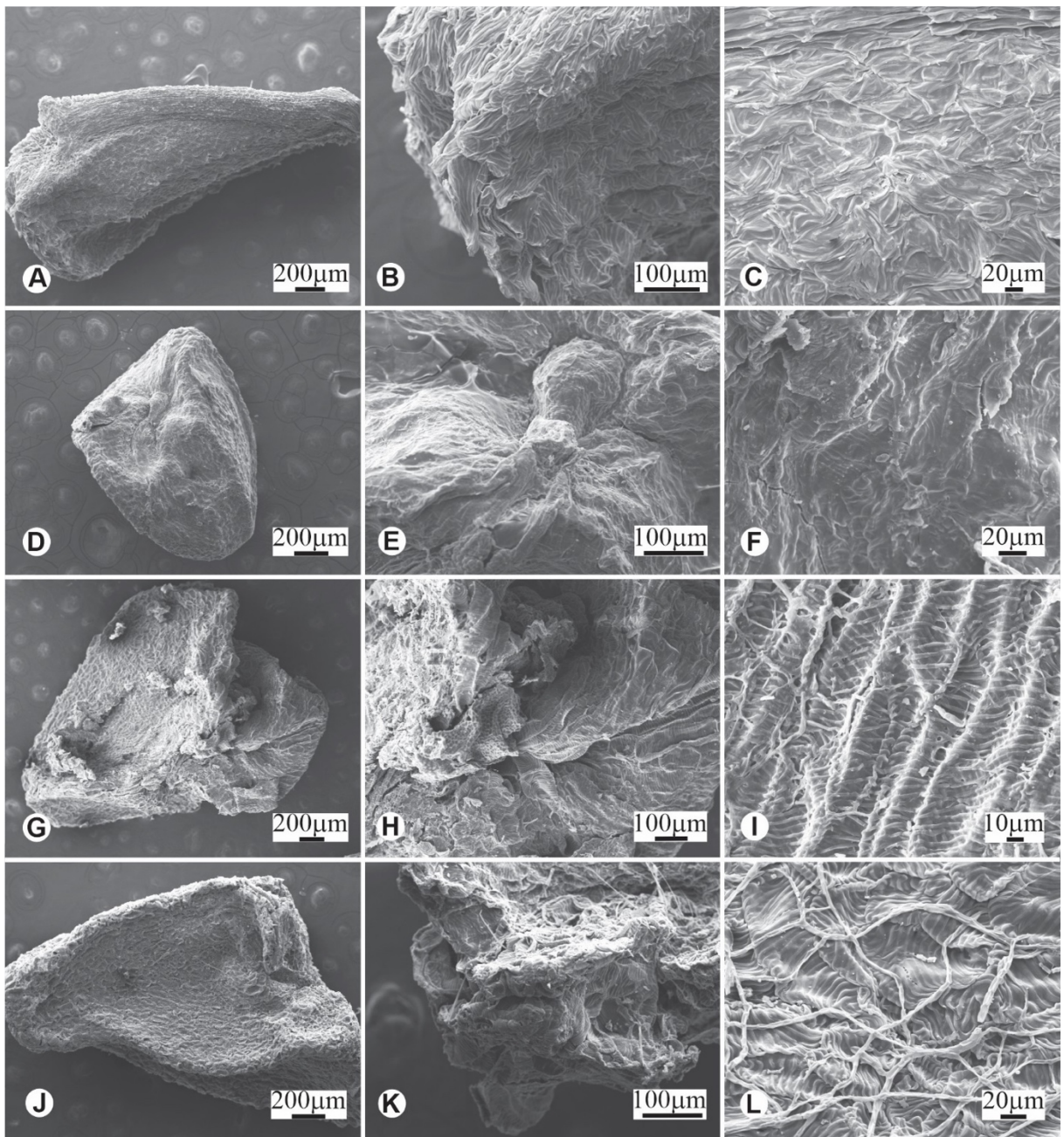


Figura 5. Eletromicrografia de varredura de sementes de *Vellozia albiliflora* (A, B, C), *Vellozia compacta* (D, E, F), *Vellozia glochidea* (G, H, I), *Vellozia goiasensis* (J, K, L). A, D, G, J: visão geral da semente inteira. B, E, H, K: região hilar. C, F, I, L: detalhes do tegumento.

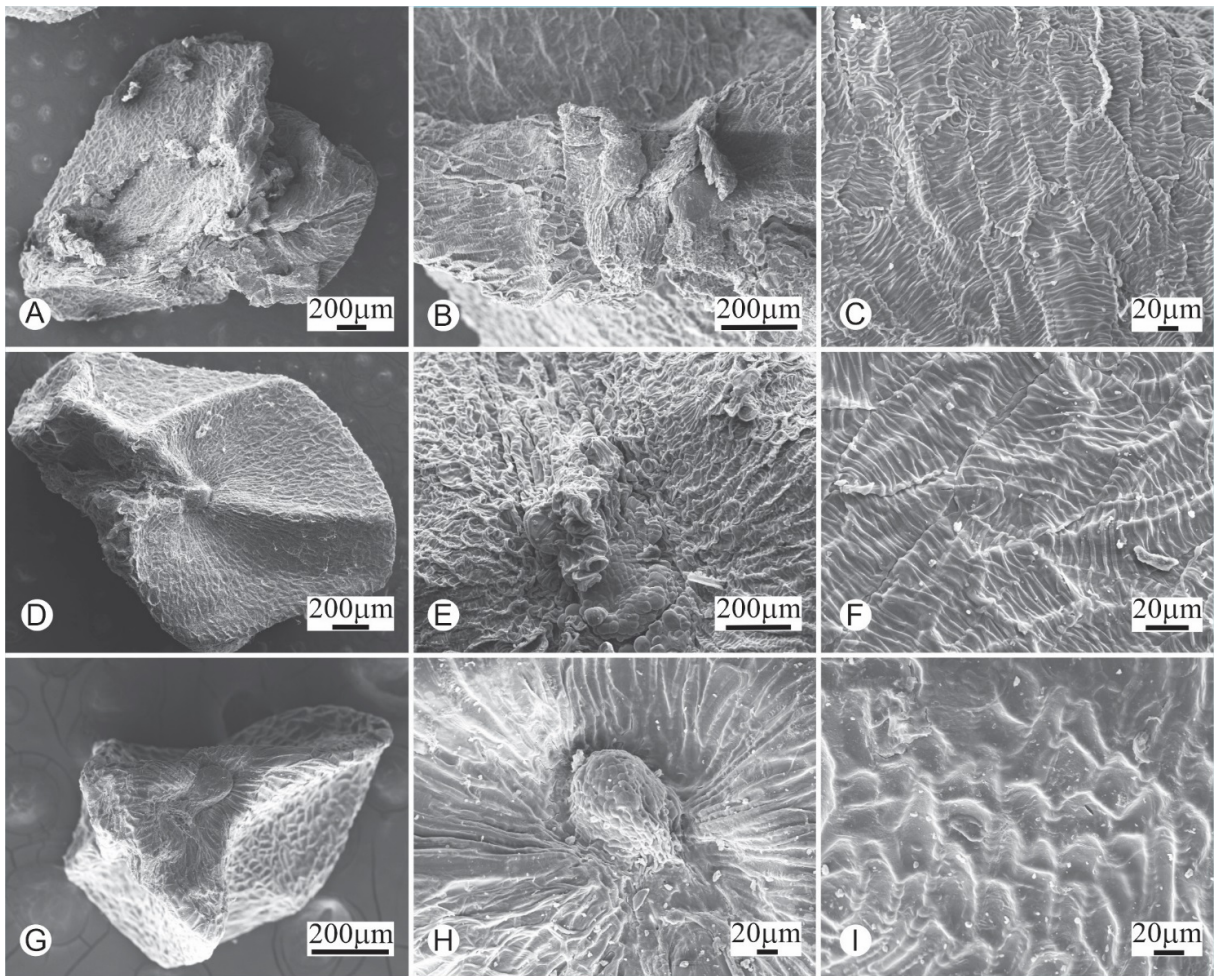


Figura 6. Eletromicrografia de varredura de sementes de *Vellozia seubertiana* (A, B, C), *Vellozia squamata* (D, E, F), *Vellozia variabilis* (G, H, I). A, D, G: visão geral da semente inteira. B, E, H: região hilar. C, F, I: detalhes do tegumento.

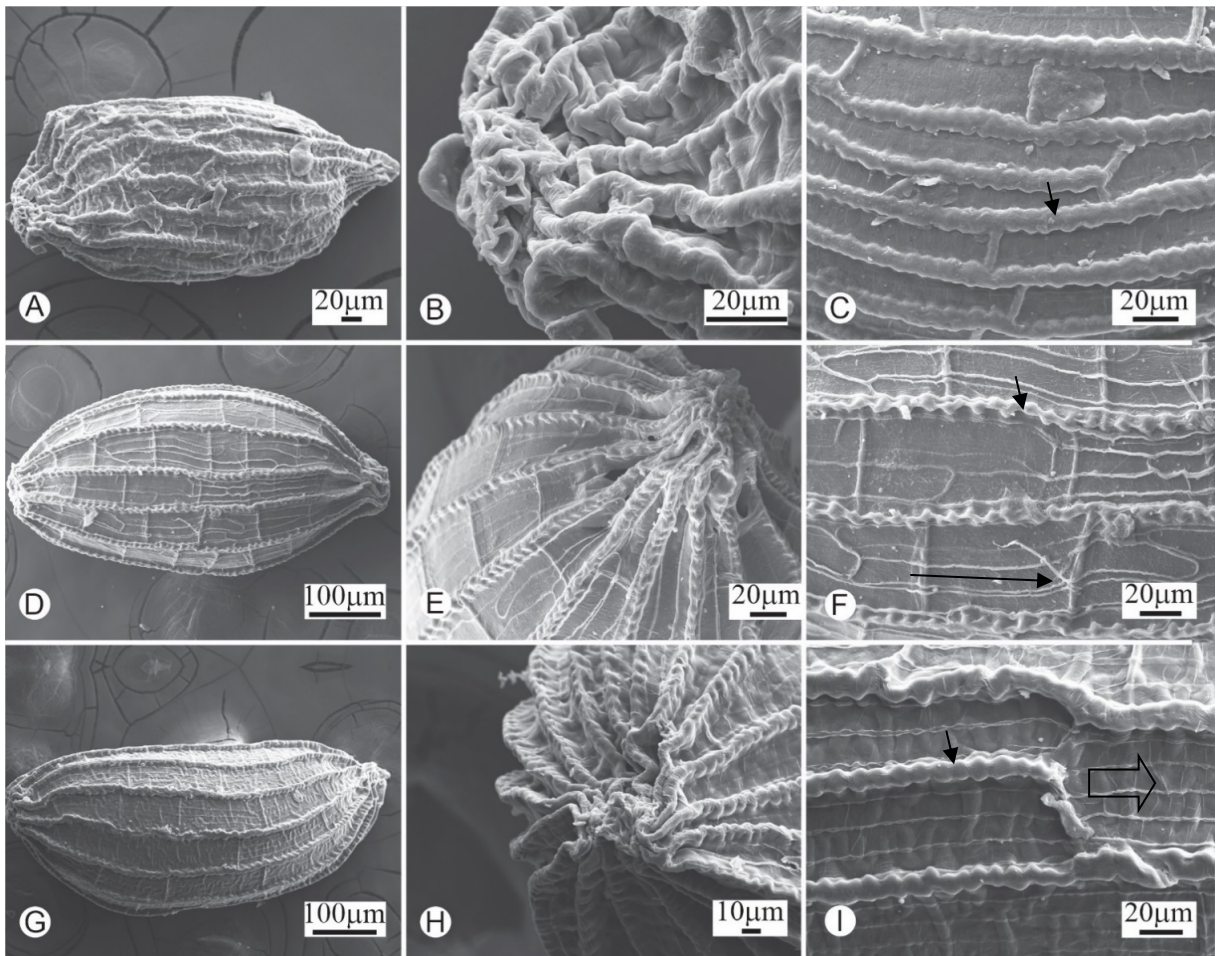


Figura 7. Eletromicrografia de varredura de sementes de *Xyris hilariana* (A, B, C), *Xyris jupicai* (D, E, F), *Xyris paradisiaca* (G, H, I). A, D, G: visão geral da semente inteira. B, E, H: região hilar. C, F, I: detalhes do tegumento. C, I = crista suave, F = cista moliniforme. Seta curta = crista longitudinal conspícua; seta longa = estria transversal, seta grossa = estria transversal conspícua

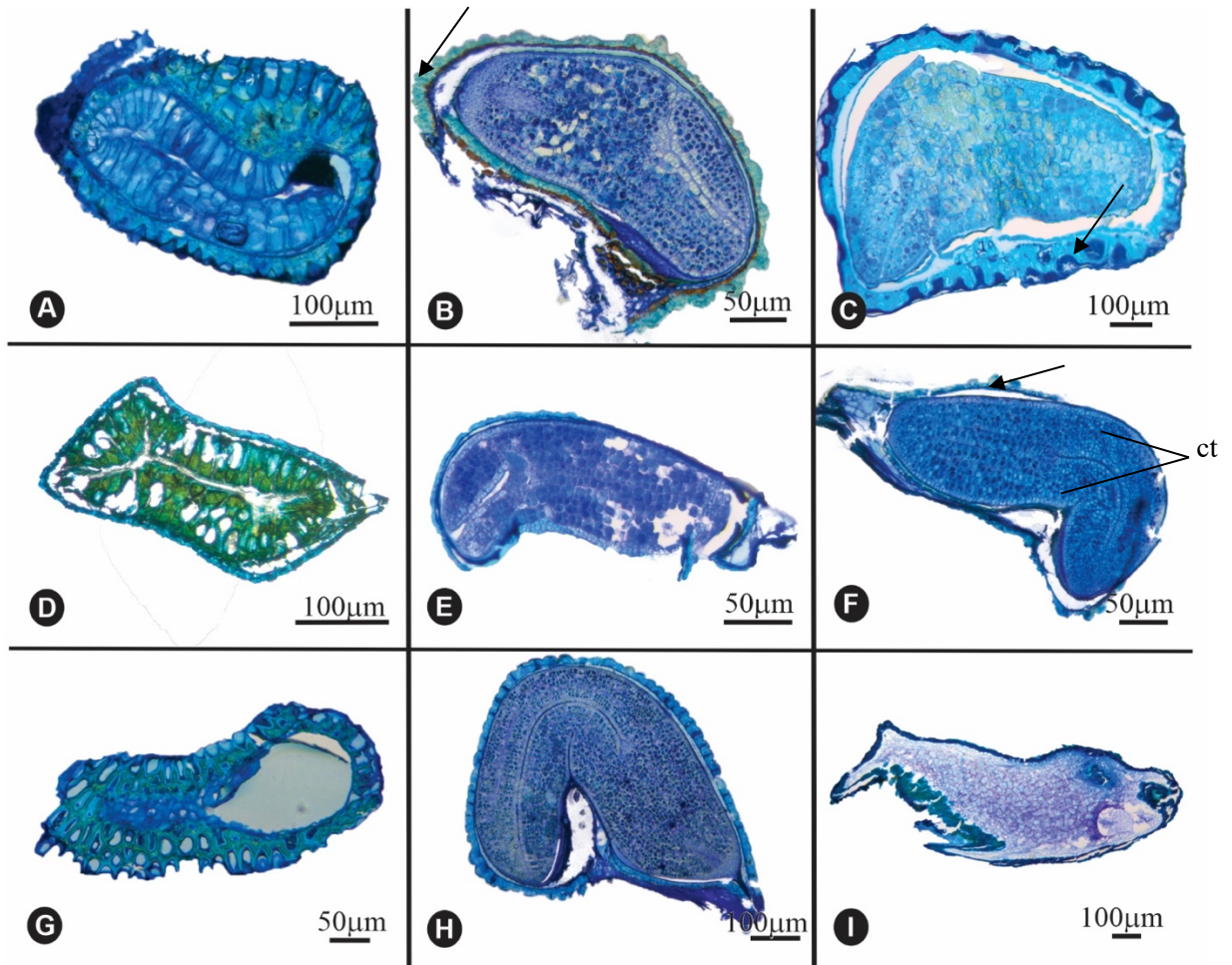


Figura 8. Anatomia sementes coradas com azul de toluidina. *Acisanthera alsinaeflora* (A), *Cambessedesia hilariana* (B), *Microlicia* sp. (C), *Pleroma cardinale* (D), *Pleroma frigidula* (E), *Pleroma stenocarpum*(F), *Stenodon* sp (G), *Tibouchina melastomoides*(H), *Vellozia albiliflora* (I). Seta = tegumento; ct = cotilédones.

