

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

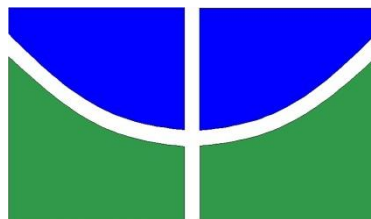
DISSERTAÇÃO

**O papel dos cotilédones no desenvolvimento inicial de espécies lenhosas do
Cerrado**

**The role of cotyledons in the early development of woody species of the
Cerrado**

Nathaly Tacki Maass Ribeiro – 22/1108656

Brasília, Fevereiro de 2025



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

O papel dos cotilédones no desenvolvimento inicial de espécies lenhosas do Cerrado

Nathaly Tacki Maass Ribeiro – 22/1108656

Dissertação de Mestrado apresentado como exigência para a obtenção do título de Mestre em Botânica pelo Departamento de Botânica da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Augusto Cesar Franco

Brasília-DF, Fevereiro de 2025

"A morte é, de fato, o fim, mas não a finalidade da vida." – Michel de Montaigne

Agradecimentos

Agradeço aos propósitos que inspiram, motivam e nos dão energia e força para seguir o caminho que nos realiza. Porque a vida precisa de propósito, e o trabalho é uma parte essencial dela.

Agradeço aos meus pais, Rozangela Maass e Henrique Maass, e aos meus avós, Dalva Maass (*in memoriam*) e Edmundo Maass (*in memoriam*), que proporcionaram a estrutura que me permitiu estudar. Eles me formaram e me deram a urgência de agir. Sem embasamento acadêmico, sem acesso à universidade, mas sempre conscientes da importância da educação, da independência e da responsabilidade. A cada curva no caminho, mesmo não estando mais presentes, reconheço a influência dos meus avós, que, ao compartilharem comigo suas experiências, mesmo que de forma tão discreta, enriqueceram minha vida.

Agradeço ao meu irmão, Higor Maass, que contribuiu não só me buscando na parada de ônibus, mas também auxiliando nas demandas manuais no laboratório.

Sou grata a Augusto Brignol, que, de forma tão única, me ajudou e auxiliou no âmbito acadêmico e pessoal. Dentre todas as suas contribuições, o seu apoio e consolo na esfera pessoal foram os mais significativos. Agradeço por todo o seu auxílio e carinho.

Agradeço aos meus amigos, Ana Paula e W. Eduardo, que, sem nenhuma obrigação ou benefício, estiveram presentes, me ofereceram apoio e suporte nos momentos difíceis. Além das conversas e cafés, que tantas vezes foram meu respiro nos corredores da Botânica, ainda me ajudaram na execução laboratorial. E a todos os demais que contribuíram durante todo o período do mestrado.

À TIKRÉ, que me proporcionou a oportunidade que tanto procurei. Que me permitiu não apenas trabalhar, mas trabalhar com propósito, viabilizando minha permanência no mestrado.

Ao Prof. Dr. Augusto César Franco, pela orientação concisa, que contribuiu enormemente para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

Agradeço à Universidade de Brasília, por tudo.

À banca, que disponibilizou seu tempo, atenção e conhecimento para contribuir com este trabalho.

Ao CNPq, à FAPDF e aos recursos da pós-graduação, que possibilitaram a realização deste estudo.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. OBJETIVOS E HIPÓTESES	15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 PLÂNTULAS E TIPOS COTILEDONARES	18
3.2 RESERVAS DAS SEMENTES	20
3.3 ESPÉCIES UTILIZADAS	22
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
5.CAPÍTULO 1	29
RESUMO.....	30
ABSTRACT	31
5.3 INTRODUÇÃO	32
5.4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
5.4.1 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	36
5.4.2 ANÁLISE QUÍMICA DO SUBSTRATO	39
5.4.3 ANÁLISE DOS DADOS	40
5.5 RESULTADOS	40
5.7 DISCUSSÃO	56
5.8 CONCLUSÃO.....	60
5.9 REFERÊNCIAS	61
6.0CAPÍTULO 2	66
RESUMO.....	67
ABSTRACT	68
6.1 INTRODUÇÃO	69
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	71
6.3 RESULTADOS	73
6.4 DISCUSSÃO	85
6.5 CONCLUSÃO.....	87
6.6 REFERÊNCIAS	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico com meses com as maiores velocidades médias do vento (m/s) entre 2014 e 2023.	17
Figura 2. Sementes anemocóricas de espécies arbóreas nativas do Cerrado, com diferentes tipos de estruturas que auxiliam na dispersão. a) <i>Qualea grandiflora</i> , b) <i>Lafoensia pacari</i> , c) <i>Kielmeyera coriacea</i> , d) <i>Magonia pubescens</i> , e) <i>Aspidosperma macrocarpon</i> e f) <i>Eriotheca pubescens</i>	18
Figura 4. Classificação dos tipos de plântulas proposta por Miquel (1987). 1 - Fanerocotiledonar Hipógea de Reserva; 2 - Fanerocotiledonar Epígea de Reserva; 3 - Fanerocotiledonar Epígea Foliar; 4 - Criptocotiledonar Hipógea de Reserva e 5 - Criptocotiledonar Epígea de Reserva	19
Figura 5. Desenho esquemático do estabelecimento do experimento, em condições ilustrativas. 1- Sementes distribuídas sobre a bandeja; 2 - Deposição das sementes em B.O.D.; 3 - Germinação das sementes; 4 - Preparação de recipientes preenchidos com areia, na casa de vegetação; 5 – Distribuição das sementes em recipientes de 15 cm de altura.	35
Figura 6. Esquema experimental correspondente a coleta cotiledonar, nos respectivos tratamentos.	36
Figura 7. Sementes de <i>T. aurea</i> , <i>K. coriacea</i> e <i>A. macrocarpon</i> , respectivamente. A sigla NS indica o núcleo seminífero (conjunto formado pelos cotilédones e eixo embrionário) e E indica o eixo hipocótilo-radicular das sementes.	42
Figura 8. Cotilédones de <i>Aspidosperma macrocarpon</i> , <i>Kielmeyera coriacea</i> e <i>Tabebuia aurea</i> , respectivamente, 30 dias após a germinação. A – face adaxial e B – face abaxial.	44
Figura 9. Imagens em objetiva de 10x referentes as lâminas de cotilédones com barra de escala de 100µm. A – Face adaxial dos cotilédones de <i>A. macrocarpon</i> ; B – Face abaxial dos cotilédones de <i>A. macrocarpon</i> ; C – Face adaxial dos cotilédones de <i>K. coriacea</i> ; D – Face abaxial dos cotilédones de <i>K. coriacea</i> ; E – Face adaxial dos cotilédones de <i>T. aurea</i> e F – Face abaxial dos cotilédones <i>T. aurea</i> , com marcação circular em uma papila ou tricoma glandular. Os estômatos estão indicados com setas azuis.	45
Figura 10. Foto de plântula aos 90 dias após a germinação. (1) <i>Aspidosperma macrocarpon</i> , (2) <i>Kielmeyera coriacea</i> e (3) <i>Tabebuia aurea</i> , com marcação de círculo vermelho nos cotilédones.	47
Figura 11. Alteração da massa seca média (a, c e e) e massa fresca média (b, d e f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a,b) <i>A. macrocarpon</i> , c,d) <i>K. coriacea</i> e e,f) <i>T. aurea</i> . Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e Dunn-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.	48
Figura 12. Alteração dos Açúcares Solúveis Totais (ASTs) em concentração (a,e c) e em estoque (b, d e f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a,b) <i>A. macrocarpon</i> , c,d) <i>K. coriacea</i> e e,f) <i>T. aurea</i> . Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas. Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) estão representadas pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.	49
Figura 13. Gráficos referentes quantidade de quantidade de amido em concentração (a, c e e) e em estoque (b, d, f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a,b) <i>A. macrocarpon</i> , c,d) <i>K. coriacea</i> e e,f) <i>T. aurea</i> . Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dunn-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas	

letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.....	50
Figura 14. Gráficos referentes quantidade de quantidade de lipídeos em concentração (a, c, e) e em estoque (b, d, f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a.b) <i>A. macrocarpon</i> , c.d) <i>K. coriacea</i> , e e.f) <i>T. aurea</i> . Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.....	51
Figura 15. Concentrações de carbono (a, c, e) e nitrogênio (b, d, f) nos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a.b) <i>A. macrocarpon</i> , c.d) <i>K. coriacea</i> e e.f) <i>T. aurea</i> . Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.....	52
Figura 16. Gráficos referentes quantidade de quantidade de carbono (a, c, e) e nitrogênio (b, d, f) em estoque dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a.b) <i>A. macrocarpon</i> , c.d) <i>K. coriacea</i> e e.f) <i>T. aurea</i> . Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.....	53
Figura 17. Variação na concentração das reservas de combinadas dos NSs e cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a) <i>A. macrocarpon</i> , b) <i>K. coriacea</i> e c) <i>T. aurea</i> . Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dunn-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes. NS: núcleo seminífero. 5, 10, 20, 40 e 90 correspondem ao número de dias após a germinação.....	54
Figura 18. Distribuição da massa seca e dos estoques (g) de amido, açúcares solúveis e lipídeos nos NSs e plântulas (folhas, caules, raízes e cotilédones) aos 90 após a germinação de <i>A. macrocarpon</i> , <i>K. coriacea</i> e <i>T. aurea</i> . a) Massa seca, b) Açúcares solúveis, c) Amido, d) Lipídeos e e) Reserva de Carbono (soma de Açúcares Solúveis, Amido e Lipídeos). Em teste t, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre o núcleo seminífero e a plântula de cada espécie e o teste t entre as plântulas das três espécies. O “*” marcando a diferença entres os pares (plântulas e NSs) e as letras indicam diferenças entre as plântulas das três espécies.	56
Figura 19. Esquema experimental correspondente a remoção cotiledonar parcial e total de plântulas de <i>A. macrocarpon</i> , <i>K. coriacea</i> e <i>T. aurea</i> , nos respectivos tratamentos.....	73
Figura 20. Gráficos de referentes ao número mortalidade em cada tratamento aos 90 dias após a germinação. a) <i>Aspidosperma macrocarpon</i> , b) <i>Kielmeyera coriacea</i> , c) <i>Tabebuia aurea</i> ..	75
Figura 21. Plântulas de <i>A. macrocarpon</i> aos 90 dias após a germinação (AG) e que tiveram um ou dois cotilédones removidos aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação.....	75
Figura 22. Plântulas de <i>K. coriacea</i> aos 90 dias após a germinação (AG) e que tiveram um ou dois cotilédones removidos aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação.....	76
Figura 23. Plântulas de <i>T. aurea</i> aos 90 dias após a germinação (AG) e que tiveram um ou dois cotilédones removidos aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação.....	77
Figura 24. Gráficos referentes as áreas: a) foliares (cm ²), b) áreas radiculares (cm ²), c) e razão da área radicular pela foliar (R/F) (cm ²) para as plântulas de <i>A. macrocarpon</i> nos diferentes	

tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 77

Figura 25. Gráficos referentes as áreas: a) foliares (cm^2), b) áreas radiculares (cm^2), c) e razão da área radicular pela foliar (R/F) (cm^2) para as plântulas de *K. coriacea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 78

Figura 26. Gráficos referentes as áreas: a) foliares (cm^2), b) áreas radiculares (cm^2), c) e razão da área radicular pela foliar (R/F) (cm^2) para as plântulas de *T. aurea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 79

Figura 27. Gráficos referentes os comprimentos: a) Comprimentos Aéreo (cm), b) Comprimento radicular (cm) e c) Razão do comprimento radicular pelo comprimento aéreo (R/A) (cm) para plântulas de *A. macrocarpon* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 80

Figura 28. Gráficos referentes os comprimentos: a) Comprimentos Aéreo (cm), b) Comprimento radicular (cm) e c) Razão do comprimento radicular pelo comprimento aéreo (R/A) (cm) para plântulas de *K. coriacea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 81

Figura 29. Gráficos referentes os comprimentos: a) Comprimentos Aéreo (cm), b) Comprimento radicular (cm) e c) Razão do comprimento radicular pelo comprimento aéreo (R/A) (cm) para plântulas de *T. aurea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 82

Figura 30. Gráficos referentes as massas secas: a) Massa seca foliar (g), b) massa secas caulinares (g) e c) massa secas radiculares (g) para plântulas de *A. macrocarpon* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 83

Figura 31. Gráficos referentes as massas secas: a) Massa seca foliar (g), b) massa secas caulinares (g) e c) massa secas radiculares (g) para plântulas de *K. coriacea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c)

cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 84

Figura 32. Gráficos referentes as massas secas: a) Massa seca foliar (g), b) massa secas caulinares (g) e c) massa secas radiculares (g) para plântulas de *T. aurea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”. 84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Meses com as maiores velocidades médias do vento (m/s) entre 2014 e 2023.....	16
Tabela 2. Variáveis obtidas a partir do levantamento biométrico das sementes das espécies: <i>Aspidosperma macrocarpon</i> , <i>Kielmeyera coriacea</i> e <i>Tabebuia aurea</i> . Dados expressos em média $\pm$ erro padrão, para um $n = 100$ sementes. As diferenças significativas foram testadas pelo teste de Tukey para variáveis paramétricas e teste de Dunn-Bonferroni para variáveis não paramétricas, ambos com $p < 0,05$, onde as espécies que diferem entre si receberam letras diferentes. NS é o núcleo seminífero, que é o conjunto formado pelos cotilédones e eixo embrionário.....	41
Tabela 3. Concentrações de amido, açúcares solúveis totais (ASTs), lipídeos, carbono e nitrogênio dos núcleos seminíferos (NS) de <i>Aspidosperma macrocarpon</i> , <i>Kielmeyera coriacea</i> e <i>Tabebuia aurea</i> . Dados expressos em média $\pm$ erro padrão, $n=3$. As diferenças significativas foram testadas por Tukey para variáveis paramétricas e teste de Dunn-Bonferroni para variáveis não paramétricas, ambos com $p < 0,05$, onde as espécies que diferem entre si receberam letras diferentes.	42
Tabela 4. Análise química da composição da areia utilizada como substrato no experimento.	43
Tabela 5. Espessuras médias e densidades estomáticas médias nas faces adaxiais e abaxiais dos cotilédones de <i>A. macrocarpon</i> , <i>K. coriacea</i> e <i>T. aurea</i> aos 30 dias após a germinação, seguidas de e erros padrões. Em teste de Dunn-Bonferroni, com $p < 0,05$, as espécies que diferem entre si receberam letras diferentes, e aquelas que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.	44
Tabela 6. Concentração de clorofila A, clorofila B e carotenoides dos cotilédones de <i>A. macrocarpon</i> , <i>K. coriacea</i> e <i>T. aurea</i> aos 30 dias após a germinação. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão, $n= 10$. O Teste de Tukey foi utilizado para verificar se as espécies diferem entre si na concentração de pigmentos, . Letras diferentes na mesma linha indicam que as espécies diferem entre si($p < 0,05$).	46
Tabela 7. Composição química das sementes sem alas (NSs) de <i>A. macrocarpon</i> , <i>K. coriacea</i> e <i>T. aurea</i> . Valores médios $\pm$ Erro Padrão, $n= 3$. Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B). Dados expressos em termos de média + erro padrão $N=3$	73
Tabela 8. Análise química da composição da Areia utilizada como substrato do experimento. Alumínio (Al), Sódio (Na) Capacidade de Troca Catiônica (CTC), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Boro (B), Fósforo (P) e Nitrogênio (N).	74

RESUMO

Durante a fase de plântula, quando ainda está estabelecendo a sua autotrofia, as reservas presentes nos cotilédones fornecem os nutrientes necessários para o desenvolvimento inicial bem-sucedido. Ao retirar os cotilédones, os efeitos observados nas plântulas refletem a dependência dos nutrientes oriundos da planta mãe. Dependendo de quanto dos cotilédones foi removido e do tempo de remoção, os efeitos podem ser mais brandos ou mais severos. Devido a importância da fase de plântula nas atuais técnicas de restauração para o Cerrado, é necessário compreender os padrões de desenvolvimento durante esse período de grande vulnerabilidade às intempéries ambientais. As formações savânicas do Cerrado possuem, muitas espécies que apresentam sementes com síndrome de dispersão anemocórica, entre elas estão: *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*. Essas espécies produzem plântulas fanerocotiledonares, cujos cotilédones desempenham desde a função de reserva até a função fotossintetizante. Com o objetivo de compreender o papel funcional dos cotilédones para essas três espécies arbóreas nativas do Cerrado, foi feita a descrição morfológica, quantificação de pigmentos e análises de composição química das sementes e dos cotilédones, acompanhado os padrões de consumo das reservas cotiledonares de carbono (açúcares solúveis, amido e lipídeos), nitrogênio (nitrogênio total), após a germinação, e executados experimentos de remoção cotiledonar. Nos experimentos de remoção, sementes germinadas foram transplantadas individualmente para recipientes de plástico transparente preenchidos com areia, mantidas em casa de vegetação, e tiveram um ou os dois cotilédones removidos aos cinco, 10, 20 e 40 dias após a germinação. O desenvolvimento destas plantas foi acompanhado por 90 dias, quando foram coletadas e comparadas aos controles, que mantiveram os cotilédones. Dos cotilédones coletados aos 5, 10, 20 e 40 dias após a germinação, foi determinada a massa fresca e seca, concentração de açúcares solúveis, amido, lipídeos e nitrogênio total. Com exceção do nitrogênio total, os mesmos parâmetros foram medidos para as folhas, caules e raízes das plantas coletadas aos 90 dias após a germinação. Além disso, foi determinado o comprimento da parte aérea e da raiz principal, área foliar e radicular destas plantas. Clorofila foi detectada nos cotilédones das três espécies, no entanto a concentração dependeu da espécie. Os cotilédones permaneceram aderidos às plântulas por mais de 40 dias, sendo que os de *K. coriacea* continuavam presentes e com coloração verde e, portanto, funcionais aos 90 dias após a germinação, enquanto os das outras duas espécies estavam senescentes ou sofreram abscisão. Os padrões de consumo das reservas dependeram da espécie e do tipo de reserva. No

experimento de remoção, os resultados obtidos evidenciam os efeitos negativos causados pela remoção cotiledonar. As plantas que tiveram os dois cotilédones removidos mais próximo da germinação foram as mais afetadas, com expressiva redução de massa seca e de área fotossintética. Portanto, a remoção cotiledonar acarreta efeitos negativos no desenvolvimento inicial, quanto maior a intensidade da remoção e mais próximo da germinação, mais severos podem ser os efeitos.

Palavras-chaves: Remoção Cotiledonar, Reserva Cotiledonar, Reservas nas sementes, Plântulas.

ABSTRACT

During the seedling stage, when autotrophy is still being established, the reserves stored in the cotyledons provide the essential nutrients for successful early development. The removal of cotyledons impacts the seedlings, reflecting their dependency on nutrients derived from the mother plant. Depending on the extent and timing of cotyledon removal, the effects can range from mild to severe. Given the importance of the seedling phase in current Cerrado restoration techniques, understanding developmental patterns during this vulnerable period is crucial. The savanna formations of the Cerrado include many species with anemochorous seed dispersal, among them *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea*, and *Tabebuia aurea*. These species produce phanerocotyledonous seedlings, whose cotyledons serve both as storage organs and as photosynthetic structures. To understand the functional role of cotyledons in these three natives Cerrado tree species, we conducted morphological descriptions, pigment quantifications, and chemical composition analyses of seeds and cotyledons, monitoring the consumption patterns of cotyledonary carbon reserves (soluble sugars, starch, and lipids) and nitrogen (total nitrogen) after germination, along with cotyledon removal experiments. For the removal experiments, germinated seeds were individually transplanted into transparent plastic containers filled with sand, maintained in a greenhouse, and had either one or both cotyledons removed at 5, 10, 20, and 40 days after germination. The development of these plants was monitored for 90 days, after which they were collected and compared to control plants that retained their cotyledons. Cotyledon samples collected at 5, 10, 20, and 40 days after germination were analyzed for fresh and dry mass, soluble sugar concentration, starch, lipids, and total nitrogen. Except for total nitrogen, the same parameters were measured in the leaves, stems, and roots of plants collected at 90 days after germination. Additionally, shoot and

primary root length, leaf area, and root area were assessed. Chlorophyll was detected in the cotyledons of all three species: however, its concentration varied by species. Cotyledons remained attached to seedlings for over 40 days, with those of *K. coriacea* still present, green, and therefore functional at 90 days after germination, whereas those of the other two species had either senesced or undergone abscission. The consumption patterns of reserves varied by species and reserve type. The removal experiment revealed the negative effects of cotyledon removal. Plants that lost both cotyledons closest to germination were the most affected, showing a significant reduction in dry mass and photosynthetic area. Thus, cotyledon removal negatively impacts early development, with more severe effects occurring when removal is more intense and closer to the time of germination.