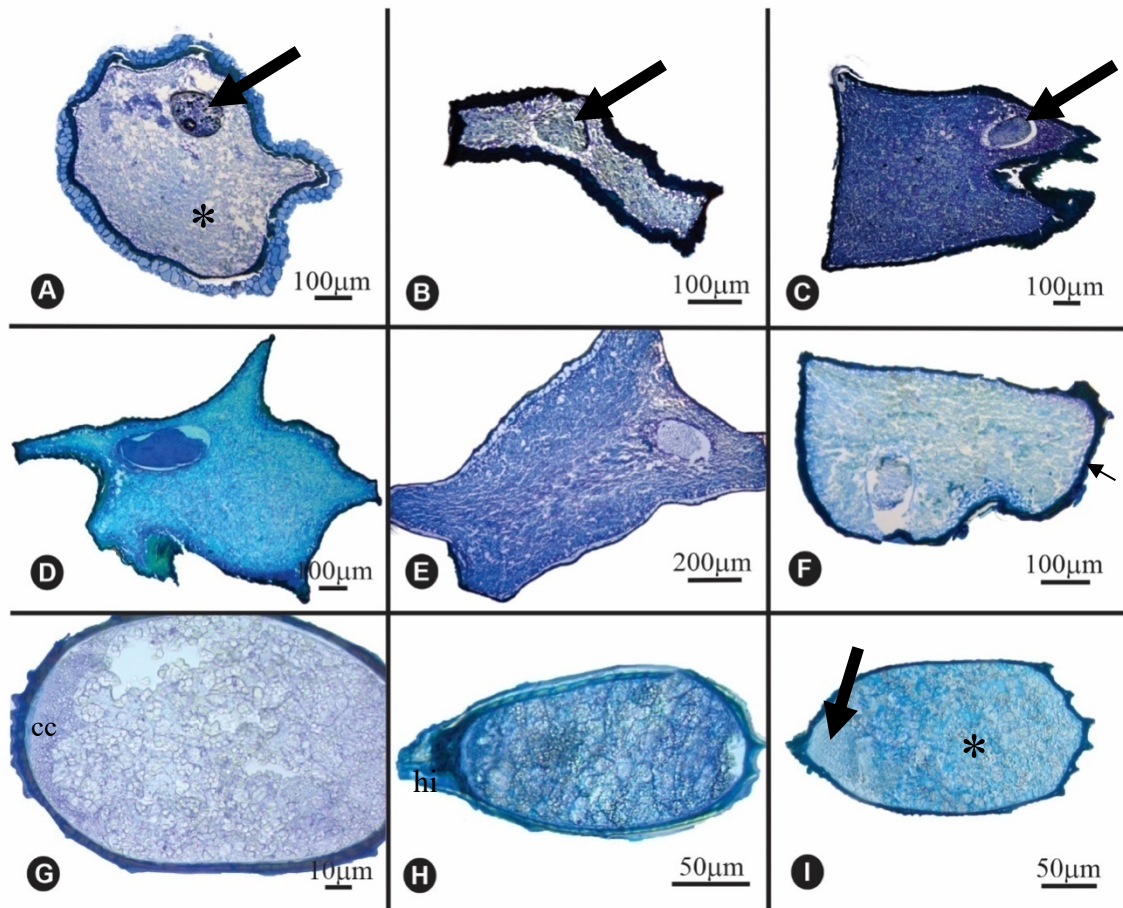


Figura 9. Morfologia interna de sementes coradas com azul de toluidina. *Vellozia compacta* (A), *Vellozia glochidea* (B), *Vellozia goiasensis*, *Vellozia seubertiana* (D), *Vellozia squamata* (E), *Vellozia variabilis* (F), *Xyris hilariana* (G), *Xyris jupicai* (H), *Xyris paradisiaca* (I). Seta grossa = embrião; asterisco = endosperma; seta fina = tegumento; cc = câmara chalazal; hi = hilo

A textura das sementes também pode ser notada, principalmente as papiladas (Fig. 1B, D, F, H), assim como o formato. Já as análises em MEV evidenciam mais detalhes do tegumento, revelando os morfotipos e mais detalhes sobre como a textura muda por toda a semente, podendo ser mais ou menos pronunciada (Fig. 4B e C; E e F). Na segunda coluna aparecem detalhes mais distintos, o que pode ser o hilo ou reentrâncias como em Fig. 4B e E, contando com um aumento de 800x e na última coluna detalhes de uma região do tegumento num aumento de 1000x.

Todas as oito espécies de Melastomataceae deste trabalho têm formato elíptico e a maioria apresenta uma região diferenciada no tegumento que aparenta ser o hilo. De acordo com Martin & Michelangeli (2009), após análise de sementes de 79 espécies da mesma família, observaram sementes globosas ou piramidais e todas foram caracterizadas com o hilo direcionado para dentro da semente, não sendo possível detectar em imagens de MEV. Ainda segundo os mesmos autores o tamanho médio das sementes é diminuto chegando no máximo até 2,4 mm. As sementes de Melastomataceae deste trabalho não chegam a 1,5 mm de comprimento e largura entre 0,3 e 0,9 mm (Tab. 2). A espessura do tegumento ficou entre 12 a 49 μm , sendo comum a variação da espessura ao longo do tegumento nas amostras, o que foi demonstrado pelo erro padrão (Tab. 2)

Whitffin & Tomb (1972) descreveram cinco morfotipos de sementes na família, entre eles o “microlicioide” em referência ao gênero *Microlicia*, caracterizado por sementes levemente alongadas e curvadas ou cocleadas (em alusão à cóclea do ouvido interno). O hilo é normalmente terminal ou subterminal. Os autores ressaltam que a principal característica desse morfotipo são as células “foveoladas” da testa, que formam micro depressões no tegumento externo. Martin & Michelangeli (2009) chamaram tais depressões no tegumento de pontoações crateriformes. Neste trabalho, podemos classificar como ‘microlicioide’ as espécies *Acisanthera alsinaeflora* (Fig. 3A, B, C), *Microlicia* sp. (Fig. 3G, H, I) e *Stenodon* sp. (Fig. 4G, H, I).

Outro morfotipo descrito por Whitffin & Tomb (1972) é o ‘tibouchinoide’, em referência ao gênero *Tibouchina*. É um tipo cocleado e mais alongado (alguns autores definem como cócleo-alongado). No presente estudo (Tabela 2) o termo cócleo-alongado é designado a espécies que não tem um formato coclear clássico como na Fig. 3J, mas que apresentam um certo grau de curvatura, como em Fig. 1 J e tuberculados, com tubérculos muito ou pouco pronunciados. Whitffin & Tomb (1972) definem como tubérculo as projeções do tegumento da semente. Os autores ainda subdividem tal morfotipo (tuberculado) em papilado (Fig. 3. F; Fig. 4C, F e L) e muriculado (pouco a densamente sinuoso) (Fig. 3L), sendo cada tubérculo formado por uma célula. Podemos classificar como ‘tibouchinoide’ as espécies ainda não citadas:

Cambessedesia hilariana (Fig. 3D, E, F), *Pleroma cardinale* (Fig. 3J, K, L), *Pleroma frigidula* (Fig. 4A, B, C), *Tibouchina melastomoides* (Fig. 4J, K, L). Nas imagens da Fig. 3C, H e Fig. 4I também é possível notar a presença de poros.

Nas espécies de Melastomataceae houve um decréscimo na germinação para *A. alsinaeflora* (Zirondi et al. 2019a) (Tab. 1). Não foi identificado nada que justifique essa resposta, já que a morfologia é descrita como alongada, foveolada com poros, muito parecida com a de *Microlicia* sp. (que teve a resposta oposta) inclusive em tamanho e espessura do tegumento (Tab. 2). Quatro espécies tiveram aumento na germinação: *C. hilariana*, *Microlicia* sp., *P. cardinale* e *T. melastomoides* (Tab. 1), havendo diferenças no tegumento de cada uma delas, já que uma tem o tegumento papilado, outra muriculado e a terceira papilado/muriculado e a última papilado, mas a forma é cocleada (Tab. 2). Três não tiveram influência da fumaça: *Pleroma frigidula*, *Pleroma stenocarpum* e *Stenodon campestre* (Tab. 1) com características muito parecidas com as espécies anteriores (Tab. 2). Nenhuma espécie teve a germinação prejudicada pelo choque térmico.

Aspectos morfológicos de *Vellozia* aparecem nas Figs. 1 e 2. Podemos notar que a variação interespecífica é baixa, tendo as sementes poucas diferenças morfológicas, mas que varia bastante dentro da espécie. A descrição anatômica e morfológica disponível para sementes para a família Velloziaceae é escassa. O trabalho de Ayensu (1973) descreve aspectos biológicos e morfológicos da família e apresenta imagens de microscopia eletrônica das sementes, porém não descreve morfológicamente as sementes. O que podemos observar tanto para as espécies apresentadas por Ayensu (1973) quanto às deste estudo, são sementes anguladas nas mais variadas formas e algumas vezes tendendo a piramidais. O embrião é globular a elipsoide, como relatado por (Silva, 2013) (Fig. 7, 8 e 9). O tegumento parece ter uma dupla camada conforme o “*Vellozia* type 1” de Souza-Baena & Menezes (2014).

O comprimento das sementes de *Vellozia* deste trabalho variou entre 1,1 e 2,8 mm e a largura entre 0,8 e 2,3 mm; quanto ao tegumento a espessura ficou entre 19,5 e 42,8 (Tab. 2). Escolhemos definir apenas como angulada a forma (Fig. 1 e 2). Há uma variação morfológica externa por semente muito grande em cada semente, mudando abruptamente a forma e dimensão, mas a notável angulação que parece ser característica do gênero. O hilo às vezes é visível em regiões aleatórias, mas pode ser observado dentro de depressões, o que no presente estudo denominamos de “hilo depressionado” (Fig. 5D e E). As células da testa são ausentes de papila e em alguns casos com concavidades superficiais.

Sementes de *Xyris* são as menores deste trabalho, de cores alaranjadas e amareladas, sendo a zona de estrias longitudinais mais escuras devido a uma maior espessura do tegumento nessas regiões. A tonalidade entre as espécies varia um pouco. O formato entre as espécies do

gênero é muito parecido com as extremidades proeminentes (Fig. 2G, H, I).

A MEV revelou aspectos anatômicos com muito mais detalhes (Fig. 7), principalmente das estrias transversais inconspícuas e as estrias transversais pouco visíveis ou invisíveis em lupa (transversais visíveis na Fig. 2H), trazendo à tona caracteres taxonômicos (Nardi et al. 2016). *Xyris hilariana* não apresentou estrias transversais inconspícuas, mas sim transversais conspícuas, o que não é visto nas outras duas (Fig. 7C).

Quanto às respotas germinativas, dentro de gênero *Vellozia* houve 4 de 7 espécies que sofreram quedas na porcentagem de germinação da temperatura de 200°C e dentre elas percebemos que as que foram prejudicadas têm um tegumento mais fino do que as que não foram (Tab. 2). Para a fumaça não houve a mesma relação com a espessura, todas responderam positivamente, exceto *V. squamata*, que não possui diferenças morfológicas significativas para nortear tal resposta.

Nardi et al. (2016) descreveram quatro formas de sementes para *Xyris*. Assim, é possível diagnosticar a forma elipsoidal para *Xyris jupicai* (Fig. 7D), oblonga para *Xyris paradisica* (Fig. 7G) e ovoide para *Xyris hilariana* (Fig. 7A). Uma característica do tegumento de sementes do gênero *Xyris* são as cristas longitudinais, como observado no presente estudo (Figs. 7C, F, I) e em estudos de Rudall & Sajo MG (1999). Nardi et al. (2016) também definiram quatro classificações para as cristas, no presente estudo identificamos duas: a suave com reentrâncias laterais sutis, (Fig. 7C e I) e a moniliforme, com regiões bem mais estreitas alternadas com regiões mais dilatadas (Fig. 7F).

Além das cristas, há estrias tanto longitudinais como transversais que variam entre conspícuas e inconspícuas. A anatomia interna de *Xyris* é descrita por Nardi et al. (2015), mostrando o embrião muito reduzido e afunilado, alocado no lado oposto ao hilo sobre uma estrutura, oriunda dos integumentos internos e externos, denominada opérculo. O comprimento em *Xyris* é de apenas 0,4 a 0,67 mm, a largura entre 0,2 e 0,3. A espessura do tegumento foi aferida entre as cristas longitudinais e ficou entre 5,4 e 7 µm (Tab. 2). Nas regiões da crista espessura pode mais que dobrar, mas ainda sendo muito mais tênue que nas demais espécies.

Quanto a aspectos internos corados com azul de toluidina, constata-se uma coloração mais escura no tegumento, o que representa uma grande concentração de lignina (O'Brien & McCullen, 1964). O mesmo se aplica para as paredes celulares do interior das sementes. Melastomataceae tem uma exotesta com uma cor turquesa, indicando a presença de compostos fenólicos (Fig. 8), fator que contribuiu para a dormência física em *Chaetostoma armatum* (Ribeiro et al., 2015). Nesta família, no embrião é possível enxergar os dois cotilédones. Ademais, também podemos observar o interior das células do embrião coradas, uma indicação de ácidos nucleicos, como na Fig 8B. E, F e H (O'Brien & McCullen, 1964).

O embrião do gênero *Vellozia* é muito pequeno, globular a elipsoidee com um único cotilédone rodeado por endosperma e por duas camadas de tegumento conforme mostrado também por Silva, 2013. *Xyris* também possui um único cotilédone, está alocado na extremidade da semente sendo muitas vezes difícil sua localização e determinação. Oliveira-Nardi, 2016 mostra o embrião ao lado do hilo e a câmara chalazal do lado oposto, que provavelmente está representada na Fig. 9G.

CONCLUSÃO

O estudo mostrou com detalhes a morfologia das espécies, atribuindo a elas características de acordo com as que já foram previamente descritas para as sementes da família Melastomataceae, que possui grandes diferenças morfológicas pela sua forma que pode ser denominada cocleada, cócleo-alongada e alongada, seu tegumento foveolado, muriculado ou papilado e pela localização do hilo. Os embriões de Melastomataceae têm dois cotilédones e a semente aparenta ter um único tegumento e é dotado de compostos fenólicos.

O gênero *Vellozia* tem em comum a angulação nas sementes, com sutis diferenças na textura do tegumento, só visível através de MEV. A coloração das sementes do gênero a olho nu pode variar, mas ainda é bastante difícil a distinção, já a espessura do tegumento parece ter um efeito na resposta ao choque térmico, sendo os mais finos mais vulneráveis, além disso também denota uma grande concentração de lignina devido à coloração escura do tegumento. O embrião é monocotiledonar, circular e diminuto.

Espécies de *Xyris* também têm grandes nuances quanto às formas descritas (elipsoidal, ovoide e oblonga), com pouca diferença morfológica, sendo apenas detectada pelas cristas e estrias do tegumento. O embrião pode ter uma forma triangular por ficar comprimido na extremidade cônica da semente, rente ao hilo e oposta à câmara calazal. Com exceção para a espessura do tegumento em *Vellozia*, os demais atributos morfológicos e anatômicos não tiveram relação direta com as respostas ao fogo e à fumaça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R. J. V.; KOLBEK, J. Plant species endemism in savanna vegetation on table mountains (Campo Rupestre) in Brazil. **Vegetatio**, v. 113, n. 2, p. 125-139, 1994.
- AMEN, Ralph D. A model of seed dormancy. **The Botanical Review**, v. 34, n. 1, p. 1-31, 1968.
- AYENSU, Edward S. Biological and morphological aspects of the Velloziaceae. **Biotropica**, p. 135-149, 1973.

BARGMANN, Tessa; MAAREN, Inger E.; VANDVIK, Vigdis. Life after fire: smoke and ash as germination cues in ericads, herbs and graminoids of northern heathlands. **Applied vegetation science**, v. 17, n. 4, p. 670-679, 2014.

BARROSO, G. M. et al. Frutos e sementes: Morfologia aplicada a sistemática. **Viçosa: Editora UFV**, 1999.

BASKIN, Carol C.; BASKIN, Jerry M. **Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination**. Elsevier, 1998.

BASKIN, Jerry M.; BASKIN, Carol C. A classification system for seed dormancy. **Seed science research**, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2004.

BASKIN, Jerry M.; BASKIN, Carol C.; LI, Xiaojie. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. **Plant species biology**, v. 15, n. 2, p. 139-152, 2000.

BECQUER, Eldis R.; MICHELANGELI, Fabian A.; BORSCH, Thomas. Comparative seed morphology of the Antillean genus *Calycogonium* (Melastomataceae: Miconieae) as a source of characters to untangle its complex taxonomy. **Phytotaxa**, v. 166, n. 4, p. 241-258, 2014.

BATALHA, Marco Antônio. O cerrado não é um bioma. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 21-24, 2011.

BRADFORD, Kent J. Water relations in seed germination. In: **Seed development and germination**. Routledge, 2017. p. 351-396.

BROWN, N. A. C. Promotion of germination of fynbos seeds by plant-derived smoke. **New Phytologist**, v. 123, n. 3, p. 575-583, 1993.

CONCEIÇÃO, Abel Augusto; ORR, Barron J. Post-fire flowering and fruiting in *Vellozia sincorana*, a caulescent rosette plant endemic to Northeast Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 26, p. 94-100, 2012.

CORNER, E.J.H. The seeds of dicotyledons. Cambridge: Cambridge University. Press, 1976. v.1, p.232-237.

COUTINHO, Leopoldo Magno. Aspectos ecológicos do fogo no cerrado. II - As queimadas e a dispersão de sementes em algumas espécies anemocóricas do estrato herbáceo-subarbustivo/ecological aspects of fire in the cerrado. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, p. 57-63, 1977.

COUTINHO, Leopoldo Magno. O conceito de bioma. **Acta botanica brasílica**, v. 20, p. 13-23, 2006.

COUTINHO, Leopoldo Magno. Fire in the Ecological Studies ecology of the Brazilian Cerrado. In Goldammer, J.G. (Ed.). Fire in the tropical biota, ecosystem process and global challenge, pp. 82-105. 1990.

COUTINHO, L. M. & JURKEVICS, I. R. Aspectos ecológicos do fogo no cerrado. V - O efeito de altas temperaturas na germinação de uma espécie de *Mimosa*. **Ciência e Cultura** (São Paulo) 30 (Suplemento), 420. 1978.

COUTINHO, Leopoldo Magno. O bioma do cerrado. **Eugen Warming eo cerrado brasileiro: um século depois**, p. 77-91, 2002.

CUTTER, E. Anatomia vegetal: parte II—órgãos. **São Paulo, Ed. Roca**, 1987.