Keywords: Cotyledon Removal, Cotyledonary Reserves, Seed Reserves, Seedlings.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Para melhor aplicação das espécies nativas dentro de programas de recuperação de áreas degradadas do Cerrado, com vista na importância da restauração ambiental no cenário global, faz-se necessário compreender o funcionamento das espécies nativas desde o estágio de plântula. Em modelos de recuperação do Cerrado que utilizam técnicas de restauração por semeadura direta (Cava *et al.*, 2016), para que o indivíduo vegetal se estabeleça em campo, este terá que superar a fase de germinação e a fase de plântula. Após a germinação, diversos fatores restringem o estabelecimento a um número limitado de plântulas, sendo essa etapa do ciclo vegetal uma das mais vulneráveis às intempéries ambientais (Hayashi *et al.*, 2012).

Na avaliação inicial do sucesso da germinação das espécies em atividades de restauração ou conservação, é importante a caracterização dos indivíduos na fase de plântula. Do mesmo modo que as características presentes nos indivíduos vegetais adultos possibilita distinguir uma espécie da outra, para plântulas essa distinção entre espécies também é possível. Combinando o conjunto de características de uma plântula, pode-se não só identificar a qual espécie ela pertence, como é possível indicar o seu modo de dispersão, a função cotiledonar e a fitofisionomia de ocorrência. No Cerrado, com 44% da flora endêmica (Klink & Machado 2005), as plantas lenhosas apresentam ricas adaptações nos aspectos morfológicos e fisiológicos que são refletidos nas formas de dispersão das sementes, tipo de plântula e nos padrões de desenvolvimento inicial. A dispersão anemocórica, onde as sementes são disseminadas pelo vento, é frequente em espécies de formações savânicas (Peres, 2016). O tipo cotiledonar, bem como o grau de dependência das reservas cotiledonares durante a formação das plântulas, são traços adaptativos ao meio em que as espécies ocorrem e está relacionado com a forma de dispersão. As reservas cotiledonares são fonte essencial de nutrientes para as plântulas até que essas estabeleçam seu autotrofismo (Thomas & Costa, 1993).

Os cotilédones podem ter função fotossintética e de armazenamento de materiais nutritivos (Pereira & Secorun, 2017), sendo que, em muitos casos, podem desempenhar as duas funções. Após a germinação, os cotilédones permanecem presentes nas plântulas e no decorrer do tempo, os cotilédones diminuem de tamanho e posteriormente murcham e caem (Hayashi, 2012). A murcha e a queda dos cotilédones são frequentemente associadas com a translocação das reservas ou o fim da sua funcionalidade, logo, existem períodos do desenvolvimento da plântula em que estas são mais dependentes dos cotilédones. Essa dependência diminui à medida que ocorre o estabelecimento da autotrofia com o desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular.

Após a germinação, como o sistema radicular não está plenamente desenvolvido e as folhas estão em formação, é esperado que o carbono e os nutrientes inicialmente consumidos sejam aqueles presentes nos cotilédones e que essa dependência diminua ao longo do tempo, com o estabelecimento do sistema radicular e formação das folhas. Assim a quantidade de reservas de carbono e de elementos minerais (macro e micronutrientes) armazenados nos cotilédones pode indicar quais os nutrientes limitantes mais críticos para o desenvolvimento inicial do indivíduo. E isso recai sobre a noção geral de que a remoção dos cotilédones irá culminar invariavelmente na morte da plântula, mas o grau do desenvolvimento da autotrofia geralmente não é considerado. Além disso, o impacto da remoção dos cotilédones deve ser maior em espécies com sementes menores em que o volume de armazenamento disponível seria menor. Assim seria possível determinar diferentes estágios de dependência das plântulas dos seus cotilédones.

Este estudo tem como finalidade examinar os efeitos da remoção parcial ou total dos cotilédones na fase inicial do estabelecimento vegetal.

2. OBJETIVOS E HIPÓTESES

A remoção de um ou os dois cotilédones em diferentes períodos após a germinação, permite manipular a contribuição das reservas cotiledonares de carbono e nutrientes minerais para o crescimento inicial das plântulas. Portanto, o objetivo desse estudo foi analisar os efeitos da remoção de um ou dos dois cotilédones em diferentes períodos, na sobrevivência e no desenvolvimento inicial de três espécies arbóreas nativas do Cerrado. As seguintes hipóteses foram testadas:

1- Se a planta em desenvolvimento depende das reservas nutricionais nos cotilédones, então a remoção destes deve causar efeitos negativos no crescimento e na sobrevivência das plântulas. O impacto deve ser maior nas plântulas que tiverem os dois cotilédones removidos.

2- A dependência que as plântulas possuem das reservas cotiledonares é maior nos primeiros dias após a germinação, que é quando a maior parte das reservas existentes nos cotilédones são transferidas para a plântula em formação (transição entre o estágio heterotrófico para o autotrófico).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A partir de um óvulo fertilizado a semente se desenvolve, formando a estrutura básica que é constituída de maneira geral pelo tegumento, embrião e endosperma (tecido de reserva) (Urquiza, 2012). A semente é o principal meio de reprodução para a maioria das espécies lenhosas (Oliveira, 2006), e apresenta variados tamanhos, formatos e respostas aos estímulos ambientais. Assim como suas características físicas e químicas, a maneira como são dispersas também varia. No Cerrado, segundo Peres (2016), ao analisar a síndrome de dispersão de espécies arbóreas em diferentes tipos de fitofisionomia, a forma de dispersão com maior predominância em formações savânicas é a zoocórica (63%), seguida pela anemocórica (34%) e depois a autocórica (3%). A dispersão zoocórica é aquela em que o agente de dispersão é um animal, na anemocórica o dispersor é o vento, e na autocoria a dispersão é feita por processos da própria planta, como por exemplo, a rápida abertura de frutos secos que impulsiona as sementes para longe da planta mãe. Logo, entre essas classes de dispersão, é expressiva a quantidade de espécies arbóreas em formações vegetacionais do tipo savânica, que são dispersas pelo vento.

A dispersão das sementes anemocóricas ocorre no período de seca no Cerrado, que corresponde aos meses de junho a outubro, quando a pluviosidade diminui. As séries temporais de dados climatológicos obtidos de estações meteorológicas na região do Cerrado, tendem a registrar as maiores médias de velocidade do vento coincidindo com a época de dispersão das sementes não dormentes de espécies arbóreas anemocóricas, como por exemplo, *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea* (Silva Junior, 2012). Em consulta aos dados disponíveis no site INMET (2024), ao verificar os valores de velocidade do vento para a estação Brasília (A001), no período de 2014 a 2023 (Figura 1), é possível verificar os meses em que o vento atinge as velocidades médias mais altas. Os meses de seca são onde geralmente ocorrem os maiores valores para velocidade do vento. Nos 10 anos observados, seis deles possuem os meses de julho e setembro com as maiores velocidades médias (Tabela 1).

Tabela 1. Meses com as maiores velocidades médias do vento (m/s) entre 2014 e 2023.

Ano	Mês	Velocidade (m/s)
2014	Setembro	2,64
2015	Junho	2,32
2016	Janeiro	2,00
2017	Setembro	3,51
2018	Julho	2,45
2019	Julho	2,52
2020	Janeiro	2,53
2021	Agosto	2,61

2022	Julho	2,74
2023	Setembro	2,48

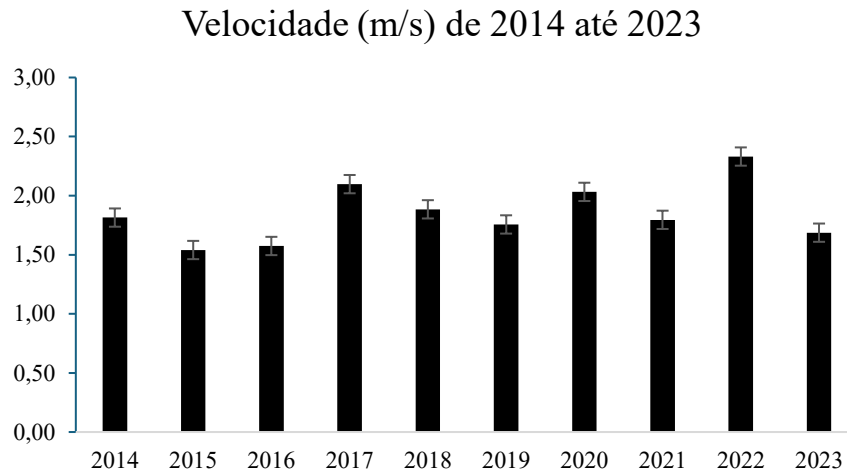


Figura 1. Gráfico com meses com as maiores velocidades médias do vento (m/s) entre 2014 e 2023.

A anemocoria é auxiliada por estruturas externas, geralmente localizadas no tegumento das sementes. Uma das estruturas mais características são as alas, que podem estar presentes em apenas uma lateral (*Qualea grandiflora*, Figura 2a) circundando toda a semente (*Lafoensia pacari*, Figura 2b) ou nas duas laterais (*Kielmeyera coriacea*, Figura 2c). Além do formato, as alas possuem variação de textura e de rigidez. Existem aquelas com texturas coriáceas vistas em sementes de *Magonia pubescens* (Figura 2d), há as de textura papirácea, presente na espécie *Aspidosperma macrocarpon* (Figura 2e). Outras estruturas comuns, em sementes anemocóricas, são as painas (ou plumas) que revestem as sementes e auxiliam na dispersão, que são visíveis nas sementes de *Eriotheca pubescens* (Figura 2f).

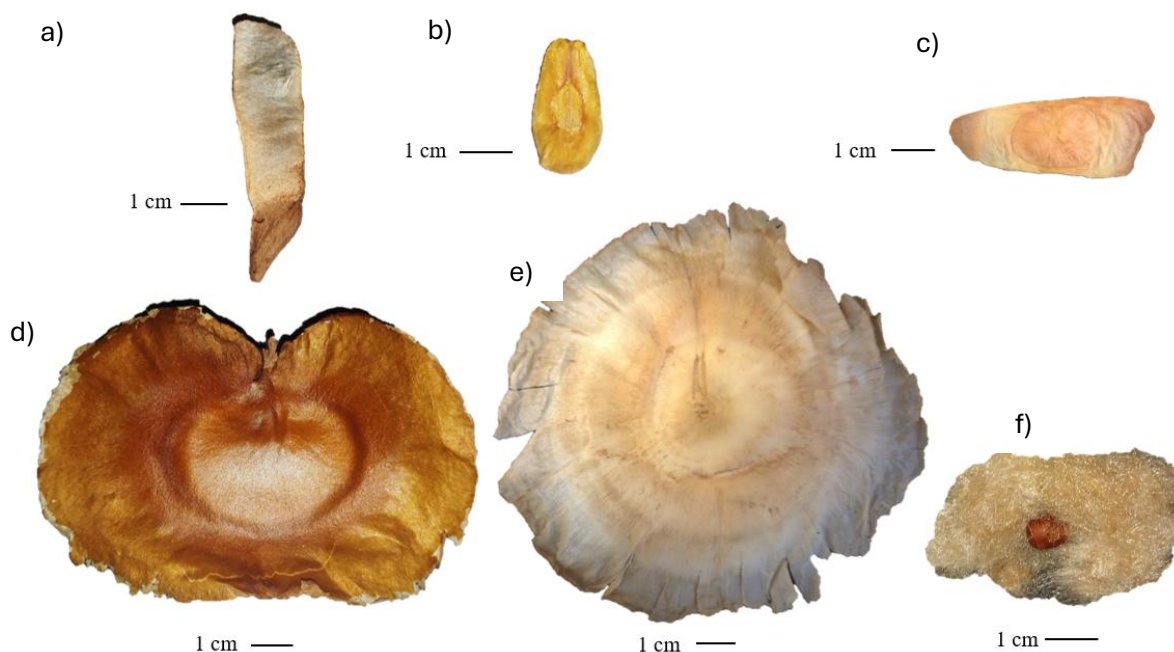


Figura 2. Sementes anemocóricas de espécies arbóreas nativas do Cerrado, com diferentes tipos de estruturas que auxiliam na dispersão. a) *Qualea grandiflora*, b) *Lafoensia pacari*, c) *Kielmeyera coriacea*, d) *Magonia pubescens*, e) *Aspidosperma macrocarpon* e f) *Eriotheca pubescens*.

Por meio dessas estruturas as sementes são impulsionadas pelo vento. O modo de dispersão influencia na massa seca das sementes, com sementes anemocóricas tendendo a variar em massa de 0,01 a 200 mg, enquanto as sementes zoocóricas tendem a ser mais pesadas e a alcançar maiores valores de massa seca (Leishman *et al.*, 2000, De Melo *et al.*, 2020).

3.1 Plântulas e tipos cotiledonares

Após a germinação, inicia-se um estágio temporário do desenvolvimento vegetal, denominado de plântula, onde autores assumem como indicativo dessa etapa a ausência do pleno estabelecimento autotrófico (Pereira & Secorun, 2007). A autotrofia vegetal refere-se à capacidade de sintetizar suas próprias substâncias orgânicas por meio da fotossíntese, que promove a fixação do carbono atmosférico (CO_2) absorvido pelas folhas produzindo esqueletos de carbono que podem ser combinados aos componentes inorgânicos simples, majoritariamente absorvidos pelo sistema radicular (Carvalho, 2003). De uma maneira geral, a plântula tem como estrutura básica um eixo embrionário, hipocótilo-radícula, um ou mais cotilédones e o epicótilo com os primórdios foliares (Pereira & Secorun, 2007). Existem distintas classificações, sobre os tipos das plântulas, baseadas na morfologia, funcionalidade e características físicas (posição e exposição) dos cotilédones (Gurgel, 2012).

Em relação a exposição, os cotilédones podem ser classificados como Fanerocotiledonar (F), quando saem de dentro do tegumento, ou Criptocotiledonar (C), cotilédones que permanecem dentro do tegumento após a germinação; quando se refere a função, os cotilédones são classificados como sendo fotossintetizantes ou de reserva, e quanto a posição, podem ser classificados como Epígeos (E), acima do solo, ou Hipógeos (H) abaixo ou no nível do solo (Cavichiolo *et al.*, 2009). Os cotilédones de aspecto fino, verdes e parecidos com as primeiras folhas, apresentam função fotossintetizante e aspecto foliar (F); e aqueles que possuem maiores espessuras, de aspecto carnosos e com colorações variadas, apresentam função de reserva (R) (Montoro, 2008), e há aqueles que exercem as duas funções (de reserva e fotossintetizante em concomitância).

Seguindo a classificação proposta por Miquel (1987), existem oito tipos possíveis de classificações de plântulas combinando essas três características gerais, mas são observáveis apenas cinco, visto que os cotilédones que permanecem alojados dentro do tegumento não possuem características foliares. Sendo assim, os tipos de plântulas são: FEF – Fanerocotiledonar Epígeo Foliáceo, FER – Fanerocotiledonar Epígeo de Reserva, FHR – Fanerocotiledonar Hipógeo de Reserva, CER – Criptocotiledonar Epígeo de Reserva, CHR – Criptocotiledonar Hipógeo de Reserva (Figura 3).

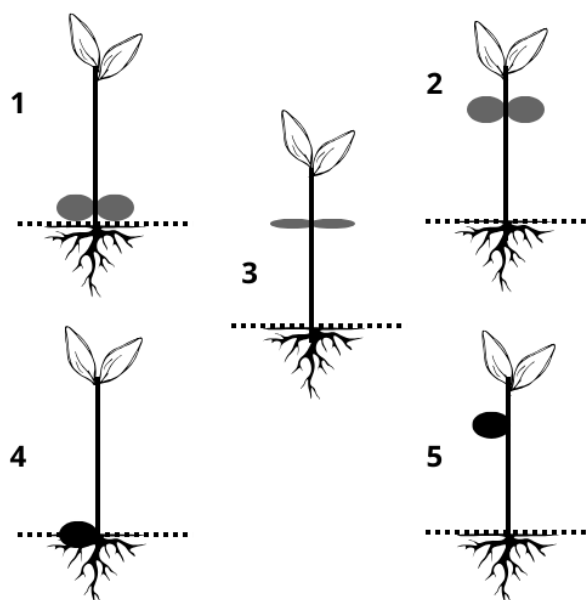


Figura 3. Classificação dos tipos de plântulas proposta por Miquel (1987). 1 - Fanerocotiledonar Hipógeo de Reserva; 2 - Fanerocotiledonar Epígeo de Reserva; 3 - Fanerocotiledonar Epígeo Foliar; 4 - Criptocotiledonar Hipógeo de Reserva e 5 - Criptocotiledonar Epígeo de Reserva

3.2 Reservas das Sementes

Nas Angiospermas, o desenvolvimento das sementes passa por três fases: embriogênese (histodiferenciação), maturação (expansão) e dessecação (Bewley e Black, 2013). A embriogênese ou histodiferenciação é a fase inicial onde ocorrem as divisões celulares e a diferenciação, onde os tecidos do embrião e do endosperma são formados (Urquiza, 2012). Na segunda fase, maturação, ocorre o crescimento das sementes (devido à expansão celular) e a acumulação (ou deposição) de carboidratos, proteínas e lipídeos (Bewley e Black, 2013) nos tecidos de armazenamento (endosperma, cotilédones e eixo hipocótilo-radícula). Nessa fase, com a maturação do eixo embrionário, o endosperma (para sementes não endospermáticas) é consumido, e as sementes passam a ser constituídas majoritariamente pelo embrião (eixo embrionário e cotilédones). A terceira fase caracteriza-se pela perda de água (Bewley & Black, 1994). As sementes, de diferentes espécies, possuem variações no tamanho e no conteúdo de suas reservas, segundo Socolowski & Cicero (2018) as sementes maiores, produzidas por uma mesma espécie, possuem maiores quantidades de substâncias de reserva.

As reservas nas sementes possuem compostos que servem como estoque de elementos minerais e de carbono, tendo como compostos principais os carboidratos, lipídios e proteínas (Buckeridge *et al.*, 2004), que variam de concentração entre as espécies e que podem ser essenciais para o sucesso do estabelecimento da planta no ambiente (De Melo *et al.*, 2020). Para Camargos *et al.* (2013), a mobilização das reservas ocorre na germinação e no decorrer do desenvolvimento das plântulas, para geração de energia, produção de matéria-prima que vai ser utilizada na construção de novas células e tecidos. Quanto maior o estoque de reserva disponível na semente, maior será o vigor da plântula e, com isso, a mobilização dessas reservas tem importância no estabelecimento dos indivíduos vegetais, já que sua participação é fundamental no estágio inicial de formação do novo indivíduo (Hennin *et al.*, 2010). O tamanho da semente tende a ser visto como um indicativo da dimensão das reservas, ou seja, sobre a disponibilidade.

Segundo Corte *et al.* (2006), analisando sementes da espécie *Caesalpinia peltophoroides*, espécie arbórea da família Fabaceae, nativa do Brasil, durante a germinação e nas fases iniciais do desenvolvimento, os cotilédones reduzem de tamanho. A redução do tamanho foi também observada por Hayashi *et al.* (2012), e segundo os autores a diminuição ocorre pois os nutrientes armazenados são transportados para as áreas de crescimento, e posteriormente os cotilédones murcham e caem. É comum considerar que a queda dos cotilédones seja resultado da translocação das reservas ou que os cotilédones não possuem mais uma função visto que o indivíduo vegetal estabeleceu sua autotrofia.

De acordo com Bisognin *et al.* (2004), o efeito da remoção dos cotilédones, na produção da massa seca, é influenciado pela espécie e pela taxa de crescimento inicial. Segundo Thomas e Costa (1993), plântulas de *Glycine max* em que, foram removidos dois ou nenhum cotilédone, removidos mostraram desenvolvimento inferior em comparação com as plântulas que tiveram, um cotilédone sombreado ou os dois sombreados, sendo que para esta espécie os cotilédones são majoritariamente de reserva. Para a espécie *Cucumis sativus*, que apresenta cotilédones foliáceos, foi observado que a plântula não atinge seu pleno estabelecimento caso a remoção tenha sido realizada quando os cotilédones não tenham atingido sua total expansão (Bisognin, 2004). Oliveira e Morais (1999), ao trabalhar com seis espécies, *Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata*, *Leucaena leucocephala*, *Prosopis juliflora*, *Tamarindus indica* e *Delonix regia*, observaram que os cotilédones possuem papel fundamental no desenvolvimento inicial da planta, pois fornecem substâncias essenciais. A remoção de ambos os cotilédones provocou diminuição da capacidade de rebrota nas plântulas que sofreram excisão dos ápices epicotiledonares. Bonfil (1998) verificou que o crescimento e a sobrevivência de plântulas de *Quercus laurina* e *Quercus rugosa* foram afetados de forma significativa pela excisão dos cotilédones.

Logo, se a remoção dos cotilédones gera efeitos negativos, pois trata-se da remoção dos estoques de carbono e nutrientes minerais, o tempo em que ocorrer a excisão pode acarretar impactos variados no desenvolvimento inicial da plântula. Ou seja, a intensidade do impacto no desenvolvimento inicial pode ser ampliada ou minimizada dependendo do quanto da reserva já foi mobilizado quando ocorre a remoção dos cotilédones. No trabalho de Corte *et al.* (2006) com *Caesalpinia peltophoroides*, foi possível observar a mobilização das reservas nos cotilédones no decorrer de 35 dias. No decorrer do tempo, a concentração das reservas diminuiu à medida que elas foram sendo mobilizadas e direcionadas para a planta em formação. Assim, a maior quantidade de reservas nos cotilédones é remobilizada nos períodos mais próximos da germinação, portanto, se a retirada dos cotilédones ocorrer mais próxima a germinação, a quantidade de reserva retirada será maior do que em períodos mais distantes da germinação, por consequência os efeitos negativos serão inversamente proporcionais aos dias decorridos pós germinação.

3.3 Espécies Utilizadas

As sementes utilizadas nesse estudo foram das espécies *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*. O gênero *Aspidosperma* Mart. & Zucc., da família Apocynaceae, ocorre em todos os estados do Brasil, mas não é endêmico e possui no total 69 espécies (Castello *et al.*, 2023). Uma das espécies de hábito arbóreo desse gênero é a *Aspidosperma macrocarpon* Mart. & Zucc., que é nativa e não endêmica do Cerrado (Castello *et al.*, 2023), e conhecida popularmente como Guatambu-do-Cerrado. É uma espécie decídua com dispersão anemocórica e frutificação entre os meses de julho a outubro. Os frutos são lenhosos, com até 20 cm de diâmetro; são aplanados, arredondados, assimétricos e pilosos; as sementes com até 9 cm de diâmetro são planas, de formato arredondado, possuem alas centrais, coloração amarelada (Silva Júnior, 2012).

Os frutos deiscentes e as sementes secas de *A. macrocarpon* se assemelham aos das espécies: *Aspidosperma subincanum* Mart., *Aspidosperma tomentosum* Mart., *Aspidosperma parvifolium* A.DC.. Segundo Guollo *et al.* (2015) e Goullo *et al.* (2016), as sementes de *A. parvifolium* em temperatura de 25°C germinaram em 16 dias. Para a espécie *A. subincanum* Mart., Oliveira *et al.* (2015) relataram que a germinação ocorreu até 15 dias em temperatura de 25°C. A germinação de *A. tomentosum* ocorreu em até 12 dias em temperaturas superiores à 20°C e inferiores à 30°C (Oliveira *et al.*, 2011). Assim as sementes de *A. macrocarpon* devem apresentar condições de germinação próximas das outras espécies do gênero, ou seja, sem dormência, com germinação ocorrendo entre 20°C e 30°C e com a germinação ocorrendo próxima aos 15 dias.

Popularmente conhecida como pau-santo, a espécie de hábito arbóreo, *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc., da família *Calophyllaceae*, quando adulta atinge uma altura média de 3 a 6 metros, com tronco suberoso e folhas simples e coriáceas (Nardoto *et al.*, 1998). Distribui-se amplamente pelo Brasil, ocorrendo em áreas de Cerrado, Cerradão e Campo Sujo (Gonçalves *et al.*, 2016). A espécie possui usos como fornecedora de cortiça e é empregada na medicina popular como tônico e emoliente (Pimenta, 2011).

Os frutos de aproximadamente 16 cm de comprimento e 5 cm de largura (Cirne e Miranda, 2008), de 12 a 15 por planta, são do tipo seco e deiscentes, possuem formato elíptico, coloração marrom; quando estão secos abrem completamente, com a dispersão anemocórica das sementes (Spiller, 2019). A dispersão ocorre próximo ao período de início das chuvas, no final da estação seca (Cirne e Miranda, 2008), nos meses de setembro e outubro (Silva Júnior, 2012). No fruto, são encontradas de 60 a 80 sementes, que apresentam formato arredondado e

oblonga, com as extremidades aladas, coloração castanha-clara, com tegumento fino e de textura lisa, com dimensões variando entre 4,3 e 5,6 cm de comprimento, 1,3 a 1,9 cm de largura e 0,2 a 0,5 cm de espessura, massa fresca de uma semente de 0,112 a 0,128g (De Mesquita Matos, 2011).

Segundo De Mesquita Matos *et al.* (2011) as plântulas em viveiro emitiram a radícula em 7 dias, para Pimenta *et al.* (2011) a germinação iniciou no segundo dia em terra preta como substrato, 5 dias em rolo de papel germitest e 6 dias quando depositadas sobre o papel germitest. As plântulas classificadas como Fanerocotiledonar Epígea e Foliácea (FEF), possuem cotilédones opostos, discolores, membranáceos e formato reniforme; em 3 meses o tamanho da plântula variou de 15,7 a 24,3 cm de comprimento, com sistema radicular formado por um tubérculo principal e raízes adventícias (De Mesquita Matos *et al.*, 2011).

Tabebuia aurea (Silva Manso) Benth. & Hook f. ex S. Moore, popularmente conhecida como ipê amarelo, caraíba ou para-tudo (Oliveira *et al.*, 2006) é uma espécie arbórea da família Bignoniaceae (Pacheco *et al.*, 2008). Devido a dureza da madeira, é uma espécie utilizada na construção civil, carpintaria e fabricação de carvão; além desses usos, a casca e raízes são utilizadas na medicina popular (Oliveira *et al.*, 2006) Trata-se de uma espécie nativa do Brasil, de distribuição ampla no território brasileiro, ocorrendo no Cerrado, na Caatinga, no Pantanal e na Amazônia (Oliveira *et al.*, 2006).

A floração geralmente inicia-se em agosto, e a frutificação ocorre de setembro a outubro (Silvar Júnior, 2012). Os frutos são secos e deiscentes (Santos *et al.*, 2019) e segundo Santos *et al.* (2019) são classificados como sendo do tipo folículo, ou seja, são frutos secos que abrem apenas de um lado. As sementes dessa espécie, que são a sua principal forma de propagação (Santos *et al.*, 2019), apresentam duas partes. As alas, presentes nas duas laterais, são aliformes alvas, assimétricas, fibrosas e aveludadas (Oliveira *et al.*, 2006). O núcleo seminífero, constituído pelo eixo embrionário e pelos cotilédones, possui na porção dorsal um funículo que serve como proteção para a radícula, na porção ventral localiza-se o hilo (OLIVEIRA *et al.*, 2006). As medidas médias com alas foram 5,78 x 2,06 x 0,31 mm, sem alas (somente o núcleo seminífero) foram 1,73 x 1,33 x 0,17mm (Oliveira *et al.*, 2006). A germinação dessa espécie, segundo Pacheco (2008), ocorreu no 14º dia, com o teor de água da semente igual a 9%. As sementes dessa espécie não possuem dormência.

As plântulas desta espécie foram classificadas como sendo fanerocotiledonares (cotilédones expostos) e epígeas, sendo os cotilédones considerados como foliáceos (Montoro, 2008), mas na literatura é possível encontrar os cotilédones também classificados como sendo

crassos de reserva e carnosos (Cabral *et al.* 2004). Os cotilédones permanecem nas plântulas até sua queda, que ocorre em até 120 dias (Cabral *et al.* 2004). Os indivíduos de *T. aurea* apresentam heterofilia, ou seja, os eófilos e os metafilos são diferentes morfologicamente (Cabral *et al.* 2004; Montoro, 2008). Os eófilos, que são as primeiras estruturas foliares a surgir logo após os cotilédones, são folhas simples, enquanto os metafilos, que sucedem os eófilos, são folhas compostas. Segundo Oliveira & Perez (2012), a altura média que *Tabebuia aurea* atingiu aos 90 dias após a germinação com aproximadamente 21% de sombreamento, foi de 21,1 cm contendo uma área foliar de 211,8 cm², a massa seca da parte aérea igual a 1,3 g, e massa seca da raiz de 1,9 g.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral LIVD, Gaspar M, Costa PMF, Aida MPM, Buckeridge MS. 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425-431.
- Bisognin DA, Do Amarante CVT, Dellai J. 2004. Contribuição das folhas cotiledonares para o crescimento e estabelecimento de plântulas de cucurbitáceas. *Horticultura Brasileira* 22:309-313.
- Bewley, J. Derek; Black, Michael. *Seeds: physiology of development and germination*. Springer Science & Business Media, 2013.
- Bonfil C. 1998. The effects of seed size, cotyledon reserves, and herbivory on seedling survival and growth in *Quercus rugosa* and *Q. laurina* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 85:79-87.
- Brasil. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria De Defesa Agropecuária. 2009. Regras para análise de sementes. Brasília, Brasil.
- Buckeridge MS *et al.* 2004. Acúmulo de Reservas. In: Ferreira AG, Borghetti F (Orgs.). *Germinação: Do Básico ao Aplicado*, Porto Alegre: ARTMED. pág. 31-50.
- Cabral EL, Barbosa DCdA; Simabukuro EA. 2004. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore submetidas a estresse hídrico. *Acta botanica brasílica* 18: 241-251.
- Camargos LS, De Sá Soares CR, Justino GC, Aguiar LF. 2013. Alocação de compostos nitrogenados de reserva durante a germinação de sementes de *Canavalia brasiliensis*. *Biotemas* 26:1-10.
- Castello, ACD, Pereira ASS, Simões AO, Koch I. 2023. *Aspidosperma* in Flora e Funga do Brasil. <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB21888.10> de setembro 2023.
- Carvalho JMFC, Vidal MS. 2003. Noções de cultivo de tecidos vegetais. Campina Grande, EMBRAPA, Brasil.
- Cava MGDB, Isernhagen I, Mendonça AHD, Durigan G. 2016. Comparação de técnicas para restauração da vegetação lenhosa de Cerrado em pastagens abandonadas. *Hoehnea* 43:301-315.
- Cavichiolo LE, Boeger MRT, Marques MCM. 2009. Estrutura dos eófilos e cotilédones de quatro tipos de plântulas da Floresta de Restinga, Paraná. *Iheringia, Série Botânica* 64:5-14.
- Cirne P, Miranda HS. 2008. Effects of preSRCibed fires on the survival and release of seeds of *Kielmeyera coriacea* (Spr.) Mart. (Clusiaceae) in savannas of Central Brazil. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20:197

- Corte VB, Borges EEDL, Pontes CA, Leite ITDA, VEntrella MC, Mathias ADA. 2006. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Revista Árvore* 30:941-949.
- De Melo RB, Ferreira CA, Lopes A, Vinson CC, Franco AC. 2020. Dispersal mode constrains allocation of carbon and mineral nutrients in seeds of forest and savanna trees. *Plant Biology* 22:203-211.
- de Mesquita Matos JM, Martins RDCC, Carvalho MT. 2011. Morfologia de Plântulas de *Kielmeyera Coriacea* Mart. *Heringeriana* 5:47-54.
- Gonçalves VD, Coelho MdFB, Camili EC. 2016. Bioensaios em sementes de *Lactuca sativa* L. com extrato de folhas de *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc. *Revista Internacional de Ciências* 6:160-170.
- Guollo K, FM, Possenti JC. 2016. Germinação de sementes de *Aspidosperma parvifolium* A. DC. em função de diferentes formas de coleta. *Ciência Florestal* 26:979-984.
- Guollo K, Possenti JC; Felippi M. 2015. Germinação de sementes de guatambu sob dois regimes de luz. *Pesquisa florestal brasileira* 35:353-357.
- Gurgel ESC, Santos JUMD, Lucas FCA, Bastos MDNDC. 2012. Morfologia de plântulas de Leguminosae e o potencial sistemático. *Rodriguésia* 63:65-73.
- Hayashi AM, Malaguetta H, Agostini K. 2012. Influência da remoção dos cotilédones no desenvolvimento inicial de plântulas de *Canavalia ensiformis* e *Phaseolus vulgaris* (Leguminosae, Papilionoidae). *Bioikos-Título não-corrente*, v. 26:63-70.
- Henning FA, Mertz LM, Jacob Junior EA, Machado RD, Fiss G, Zimmer PD. 2010. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. *Bragantia* 69:727-734.
- Klink CA, Machado RBA. 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* 1:147-155.
- INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. 2023. Gráficos Anuais de Estações Automáticas. <https://tempo.inmet.gov.br/GraficosAnuais/A001>. 20 de outubro de 2023.
- Leishman MR, Wright IJ, Moles AT, Westoby M. 2000. The evolutionary ecology of seed size. In *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford UK: CABI publishing 31-57.
- Miquel S. 1987. Morphologie fonctionnelle de plantules d'espèces forestières du Gabon. *Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle. Section B, Adansonia* 9:101-121.
- Montoro GR. 2008. Morfologia de plântulas de espécies lenhosas do cerrado. 2008. Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- Nardoto GB, Souza MP, Franco AC. 1998. Estabelecimento e padrões sazonais de produtividade de *Kielmeyera coriacea* (Spr) Mart. nos cerrados do Planalto Central: efeitos do estresse hídrico e sombreamento. *Brazilian Journal of Botany*, 21:313-319.
- Oliveira AKM, Ribeiro JWF, Pereiea KCL, Silva CAA. 2011. Germinação de sementes de *Aspidosperma tomentosum* Mart. (Apocynaceae) em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Biociências* 9:392-392.
- Oliveira AKMd, Perez SCJGA. 2012. Crescimento inicial de *Tabebuia aurea* sob três intensidades luminosas. *Ciência Florestal* 22:263-273.
- Oliveira AKM, Schleider ED, Favero S. 2006. Caracterização morfológica, viabilidade e vigor de sementes de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. *Revista árvore* 30:25-32.
- Oliveira AKM, Carvalho JMB, Sousa JS, Souza AS. 2015. Germinação de sementes de *Aspidosperma subincanum* Mart. ex A. DC em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 17:642-648.

- Oliveira OF, Morais PLD. 1999. Influência da remoção de cotilédones no desenvolvimento de ramificações nas axilas cotiledonares de plântulas de leguminosas. *Acta Botanica Brasilica* 13:243-249.
- Pacheco MV, Matos VP, Feliciano ALP, Ferreira RLC. 2008. Germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook f. ex S. Moore. *Ciência Florestal* 18:143-150.
- Peres MK. 2016. Estratégias de dispersão de sementes no bioma cerrado: considerações ecológicas e filogenéticas. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, Brasília.
- Pereira ASDS, Castello ACD, Laura A. 2017. *Aspidosperma brasiliense* (Apocynaceae), a new and widely distributed species. *Phytotaxa*, 326:235-244.
- Pereira APC, Secorun AC. 2007. Estrutura e adaptação das plântulas. *Revista Uningá* 21;161-169.
- Pimenta, Suzana Magda, Coelho, M. D. F. B., Sales DM, de Azevedo RAB, de Figueiredo MC. 2011. Germinação de sementes de *Kielmeyera coriacea* em diferentes substratos e condições de luz. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 1:81-87.
- Santos BRV, Benedito CP, Torres SB, Leal CCP, Alves TRC. 2019. Physiological maturity of *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore seeds. *Journal of Seed Science* 41:498-505.
- Santos CS. 2019. Mecanismos envolvidos na tolerância à dessecação em sementes e plântulas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore (Bignoniaceae). Tese de Mestrado. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.
- Silva Júnior MC. 2012. 100 Árvores do cerrado—sentido restrito: guia de campo. Voo. CCCIV Brasília, Rede de Sementes do Cerrado.
- Socolowski F, Cicero SM. 2008. Caracterização morfológica de embriões por imagens de raios de relação com a massa e a qualidade fisiológica de sementes de *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Sementes* 30:200-208.
- Spiller C, Varga SH, Correia AR, Coelho MFB. 2019. Biometry of fruit and seeds of *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc and *Kielmeyera grandiflora* (Wawra) Saddi of Two procedures. *Journal of Global Biosciences* 8:5916-5924.
- Thomas AL, Costa JÁ. 1993. Crescimento de Plântulas de Soja Afetado pelo Sombreamento dos Cotilédones e suas Reservas 28:925-929.
- Urquiza NG. 2012. Morfoanatomia de frutos e sementes, germinação e mobilização de reservas em *Abarema brachystachya* (DC.) Barneby & Grimes, *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze e *Mimosa scabrella* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). Tese de Doutorado. UNICAMP, Campinas.

CAPÍTULO 1

O papel das reservas cotiledonares de carbono e nitrogênio no desenvolvimento inicial de três espécies lenhosas do Cerrado

RESUMO

As sementes de espécies nativas do Cerrado, *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*, são dispersas pelo vento (anemocoria) durante a estação seca. Os padrões de dispersão podem se correlacionar com as estratégias de desenvolvimento inicial (fase de plântula). Durante esse período, as reservas cotiledonares de carbono, compostas principalmente por lipídeos, amido e açúcares solúveis, sustentam as plântulas até o estabelecimento da autotrofia. Os cotilédones desempenham funções variáveis, atuando como órgãos de reserva nutricional e, em alguns casos, fotossintetizantes. O tempo de permanência dos cotilédones nas plântulas está relacionado à translocação de nutrientes e ao estabelecimento de sistemas aéreos e radiculares. O estudo teve como objetivo, examinar como a massa do cotilédone e seus estoques de carbono e de nitrogênio variam no tempo, nestas três espécies lenhosas do Cerrado, cujos cotilédones são do tipo fanerocotiledonar, mas diferem em tamanho e na morfologia funcional. Para isto, cotilédones das três espécies foram coletados aos 5, 10, 20, 40 e 90 dias após a germinação, determinada a massas fresca e seca dos cotilédones e medida as concentrações de lipídeos, amido, açúcares solúveis, carbono e nitrogênio. Plântulas foram coletadas aos 90 dias após a germinação para determinação da massa fresca e seca do caule, folhas e raízes e as concentrações de lipídeos, amido, açúcares solúveis. As alterações nas concentrações e estoques de reservas de carbono nos cotilédones ao longo do desenvolvimento das plântulas indicaram que mesmo os cotilédones diferindo em densidade estomática, massa seca e espessura, houve redução gradual do estoque de carbono e nitrogênio para as 3 espécies. Apesar das sementes de *K. coriacea* terem a menor massa seca, as reservas de carbono das suas plântulas ultrapassaram, em massa, a quantidade originalmente presente nas sementes. Conclui-se que as três espécies diferiram quanto à função cotiledonar predominante. sendo os cotilédones de *K. coriacea* predominantemente fotossintéticos, os de *A. macrocarpon* atuam principalmente como reserva, enquanto os de *T. aurea* apresentam uma função intermediária, sendo tanto fotossintéticos quanto de reserva. Aos 90 dias após a germinação, as três espécies já apresentavam reservas expressivas de carbono principalmente na forma de amido, no sistema radicular.