DAIBES, L. Felipe et al. Fire and legume germination in a tropical savanna: ecological and historical factors. **Annals of botany**, v. 123, n. 7, p. 1219-1229, 2019.

DE OLIVEIRA NARDI, Kaire; ORIANI, Aline; SCATENA, Vera Lucia. Seed micromorphology and its taxonomic significance to *Xyris* (Xyridaceae, Poales). **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, n. 2, p. 721-727, 2016.

DIAS, LÚCIA BORGES. Água nas plantas. **Monograph, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG**, 2008.

DURIGAN, Giselda; RATTER, James A. The need for a consistent fire policy for Cerrado conservation. **Journal of Applied Ecology**, v. 53, n. 1, p. 11-15, 2016.

EGERTON-WARBURTON, Louise M. A smoke-induced alteration of the sub-testa cuticle in seeds of the post-fire recruiter, *Emmenanthe penduliflora* Benth. (Hydrophyllaceae). **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 325, p. 1317-1327, 1998.

FERREIRA, Nadilson Roberto; FRANKE, Lucia Brandão; MOÇO, Maria Cecília de Chiara. Estudos morfo-anatômicos relacionados à dormência em sementes de *Adesmia tristis* Vogel (Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 447-453, 2011.

FERRI, Mario G. Nota preliminar sobre a vegetação de cerrado em Campo do Mourão (Paraná). **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Botânica**, n. 17, p. 107-115, 1960.

FICHINO, Betânia Santos et al. Does fire trigger seed germination in the Neotropical Savannas? Experimental tests with six Cerrado species. **Biotropica**, v. 48, n. 2, p. 181-187, 2016.

FIDELIS, Alessandra; DAIBES, Luís Felipe; MARTINS, Aline Redondo. To resist or to germinate? The effect of fire on legume seeds in Brazilian subtropical grasslands. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 147-151, 2016.

FORZZA, R. C. et al. Lista de espécies da flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2010.

FRANCESCHINELLI, Edivani Villaron et al. The genetic diversity of two Brazilian *Vellozia* (Velloziaceae) with different patterns of spatial distribution and pollination biology. **Annals of Botany**, v. 97, n. 4, p. 585-592, 2006.

FURLEY, Peter A. The nature and diversity of neotropical savanna vegetation with particular reference to the Brazilian cerrados. **Global Ecology and Biogeography**, v. 8, n. 3-4, p. 223-241, 1999.

GRAVEN, Peter et al. Functional aspects of mature seed coat of the Cannaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 205, n. 3, p. 223-240, 1997.

GUEDES, Juliana Santos; WANDERLEY, Maria das Graças Lapa. Xyridaceae na Serra do Cabral, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Hoehnea**, v. 42, p. 367-397, 2015.

GUIMARÃES, P. J. F. Tibouchina in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9876> (acesso em 18-I-2016), 2016.

HANNA, P. J. Anatomical features of the seed coat of *Acacia kempeana* (Mueller) which relate to increased germination rate induced by heat treatment. **New Phytologist**, v. 96, n. 1, p. 23-29, 1984.

HERRANZ, José M.; FERRANDIS, Pablo; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, Juan J. Influence of heat on seed germination of seven Mediterranean Leguminosae species. **Plant Ecology**, v. 136, n. 1, p. 95-103, 1998.

HOFFMANN, William A. et al. Fuels or microclimate? Understanding the drivers of fire feedbacks at savanna–forest boundaries. **Austral Ecology**, v. 37, n. 6, p. 634-643, 2012.

JAGANATHAN, Ganesh K. Are wildfires an adapted ecological cue breaking physical dormancy in the Mediterranean basin? **Seed Science Research**, v. 25, n. 2, p. 120-126, 2015.

KEELEY, Jon E.; BOND, William J. Convergent seed germination in South African fynbos and Californian chaparral. **Plant Ecology**, v. 133, n. 2, p. 153-167, 1997.

KLEIN, Aldo Luiz. Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois. Unesp, 2000.

KLINK, Carlos A.; MACHADO, Ricardo B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KULKARNI, M. G.; SPARG, S. G.; VAN STADEN, J. Germination and post-germination response of *Acacia* seeds to smoke-water and butenolide, a smoke-derived compound. **Journal of Arid Environments**, v. 69, n. 1, p. 177-187, 2007.

LACERDA, Daniela R. et al. Seed-dormancy variation in natural populations of two tropical leguminous tree species: *Senna multijuga* (Caesalpinoideae) and *Plathymenia reticulata* (Mimosoideae). **Seed Science Research**, v. 14, n. 2, p. 127-135, 2004.

LI, Xiaojie; BASKIN, Jerry M.; BASKIN, Carol C. Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two North American *Rhus* species (Anacardiaceae). **American Journal of Botany**, v. 86, n. 11, p. 1505-1511, 1999.

LUZIA DELGADO, Carolina Maria et al. Dormancy-breaking requirements of *Sophora tomentosa* and *Erythrina speciosa* (Fabaceae) seeds. **Revista de biologia tropical**, v. 63, n. 1, p. 285-294, 2015.

MARTIN, Claire V.; MICHELANGELI, Fabian A. Comparative seed morphology of *Leandra* (Miconieae, Melastomataceae). **Brittonia**, v. 61, n. 2, p. 175-188, 2009.

MATILLA, A. J.; MATILLA-VÁZQUEZ, M. A. Involvement of ethylene in seed physiology. **Plant Science**, v. 175, n. 1-2, p. 87-97, 2008.

MELLO-SILVA, Renato. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Velloziaceae. **Rodriguésia**, v. 69, p. 259-262, 2018.

MELLO-SILVA, Renato. Velloziaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB21388>>, 2015.

RIBEIRO, José Felipe et al. Cerrado: ambiente e flora. **Planaltina: Embrapa/CPAC**, 1998.

MIRANDA, Heloisa Sinátora et al. Fires in the cerrado, the Brazilian savanna. In: **Tropical fire ecology**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2009. p. 427-450.

NAYAR, M. P. Centres of Development and Patterns of Distribution of the Family Melastomataceae in Indo-Malesia. **Nelumbo-The Bulletin of the Botanical Survey of India**, v. 14, n. 1-4, p. 1-12, 1972.

MOTA, Nara FO; WANDERLEY, Maria GL. *Xyris riopretensis* (Xyridaceae): uma nova espécie para Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 3, p. 555-560, 2013.

MORRIS, J. KARNOVSKY. A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **J. cell Biol**, v. 27, p. 1A-149A, 1965.

MOTTA, Gabriel S. T. Effect of smoke and storage on the germinative response of the herbaceous-shrub stratum of the Cerrado. 66 f. Dissertation (Master's degree in Biosciences). - Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Assis, 2021.

NARDI, Kaire de Oliveira; SCATENA, Vera L.; ORIANI, Aline. Development of ovule, fruit and seed of *Xyris* (Xyridaceae, Poales) and taxonomic considerations. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 4, p. 619-628, 2015.

NOODEN, L. D.; BLAKLEY, K. A.; GRZYBOWSKI, J. M. Control of seed coat thickness and permeability in soybean: a possible adaptation to stress. **Plant Physiology**, v. 79, n. 2, p. 543-545, 1985.

O'BRIEN, TrP; FEDER, N.; MCCULLY, Mi E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OMAR VARELA, Rodolfo; ALBORNOZ, Patricia Liliana. Morpho-anatomy, imbibition, viability and germination of the seed of *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Fabaceae). *Revista de biologia tropical*, v. 61, n. 3, p. 1109-1118, 2013.

PASCUALIDES, A. L.; PLANCHUELO, A. M. Seed morphology and imbibition pattern of *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae). **Seed Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 760-764, 2007.

PÉREZ-HARGUINDEGUY, N. et al. New handbook for standardized measurement of plant functional traits worldwide *Australian Journal of Botany* 61 3 167 234 10.1071. **BT12225**, 2013.

PINHEIRO, F. Síndromes de dispersão de sementes de matas de galeria do Distrito Federal. 1999.

RATTER, James Alexander; RIBEIRO, José Felipe; BRIDGEWATER, Samuel. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of botany**, v. 80, n. 3, p. 223-230, 1997.

RAMOS-NETO, Mário Barroso; PIVELLO, Vânia Regina. Lightning fires in a Brazilian savanna National Park: rethinking management strategies. **Environmental management**, v. 26, n. 6, p. 675-684, 2000.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. 6ª edição Guanabara Koogan. **Rio de Janeiro**, 2001.

RIBEIRO, Rafaella C.; OLIVEIRA, Denise MT; SILVEIRA, Fernando AO. A new seed coat water-impermeability mechanism in *Chaetostoma armatum* (Melastomataceae): evolutionary and biogeographical implications of physiophysical dormancy. **Seed Science Research**, v. 25, n. 2, p. 194-202, 2015.

RODRIGUES-JUNIOR, Ailton G. et al. A function for the pleurogram in physically dormant seeds. **Annals of botany**, v. 123, n. 5, p. 867-876, 2019.

ROMERO, R.; WOODGYER, E. Microlicia in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**., 2015..

RUDALL, Paula J.; SAJO, M. Graça. Systematic position of *Xyris*: flower and seed anatomy. **International Journal of Plant Sciences**, v. 160, n. 4, p. 795-808, 1999.

RUSSI, L.; COCKS, P. S.; ROBERTS, E. H. Coat thickness and hard-seededness in some *Medicago* and *Trifolium* species. **Seed Science Research**, v. 2, n. 4, p. 243-249, 1992.

SANO, Sueli Matiko; DE ALMEIDA, Semiramis Pedrosa; RIBEIRO, José Felipe. *Cerrado: ecologia e flora*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008.

SIMON, Marcelo F. et al. Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 48, p. 20359-20364, 2009.

SILVA, FAM da; ASSAD, E. D.; EVANGELISTA, B. A. Caracterização climática do bioma Cerrado. *Cerrado: ecologia e flora*, v. 1, p. 69-88, 2008.

SILVA-GONÇALVES, K.C; MARTINS, A.B.; RODRIGUES, K.F. *Cambessedesia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015.

SILVA, Shelka Alcântara da et al. Germinação e morfoanatomia do desenvolvimento pós-seminal de espécies de *Vellozia* Vand. de campos rupestres brasileiros. 2013.

SOUSA-BAENA, Mariane S.; DE MENEZES, Nanuza L. Seed coat development in *Velloziaceae*: primary homology assessment and insights on seed coat evolution. **American journal of botany**, v. 101, n. 9, p. 1409-1422, 2014.

DE SOUZA, Rogéria Pereira; VÁLIO, I. F. M. Seed size, seed germination, and seedling survival of Brazilian tropical tree species differing in successional status 1. **Biotropica**, v. 33, n. 3, p. 447-457, 2001.

VAN DE VENTER, H. A.; ESTERHUIZEN, Aletta D. The effect of factors associated with fire on seed germination of *Erica sessiliflora* and *E. hebecalyx* (Ericaceae). **South African Journal of Botany**, v. 54, n. 3, p. 301-304, 1988.

WANDERLEY, M.G.L. et al. Xyridaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB21606>>. 2015.

WHIFFIN, Trevor; TOMB, A. Spencer. The systematic significance of seed morphology in the neotropical capsular-fruited Melastomataceae. **American Journal of Botany**, v. 59, n. 4, p. 411-422, 1972.

WIGGERS, M. Scott et al. Seed heat tolerance and germination of six legume species native to a fire-prone longleaf pine forest. **Plant Ecology**, v. 218, n. 2, p. 151-171, 2017.

WILLIAMS, Paul R. et al. Fire-related cues break seed dormancy of six legumes of tropical eucalypt savannas in north-eastern Australia. **Austral Ecology**, v. 28, n. 5, p. 507-514, 2003.

ZIRONDI, Heloiza L.; SILVEIRA, Fernando AO; FIDELIS, Alessandra. Fire effects on seed germination: Heat shock and smoke on permeable vs impermeable seed coats. **Flora**, v. 253, p. 98-106, 2019a.

ZIRONDI, Heloiza Lourenço et al. Heat and smoke affect the germination of flammable resprouters: *Vellozia* species in the Cerrado. **Folia Geobotanica**, v. 54, n. 1, p. 65-72, 2019b.

ZUPO, Talita; BAEZA, M. Jaime; FIDELIS, Alessandra. The effect of simulated heat-shock and daily temperature fluctuations on seed germination of four species from fire-prone ecosystems. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 514-519, 2016.

CAPÍTULO 2. ANÁLISE HISTOQUÍMICA E TIPOS DE RESERVA DE SEMENTES DO CERRADO RESPONSIVAS À FUMAÇA

RESUMO

A semente pode apresentar variadas constituições no endosperma e embrião, consistindo em tipos diferentes de reservas de acordo com a espécie. O objetivo do presente estudo foi analisar o tipo de conteúdo de reserva das sementes do Cerrado através de testes histoquímicos e fisiológicos para sementes responsivas ou não à fumaça. As sementes possuem diferentes respostas aos constituintes da fumaça como se sabe a partir de trabalhos previamente publicados. Tais dados foram elencados e buscou-se relacioná-los com o conteúdo das sementes. As análises anatômicas foram realizadas com sementes das 17 espécies que foram fixadas, desidratadas e foram incluídas em resina e seccionadas. Posteriormente foram coradas com corantes e reagentes específicos para revelar a natureza do conteúdo e lâminas histológicas foram montadas para análise em fotomicroscópico. Foram avaliadas as concentrações de amido, aminoácidos, carboidratos solúveis e proteínas, armazenadas nas sementes responsivas ou não à fumaça. Os resultados encontrados foram que as espécies da família Melastomataceae não apresentaram amido como substância de reserva. Já para todas as espécies do gênero *Vellozia* o teste para amido foi positivo. Para lipídeos o resultado variou entre as espécies. Para as espécies de *Xyris* foi identificado o amido, já os lipídios ficaram restritos a membrana das células do embrião. Com relação às análises fisiológicas em Melastomataceae não foi possível quantificar amido extraído enfatizando o que foi amostrado nos testes histoquímicos. Já as espécies de *Vellozia* tiveram altos índices de amido nas análises fisiológicas corroborando com o que foi observado nos testes histoquímicos, com exceção de *V. albiliflora* que não apresentou amido nas análises fisiológicas, porém grãos de amido foram verificados nos testes histoquímicos. Com o que foi apresentado, não foi constatada uma correlação direta entre espécies que respondem positivamente à fumaça com a presença ou não de amido, uma vez que há espécies com tal tipo de reserva que apresentam resposta positiva na germinação quando tratadas com a fumaça. O mesmo pode ser aplicado para lipídios e proteínas.

INTRODUÇÃO

A semente abriga o embrião que originará um novo indivíduo, sendo assim precisa ter a plena capacidade de suprir o desenvolvimento inicial da plântula a partir de seu potencial de reserva. Para isso, precisam fornecer as fontes essenciais do desenvolvimento inicial dessa plântula, tais como os carboidratos e lipídios constituintes da matriz energética, aminoácidos e proteínas para a construção estrutural, e dessa forma consiga responder aos estímulos ambientais, germinar e se estabelecer no ecossistema, antes mesmo de desenvolver a capacidade fotossintética (Taiz *et al.*, 2021).

Na maioria das espécies cultivadas o carboidrato é a reserva mais abundante nas sementes. Carboidratos também estão na forma não estocada, como constituinte como por exemplo pectina e celulose. Na forma estocada o carboidrato mais comum é o amido, que pode estar em duas formas: amilose e amilopectina (Bewley & Black, 2013).

O tegumento normalmente está relacionado com a proteção do embrião e do endosperma. Pode conter células com paredes ricas em pectina que se rompem em contato com a água, liberando a pectina e mucilagem ajudando dessa forma a semente a passar pelo trato digestivo de animais (Bewley & Black, 2013). A presença de compostos fenólicos no tegumento pode afetar a velocidade e regularidade da germinação, podendo ser associada à dormência (Ribeiro *et al.*, 2015; Tokuhisa *et al.*, 2007). O acúmulo de proteína é uma fonte de C, N e S para assegurar o desenvolvimento inicial do embrião (Bewley & Black, 2013). Estudos indicam que sementes de trigo que possuem uma quantidade maior de proteínas produzem plântulas mais vigorosas (Lowe & Ries, 1973), porém se o maior investimento de reserva for proteico, a fonte energética será menor. Lipídios também podem fazer parte da reserva da semente na forma de triglicerídeos e são armazenados em corpos lipídicos (Bewley & Black, 2013).

Alguns estudos envolvendo análises anatômicas e histoquímicas podem auxiliar a compreender aspectos fisiológicos, como por exemplo os apresentados por Horner Jr & Arnott (1968) que relacionam as análises histoquímica em *Yucca* com a observação de corpos proteicos que aumentam de tamanho durante a germinação. Já na semente de *Vitis vinifera* a proteína está nos vacúolos das células do endosperma, onde é abundantemente encontrada (Cadot *et al.* 2006). As células da exotesta em algumas espécies Salicornioideae (Amarantaceae) apresentam taninos, todos os embriões tiveram polissacarídeos nas paredes. A reserva principal é proteica e os grãos de amido quando presentes ocorrem em pequenos grânulos dentro dos corpos proteicos (Shepherd *et al.* 2005). Em contrapartida a substância reserva principal de *Smilax*

goyazana (Smilacaceae) é de natureza lipídica, seguida de polissacarídeos (Palhares et al. 2009).