Palavras Chaves: Reserva Cotiledonar, Sementes, Cotilédones.

ABSTRACT

The seeds of native Cerrado species, *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea*, and *Tabebuia aurea*, are wind-dispersed (anemochory) during the dry season. Dispersal patterns may correlate with early development strategies (seedling phase). During this period, the cotyledonary carbon reserves, composed mainly of lipids, starch, and soluble sugars, support the seedlings until they establish autotrophy. The cotyledons serve variable functions, acting as nutrient storage organs and, in some cases, as photosynthetic structures. The duration of cotyledon retention in seedlings is related to nutrient translocation and the development of the aerial and root systems. This study aimed to examine how cotyledon mass and their carbon and nitrogen reserves vary over time in these three woody Cerrado species, whose cotyledons are phanerocotyledonous but differ in size and functional morphology. To this end, cotyledons from the three species were collected at 5, 10, 20, 40, and 90 days after germination. Their fresh and dry masses were determined, and concentrations of lipids, starch, soluble sugars, carbon, and nitrogen were measured. Seedlings were collected at 90 days after germination to determine the fresh and dry mass of stems, leaves, and roots, as well as concentrations of lipids, starch, and soluble sugars. Changes in the concentrations and reserves of carbon in the cotyledons throughout seedling development indicated that, even though the cotyledons differed in stomatal density, dry mass, and thickness, there was a gradual reduction in carbon and nitrogen reserves across all three species. Despite *K. coriacea* seeds having the lowest dry mass, the carbon reserves in its seedlings exceeded the original amount present in the seeds. It was concluded that the three species differed in their predominant cotyledonary functions: the cotyledons of *K. coriacea* were predominantly photosynthetic; those of *A. macrocarpon* primarily served as storage organs; while *T. aurea* displayed an intermediate function, both photosynthetic and storage organs. At 90 days after germination, all three species have already exhibited significant carbon reserves, mainly in the form of starch, within their root systems.

Keywords: Cotyledonary Reserve, Seeds, Cotyledons.

5.3 INTRODUÇÃO

As reservas de carbono e minerais contidas nas sementes são utilizadas durante a germinação e o desenvolvimento da plântula, desempenhando um papel central para o sucesso do estabelecimento da planta no ambiente (De Melo *et al.*, 2020), especialmente em tipos de vegetação em solos pobres em nutrientes, como os Cerrados do Brasil Central. Após a embebição, as sementes passam pelo processo de reativação metabólica e, em seguida pela multiplicação celular no embrião, o que por si só gera demanda energética. Logo após a germinação, o indivíduo não possui autotrofia, pois ainda encontra-se desenvolvendo as estruturas para aquisição e produção de suas fontes energéticas e nutricionais, sendo dependente das reservas das sementes. Na maior parte das eudicotiledôneas o carbono e nutrientes minerais que serão utilizados pelo embrião durante a germinação provém dos cotilédones. Contudo, por mais que sejam órgãos de armazenamento, os cotilédones de muitas espécies podem desempenhar a função fotossintética (Kitajima, 1992).

Em espécies com cotilédones do tipo fanerocotiledonar, após emergirem da semente, se expandem nos primeiros dias após a germinação e diminuem gradualmente de tamanho, à medida que suas reservas são consumidas pela plântula em formação e posteriormente murcham e caem (Hayashi, Malaguetta & Agostini, 2012). O tempo de permanência cotiledonar é associado ao tempo de translocação e mobilização das reservas, logo, na queda/murcha, espera-se que os níveis de reserva estejam mais baixos do que os encontrados nos dias iniciais após a germinação. A murcha e a queda dos cotilédones são frequentemente associadas com a translocação das reservas ou com o fim da sua funcionalidade, logo, existem períodos do desenvolvimento da plântula em que estas são mais dependentes das funções cotiledonares. Essa diferença na dependência pode ser resultado do estabelecimento da autotrofia nas plântulas (estabelecimento de parte aérea e sistema radicular).

Dentre as reservas de carbono presentes na semente, o amido é componente comum, por ser insolúvel, que confere certa inatividade osmótica (Buckeridge *et al.*, 2000), em complementação, os açúcares solúveis são a forma móvel de armazenar C e atuam na sinalização da mobilização das reservas (Bewley *et al.*, 2013). Já os lipídeos, forma predominante de armazenamento em sementes anemocóricas (Franco *et al.*, 2023) são as reservas de C com maior empacotamento, o que requer menos espaço, mas demanda maior custo bioenergético para sua utilização (Kitajima, 1996). Entre os compostos nitrogenados, os

mais importantes são as proteínas e aminoácidos (Soriano *et al.*, 2015). As reservas de carbono e nitrogênio presentes nos cotilédones são consumidas gradualmente em plantas que possuem cotilédones de reserva, enquanto em plântulas com cotilédones fotossintetizantes a remobilização do nitrogênio cotiledonar para a plântula em formação seria mais lenta. Além disso, pode ocorrer um incremento inicial das reservas cotiledonares de carbono, devido à atividade de fixação de carbono pelos cotilédones foliáceos (Kitajima, 1992).

Para esse estudo foram selecionadas 3 espécies nativas do Cerrado: *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*. As espécies compartilham do mesmo padrão de dispersão, ou seja, espécies que são dispersas no período de seca por meio da anemocoria. As sementes são planas, secas, provenientes de frutos deiscentes e possuem alas como a estrutura auxiliar de dispersão. Os cotilédones dessas 3 espécies são do tipo fanerocotiledonar, contudo diferem em tamanho e na morfologia funcional. Seguindo Miquel (1987) os cotilédones de *A. macrocarpon* e *T. aurea* são do tipo carnosos, enquanto os de *K. coriacea* são considerados foliares.

O objetivo deste estudo foi examinar como a massa do cotilédone e seus estoques de carbono (na forma de amido, açúcares solúveis e lipídeos) e de nitrogênio variam ao longo do tempo em cotilédones de diferentes morfologias funcionais. Esperávamos que *Aspidosperma macrocarpon*, por ter cotilédones de reserva, apresentaria um rápido consumo das reservas de carbono e nitrogênio presentes nos cotilédones, enquanto *Kielmeyera coriacea*, por ter cotilédones do tipo fotossintetizante, teria um consumo mais lento das reservas de nitrogênio e pouca variação nos estoques de carbono presentes nos cotilédones. *Tabebuia aurea* teria um comportamento intermediário entre *A. macrocarpon* e *K. coriacea*, pois os seus cotilédones aparentam desempenhar a função de reserva e fotossintética.

5.4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília (UnB) e na Estação Experimental do Instituto de Ciências Biológicas (EEB), ambos localizados no Distrito Federal. As sementes são oriundas de mosaicos vegetacionais das fitofisionomias Cerradão e Cerrado Denso, distribuídas nos estados de Goiás e Minas Gerais, e do Distrito Federal, coletadas no ano de 2023. As coordenadas de pontos próximos das matrizes de *A. macrocarpon*, *K. coriacea* e *T. aurea* são respectivamente:

16°12'20"S 47°15'44"W; 15°46'25"S 47°51'55"W e 15°25'23"S 47°28'09"W. As sementes foram coletadas de no mínimo três matrizes.

Biometria das sementes e germinação

A biometria foi realizada a partir de 100 sementes para cada espécie, sendo obtidas medidas de comprimento, espessura, largura com auxílio de paquímetro digital de duas casas decimais, e de massa fresca e seca, com o auxílio de uma balança analítica de quatro casas decimais (g). As medidas de comprimento, largura e massa fresca foram obtidas em sementes com alas e sem alas. Para obtenção da massa seca, as sementes foram congeladas a -28°C por 72h, em seguida liofilizadas por no mínimo 72 horas, e pesadas. Com os valores de massa fresca e seca, foi calculado o teor de umidade (%) utilizando a equação (RAS, 2009):

$$\text{Teor de umidade}(\%) = \frac{MF-MS}{MF} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

MF = massa fresca (g)

MS = massa seca (g)

Com os valores médios de comprimento, espessura e largura foi calculado o volume (cm³) a partir de 100 sementes sem alas para cada espécie, considerando a semente com formato aproximado de um elipsoide (equação 2).

$$\text{Volume da semente (cm}^3\text{)} = \left(\frac{4}{3}\right) \times \pi \times C \times A \times E \quad (2)$$

Onde:

A = largura média (cm)

C = comprimento médio (cm)

E = espessura média (cm)

Finalizada a biometria foi realizado o teste de germinação e calculada a taxa de germinação das sementes de cada espécie (RAS, 2009). Foram preparadas 3 bandejas, uma para cada espécie, sendo forradas com duas folhas de papel filtro do tipo germinatest que foram umedecidas com água destilada. Sobre as folhas foram distribuídas, sem sobreposição, 200

sementes livres de avaria e de suas alas. Após serem semeadas, foram cobertas com uma camada de papel filtro, em seguida foram regadas com água destilada e vedadas com papel filme para minimizar contaminação e manter a umidade. As bandejas foram depositadas em câmaras de crescimento do tipo B.O.D., onde a temperatura permaneceu constante em 25°C e com fotoperíodo de 12 horas. A rega e a conferência da germinação, sinalizada pela emissão radicular, foram realizadas a cada 2 dias.

Delineamento experimental e coleta dos cotilédones

Após a emissão da radícula, as sementes germinadas foram levadas para casa de vegetação (temperaturas mínimas e máximas registradas na casa de vegetação durante a condução do experimento foram respectivamente 8,3°C e 40,1°C), onde foram transplantadas, individualmente, em recipientes de plástico transparente com formato de tronco de cone, com altura de 15cm e volume de 500ml, preenchidos com areia da marca Dancor® como substrato. Em cada recipiente foi inserido uma semente germinada. Os recipientes foram distribuídos entre os tratamentos de forma inteiramente casualizada, com rotação dos recipientes a cada 15 dias. Na Figura 4 está o desenho esquemático do estabelecimento do experimento.

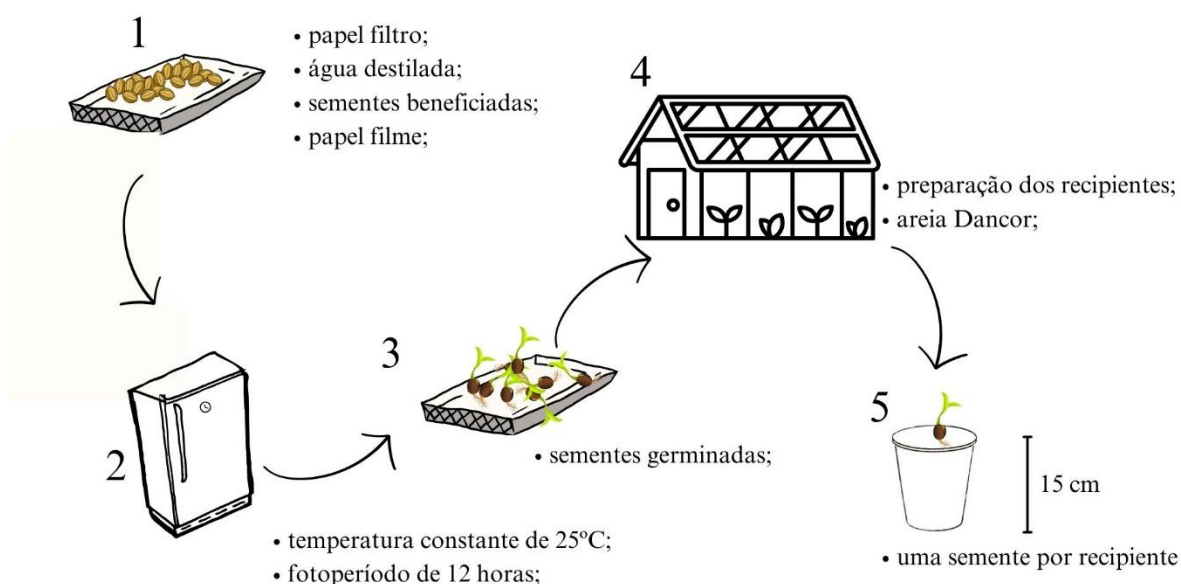


Figura 4. Desenho esquemático do estabelecimento do experimento, em condições ilustrativas. 1- Sementes distribuídas sobre a bandeja; 2 - Deposição das sementes em B.O.D.; 3 - Germinação das sementes; 4 - Preparação de recipientes preenchidos com areia, na casa de vegetação; 5 – Distribuição das sementes em recipientes de 15 cm de altura.

Sementes e cotilédones foram coletados para determinação das reservas de carbono e nitrogênio. Sementes foram coletadas antes dos experimentos de germinação e foram feitas coletas de um dos cotilédones por planta aos 5, 10, 20, 40 e 90 dias após a germinação (Figura 5). Em cada tempo foram utilizadas 20 (vinte) repetições, totalizando 100 (cem) indivíduos por espécie. À medida que os cotilédones foram sendo coletados, foram lavados com água destilada, secos com papel toalha, pesados em balança de quatro casas decimais, separados em pacotes de papel alumínio, identificados, e acondicionados em saquinhos *zip lock*, que foram colocados no congelador à -28°C por no mínimo 72 horas e em sequência foram liofilizados por no mínimo 72 horas. Após a liofilização, os cotilédones foram pesados (para a obtenção da massa seca) em balança de quatro casas decimais.

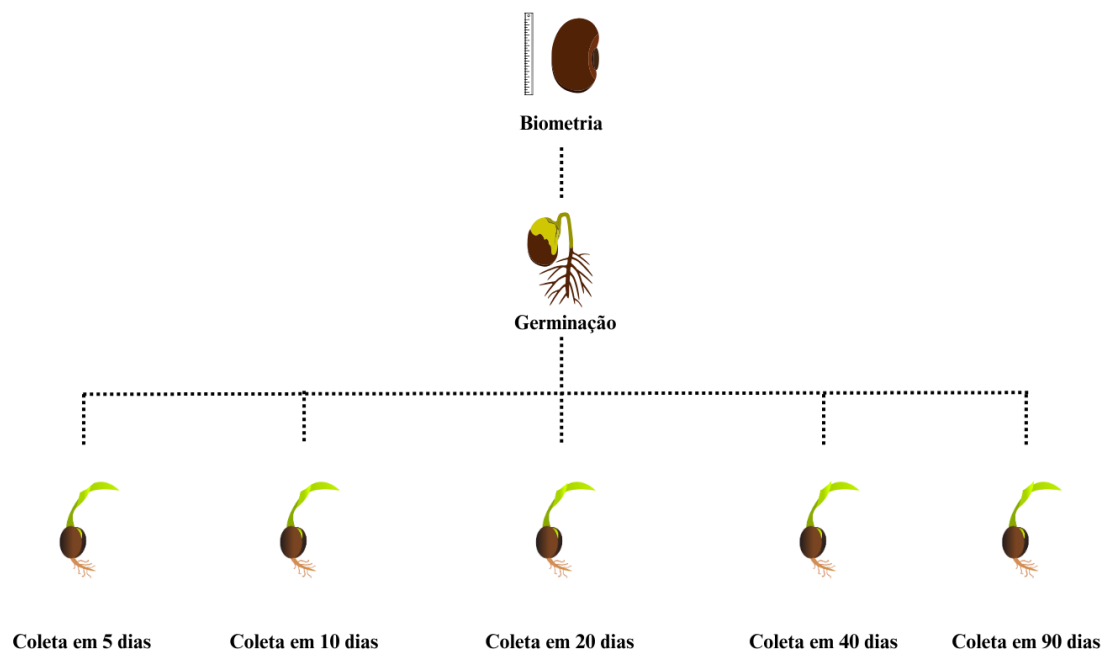


Figura 5. Esquema experimental correspondente a coleta cotiledonar, nos respectivos tratamentos.

5.4.1 Análises bioquímicas

Para a realização dos testes bioquímicos, as sementes e cotilédones liofilizados foram moídos até serem reduzidos a pó, em cadinho e pistilo com a adição de nitrogênio líquido. As sementes foram combinadas em 3 (três) amostras compostas de 33 sementes cada, os

cotilédones foram combinados em amostras compostas em pares aleatórios, dos quais foram sorteados 3 (três) por tratamento para serem analisados. Para a quantificação de açúcares solúveis totais, de cada amostra foram retiradas 10 mg para a extração etanólica. Em cada amostra, foram adicionados 500 µl de etanol 80%, seguido de banho-maria a 80°C por 20 minutos e centrifugação a 13.000 rpm por 10 minutos. Ao finalizar a centrifugação, com a separação da amostra em duas fases, a parte líquida foi transferida para outro microtubo. O procedimento, desde a adição do etanol até a retirada do sobrenadante, foi repetido 4 vezes, completando o volume de 2mL. O microtubo contendo a parte sólida foi deixado aberto dentro da capela para a evaporação completa do etanol. Com os 2 mL da solução extraída, foram quantificados os ASTs (Açúcares Solúveis Totais) conforme o protocolo de Dubois *et al.* (1956), com curva padrão de glicose utilizando 7 concentrações (0, 8; 16; 32; 64; 128; 200 mg mL⁻¹), com a leitura da absorbância no comprimento de onda de 490 nm utilizando espectrofotômetro UV-Visível 190-1100 Nm Bivolt Kasvi. Da parte sólida que permaneceu nos microtubos, foi realizada a extração e quantificação do amido seguindo o método da α -amilase (Amaral *et al.* 2007), em que 480 µL de α -amilase termoestável de *Bacillus licheniformis* (120 U mL⁻¹), diluída em tampão fosfato (pH 6,5) foi adicionada a cada microtubo. As amostras foram incubadas a 75 °C por 30 minutos, em seguida adicionado o mesmo volume da solução com a enzima e repetida a incubação. Em seguida, foi adicionado 480 µL de amiloglucosidase de *Aspergillus niger* (30 U mL⁻¹), diluída em tampão acetato (pH 4,5). As amostras foram incubadas a 50°C por 30 minutos, em seguida foi adicionado o mesmo volume da solução com a enzima e repetida a incubação. Ao final da incubação havia em cada microtubo 1,9 mL, onde foram adicionados 100 µL de ácido perclórico (0,8M), finalizando com 2ml de solução. A quantificação foi feita com 20 µL do extrato pipetado em poço de microplacas de 96 poços, sendo adicionado 300 µL do reagente GOD-POD (Glicose enzimática). Após 15 minutos, o teor de glicose foi determinado por meio da leitura da absorbância em Espectrofotômetro de Microplaca (MAX 190, Spectra) no comprimento de onda de 505 nm. A curva padrão foi feita a partir da solução de glicose, nas concentrações de 0; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 µg mL⁻¹.

Para a extração e quantificação de lipídeos foi utilizado uma adaptação da metodologia proposta por Metherel *et al.* (2009) e Ramadan *et al.* (2009). Das amostras de sementes e cotilédones, foram utilizadas 3 réplicas de 50 mg cada, que foram depositadas em microtubos identificados; para cada microtubo foi identificado e pesado um microtubo espelho. Com as amostras em seus respectivos microtubos, foi adicionado 1,5 ml de hexano à 98%. Em seguida, os microtubos foram colocados em Sonicador por 15 min para homogeneização. Em sequência,

os microtubos foram centrifugados à 10.000 rpm por 5 min. Os sobrenadantes foram transferidos para os microtubos espelhos, que foram postos em *SpeedVac* GENEVAC (Modelo DNA – 22060 – C00) por 20 min, para a evaporação do hexano. Todos os passos foram repetidos 3 vezes, para a completa extração dos lipídeos contidos nas amostras. Os microtubos contendo os lipídeos, permaneceram no *SpeedVac* por 48 horas até a completa evaporação do solvente, em seguida os microtubos foram pesados em balança de quatro casas decimais, e a diferença entre a massa final e o inicial foi utilizada para estimar a porcentagem de lipídeos por amostra.