O Cerrado abriga ecossistemas onde o fogo é um componente intrínseco. (Coutinho, 1982) Sementes podem ser aptas a sobreviver a um evento natural de incêndio (Fichino et al. 2016). A fumaça produzida pelo incêndio pode desencadear a germinação de sementes, o que pode estar vinculado ao efeito de substâncias da família dos butenolidos, que tem relação com a regulação do crescimento vegetal (Flematti et al. 2004) Trabalhos mostraram a eficácia da solução de fumaça na germinação (Çatav et al. 2018; Zirondi et al. 2019)

Entretanto, pouco é conhecido sobre os motivos pelo qual as sementes respondem distintamente ao fogo e à fumaça, sendo assim, o objetivo do presente estudo foi analisar o tipo de conteúdo de reserva das sementes do Cerrado através de testes histoquímicos e fisiológicos para sementes responsivas ou não à fumaça, procurando relacionar o tipo de reserva com as respostas que foram relatadas mediante à exposição ao fogo e à fumaça.

MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico são 17 espécies nativas do Cerrado listadas na Tab. 1. Foram coletadas por Zirondi et al. 2019 em áreas campestres em diferentes locais: Serra do Cipó 19° 17' S, 43° 33' W; Reserva Nacional da Serra do Tombador 13° 35'–38' S, 47° 45'–51' W; Parque Estadual do Jalapão, 10° 36' S, 46° 04' W; Estação Ecológica de Itirapina, 22° 11'–22° 15' S, 47° 51'–48° 00' W e Estação Ecológica de Assis de pelo menos 10 indivíduos por espécie a partir de diferentes populações (de acordo com Pérez-Harguindeguy *et al.* 2013). Posteriormente as sementes foram armazenadas em sacos zipados em local refrigerado (20°C) com umidade relativa do ar <40%.

Estudos anatômicos

As análises anatômicas foram realizadas nas sementes das espécies citadas na Tabela 1. As amostras foram fixadas em Karnovsky (Karnovsky, 1965). Para melhor fixação, as amostras foram levadas a uma bomba de vácuo para a retirada do ar contido nos tecidos. Após a fixação o material foi desidratado e estocado em etanol 70%. Essas amostras fixadas foram desidratadas em série etílica e, posteriormente, incluídas em hidróxi-etil-metacrilato (Leica Historesin). Os blocos obtidos foram seccionados em micrótoomo rotativo, sendo realizados cortes transversais ou longitudinais, com espessura de 3 – 5 µm.

Os testes histoquímicos foram realizados no material fixado e/ou incluído em historesina. Para detecção de substâncias lipídicas, utilizou-se Sudan IV (Jensen 1962); para

compostos fenólicos, cloreto férrico (Johansen 1940); para substâncias pécnicas, vermelho de Rutênio (Johansen 1940); para amido, lugol (Berlyn & Miksche 1976); para proteínas, Xylidine Ponceau (O'Brien & McCully (1981); Shiff P.A.S (McManus, 1948) para carboidratos.

As fotomicrografias dos materiais preparados em lâminas foram feitas em fotomicroscópio (microscópio Zeiss Primo Star, com câmera acoplada modelo AxioCam ERc5s), com as escalas micrométricas fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas a serem utilizadas.

Análises fisiológicas

Quantificação de proteína

Utilizou-se 100 mL da amostra com 5 mL de reagente de Bradford (Bradford, 1976) e foi adicionado 5 mL de NaOH 0,1M para centrifugação. Deixou-se reagir por 3 min em temperatura ambiente e realizando a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 595 nm.

Quantificação de aminoácidos

A análise foi conduzida por meio do método de Yemm e Cocking (1955), em que 1 mL da amostra hidrossolúvel obtida na extração de compostos solúveis foi adicionado 500 µL de tampão citrato 0,2M com pH 5 (3,48g de ácido cítrico/100 mL de água + 5,88g de citrato de sódio/100 mL), 200 µL de ninhidrina e 1mL de KCN 0,0002M (2 mL de KCN 0,01M/100 mL de metil glicol), passando em banho maria a 100 °C por 20 min e depois foram resfriados por 10 min, na sequência foi adicionado 1 mL de álcool etílico 60% e a leitura em 570 nm em espectrofotômetro, tendo a concentração calculada a partir de uma curva padrão obtida com leucina.

Quantificação de açúcares solúveis totais

Para este ensaio foi utilizado a técnica descrita por Umbreit; Kingsley e Schaffert (1957), 1 mL de amostra hidrossolúvel com 1 mL de antrona (100 mg de antrona, 2,5 mL de água e 50 mL de ácido sulfúrico), os tubos foram agitados e colocados em banho-maria por 3 min em 100 °C, a leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 660 nm, tendo a concentração calculada a partir de uma curva padrão obtida com glicose.

Extração e Quantificação de Amido

Para extração e quantificação do amido foi utilizado o método de Turner (1966), Utilizando-se MCW a uma relação 1:10 (1g de Massa Seca para 10 mL de MCW), material foi centrifugado por 15 min e o extrato descartado. Do precipitado restante, o amido foi extraído por duas centrifugações, a uma relação 1:5 (p:v), com ácido perclórico a 30%, e, após centrifugação, os sobrenadantes juntos compõe o extrato, segundo Willis (1954).

O extrato resultante, de amido hidrolizado, foi utilizado para dosagem seguindo o método descrito por Umbreit et al. (1957) para açúcares solúveis totais. Para 1 mL de amostra foram adicionados 2 mL de reagente antrona (100 mg de antrona em 2,5 mL de água + 50 mL de ácido sulfúrico concentrado). Após agitados, os tubos foram vedados e aquecidos em banho-maria a 100°C por 3 minutos, em seguida resfriados a temperatura ambiente e a absorbância lida em espectrofotômetro a 660 nm, tendo a concentração calculada a partir de uma curva padrão obtida com glicose.

Quantificação de Compostos fenólicos

Para a quantificação dos fenóis foi conduzida por meio do método de Folin e Ciocalteu (1927), em que utiliza 200 uL da fase hidrossolúvel, que foi diluída em 1 mL de reagente de Folin Ciocalteu 0,2N, depois de 4 min, adicionou-se 800 uL de solução saturada de carbonato de sódio (75g/L), deixando descansar por 2h a 20°C e absorbância lida em 760 nm, tendo sua concentração calculada a partir de uma curva padrão de ácido gálico.

Para cada espécie foram necessários em muitos casos diluições de amostras ou concentração da amostra, pois podem apresentar muitas variações, dependendo da espécie.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

É importante esclarecer que há uma baixa disponibilidade ou acessibilidade de trabalhos que abordam com histoquímica com famílias aqui estudadas. Com isso, a discussão foi elaborada em cima de algumas famílias que são filogeneticamente distantes dos grupos aqui analisados, no entanto pretende-se acumular dados para a facilitação de próximas pesquisas histoquímicas com as famílias Melastomataceae, Xyridaceae e Velloziaceae.

O teste com Vermelho de Rutênio para substâncias pécticas, polissacarídeos e mucilagem ácida acusou positivamente para todas as espécies deste trabalho, assim como o Xylidine ponceu para proteína e compostos fenólicos (Fig. 1 a 17). Na espécie *Chaetostoma armatum*, Ribeiro et al. 2015 identificou que o embrião também é rico em proteína, caracterizando a substância reserva primordial.

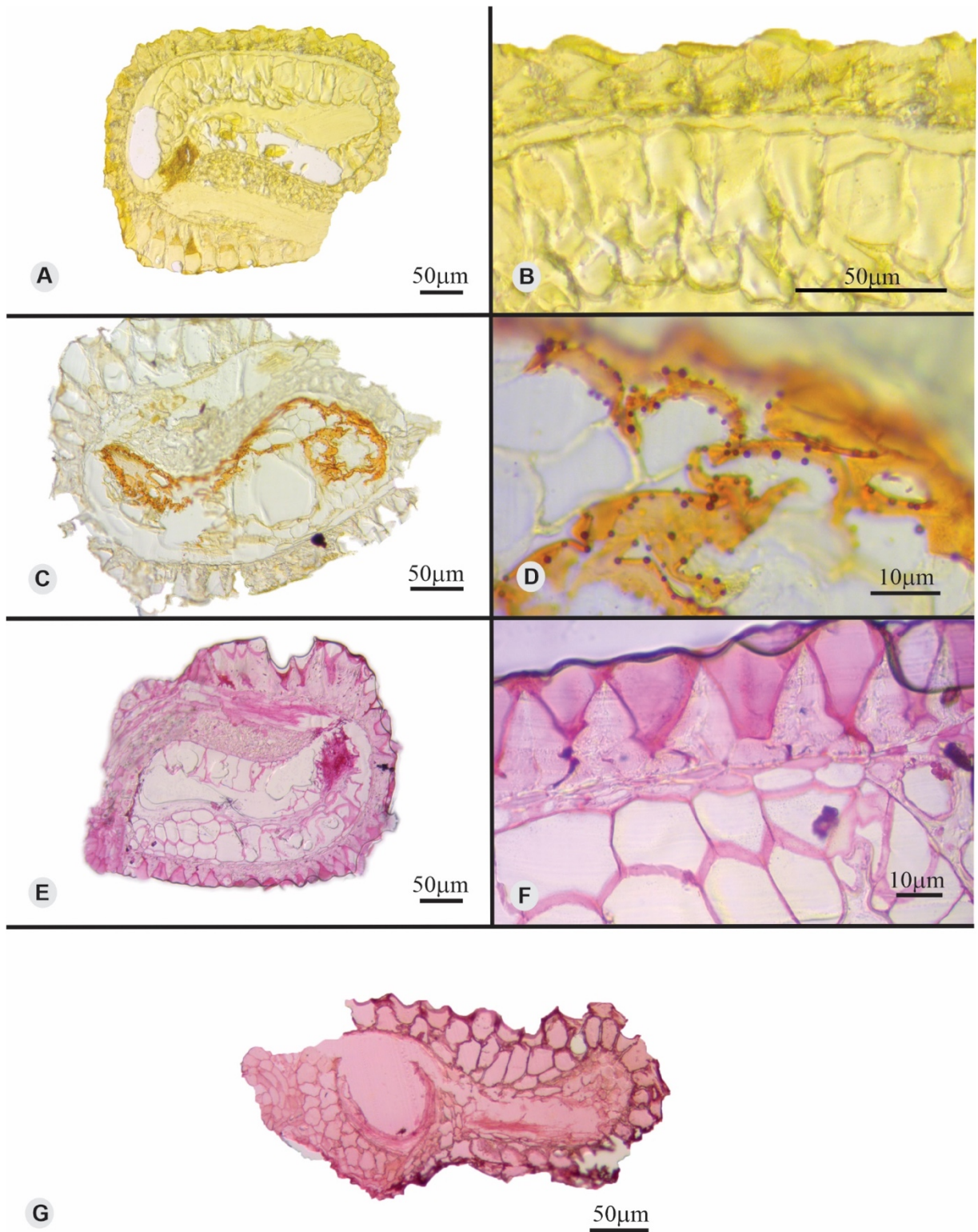


Figura 1. *Acisantera alsinaeflora*. Teste para amido (A, B); lipídios (C, D); substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida (E, F); carboidratos totais (G).

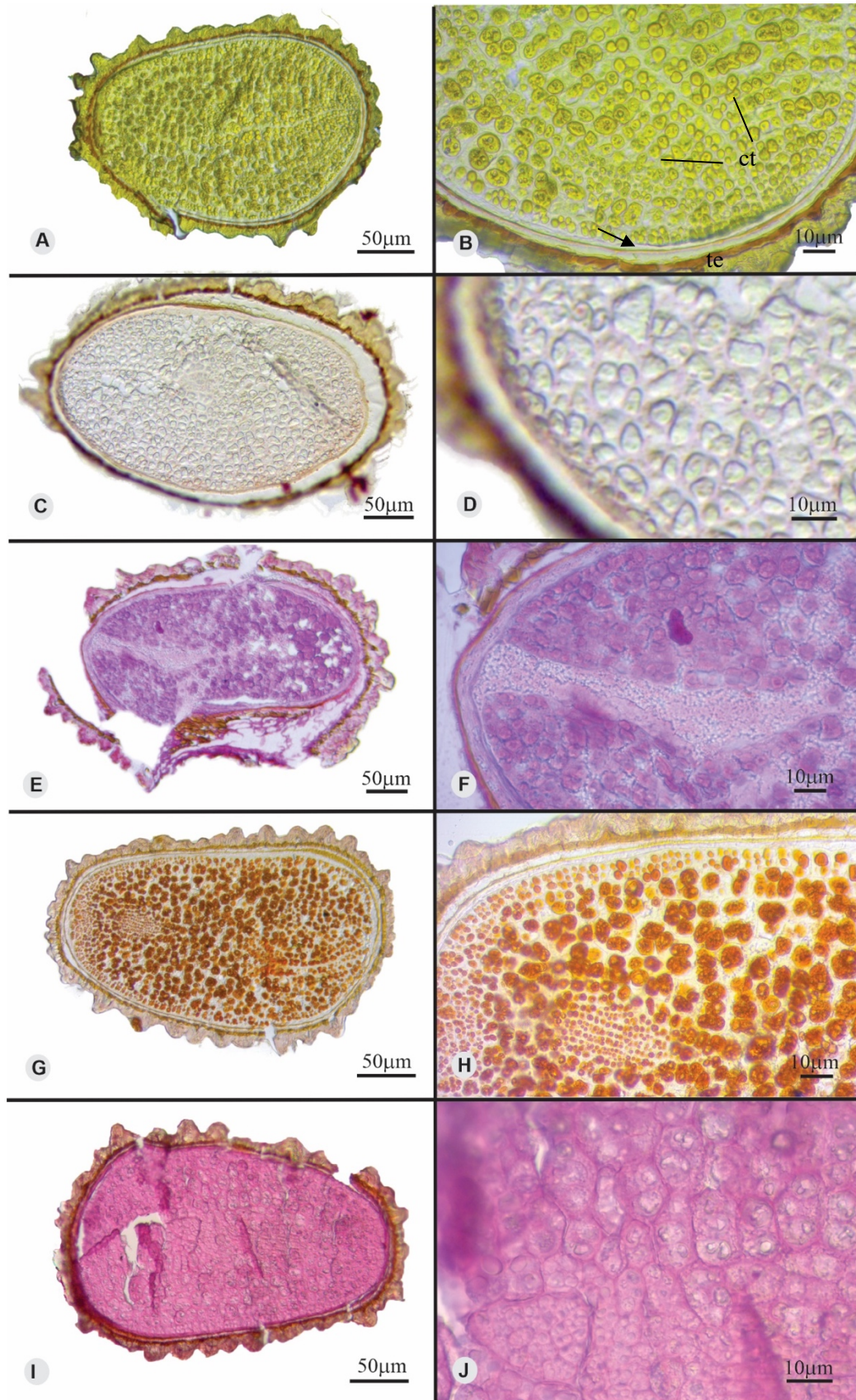


Figura 2. *Cambessedesia hilariana*. Teste para amido (A, B) lipídios (C, D) substâncias pécicas, polissacarídeos emucilagem ácida; proteínas e compostos fenólicos (G, H); carboidratos totais (I, J). Ct = cotilédones; te = tegumento ; seta = endosperma.

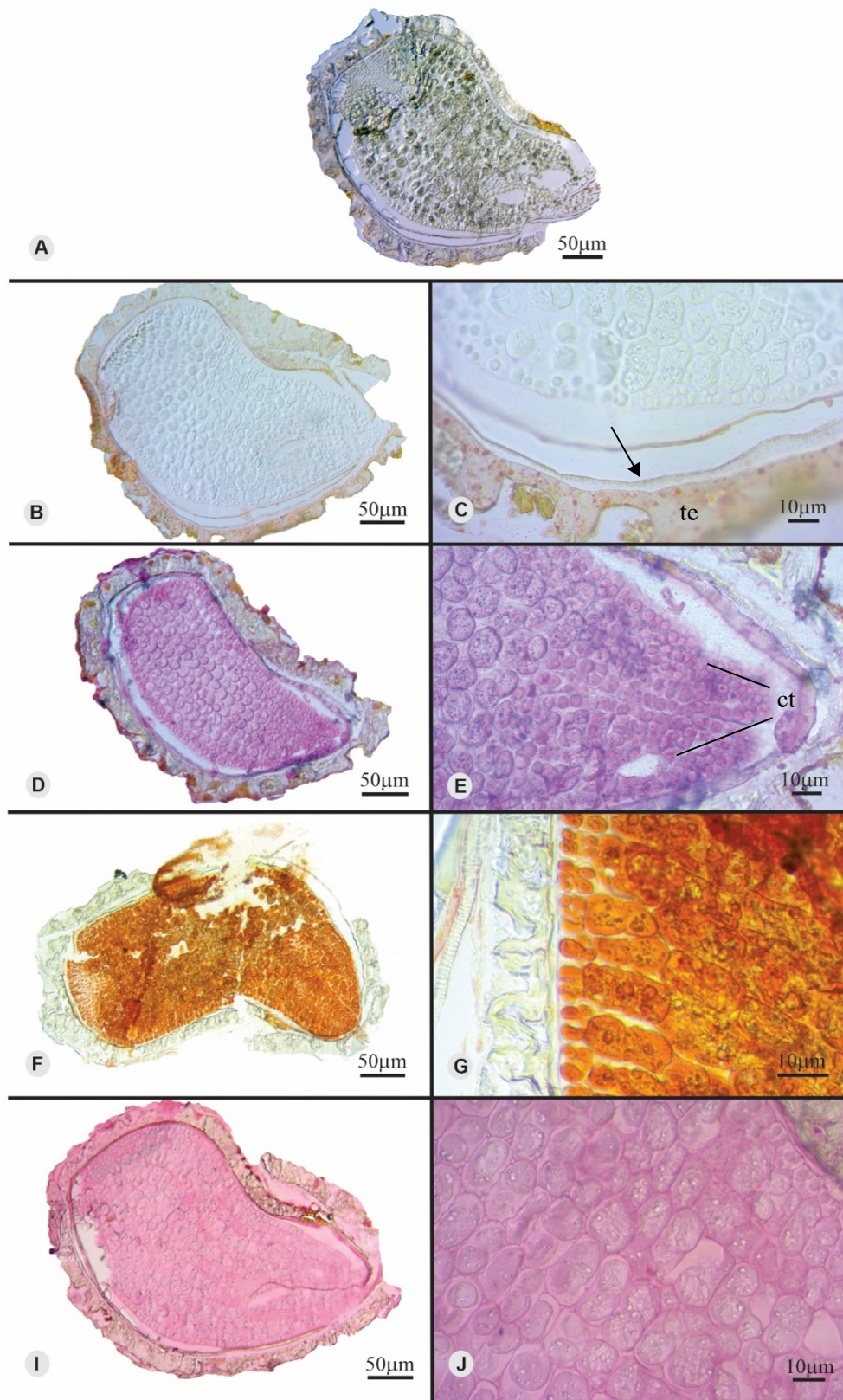


Figura 3. *Microlicia* sp. Teste para amido (A); lipídios (B, C); substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida; proteínas e compostos fenólicos (D, E). proteínas (F, G); carboidratos totatais (I, J). Ct = cotilédones; te = tegumento ; seta = tégmen.