A concentração de carbono e nitrogênio nos cotilédones e sementes foi determinada pelo método de ultra combustão, utilizando o aparelho CN628 do LECO (Leco Corporation, St. Joseph, MI). Para a análise dos cotilédones foram utilizadas amostras compostas, de 6 indivíduos. Para determinar a combinação, foram escolhidos de forma aleatória os indivíduos, totalizando 3 amostras por tratamento, das quais foram retirados a quantidade aproximada de 100 mg de cada amostra. Para a análise das sementes, essas foram separadas em 3 grupos de 33 sementes, e de cada grupo foram tiradas 3 amostras, então para cada espécie foram analisadas 9 repetições de sementes, das quais foram retiradas 100 mg de cada.

Foram semeadas 10 sementes de cada espécie para quantificação de pigmentos fotossintético (clorofilas carotenoides), determinação da densidade estomática e cálculo da área específica dos cotilédones. Após a expansão cotiledonar, aos 30 dias após a germinação, de cada indivíduo foram extraídos 3 discos cotiledonares, cada um com 2 mm de diâmetro, um para cada análise (área específica, quantificação de clorofila e determinação da densidade estomática). Para a quantificação de clorofila, cada disco foi depositado em um microtubo de coloração âmbar contendo 2 ml de DMF (N, N-dimetilformamida-HCON(CH₃)₂), onde permaneceram em refrigerador a 4°C por no mínimo 48 h. Com a completa extração da clorofila, a solução foi transferida para cubetas e inseridas em espectrofotômetro (Espectrofotômetro UV-Visível 190-1100 Nm Bivolt Kasvi), para determinação da absorbância nos comprimentos de onda de 663,8 nm, 646,8 nm e 480 nm, para determinar as concentrações de clorofila A, B e carotenoides, respectivamente, seguindo o método proposto por Wellburn (1994).

$$CA = 12 A_{663,8} - 3,11 A_{646,8} \quad (3)$$

$$CB = 20,78 A_{646,8} - 4,88 A_{663,8} \quad (4)$$

$$C_x + C = (1000 A_{480} - 1,12 CA - 34,07CB) / 245 \quad (5)$$

Onde;

CA = Concentração de Clorofila A

CB = Concentração de Clorofila B

Cx + C = Concentração de Carotenoides

A663,8 = Absorbância em 663,8nm

A646,8 = Absorbância em 646,8nm

A480 = Absorbância em 480nm

Para o cálculo da área específica do cotilédone, os discos foram pesados em balança de precisão de quatro casas decimais, logo após serem destacados e secos. Foi aferida a espessura de cada um dos discos com o auxílio de paquímetro digital. O terceiro disco foi utilizado para a determinação da presença e contagem do número de estômatos por unidade de área em epidermes destacadas. Os discos para destacamento de epiderme foram inseridos em frascos de vidro contendo solução de Franklin, na proporção de 1:1 de ácido glacial e peróxido de hidrogênio. Os frascos contendo os discos e solução de Franklin foram depositados em estufa à 60°C por no mínimo 12 horas até a coloração mudar para esbranquiçada, e a epiderme se destacar. Após o período de incubação, os discos foram lavados com álcool etílico 40%, em seguida as epidermes, das duas faces, foram introduzidas em Safranina alcoólica por 30 segundos, para coloração. Após a coloração, foram montadas 10 lâminas, cada uma correspondendo a um cotilédone por plântula, dentre as lâminas foram escolhidas 3 de cada espécie. Com o auxílio de um microscópio (Leica DM750) foram contados os estômatos em objetiva 10x.

5.4.2 Análise química do substrato

Foram encaminhadas amostras de 500g, de sacos fechados de diferentes lotes da areia para análise laboratorial da composição química em laboratório comercial. A análise seguiu o método de Texeira *et al.* (2017). Foi determinado a concentração de: Al (alumínio), B (boro), Ca (cálcio), Cu (cobre), Fe (ferro), K (potássio), Mg (magnésio), Mn (manganês) N (nitrogênio), Na (sódio), P (fósforo), S (enxofre) e Zn (zinco). A acidez (H + Al) também foi medida.

5.4.3 Análise dos dados

O experimento possuiu delineamento inteiramente ao acaso e o nível de significância utilizado foi igual a 5% para todas as análises. Foi verificado a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro Wilk, e homoscedasticidade, pelo teste de Bartlett, no programa R. Os dados paramétricos foram analisados por One-Way ANOVA com teste post hoc de Tukey; para os dados não paramétricos, foram realizados teste de Kuskal-Wallis com teste post hoc de Dunn-Bonferroni. Para comparação de pares foram realizados testes t de student.

5.5 RESULTADOS

As sementes de *A. macrocarpon* com formato circular, apresentaram ala também circular com textura papirácea, de superfície lisa e glabra, borda irregular e coloração bege. O núcleo seminífero localizado na porção central da semente apresentou a mesma coloração bege que as alas (Figura 6). A taxa de germinação das sementes foi igual à 87,5%, com o teor de umidade de 6,4% e densidade de 0,40g/cm³. O tempo mínimo para a germinação foi de 4 dias. As sementes de *Tabebuia aurea* apresentaram formato de elipse, com alas laterais de textura papirácea; a superfície é lisa e glabra, com coloração acinzentada e bordas irregulares. O núcleo seminífero (NS) é arredondado e localizado na parte central da semente (Figura 6). A emissão da radícula ocorreu na micrópila, região com leve depressão circular. O tempo mínimo para a germinação dessa espécie foi de 4 dias, com taxa de germinação igual a 97%, com teor de umidade igual à 5,00% e densidade igual à 0,43 g/cm³. As sementes de *Kielmeyera coriacea* apresentaram formato elíptico, com alas laterais de textura papirácea e terminação truncada, a superfície da semente é lisa e glabra, a coloração é amarelada, bordas inteiras, enquanto o NS possui formato circular localizado no centro da semente (Figura 6). A taxa de germinação foi de 93,5% e o tempo mínimo de germinação foi 7 dias. O teor de umidade calculado foi igual à 11,68% e a densidade igual à 0,80g/cm³.

Analizando as dimensões médias das sementes, com as alas e sem alas (Tabela 2) as sementes de *A. macrocarpon* apresentaram os maiores valores em comparação com as outras duas, padrão esse que se reflete nos volumes calculados. Além das sementes de *A. macrocarpon* serem as maiores nas dimensões aferidas, essas também apresentaram o maior valor de massa fresca e seca sem alas (Tabela 2). A densidade calculada evidenciou que as sementes de *K.*

coriacea, mesmo com a menor massa, são as sementes mais densas e com base no cálculo do teor de umidade (%), também são as sementes mais úmidas. A espécie que apresentou maior NS (Figura 6), aqui conceituado como sendo o conjunto formado pelos cotilédones e eixo embrionário em questão de comprimento e largura foi *Aspidosperma macrocarpon*, em seguida a *Tabebuia aurea* e a menor sendo a *Kielmeyera coriacea*. Os valores de volume e massa seca do NS seguiram a mesma ordem.

Tabela 2. Variáveis obtidas a partir do levantamento biométrico das sementes das espécies: *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão, para um $n = 100$ sementes. As diferenças significativas foram testadas pelo teste de Tukey para variáveis paramétricas e teste de Dunn-Bonferroni para variáveis não paramétricas, ambos com $p < 0,05$, onde as espécies que diferem entre si receberam letras diferentes. NS é o núcleo seminífero, que é o conjunto formado pelos cotilédones e eixo embrionário.

Variáveis	<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	<i>Kielmeyera coriacea</i>	<i>Tabebuia aurea</i>
cm			
Dimensões com alas			
Comprimento	8,74 $\pm$ 1 a	4,19 $\pm$ 0,003 b	5,53 $\pm$ 0,07 c
Largura	8,33 $\pm$ 1 a	1,38 $\pm$ 0,004 b	1,73 $\pm$ 0,02 c
Espessura	0,15 $\pm$ 0,03 a	0,13 $\pm$ 0,0004 b	0,17 $\pm$ 0,01 c
Dimensões sem alas (NS)			
Comprimento	5,18 $\pm$ 0,4 a	1,64 $\pm$ 0,003 b	2,46 $\pm$ 0,2 c
Largura	5,28 $\pm$ 0,4 a	1,38 $\pm$ 0,005 b	1,73 $\pm$ 0,02 c
Espessura	0,15 $\pm$ 0,03 a	0,13 $\pm$ 0,0004 b	0,17 $\pm$ 0,01 c
cm ³			
Volume com alas	5,9 $\pm$ 0,17 a	0,38 $\pm$ 0,02 b	0,90 $\pm$ 0,03 c
Volume sem alas (NS)	2,2 $\pm$ 0,05 a	0,15 $\pm$ 0,01 b	0,42 $\pm$ 0,05 c
g			
Massa fresca sem alas (NS)	0,93 $\pm$ 0,01 a	0,12 $\pm$ 0,001 b	0,19 $\pm$ 0,01 c
Massa seca sem alas (NS)	0,87 $\pm$ 0,01 a	0,12 $\pm$ 0,003 b	0,18 $\pm$ 0,01 c

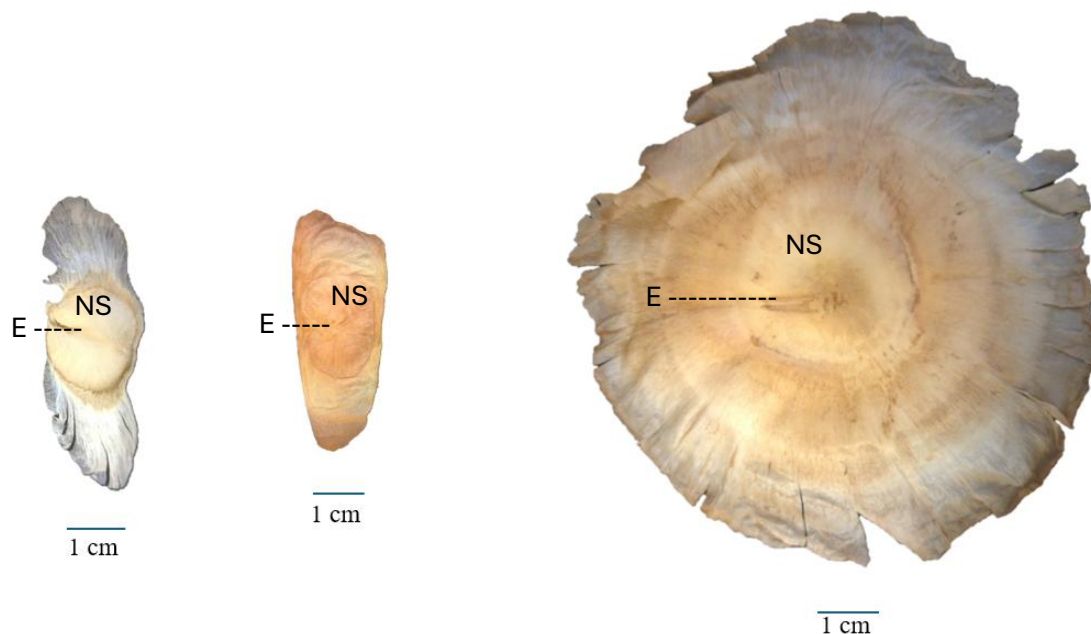


Figura 6. Sementes de *T. aurea*, *K. coriacea* e *A. macrocarpon*, respectivamente. A sigla NS indica o núcleo seminífero (conjunto formado pelos cotilédones e eixo embrionário) e E indica o eixo hipocótilo-radicular das sementes.

Não foi detectada a presença de amido nos NSs das 3 espécies (Tabela 3). Os valores de açúcares solúveis totais (ASTs) encontrados para os NSs, mostraram que as sementes diferem entre si, onde os NSs de *T. aurea* apresentaram a maior concentração de ASTs, seguidos de *A. macrocarpon* e por último *K. coriacea* (Tabela 3). Em relação aos lipídeos, as espécies também diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$), os NSs que possuem maiores concentrações de lipídeos em sua constituição foram os de *K. coriacea* e em seguida os de *A. macrocarpon*, e com a menor concentração em *T. aurea*. Observou-se que as sementes que possuem menores concentrações de ASTs, apresentam maiores concentrações de lipídeos. As concentrações de carbono (C) e nitrogênio (N) também diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre as espécies. A concentração de C foi maior nos NSs de *K. coriacea* e menor em *T. aurea*. Por outro lado, NSs de *K. coriacea* apresentaram as menores concentrações de N, enquanto *A. macrocarpon* teve as concentrações mais altas de N.

Tabela 3. Concentrações de amido, açúcares solúveis totais (ASTs), lipídeos, carbono e nitrogênio dos núcleos seminíferos (NS) de *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão, $n=3$. As diferenças significativas foram testadas por Tukey para variáveis paramétricas e teste de Dunn-Bonferroni para variáveis não paramétricas, ambos com $p < 0,05$, onde as espécies que diferem entre si receberam letras diferentes.

Variáveis	<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	<i>Kielmeyera coriacea</i>	<i>Tabebuia aurea</i>
mg/g			

Amido	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
ASTs	18,27 ± 1,23 a	5,85 ± 0,32 b	27,17 ± 1,72 c
Lipídeos	402,22 ± 6,23 a	609,56 ± 9,28 b	261,33 ± 4,63 c
mg/g			
C	574,4 ± 2,2 a	598,0 ± 0,9 b	523,9 ± 0,9 c
N	45,8 ± 0,1 a	41,0 ± 0,2 b	42,5 ± 0,6 b

A análise do substrato (Tabela 4) evidenciou que os componentes possuíam baixas concentrações. Sendo assim, o substrato foi adequado para a execução do experimento, já que isola a resposta das plântulas para os tratamentos.

Tabela 4. Análise química da composição da areia utilizada como substrato no experimento.

Análise química da Areia	
Composição	Concentração (cmolc/dm ³)
Al	0,20
Na	0,02
CTC	1,60
K	0,03
Ca	0,30
Mg	0,10
Composição	Concentração (mg/dm ³)
S	20,30
Fe	5,80
Mn	0,50
Zn	1,07
Cu	0,90
B	0,04
P	12,00
Composição	Concentração (mg/kg)
N	25,20

As plântulas, das 3 (três) espécies, apresentaram cotilédones do tipo fanerocotiledonar, com coloração verde nas duas faces (Figura 7). Em relação a posição, a *A. macrocarpon* diferiu das demais, pois seus cotilédones permaneceram rentes à linha do substrato. As nervuras, foram notáveis a olho nu, nos cotilédones de *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*.

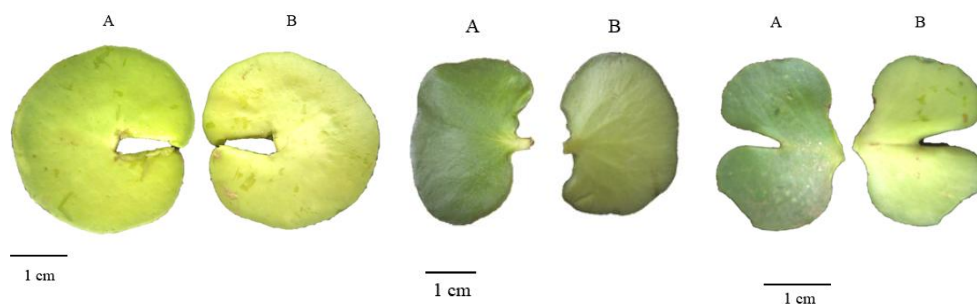


Figura 7. Cotilédones de *Aspidosperma macrocarpon*, *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*, respectivamente, 30 dias após a germinação. A – face adaxial e B – face abaxial.

As medidas de espessura dos cotilédones aos 30 dias após a germinação mostraram que em *A. macrocarpon* a espessura média é maior do que as de *K. coriacea* e *T. aurea*, essas por sua vez possuem valores de espessura semelhantes (Tabela 5).

Tabela 5. Espessuras médias e densidades estomáticas médias nas faces adaxiais e abaxiais dos cotilédones de *A. macrocarpon*, *K. coriacea* e *T. aurea* aos 30 dias após a germinação, seguidas de e erros padrões. Em teste de Dunn-Bonferroni, com $p < 0,05$, as espécies que diferem entre si receberam letras diferentes, e aquelas que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.

Média $\pm$ Erro Padrão	<i>A. macrocarpon</i>	<i>K. coriacea</i>	<i>T. aurea</i>
Espessura (mm)	1,70 $\pm$ 0,08 a	0,78 $\pm$ 0,04 b	0,89 $\pm$ 0,03 b
D. Est Adaxial (nº/mm²)	0,00 $\pm$ 0,00	7,39 $\pm$ 0,46 b	7,08 $\pm$ 0,21 b
D. Est Abaxial (nº/mm²)	0,00 $\pm$ 0,00	4,17 $\pm$ 0,10 a	1,06 $\pm$ 0,21 b

Através de dissociação epidérmica, em cotilédones coletados 30 dias após a germinação, foi observada a presença de estômatos nas duas faces dos cotilédones de *Kielmeyera coriacea* e *Tabebuia aurea*, mas em *A. macrocarpon* não foi observada a presença de estômatos. A densidade de estômatos foi maior na face adaxial do que em relação a face abaxial em *Kielmeyera coriacea* e em *T. aurea* (Figura 8, Tabela 5). Comparando as duas espécies, essas diferiram entre si, apenas na densidade estomática da face abaxial (Tabela 5).

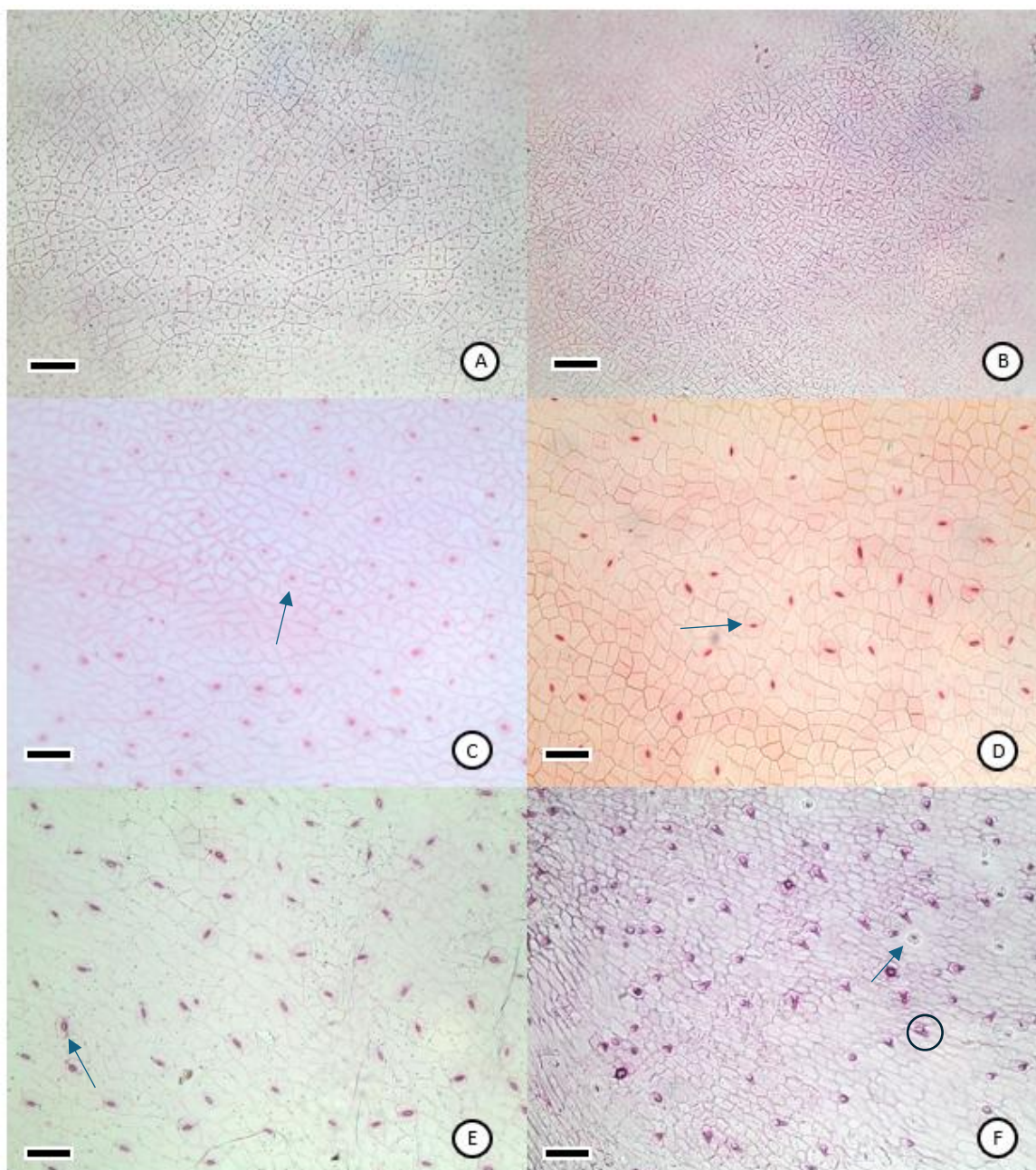


Figura 8. Imagens em objetiva de 10x referentes as lâminas de cotilédones com barra de escala de 100µm. A – Face adaxial dos cotilédones de *A. macrocarpon*; B – Face abaxial dos cotilédones de *A. macrocarpon*; C – Face adaxial dos cotilédones de *K. coriacea*; D – Face abaxial dos cotilédones de *K. coriacea*; E – Face adaxial dos cotilédones de *T. aurea* e F – Face abaxial dos cotilédones *T. aurea*, com marcação circular em uma papila ou tricoma glandular. Os estômatos estão indicados com setas azuis.

A análise das concentrações de Clorofila A, Clorofila B e Carotenoides dos cotilédones, evidenciou diferenças entre as 3 espécies. A espécie que apresentou a maior concentração de Clorofila A, em seus cotilédones aos 30 dias, foi a *Kielmeyera coriacea*, em seguida foi *Tabebuia aurea* e por último *Aspidosperma macrocarpon* (Tabela 6). A espécie com maior concentração de Clorofila B em seus cotilédones foi *Tabebuia aurea* seguido por *K. coriacea*,

e por último *A. macrocarpon*. Em relação aos carotenoides, *K. coriacea* teve a maior concentração.

Tabela 6. Concentração de clorofila A, clorofila B e carotenoides dos cotilédones de *A. macrocarpon*, *K. coriacea* e *T. aurea* aos 30 dias após a germinação. Dados expressos em média $\pm$ erro padrão, n= 10. O Teste de Tukey foi utilizado para verificar se as espécies diferem entre si na concentração de pigmentos, . Letras diferentes na mesma linha indicam que as espécies diferem entre si (p<0,05).

Espécie	ug/cm ²		
	<i>Aspidosperma macrocarpon</i>	<i>Kielmeyera coriacea</i>	<i>Tabebuia aurea</i>
Clorofila A	16,10 $\pm$ 1,85 a	40,84 $\pm$ 2,29 b	29,05 $\pm$ 2,09 c
Clorofila B	8,89 $\pm$ 0,65 a	16,64 $\pm$ 0,81 b	27,73 $\pm$ 7,43 b
Carotenoides	5,56 $\pm$ 0,50 a	22,01 $\pm$ 1,54 b	5,44 $\pm$ 0,94 a

Na primeira coleta, aos 5 dias após a germinação, os cotilédones das 3 espécies ainda não estavam plenamente expandidos, e ainda não apresentavam coloração verde. Nas coletas subsequentes, os cotilédones das três espécies apresentavam coloração verde. Durante as incisões, as plântulas de *A. macrocarpon* apresentaram exsudação, de coloração branca, seguindo o padrão da família dessa espécie. Aos 90 dias após a germinação (AG), com a finalização do experimento, ao observar o aspecto e contabilizar a presença dos cotilédones, as plântulas de *K. coriacea* permaneceram com os cotilédones aderidos e com aspecto vigoroso. Para *T. aurea*, alguns cotilédones haviam caído e entre os que permaneceram aderidos, alguns estavam com aspecto de murcha com coloração de marrom à preta. Em *A. macrocarpon* houve queda dos cotilédones na maioria dos indivíduos e dos que permaneceram, apresentavam características parecidas com os de *T. aurea*, com aspecto de murcha com coloração de marrom à preta (Figura 9).

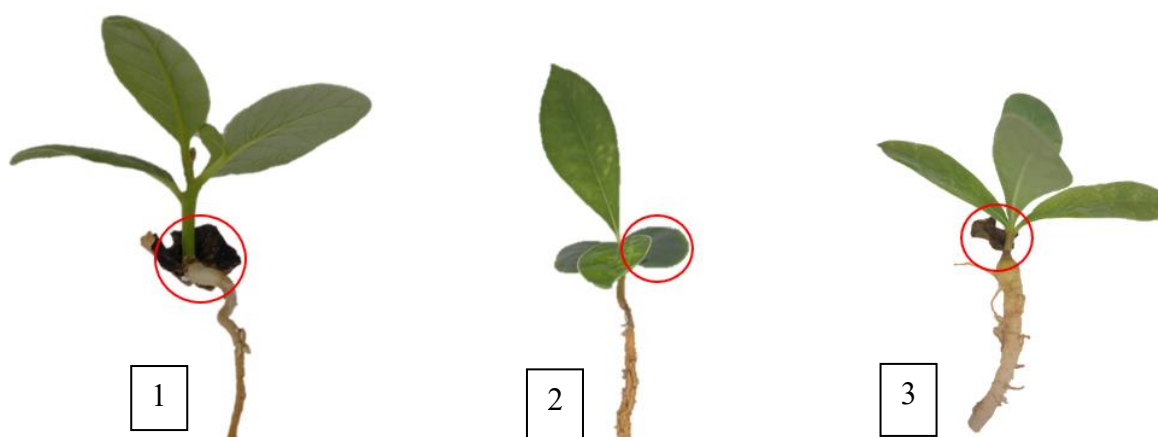


Figura 9. Foto de plântula aos 90 dias após a germinação. (1) *Aspidosperma macrocarpon*, (2) *Kielmeyera coriacea* e (3) *Tabebuia aurea*, com marcação de círculo vermelho nos cotilédones.

Os cotilédones de *A. macrocarpon* e *T. aurea* tiveram uma diminuição gradativa da massa seca entre os 5 e 90 dias após a germinação (Figura 10). Os cotilédones de *K. coriacea* apresentaram o padrão oposto, com pequeno aumento de massa seca entre os 5 e 90 dias, consistente com a manutenção dos cotilédones pela planta, enquanto os cotilédones das outras duas espécies estavam senescentes ou já haviam caído aos 90 dias após a germinação. A massa fresca dos cotilédones de *A. macrocarpon* e de *T. aurea* diminuíram aos 90 dias AG, em comparação com os 5 dias AG (Figura 10b, f), em *K. coriacea* a massa fresca aumentou gradativamente até os 45 dias AG (Figura 10d).

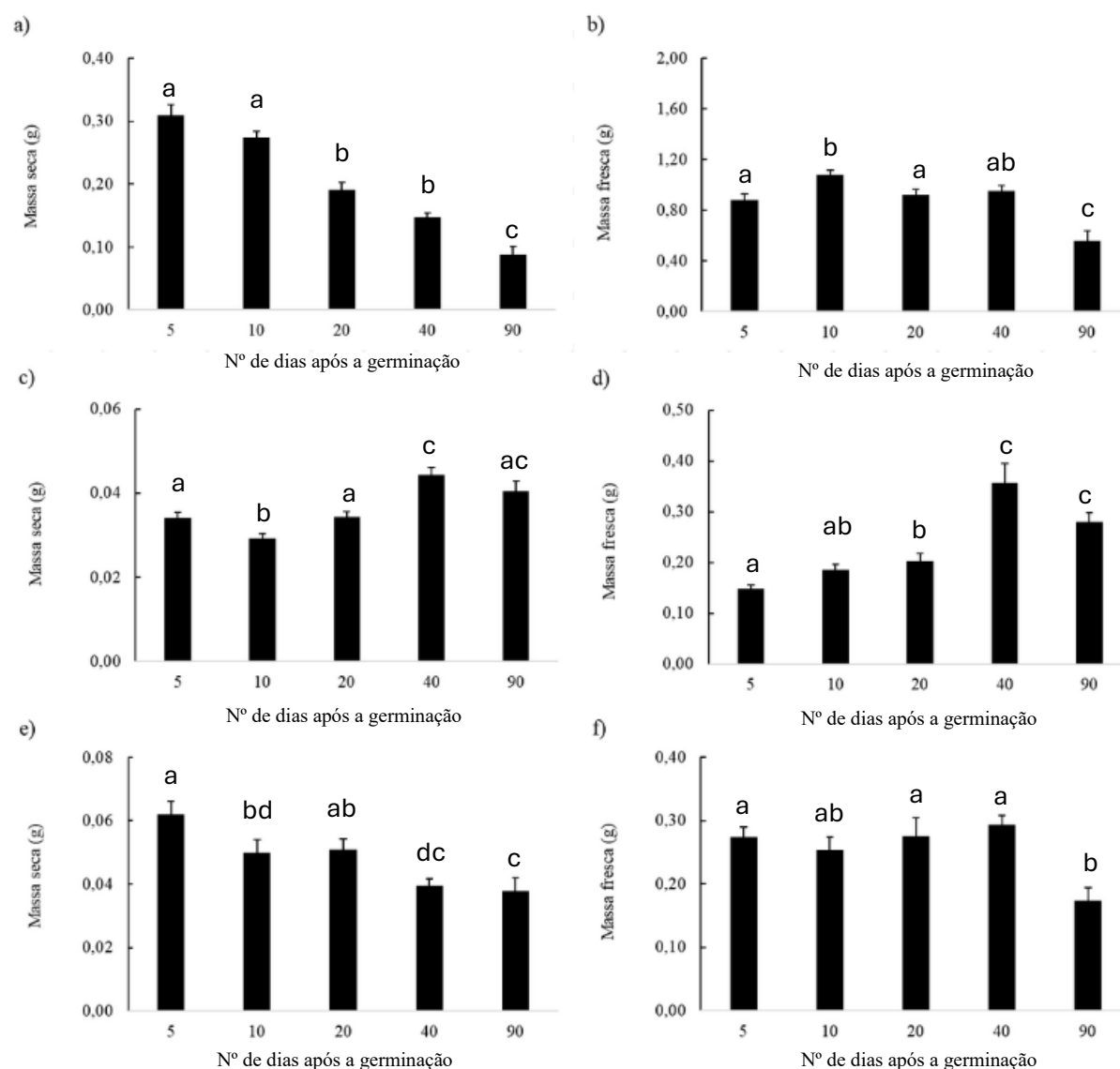


Figura 10. Alteração da massa seca média (a, c e e) e massa fresca média (b, d e f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a,b) *A. macrocarpon*, c,d) *K. coriacea* e e,f) *T. aurea*. Em teste Tukey, para variáveis paramétricas, e Dunn-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.

A análise de Açúcares Solúveis Totais (ASTs) (Figura 11) indicou um padrão crescente para *A. macrocarpon* e *K. coriacea*, ou seja, a concentração de ASTs nos cotilédones entre os 5 e os 90 dias após a germinação (AG) aumentou, enquanto em *T. aurea* as concentrações de ASTs não apresentaram padrão de aumento tão claro quanto as outras duas espécies. Para *A. macrocarpon* e *K. coriacea*, 5, 10 e 20 dias AG apresentaram os valores com as menores concentrações de ASTs enquanto aos 40 e 90 dias AG os maiores. Em relação ao estoque, as

quantidades (g) de ASTs permaneceram constantes em *A. macrocarpon* e *T. aurea*, enquanto teve um aumento significativo em *K. coriacea* ao longo do tempo.

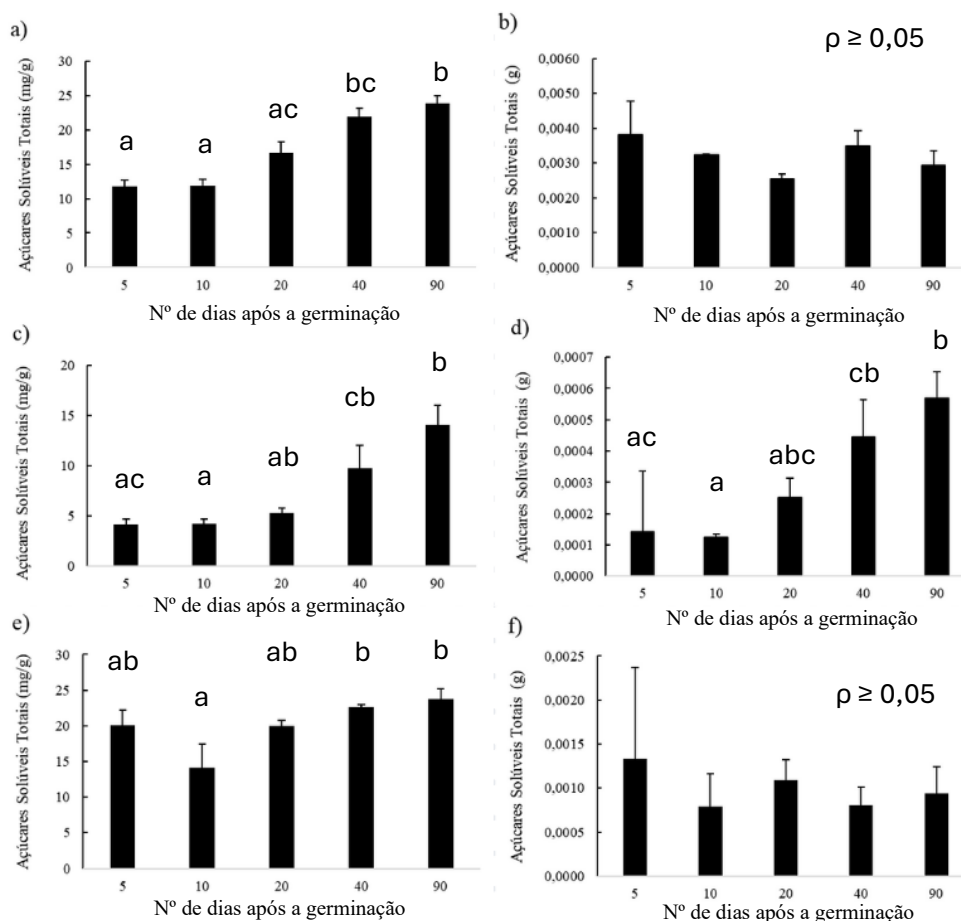


Figura 11. Alteração dos Açúcares Solúveis Totais (ASTs) em concentração (a,e c) e em estoque (b, d e f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a,b) *A. macrocarpon*, c,d) *K. coriacea* e e,f) *T. aurea*. Em teste Tukey, para variáveis paramétricas, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas. Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) estão representadas pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.

Se por um lado, não foi detectada a presença de amido nas sementes, os cotilédones das três espécies apresentaram valores expressivos de amido (Figura 12). Os valores de *A. macrocarpon* e *T. aurea*, nos diferentes períodos não diferiram significativamente entre si, enquanto em *K. coriacea* (Figura 12 c) é possível observar a flutuação das concentrações de amido, onde 5 e 20 dias AG diferem de 40 dias AG. Em estoque (g) as quantidades de amido tiveram um pico aos 20 dias AG em *A. macrocarpon* e *T. aurea*, e aos 40 dias AG em *K. coriacea* (Figura 12 b, d, f).

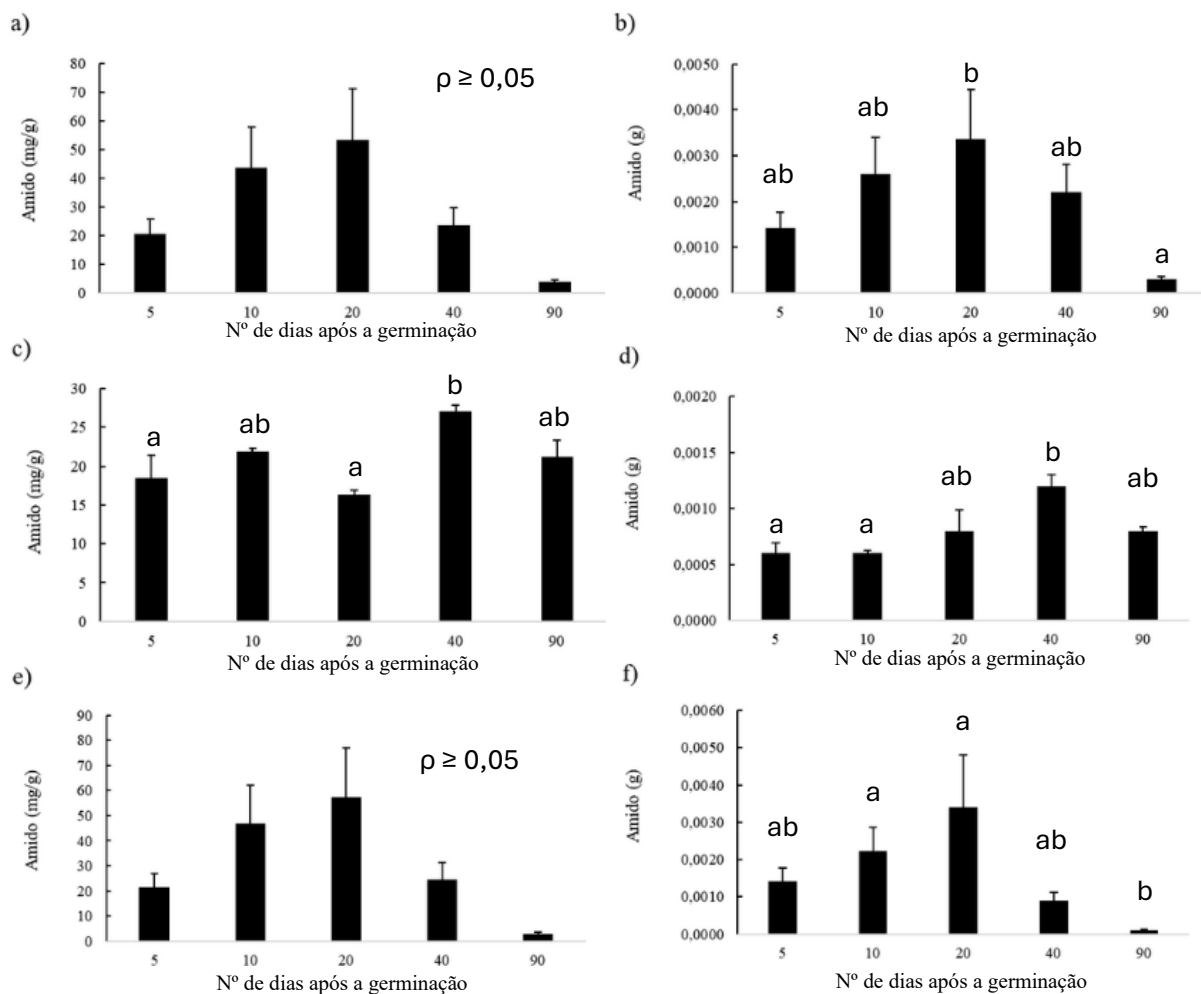


Figura 12. Gráficos referentes quantidade de quantidade de amido em concentração (a, c e e) e em estoque (b, d, f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a.b) *A. macrocarpon*, c.d) *K. coriacea* e e.f) *T. aurea*. Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dunn-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.