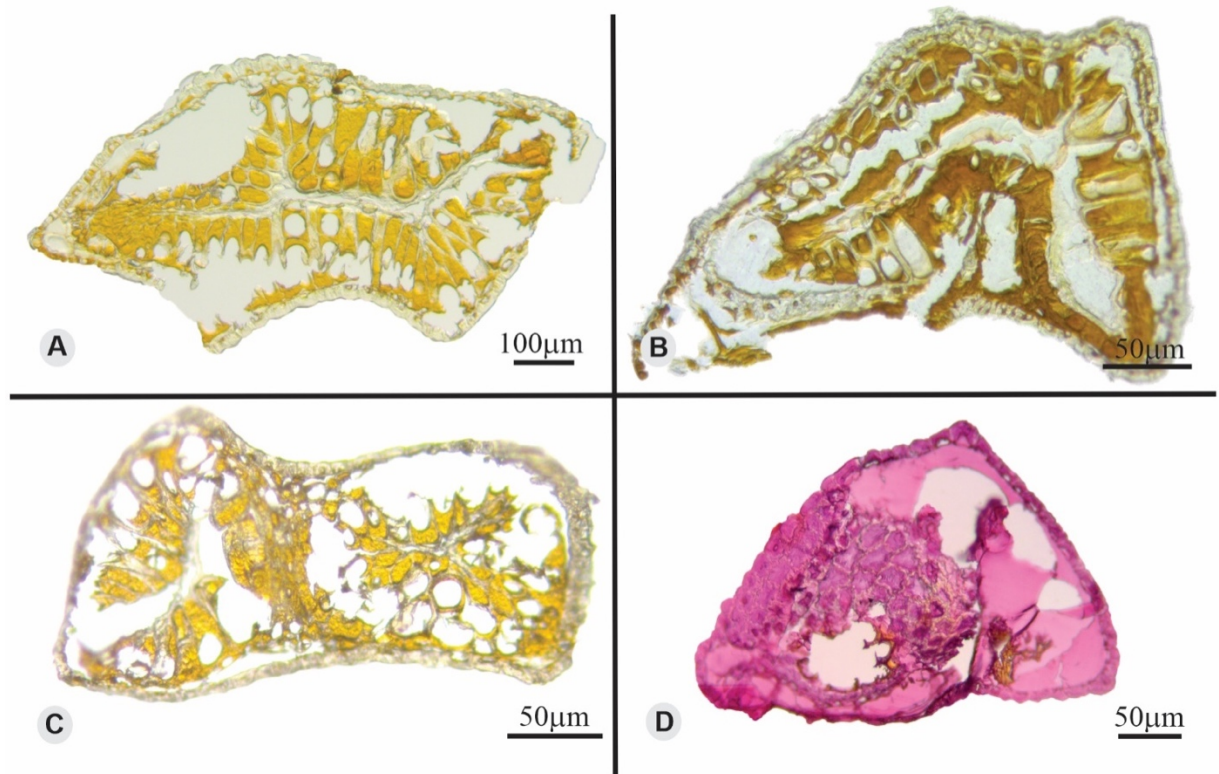


Figura 4. *Pleroma cardinale*. Teste para amido (A); lipídios (B); proteínas (C); carboidratos (D).

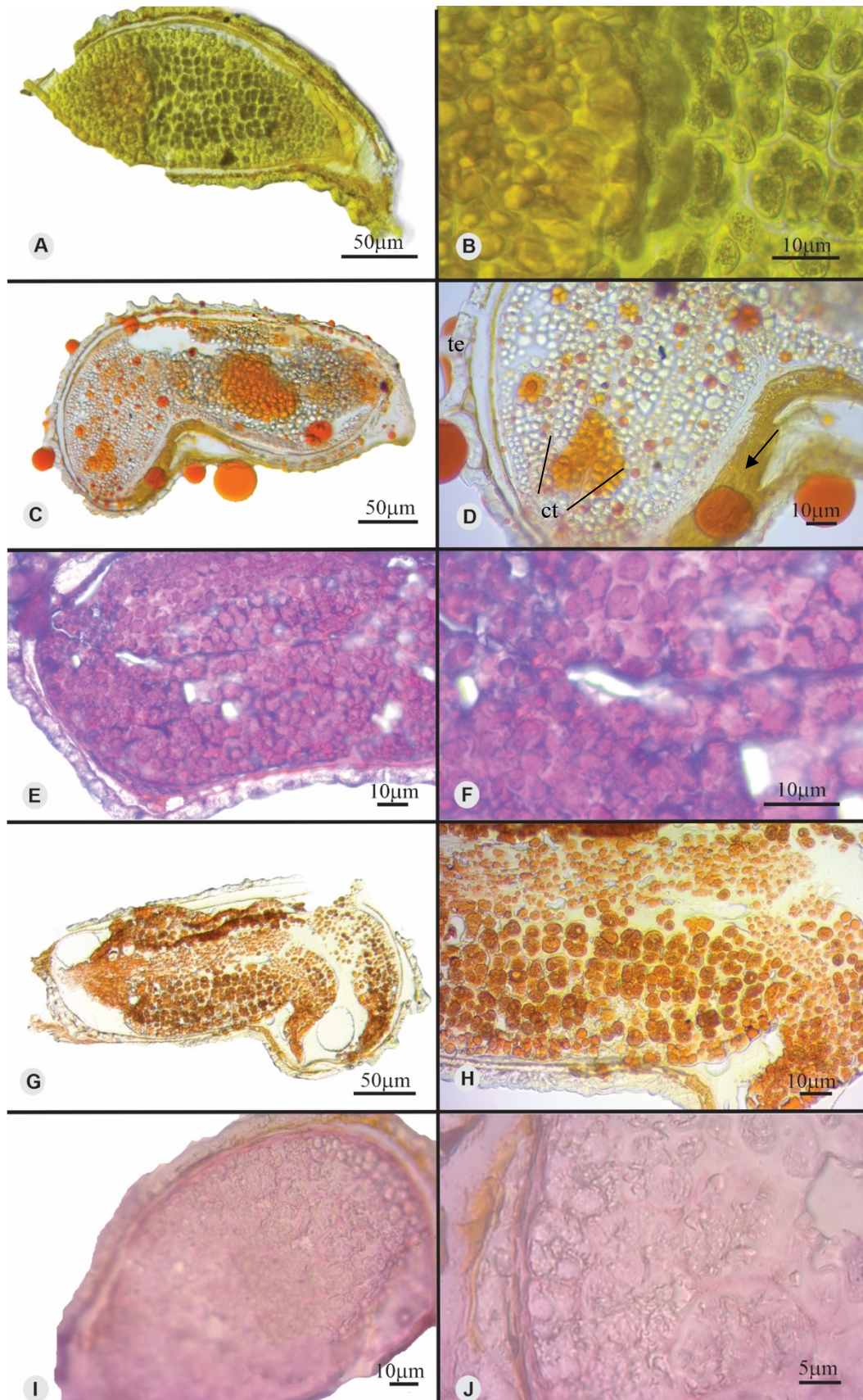


Figura 5. *Pleroma frigidula*. Teste para amido (A, B); lipídios (C, D); substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H). Ct = cotilédones; te = tegumento; seta = engosperma.

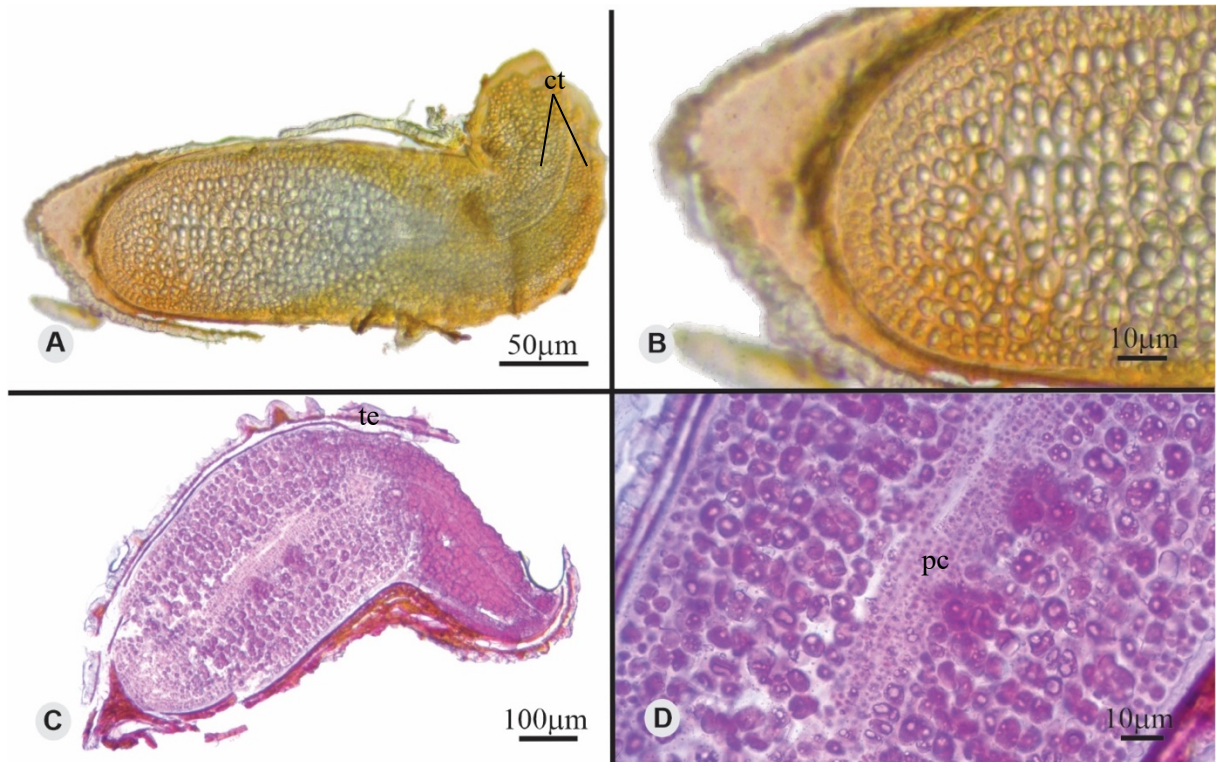


Figura 6. *Pleroma stenocarpum*. Teste para lipídios (A, B) substâncias pécicas, polissacarídeos e mucilagem ácida (C, D). Ct = cotilédones; te = tegumento; pc = procâmbio.

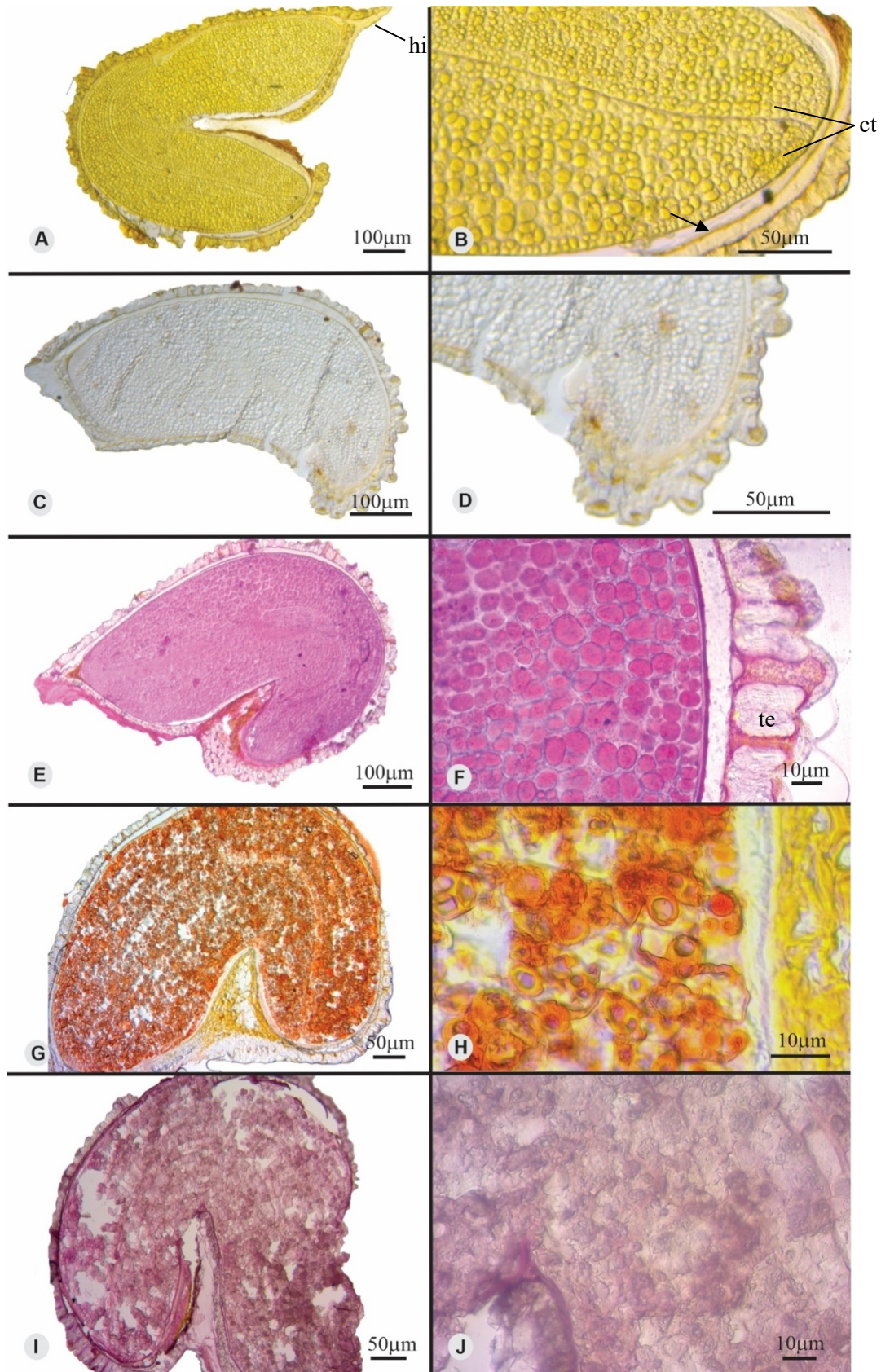


Figura 7. *Tibouchina melastomoides*. Teste para amido (A, B); lipídios (C, D); substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H); carboidratos totais (I, J). Ct = cotilédones; te = tegumento; seta = esndosperma; hi = hilo.

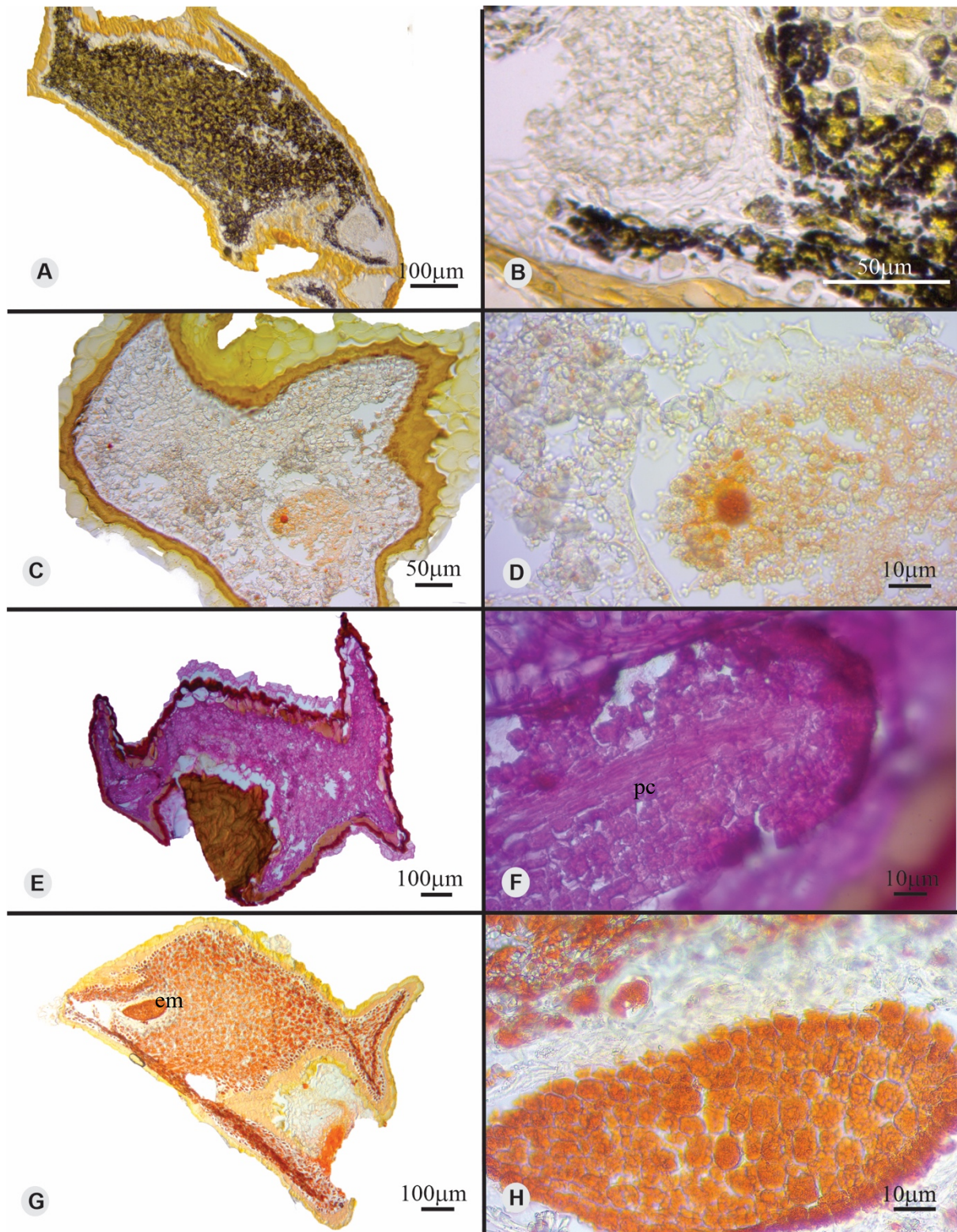


Figura 8. *Vellozia albiliflora*. Teste para amido (A, B); lipídios (C, D); substâncias pécicas, polissacarídeos e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H); carboidratos totais (I, J). Segunda coluna com enfoque na região embrionária. Em = embrião; pc = procâmbio.

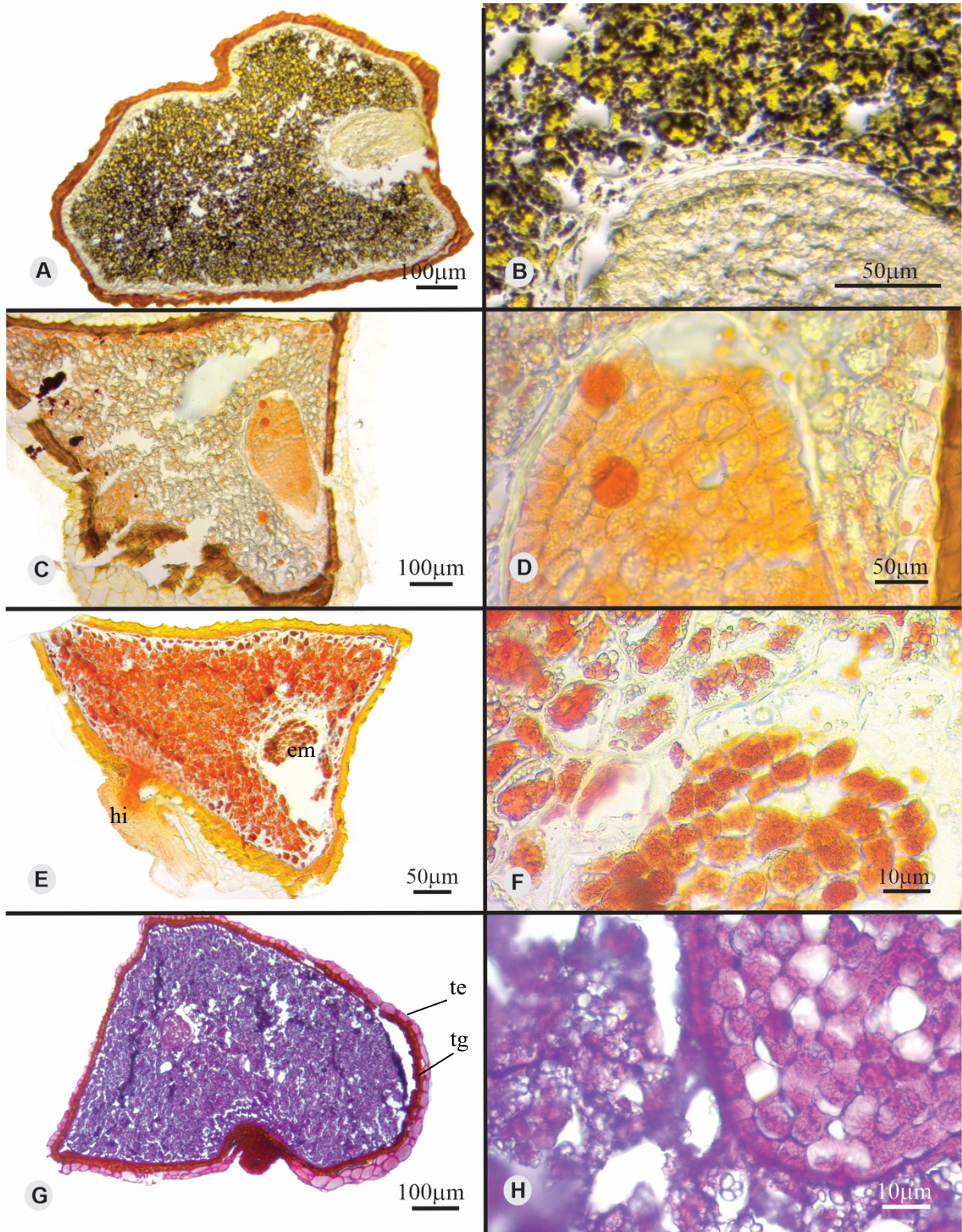


Figura 9. *Vellozia compacta*. Teste para amido (A, B); lipídios (C, D); substâncias pécicas, polissacarídeos e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H) carboidratos totais (I, J). Segunda coluna com enfoque na região embrionária. Te = testa; tg = tegmen; hi = hilo, em = embrião.

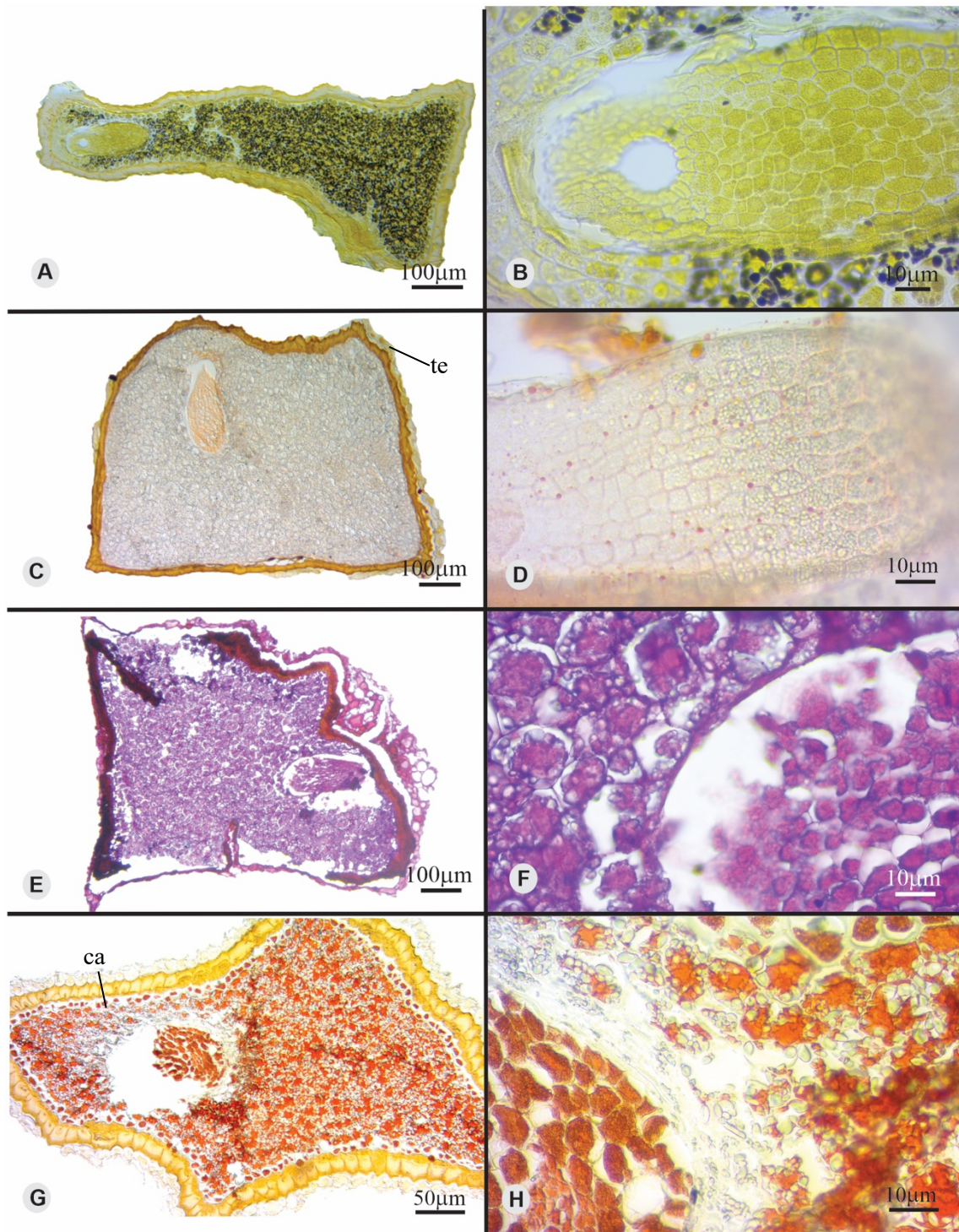


Figura 10. *Vellozia glochidea*. Teste para amido (A, B), lipídios (C, D) substâncias pécicas, polissacarídeos e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H) carboidratos totais (I, J). Segunda coluna com enfoque na região embrionária. Te = tegumento; ca = camada de aleurona.

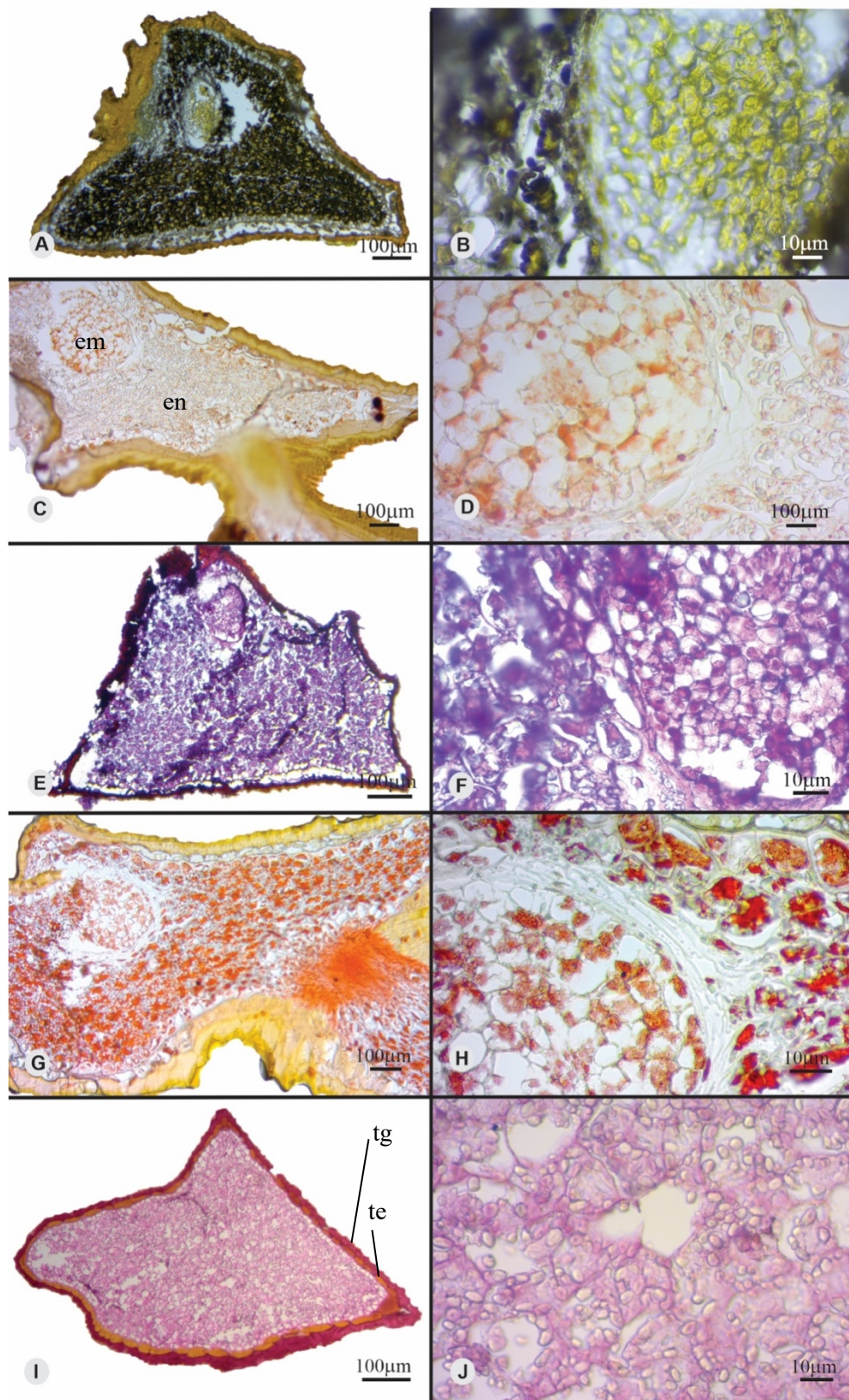


Figura 11. *Vellozia goiasensis*. Teste para amido (A, B), lipídios (C, D) substâncias pécicas, polissacarídeos e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H) carboidratos totais (I, J). Segunda coluna com enfoque na região embrionária. Em = embrião; en = endosperma; tg = tégmen; te = testa.

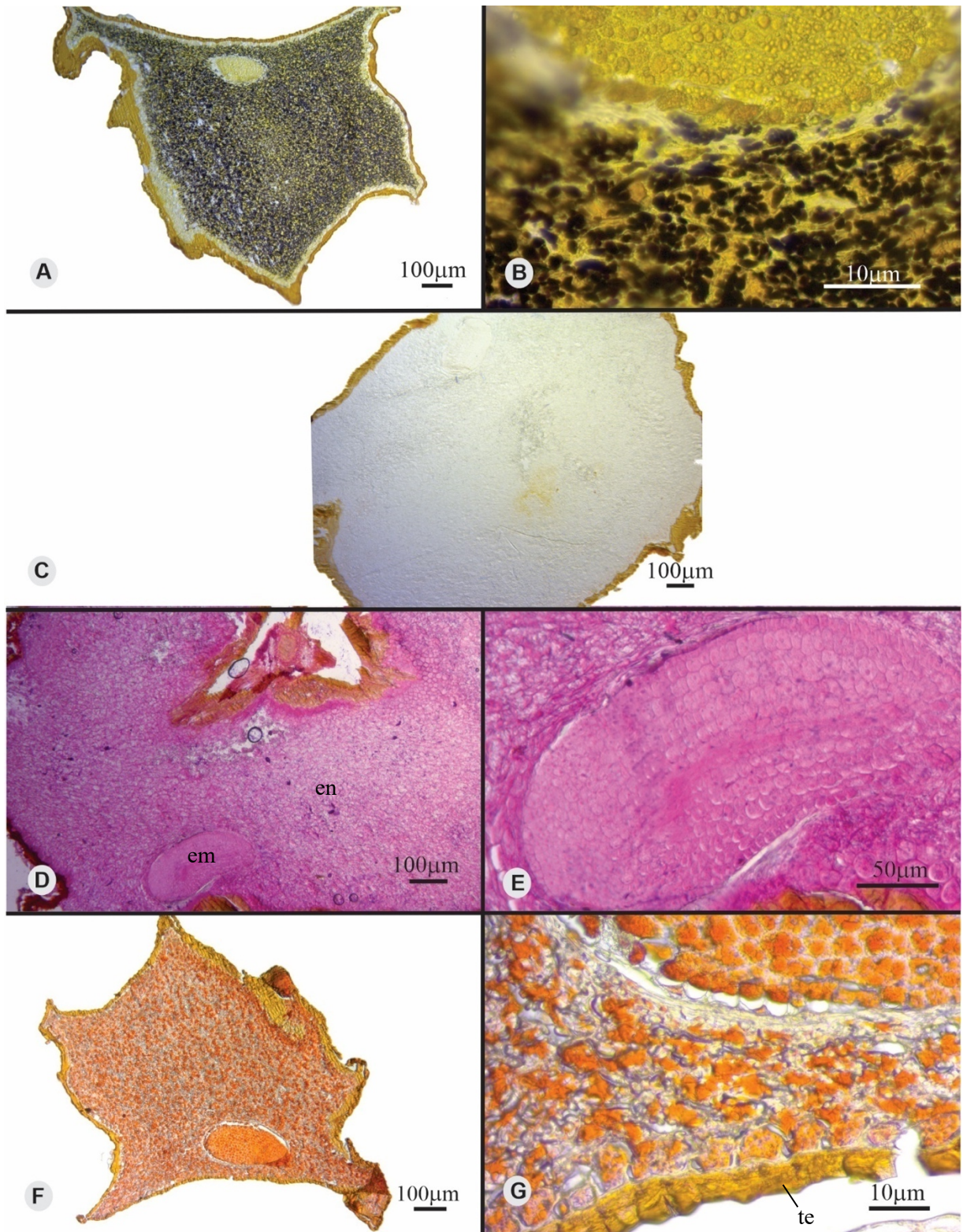


Figura 12. *Vellozia seubertiana*. Teste para amido (A, B); lipídios (C); substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida (D, E); proteínas e compostos fenólicos (F, G). Segunda coluna com enfoque na região embrionária. Em = embrião; en = endosperma; te = testa.