A concentração de lipídeos decresceu gradativamente nas três espécies, com as menores concentrações entre os 40 e 90 dias AG (que não diferem significativamente entre si) (Figura 13 a, c, e). Em estoque, *A. macrocarpon* e *K. coriacea* reproduzem padrão de queda semelhante ao encontrado para as concentrações, em *T. aurea* as quantidades de lipídeos se mantiveram constantes (Figura 13 f).

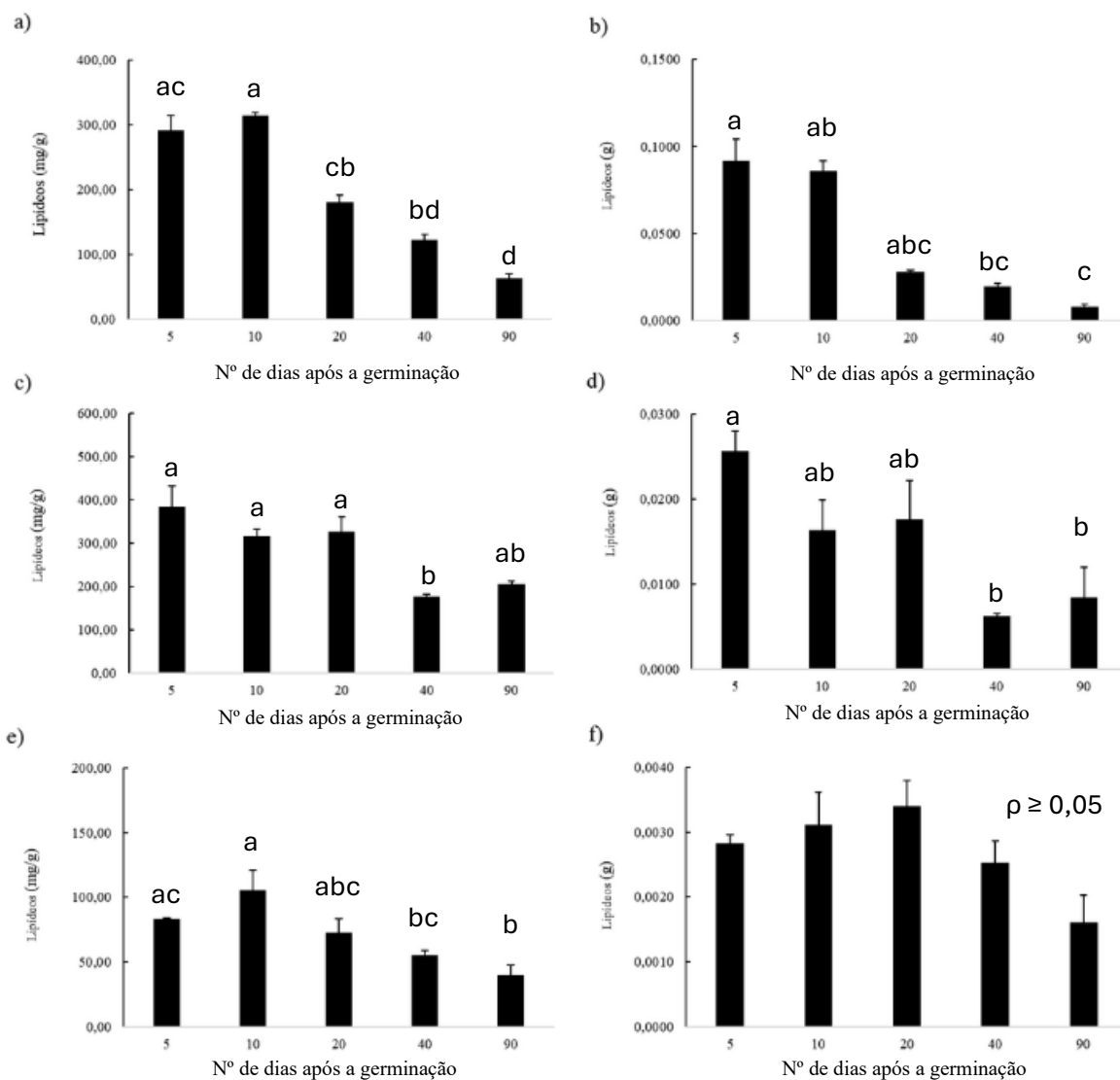


Figura 13. Gráficos referentes quantidade de quantidade de lipídeos em concentração (a, c, e) e em estoque (b, d, f) dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a.b) *A. macrocarpon*, c.d) *K. coriacea*, e e.f) *T. aurea*. Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.

As concentrações de Carbono (C) presentes nos cotilédones permaneceram constantes em *A. macrocarpon* e *T. aurea*, enquanto em *K. coriacea* houve uma leve tendencia de queda ao longo do tempo (Figura 14 a, c, e). Nas concentrações encontradas para Nitrogênio (N), há uma queda gradativa para *T. aurea* e *K. coriacea* (Figura 14 b, d, f).

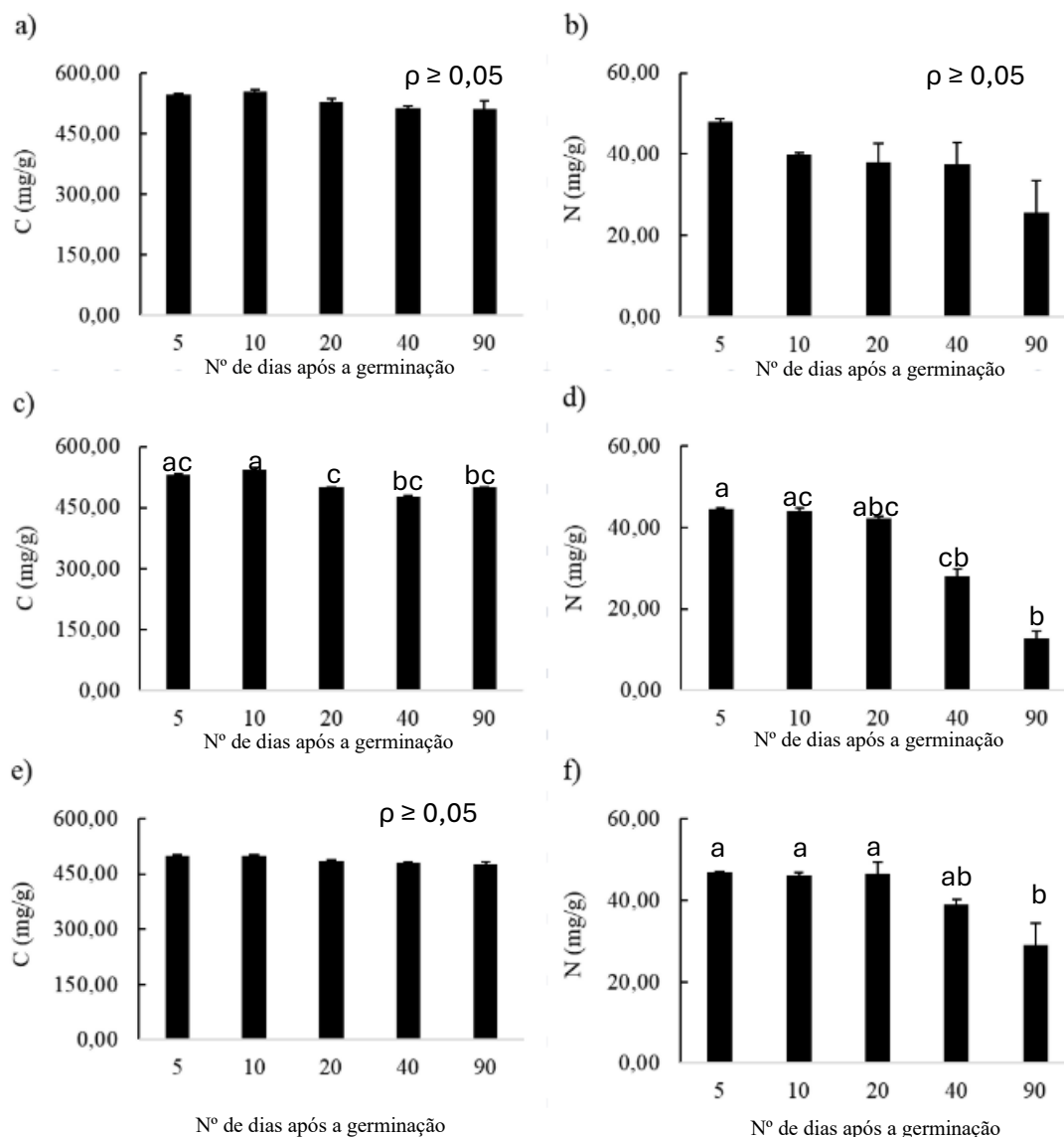


Figura 14. Concentrações de carbono (a, c, e) e nitrogênio (b, d, f) nos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a.b) *A. macrocarpon*, c.d) *K. coriacea* e e.f) *T. aurea*. Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.

Os estoques de C e N de *A. macrocarpon* diminuem dos 5 dias aos 90 dias AG (Figura 15 a, b). Para os cotilédones de *K. coriacea* só foram observadas diferenças estatísticas nas quantidades de N com 90 dias, diferindo ($p < 0,05$) dos 5 e 20 dias AG (Figura 15 c, d). Em *T. aurea* não foram observadas diferenças estatísticas nas quantidades de C e N entre os cotilédones coletados dos 5 aos 90 dias AG (Figura 15 e, f).

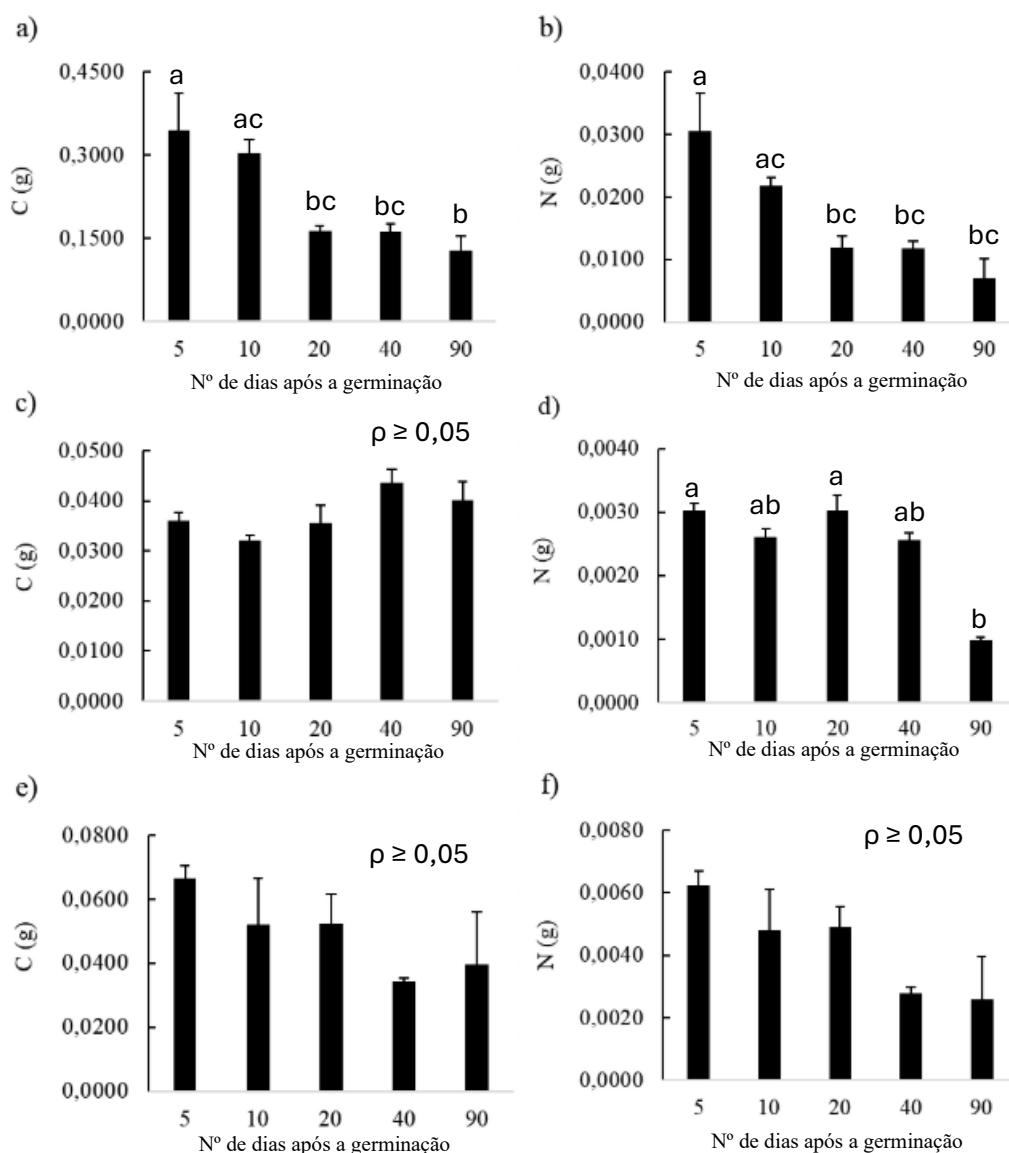


Figura 15. Gráficos referentes quantidade de quantidade de carbono (a, c, e) e nitrogênio (b, d, f) em estoque dos cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a.b) *A. macrocarpon*, c.d) *K. coriacea* e e.f) *T. aurea*. Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dun-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes, e aqueles que são iguais estatisticamente receberam letras iguais.

Analisando a concentração das reservas de carbono na forma de ASTs, amido e lipídeos para os NSs e cotilédones nos diferentes períodos de tempo para as 3 espécies (Figura 16), o lipídeo foi a reserva de carbono mais abundante, já os ASTs e o amido alternam como o segundo componente a depender do número de dias AG. Comparando os NSs e os cotilédones nos

diferentes períodos, para todas as 3 espécies, a concentração total das reservas de carbono decaem, com diferença significativa entre os 5 e os 90 dias AG.

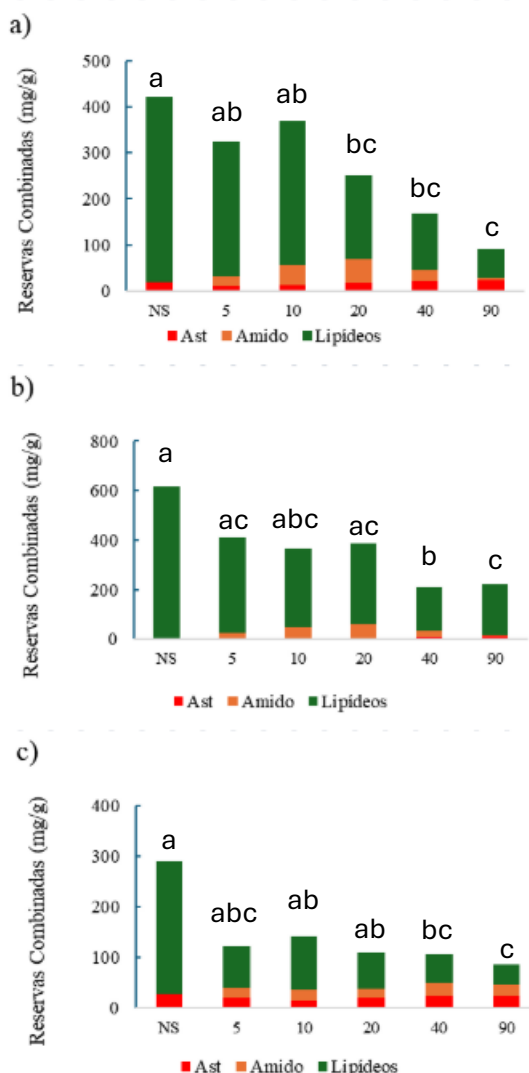
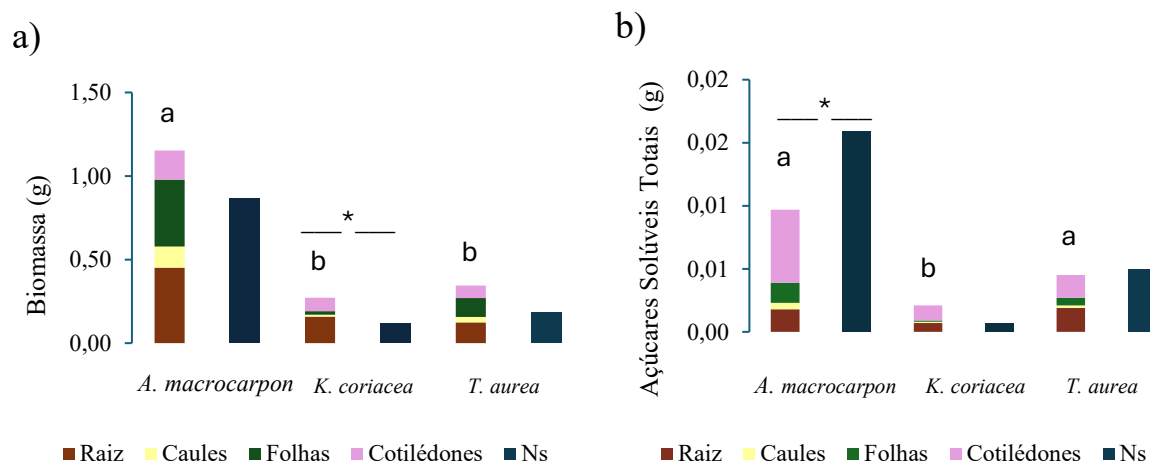


Figura 16. Variação na concentração das reservas de combinadas dos NSs e cotilédones aos 5, 10, 20, 40 e 90 após a germinação de: a) *A. macrocarpon*, b) *K. coriacea* e c) *T. aurea*. Em teste Tukey, para variáveis paramétricos, e teste Dunn-Bonferroni, para variáveis não paramétricas, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre os tratamentos, representado no gráfico pelas letras minúsculas sobre as barras, onde os tratamentos que diferem entre si receberam letras diferentes. NS: núcleo seminífero. 5, 10, 20, 40 e 90 correspondem ao número de dias após a germinação.

A massa seca das plântulas aos 90 dias AG de *A. macrocarpon* e *T. aurea* não foram diferentes significativamente dos seus respectivos NSs, já em *K. coriacea* houve diferença estatística, com as plântulas tendo acumulado uma maior massa seca do que os NSs. A massa seca das plântulas de *A. macrocarpon* e *T. aurea* é composta predominante pelas folhas e raízes, enquanto para *K. coriacea*, os cotilédones representam com as raízes, a maior parte da massa seca total da plântula (58,50%, sendo 29,84% correspondente aos cotilédones). Dentre as

espécies, *A. macrocarpon* teve o maior acúmulo de massa seca durante o período de 90 dias AG, e *T. aurea* e *K. coriacea* tiveram valores semelhantes. Em relação aos ASTs (Figura 17 b), o estoque presente nos NSs é maior do que na plântula (folha, caule, raiz e cotilédones) em *A. macrocarpon* e *T. aurea*. Nas plântulas das 3 espécies em que não foi realizada a coleta, os cotilédones quando presentes aos 90 AG apresentaram alto estoque de ASTs, sendo *A. macrocarpon* 59,79%, *K. coriacea* 57,14% e *T. aurea* 40,00%, refletindo os padrões da massa seca. As quantidades de amido presentes nas plântulas foram diferentes significativamente entre *K. coriacea* e *T. aurea*, pois *K. coriacea* possuiu mais amido em estoque. Dentre as partes das plântulas a que concentrou mais amido foram as raízes, os cotilédones tiveram baixa contribuição para os estoques de amido. Os lipídeos (Figura 17 d) nos NSs tiveram quantidades diferentes do que nas plântulas nas 3 espécies. Em *A. macrocarpon* e *K. coriacea*, os NSs apresentaram maior estoque de lipídeos, enquanto em *T. aurea*, as plântulas possuíam mais lipídeos do que os NSs. Em *A. macrocarpon* os lipídeos se concentram nas folhas e nos caules, em *K. coriacea* esses estavam alocados principalmente nos caules e nos cotilédones, e em *T. aurea* as folhas contribuíram com a maior proporção de lipídeos. Comparando as 3 espécies entre si, a que apresentou maior quantidade de lipídeos foi *A. macrocarpon*, que diferiu das demais. Em reserva de C apenas as plântulas de *K. coriacea* apresentaram estoque superior ao encontrado no NS. E dentre as espécies a que possuiu menor estoque de reserva de C foi *T. aurea*.