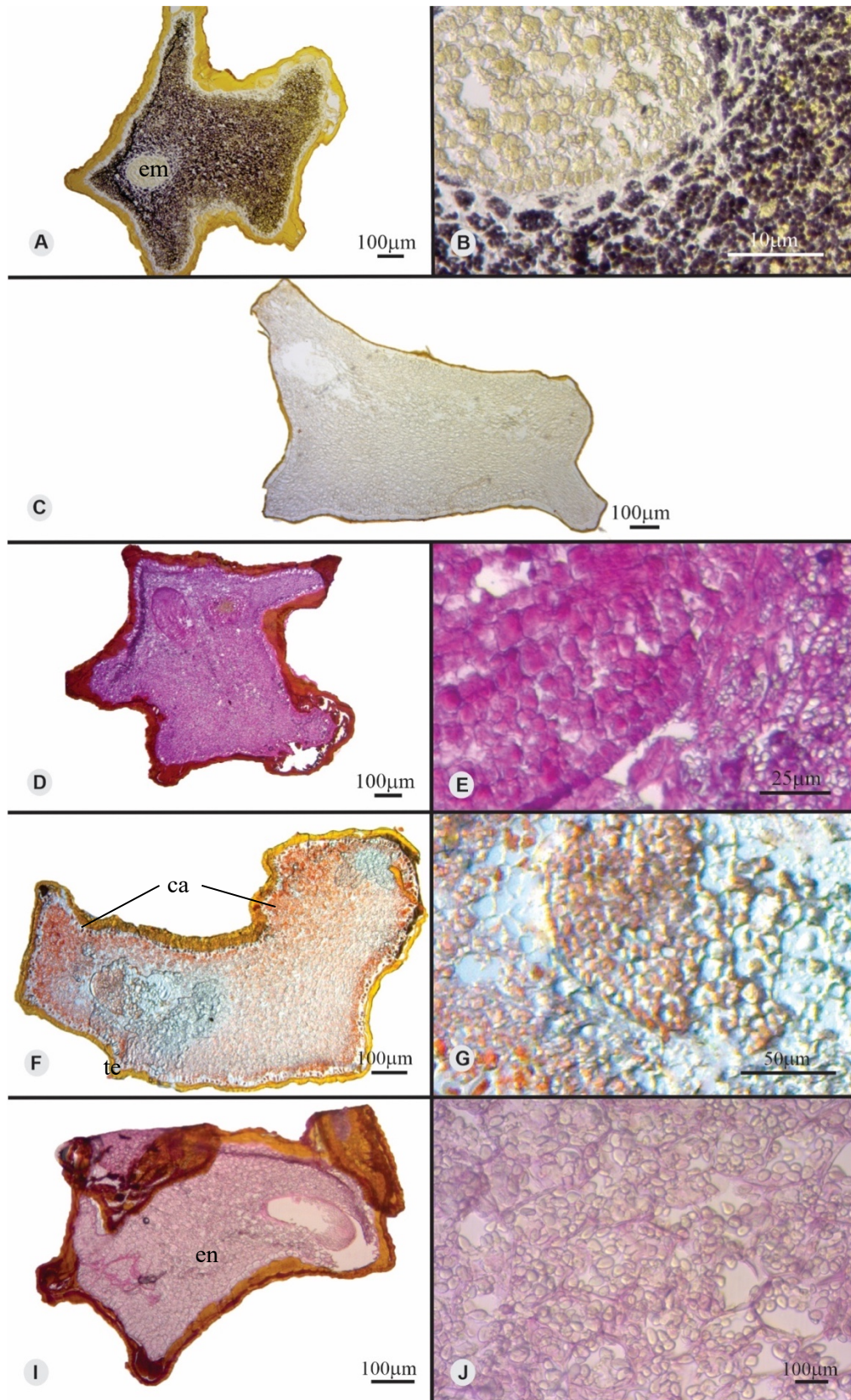


Figura 13. *Vellozia squamata*. Teste para amido (A, B); lipídios (C); substâncias pécticas, polissacarídeos e mucilagem ácida (D, E); proteínas e compostos fenólicos (F, G); carboidratos totais (I, J). Segunda coluna com enfoque na região embrionária. En = endosperma; em = embrião; te = testa; ca = camada de aleurona.

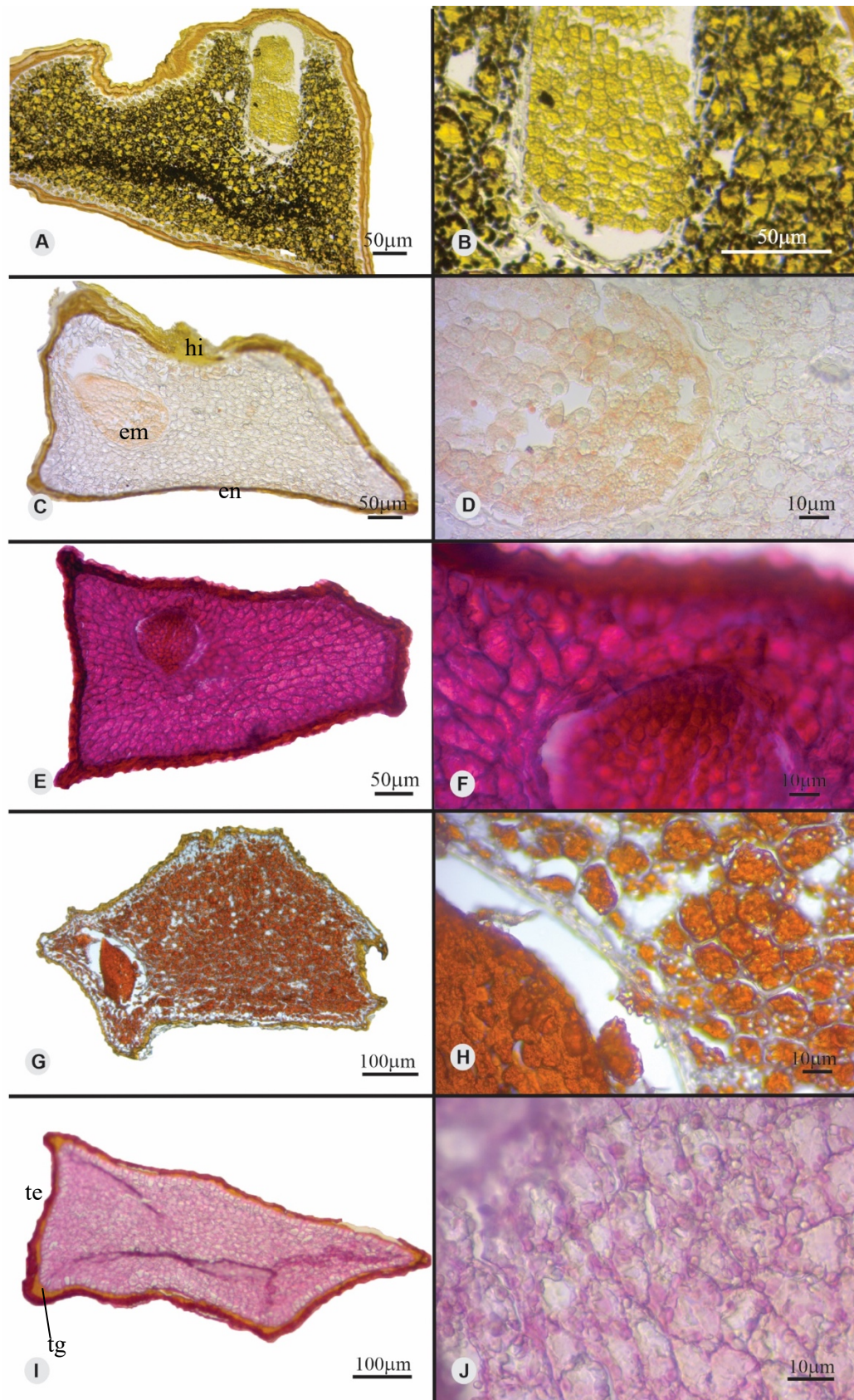


Figura 14. *Vellozia variabilis*. Teste para amido (A, B), lipídios (C, D) substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H), carboidratos totais (I, J). Segunda coluna com enfoque na região embrionária. En = endosperma; em = embrião; hi = hilo; te = testa; tg = tégmen.

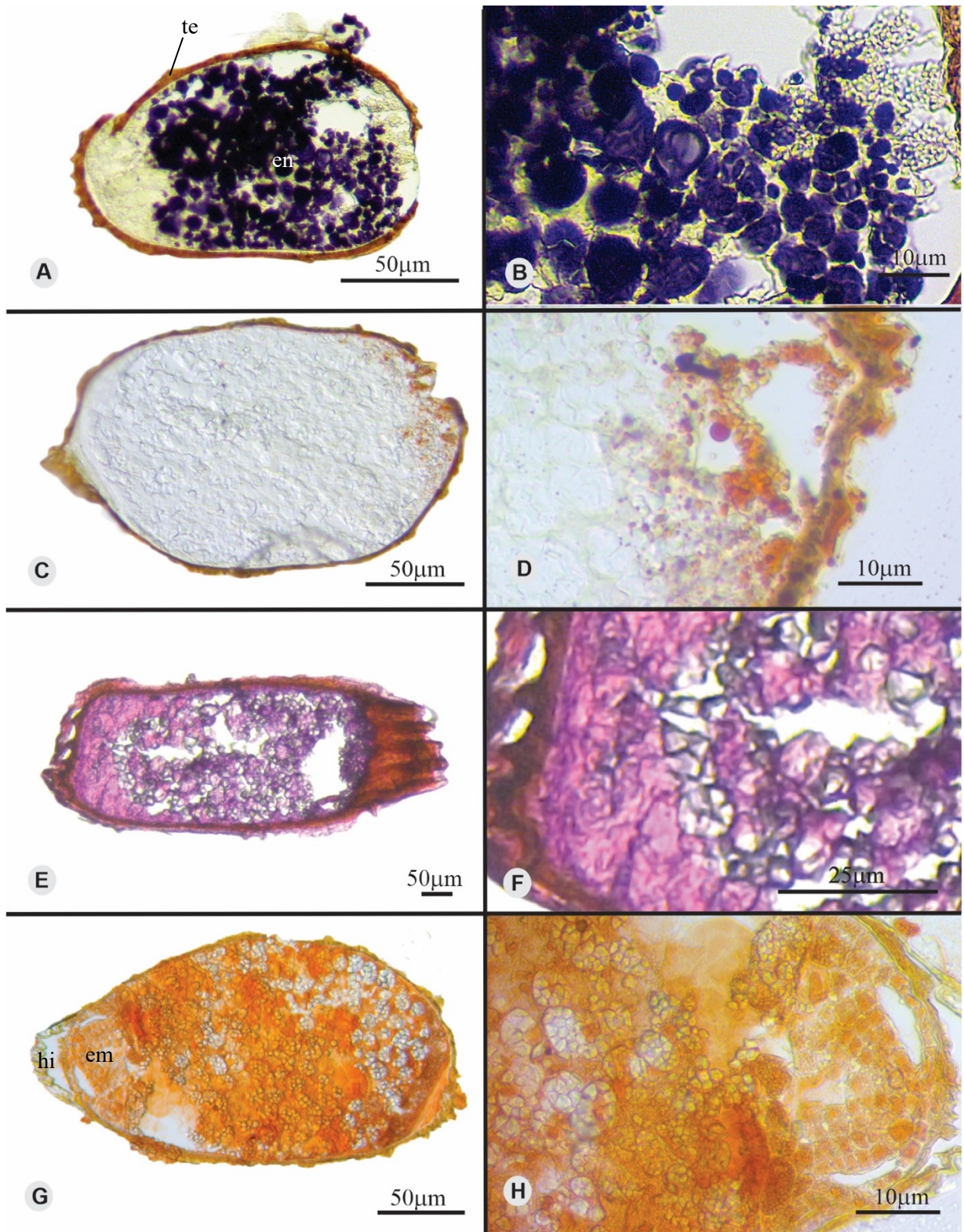


Figura 15. *Xyris hilariana*. Teste para amido (A, B), lipídios (C, D) substâncias pécicas, polissacarídeos e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H). En = endosperma; em = embrião; hi = hilo; te = tegumento.

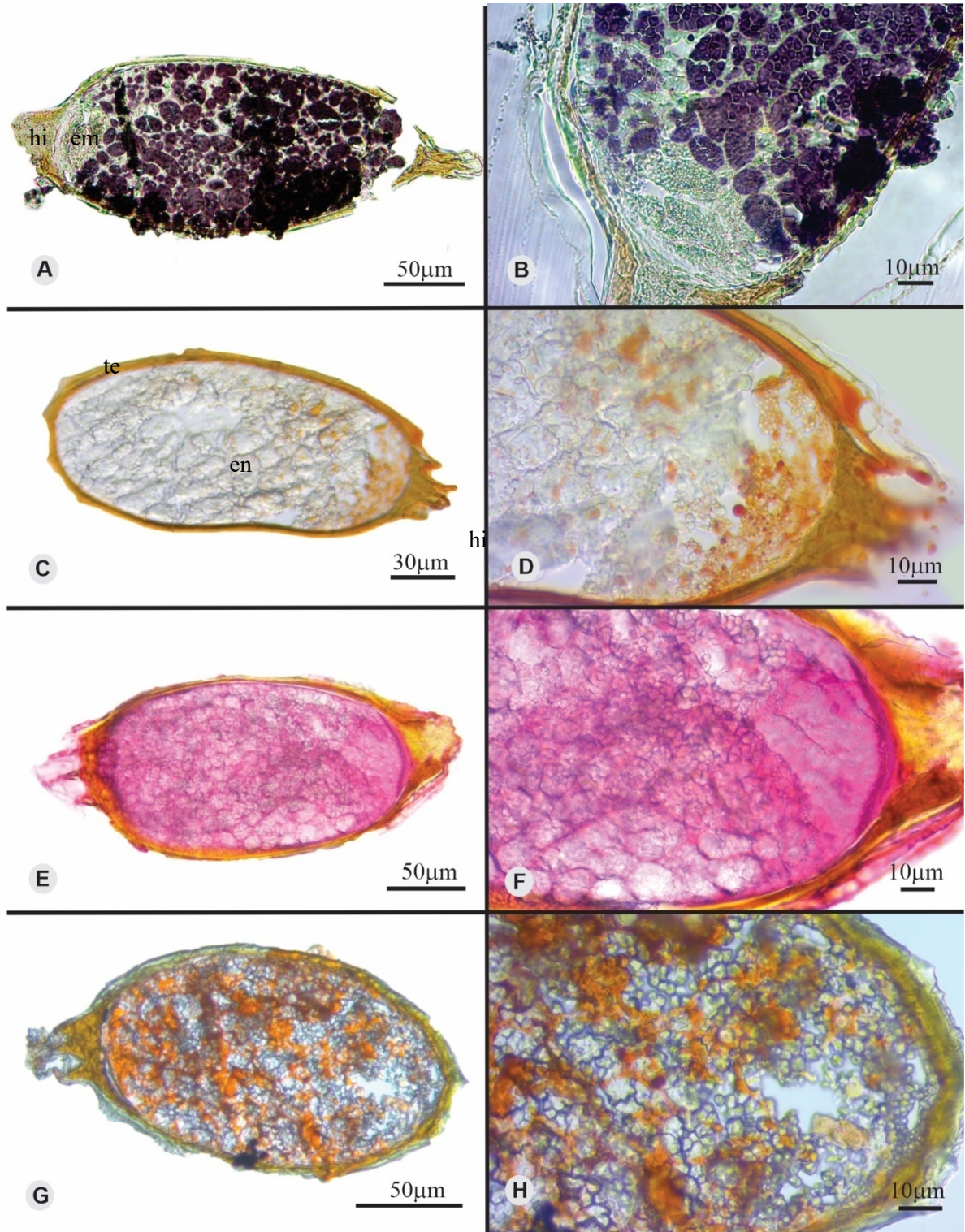


Figura 16. *Xyris jupicai*. Teste para amido (A, B), lipídios (C, D) substâncias pécicas, polissacarídeos e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H). hi = hilo; em = embrião; en = endosperma; te = testa.

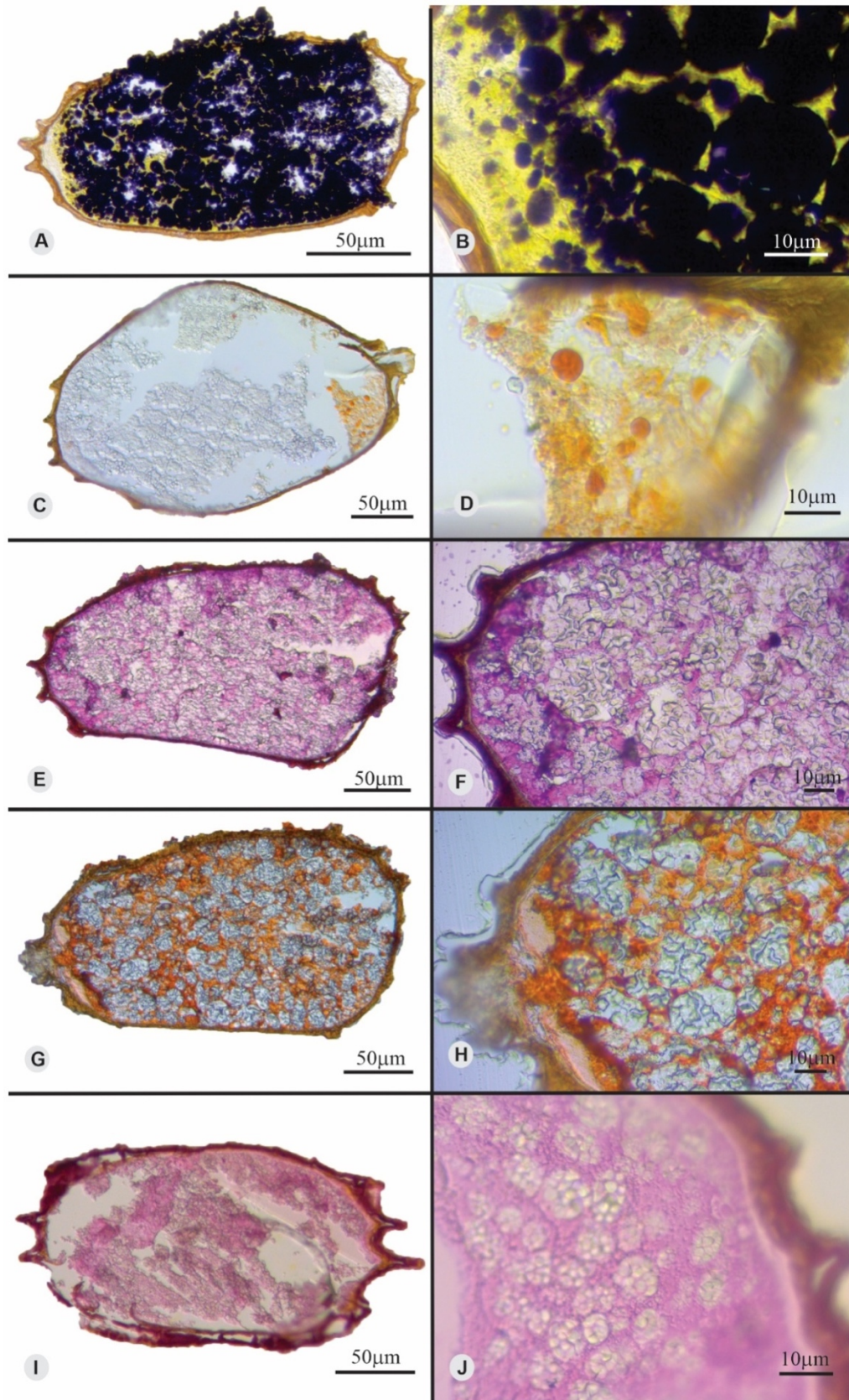


Figura 17. *Xyris paradisiaca*. Teste para amido (A, B), lipídios (C, D) substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida (E, F); proteínas e compostos fenólicos (G, H); carboidratos (I, J).

Para as espécies da família *Melastomataceae* o teste para amido com Lugol deu negativo (figs. 1 a 6). Para lipídeos com Sudan IV o resultado variou entre as espécies: *A. Alsinaeflora* (fig. 1) corou, em *C. hilariana* reagiu positivamente no tégmen (fig. 2), *Microlicia* sp. Teve pigmentação na testa (fig. 3). Para *T. melastomoides* o resultado foi negativo (fig. 7), diferente da família Rutaceae, que possui total reserva de lipídios no endosperma, mas nem sempre as espécies da família apresentam endosperma (Corner, 1976), mas para a espécie *Balfourodendron riedelianum* a reserva tanto do endosperma como dos cotilédones é lipoproteica (Silva & Paoli, 2006). Para *Myrciaria dubia* (Myrtaceae) a reserva principal é proteica e lipídica, mas tendo também carboidrato na forma de amido (Ribeiro et al. 2021).

Para *Melastomataceae* obtivemos um resultado que não é capaz de elucidar por que *A. alsinaeflora* responde distintamente, tendo a germinação prejudicada pela fumaça, já que o conteúdo da semente é muito semelhante ao das outras (Tab.1).

Em *Vellozia* o teste para amido reagiu para todas, categorizando o carboidrato como reserva principal. Para lipídios o teste deu positivo para *V. albiliflora*, *V. compacta*, *V. goiasensis* e *V. variabilis* com uma maior concentração no embrião (figs. 8, 9, 11 e 14). Em *V. glochidea* só é notável a pigmentação no embrião (fig. 10) e para *V. seubertiana* (fig. 12) e *V. squamata* (fig. 13) não foi detectada a presença de lipídios.

Assim como *Vellozia*, *Smilax* pertence à ordem Liliales, mas a presença de lipídios na semente de *Smilax gayazana* é muito maior, caracterizando-a como oleaginosa, sem amido presente (Palhares et al. 2019). Em *Smilax polyantha* também há uma presença de compostos proteicos e lipídicos na semente, com amido ausente, só sendo produzido após a germinação (Martins et al. 2021). Para *Phenakospermum guyannense* (Strelitziaceae) há uma grande quantidade de amido no endosperma, e o no embrião não há (Oliveira et al. 2012), assim como para *Vellozia*. Lipídio ficou centrado no embrião e proteínas em ambos. A proporção de compostos de reserva no endosperma de monocotiledôneas é muito maior (Demason, 1988), ficando o cotilédone com uma importância bem menor no armazenamento de reservas. Outro caso é o de *Inga cinnamomea* (Fabaceae) com sementes contando apenas com a presença do amido, caracterizando a reserva como puramente amilácea (Silva et al. 2012).

Os dados de Zironi et al. (2019) presentes na Tab. 1 mostram que apenas *V. seubertiana* e *V. squamata* tiveram um resultado histoquímico distinto, com teste negativo para lipídio. Notamos que mesmo assim as espécies respondem positivamente à fumaça e não sofrem a influência do choque térmico.

Tabela 1. Espécie estudada, sua respectiva família, fisionomia de coleta e se responde à fumaça e ao choque térmico. Os traços (-) significam dados indisponíveis, a seta para baixo (↓) decréscimo da germinação após na temperatura indicada durante o tempo de um minuto, “✓” para resposta positiva da germinação e “×” para indiferente (Zirondi *et al.*, 2019a e b). Para testes histoquímicos “✓” significa teste positivo (lugol = amido; sudan IV = lipídios; vermelho de rutênio = substâncias pécicas, polissacarídios e mucilagem ácida; xylidine ponceu = proteína e compostos fenólicos, Shiff P.A.S = carboidratos)

Espécie	Fumaça	Choque	Lugol	Sudan IV	Vermelho de Rutênio	Xylidine	Shiff P.A.S
<i>Acisanthera alsinaefolia</i>	↓	-	negativo	✓	✓	✓	✓
<i>Cambessedesia hilariana</i>	✓	×	negativo	✓	✓	✓	✓
<i>Microlicia</i> sp	✓	×	negativo	✓	✓	✓	✓
<i>Pleroma cardinale</i>	✓	×	-	-	-	-	-
<i>Pleroma frigidula</i>	×	×	negativo	-	✓	✓	✓
<i>Pleroma stenocarpum</i>	×	×	-	✓	✓	-	-
<i>Tibouchina melastomoides</i>	✓	×	negativo	negativo	✓	✓	✓
<i>Vellozia albiflora</i>	✓	200°C↓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Vellozia compacta</i>	✓	200°C↓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Vellozia glochidea</i>	✓	×	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Vellozia goiasensis</i>	✓	200°C↓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Vellozia seubertiana</i>	✓	×	✓	negativo	✓	✓	-
<i>Vellozia squamata</i>	✓	×	✓	negativo	✓	✓	✓
<i>Vellozia variabilis</i>	×	200°C↓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Xyris hilariana</i>	×	-	✓	✓	✓	✓	-
<i>Xyris jupicai</i>	×	-	✓	✓	✓	✓	-
<i>Xyris paradisiaca</i>	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓

Para as espécies de *Xyris* foi identificado o amido, já os lipídios ficaram restritos às células do embrião (figs, 14, 15 e 16). Os dados com espécies de *Xyris* também não foram suficientes para identificar porque apenas *X. paradisiaca* teve acréscimo na germinação enquanto *X. hilariana* e *X. jupicai* ficaram neutras.

Com relação à fisiologia de sementes, o que ocorre na formação do embrião é uma transferência de recursos da planta mãe a fim de construir uma reserva consistente o suficiente para o evento germinativo e desenvolvimento inicial, com alocação no endosperma, perisperma (tecido nucelar) ou cotilédones (Raven, 2001). Estudos de conteúdo são comuns para espécies cultivadas como cereais e leguminosas. Sendo compostos por ~10% e ~40% de proteína, respectivamente (Shewry et al. 1995). As espécies que tiveram amostra suficiente para realizar as análises fisiológicas totais ou parciais estão descritas na Tab. 2.

O carboidrato e os lipídios são fontes de energia e carbono para a germinação de desenvolvimento do vegetal (Ferreira & Borghetti, 2004). Para sementes de Melastomataceae não foi possível quantificar amido extraído enfatizando o que foi amostrado nos testes histoquímicos. O amido é um composto de ampla ocorrência nos vegetais. Em alguns grupos taxonômicos os polissacarídeos de parede celular podem atuar como reserva (Ferreira & Borghetti, 2004) o que parece ser o caso de Melastomataceae devido à ausência de amido e à baixa quantidade de lipídios (Figs. 1 a 7).

Já as espécies de *Vellozia* tiveram altos índices de amido nas análises fisiológicas corroborando com o que foi observado nos testes histoquímicos, logo o principal composto de reserva energética nas sementes de *Vellozia* é o amido com exceção de *V. albiliflora* que não apresentou amido nas análises fisiológicas, porém grãos de amido foram verificados nos testes histoquímicos. O mesmo caso foi observado para *X. jupicai*.

Para *Xyris* o amido também é uma reserva preponderante, como observado na histoquímica através dos grãos (Figs. 15 a 17). A semente de *X. jupicai* também é rica em proteínas.

Carboidratos foram detectados no citoplasma em todos os casos. Aparentemente não há correlação direta entre espécies que respondem positivamente à fumaça com a presença ou não de amido, uma vez que há espécies com e sem tal tipo de reserva que apresentam resposta positiva na germinação quando tratadas com a fumaça. O mesmo pode ser aplicado para lipídios e proteínas.

Tabela 2. Composição (média $\pm$ erro padrão) de proteínas, aminoácidos, carboidratos totais, amido e compostos fenólicos, encontrado em sementes de espécies de Melastomataceae, Velloziaceae e Xyridaceae que respondem ou não à fumaça.

Espécie	Proteína (micromoles/gMF)	Aminoácidos (micromoles/gMF)	Carboidratos totais (mg/gMF)	Amido (Mg/gMF)	Compostos fenólicos (micromoles/gMF/ diluição20x)
<i>P. stenocarpum</i>	9,40 $\pm$ 1,95	14,46 $\pm$ 9,62	2840,50 $\pm$ 744,86	-	1209,86 $\pm$ 69,17
<i>Stenodon sp</i>	6,43 $\pm$ 0,49	6,64 $\pm$ 4,14	1850,51 $\pm$ 678,59	-	164,96 $\pm$ 3,72
<i>T. melastomoides</i>	23,19 $\pm$ 0,50	3,26 $\pm$ 6,11	4080,48 $\pm$ 1970,55	-	463,10 $\pm$ 10,43
<i>V. albiliflora</i>	2,16 $\pm$ 0,32	6,41 $\pm$ 4,86	909,39 $\pm$ 274,21	-	412,99 $\pm$ 27,50
<i>V. glochidea</i>	13,86 $\pm$ 2,68	45,31 $\pm$ 17,17	4380,43 $\pm$ 1695,10	5678,15 $\pm$ 1744,23	674,43 $\pm$ 47,14
<i>V. goiasensis</i>	2,80 $\pm$ 0,19	4,92 $\pm$ 2,68	839,13 $\pm$ 276,20	1271,81 $\pm$ 54,76	137,16 $\pm$ 8,52
<i>V. seubertiana</i>	3,72 $\pm$ 0,20	11,82 $\pm$ 7,69	312,86 $\pm$ 73,03	1231,42 $\pm$ 75,30	288,09 $\pm$ 34,14
<i>V. squamata</i>	-	-	1291,03 $\pm$ 507,96	826,73 $\pm$ 16,65	246,51 $\pm$ 52,26
<i>X. jupicai</i>	20,77 $\pm$ 0,69	30,03 $\pm$ 15,90	1928,38 $\pm$ 311,49	-	-

CONCLUSÃO

Para substâncias pécticas, polissacarídios, mucilagem ácida, proteína e compostos fenólicos os testes deram foram positivos em todas as espécies. As sementes de Melastomataceae não têm uma reserva na forma de amido, na família, apenas *T. melastomoides* não possui reserva de lipídio. No gênero *Vellozia* (Velloziaceae) há amido para todas e lipídios não foram detectados em *V. seubertiana* e *V. squamata*. As espécies de Xyris tiveram todos os testes positivos. Os testes não foram capazes de justificar respostas distintas das espécies à fumaça ou ao choque térmico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEWLEY, J. Derek; BLACK, Michael. **Seeds: physiology of development and germination**. Springer Science & Business Media, 2013.

BIELESKI, R. L.; TURNER, N. A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical biochemistry**, v. 17, n. 2, p. 278-293, 1966.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CADOT, Yves; MIÑANA-CASTELLÓ, Maria Teresa; CHEVALIER, Michel. Anatomical, histological, and histochemical changes in grape seeds from *Vitis vinifera* L. cv Cabernet franc during fruit development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 24, p. 9206-9215, 2006.

ÇATAV, Şükrü Serter et al. Effect of fire-derived chemicals on germination and seedling growth in Mediterranean plant species. **Basic and Applied Ecology**, v. 30, p. 65-75, 2018.

CORNER, E.J.H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University. Press, 1976. v.1, p.232-237.

COUTINHO, Leopoldo M. Ecological effects of fire in Brazilian cerrado. In: **Ecology of tropical savannas**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1982. p. 273-291.

DEMASON, Darleen A. Endosperm structure and storage reserve histochemistry in the palm, *Washingtonia filifera*. **American Journal of Botany**, v. 73, n. 9, p. 1332-1340, 1986.

FLEMATTI, G.R. et al. A compound from smoke that promotes seed germination. **Science** 303, 2004

FOLIN, O. ; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of biological chemistry*, 73(2), 627-650. 1927.

HORNER JR, Harry T.; ARNOTT, Howard J. A histochemical and ultrastructural study of *Yucca* seed proteins. **American Journal of Botany**, v. 52, n. 10, p. 1027-1038, 1965. LOWE, L. B.; RIES, Stanley K. Endosperm protein of wheat seed as a determinant of seedling growth. **Plant Physiology**, v. 51, n. 1, p. 57-60, 1973.

MARTINS, Aline Redondo et al. Seed ontogeny and endosperm chemical analysis in *Smilax polyantha* (Smilacaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 60, n. 8, p. 693-699, 2012.

O'BRIEN, TrP; FEDER, N.; MCCULLY, Mi E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, Andréia Barroncas de et al. Morfoanatomia e histoquímica da semente de sororoca

(Phenakospermum guyannense (Rich.) Endl.-Strelitziaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 2, p. 280-287, 2012.

PALHARES, Dario et al. Studies on the seeds of Smilax goyazana A. DC (Smilacaceae). **Phyton**, v. 49, n. 1, p. 117-130, 2009.

RIBEIRO, Rafaella C.; OLIVEIRA, Denise MT; SILVEIRA, Fernando AO. A new seed coat water-impermeability mechanism in Chaetostoma armatum (Melastomataceae): evolutionary and biogeographical implications of physiophysical dormancy. **Seed Science Research**, v. 25, n. 2, p. 194-202, 2015.

RIBEIRO, Olívia Domingues et al. Seed anatomy and histochemistry of Myrciaria dubia (Kunth) McVaugh, an Amazonian Myrtaceae. **Flora**, v. 280, p. 151847, 2021.

SILVA, RAL et al. Análise histoquímica em sementes de ingá (inga cinnamomea spruce ex benth). In: **Embrapa Roraima-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: SBF, 2012., 2012.

SHEPHERD, K. A.; MACFARLANE, T. D.; COLMER, T. D. Morphology, anatomy and histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) fruits and seeds. **Annals of Botany**, v. 95, n. 6, p. 917-933, 2005.

SHEWRY, Peter R.; NAPIER, Johnathan A.; TATHAM, Arthur S. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. **The plant cell**, v. 7, n. 7, p. 945, 1995.

TAIZ, L.; Zeiger, E.; MØLLER, I. M. ; MURPHY, A. **Fundamentos de fisiología vegetal**. Artmed Editora. 2021.

TOKUHISA, Daí et al. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (Carica papaya). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, p. 180-188, 2007.

WW, UMBREIT et al. A colorimetric method for transaminase in serum or plasma. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 49, n. 3, p. 454-459, 1957.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209-214, 1955.

ZIRONDI, Heloiza L.; SILVEIRA, Fernando AO; FIDELIS, Alessandra. Fire effects on seed germination: Heat shock and smoke on permeable vs impermeable seed coats. **Flora**, v. 253, p. 98-106, 2019a.

ZIRONDI, Heloiza Lourenço et al. Heat and smoke affect the germination of flammable resprouters: Vellozia species in the Cerrado. **Folia Geobotanica**, v. 54, n. 1, p. 65-72, 2019b.