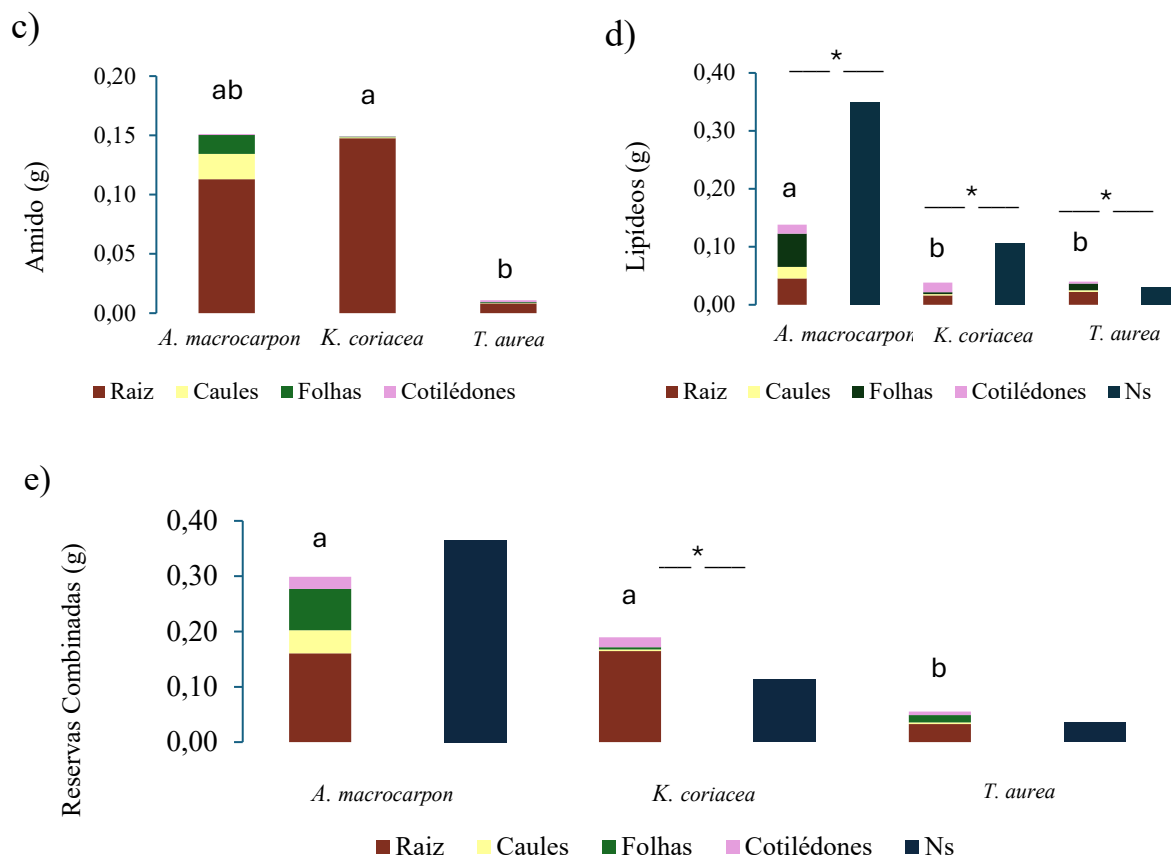


Figura 17. Distribuição da massa seca e dos estoques (g) de amido, açúcares solúveis e lipídeos nos NSs e plântulas (folhas, caules, raízes e cotilédones) aos 90 após a germinação de *A. macrocarpon*, *K. coriacea* e *T. aurea*. a) Massa seca, b) Açúcares solúveis, c) Amido, d) Lipídeos e e) Reserva de Carbono (soma de Açúcares Solúveis, Amido e Lipídeos). Em teste t, foram verificadas as diferenças estatisticamente significativas em ($p < 0,05$) entre o núcleo seminífero e a plântula de cada espécie e o teste t entre as plântulas das três espécies. O “*” marcando a diferença entres os pares (plântulas e NSs) e as letras indicam diferenças entre as plântulas das três espécies.

5.7 DISCUSSÃO

As espécies diferiram em relação ao volume e a massa das sementes, e na concentração das reservas energéticas. Contudo, como esperado para sementes anemocóricas, os lipídeos foram a reserva de carbono predominante (De Melo *et al.*, 2020). Segundo Kitajima (1996), a alta concentração de lipídeos nas sementes, pode indicar um modelo de compensação quanto as menores massas. De fato, *K. coriacea*, que teve as sementes de menor tamanho, foi a que apresentou maiores concentrações de lipídeos. Por outro lado, em termos de estoque, *A. macrocarpon* que teve as sementes de maior massa, teve sementes com maior estoque de carbono, na forma de lipídeos e açúcares solúveis (ASTs). Amido não foi detectado nas sementes das três espécies.

As três espécies apresentaram plântulas do tipo fanerocotiledonar (Miquel, 1987), pois a saída dos cotilédones de dentro do tegumento determina essa característica, e em relação a posição cotiledonar, as plântulas de *K. coriacea* e *T. aurea* são epígeas, já as plântulas de *A. macrocarpon* são do tipo hipógeas, pois os cotilédones permanecem rentes à linha do solo. A coloração verde foi comum aos cotilédones das três espécies, o que geralmente é utilizada como parâmetro para indicar capacidade fotossintética. Contudo, apesar da coloração, o ganho de carbono pelos cotilédones de *A. macrocarpon* deve ser mais restrito, visto que não houve estômatos nos cotilédones, logo teria acesso limitado ao CO₂ da atmosfera. A função fotossintética dos cotilédones parece ser especialmente relevante em *K. coriacea*, pois essa obteve maior densidade (número de estômatos/área) estomática e concentração total de pigmentos. Já *T. aurea* também apresentou tanto estômatos nas duas faces, mas teve uma menor densidade de estômatos na face abaxial do que *K. coriacea*. em uma menor concentração de clorofila A.

Em relação à função fotossintética, a espessura cotiledonar pode fornecer indícios que fundamentam a comparação entre as três espécies. Segundo Kitajima (1992), os cotilédones mais espessos (>1 mm) realizam menos fotossíntese por unidade de massa do que os cotilédones com espessura inferior (<1 mm). Seguindo estes parâmetros, *A. macrocarpon* deve ter menores taxas fotossintéticas do que as outras duas espécies, o que respalda a classificação dos cotilédones dessa espécie como tendo a função predominante de reserva.

Outra diferença observada foi o tempo de permanência dos cotilédones. *A. macrocarpon* e *T. aurea* apresentavam cotilédones em murcha e queda aos 90 dias AG e com uma diminuição gradual da massa seca dos cotilédones dos 5 aos 90 dias AG, *K. coriacea* permaneceu com os cotilédones funcionais aos 90 dias AG e sem uma redução da massa seca durante este período. A diminuição da massa dos cotilédones, ou seja, a murcha, é muito provavelmente um sintoma/indicativo do consumo das suas reservas (Venture e Paulilo, 1998). Os cotilédones de *K. coriacea* permaneceram aderidos e vistosos aos 90 dias AG, ressaltando a importância dos cotilédones desta espécie como fonte de carbono para a plântula em desenvolvimento, visto que os cotilédones dessa espécie são fotossintéticos.

A presença de nitrogênio nos cotilédones está predominantemente associada a processos metabólicos, em vez de atuar como fonte de reserva. A diminuição gradual do N é frequentemente atribuída ao seu uso na síntese de enzimas, que são essenciais para os processos metabólicos da planta (Novoa & Loomis, 1981). De acordo com Gao *et al.* (2013), o N nos cotilédones é utilizado principalmente para a síntese de enzimas como a nitrato redutase, a

nitrito redutase, a glutamina sintetase e a glutamato desidrogenase, que desempenham papéis fundamentais no metabolismo do nitrogênio. Durante a senescência cotiledonar, o N é remobilizado por meio da quebra de proteínas, processo mediado pelo aumento da atividade das proteases (Poret *et al.*, 2017). Essa remobilização permite que o nitrogênio seja realocado para outras partes da planta, contribuindo para o crescimento e desenvolvimento contínuos.

Os lipídeos, na respiração vegetal e na germinação, servem como fontes de energia e integram processos metabólicos (Kim, 2020; Ischebeck, 2020). A mobilização dos lipídeos, mais necessariamente a sua transformação em hexoses (açúcares), se daria por meio da gliconeogênese (Voelker e Kinney, 2001; Miray *et al.* 2021) durante o desenvolvimento inicial da plântula, o que pode estar relacionado com um aumento das concentrações do ASTs nos dias mais distantes da germinação. Em relação ao amido, que não foi encontrado nas sementes, o resultado destoa de outros estudos, como o De Melo *et al.* (2020) em que, utilizando a mesma metodologia, foi encontrado amido nos NSs de *K. coriacea* e *T. aurea*. A ausência do amido nos NSs pode ter ocorrido por meio de uma combinação de fatores ambientais; estresse, disponibilidade nutricional para a planta matriz. Segundo Zhang *et al.* (2021) a presença de amido nas sementes pode ser influenciada pelo balanço de nutrientes, que podem induzir ou não o armazenamento de amido. Contudo, o amido passou a surgir nos cotilédones aos 5 dias AG. Como observado por Moreira *et al.* (2019), os cotilédones da soja (*Glycine max*) continham 1% da massa seca como amido nas primeiras 12 h, mas os níveis de amido aumentaram ao longo do experimento e atingiram 6% em 96 h. Portanto é possível observar que existe o incremento na concentração de amido, mas que não resulta no aumento da massa seca, especificamente nos cotilédones de *A. macrocarpon* e *T. aurea*. Logo, pode-se concluir que algum componente, possivelmente os ASTs, estão sendo convertidos em amido. Em relação a diminuição de amido nos cotilédones de *A. macrocarpon* e *T. aurea* a quantidade decresce aos 90 dias em concentrações baixas, que não apresentam diferenças significativas com as NSs. Portanto nesse período, em que se aproxima da queda cotiledonar dessas duas espécies, o amido presente nos cotilédones ou já foi consumido, translocado ou convertido, o que explica a sua diminuição. Em *K. coriacea*, a curva temporal de amido nos cotilédones é diferente, pois a concentração aos 90 dias não se assemelha ao encontrado nas NSs. A formação de amido nos cotilédones dessas 3 espécies, pode ocorrer nos cloroplastos usando o CO₂ como substrato inicial, ou pode ser produzido a partir de açúcares pela metabolização das reservas (Zhang *et al.* 2021). No caso de *A. macrocarpon*, com a ausência de estômatos em seus cotilédones a produção de amido cotiledonar pode ter como origem predominante os açúcares, já que sem a

troca gasosa local haveria disponibilidade limitada de CO₂ para que esse fosse o substrato inicial.

O período entre os 5 e os 20 dias AG parece contemplar a maior atividade de translocação ou consumo das reservas cotiledonares, pois é onde está a maior quantidade de diferenças significativas em relação aos 90 dias AG. Os padrões de consumo das reservas presentes nos cotilédones estão menos claros para *K. coriacea*, devido a sua função fotossintética, que interfere no tempo de permanência cotiledonar, estando todos os cotilédones presentes aos 90 dias AG. Mas, a associação do tempo cotiledonar com a função predominante destoa de Soriano *et al.* (2013), pois em seu estudo, a função cotiledonar não influenciou no tempo de permanência; as duas espécies que permaneceram com os cotilédones por mais tempo foram uma de cada função (fotossintética - *Coccoloba barbadensis*, e reserva - *Swietenia humilis*, sendo 110 e 90 dias, respectivamente).

As funções dos ASTs nas sementes estão majoritariamente relacionadas com o processo de dessecação e o aporte energético. No processo de dessecação das sementes os ASTs atuam na proteção das membranas (Blacking *et al.* 1996), e a presença de açúcares pode potencializar o efeito protetor das proteínas *Late Embryogenesis Abundant* (LEA) (Liu *et al.*, 2010). Quanto ao fornecimento de energia, esse ocorre por meio da quebra dos açúcares (Crowe *et al.*, 1987), e sua presença nas sementes indica acesso a uma reserva de carbono e de energia de rápida metabolização durante os estágios de germinação e desenvolvimento inicial da plântula. Já em relação ao armazenamento de C no formato de lipídeos, por mais que seja necessário menos espaço por ser uma reserva compactada, segundo Kitajima (1996), os lipídeos são uma forma de armazenamento mais cara em termos bioenergéticos, para serem sintetizados ou degradados. Sua utilização pode ocorrer por meio da beta-oxidação lipídica (Goepfert & Poirier, 2007; Sweetlove *et al.*, 2010), com a diminuição dos estoques de lipídeos ao longo do tempo, acompanhado pela degeneração dos cotilédones à medida que os lipídeos são consumidos (Borek, Ratajczak & Ratajczak, 2006), como ocorreu em *A. macrocarpon* e *T. aurea*. Por outro lado, em muitas sementes oleaginosas, os cotilédones se diferenciam em órgãos fotossintetizantes que são uma fonte relevante de carbono para a plântula em formação (Silva *et al.*, 2021). Neste caso, apenas uma parte dos lipídios é convertida em carboidratos exportáveis.

Por meio das análises das reservas de C dos NSs e cotilédones nos diferentes períodos, foi observado o padrão de mobilização e translocação. O conjunto das reservas decresce dos NSs até os cotilédones aos 90 dias AG, que para as espécies *A. macrocarpon* e *T. aurea* coincide

com o a queda cotiledonar. Então, mesmo que as espécies não possuam padrões iguais em todas as variáveis isoladas (AST, Amido e Lipídeos), a soma delas compondo a reserva de C resulta em um padrão geral comum, de queda dos 5 dias até os 90 dias AG.

Aos 90 dias AG, as plântulas de *A. macrocarpon* e *T. aurea* não apresentaram reservas de carbono superiores às quantidades presentes em seus NSs, comportamento que diferiu do que foi observado em *K. coriacea*. O aumento das reservas de carbono nas plântulas de *K. coriacea* pode estar relacionado à capacidade fotossintética dos cotilédones, que contribuem para a assimilação e armazenamento de carbono durante o desenvolvimento inicial da planta.

A principal reserva de carbono nas plântulas é o amido. Observa-se que, do estágio inicial (NS) até o desenvolvimento das plântulas, ocorre uma transição gradual na reserva predominante, passando de lipídeos para amido. Essa mudança no padrão de armazenamento pode estar associada ao custo bioenergético envolvido na utilização de lipídeos como fonte de energia, bem como ao fato de o amido ser a forma de reserva mais comum nas plantas. Isso se deve, em parte, à sua insolubilidade, que confere inatividade osmótica ao amido, evitando interferências no equilíbrio celular (Buckeridge *et al.*, 2000).

As reservas nas plântulas estão predominantemente localizadas nas raízes, o que pode estar relacionado ao fato de as três espécies serem decíduas (Souza *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2023; Palhares, Franco & Zaidan, 2010). Essa característica torna a alocação de recursos nas folhas menos eficiente, uma vez que as folhas são perdidas sazonalmente. O direcionamento das reservas para os tecidos radiculares pode também conferir às plantas maior capacidade de sobrevivência e resiliência frente a intempéries, como eventos climáticos extremos ou danos à parte aérea, o que garante que as plantas mantenham suas reservas energéticas em um local protegido e acessível para a rebrota e recuperação após períodos adversos (Santos *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2022).

5.8 CONCLUSÃO

Com base neste estudo, é possível concluir que as três espécies diferiram quanto à função cotiledonar predominante. A soma das características observadas indica que os cotilédones de *K. coriacea* são predominantemente fotossintéticos, os de *A. macrocarpon* atuam principalmente como reserva, enquanto os de *T. aurea* apresentam uma função intermediária, sendo tanto fotossintéticos quanto de reserva. Apesar das diferenças nas concentrações dos componentes analisados, todas as espécies compartilham um padrão comum

de mobilização, translocação ou consumo gradual das reservas cotiledonares, podendo ser menos aparente em *K. coriacea* devido a capacidade fotossintética de seus cotilédones. O fato de a perda funcional dos cotilédones ser gradual, a dependência das reservas varia conforme o tempo de mobilização e translocação. A principal forma de armazenamento de carbono nas sementes é na forma de lipídeos, enquanto, nas plântulas, a principal reserva é o amido, que se localiza principalmente nas raízes. Esse padrão pode indicar estratégias adaptativas frente à sazonalidade do ambiente.

5.9 REFERÊNCIAS

- AMARAL, Lourdes Isabel Velho do *et al.* Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. **Hoeheia**, v. 34, p. 425-431, 2007.
- BLACKIG, M. *et al.* Carbohydrate metabolism in the developing and maturing wheat embryo in relation to its desiccation tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, n. 2, p. 161-169, 1996.
- BOREK, Sławomir; RATAJCZAK, Wiktoria; RATAJCZAK, Lech. Ultrastructural and enzymatic research on the role of sucrose in mobilization of storage lipids in germinating yellow lupine seeds. **Plant science**, v. 170, n. 3, p. 441-452, 2006.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Regras para análise de sementes**. 2009.
- BUCKERIDGE, MARCOS S. *et al.* Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. especial, p. 137-162, 2000.
- CROWE, John H. *et al.* Stabilization of dry phospholipid bilayers and proteins by sugars. **Biochemical Journal**, v. 242, n. 1, p. 1, 1987.
- DE MELO, R. B. *et al.* Dispersal mode constrains allocation of carbon and mineral nutrients in seeds of forest and savanna trees. **Plant Biology**, v. 22, n. 2, p. 203-211, 2020.
- DUBOIS, Michel *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- EZEAGU, I. E. *et al.* Seed protein contents and nitrogen-to-protein conversion factors for some uncultivated tropical plant seeds. **Food Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 105-109, 2002.

FRANCO, Augusto Cesar *et al.* Anemochorous and zoochorous seeds of trees from the Brazilian savannas differ in fatty acid content and composition. **AoB Plants**, v. 15, n. 4, p. plad042, 2023.

GAO, S. *et al.* The effects of NaCl stress on *Jatropha* cotyledon growth and nitrogen metabolism. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 13, n. 1, p. 99-113, 2013.

GOEPFERT, Simon; POIRIER, Yves. β -Oxidation in fatty acid degradation and beyond. **Current opinion in plant biology**, v. 10, n. 3, p. 245-251, 2007.

HAYASHI, Ana Mayumi; MALAGUETTA, Heloisa; AGOSTINI, Kayna. Influência da remoção dos cotilédones no desenvolvimento inicial de plântulas de *Canavalia ensiformis* e *Phaseolus vulgaris* (Leguminosae, Papilionoidae). *Bioikos-Título não-corrente*, v. 26, n. 2, 2012.

ISCHEBECK, Till *et al.* Lipid droplets in plants and algae: Distribution, formation, turnover and function. In: **Seminars in cell & developmental biology**. Academic Press, 2020. p. 82-93.

KIM, Hyun Uk. Lipid metabolism in plants. **Plants**, v. 9, n. 7, p. 871, 2020.

KITAJIMA, Kaoru. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: **Tropical forest plant ecophysiology**. Boston, MA: Springer US, 1996. p. 559-596.

KITAJIMA, K. Relationship between photosynthesis and thickness of cotyledons for tropical tree species. **Functional Ecology**, p. 582-589, 1992.

LIU, Yun *et al.* Soybean PM2 protein (LEA3) confers the tolerance of *Escherichia coli* and stabilization of enzyme activity under diverse stresses. **Current microbiology**, v. 60, p. 373-378, 2010.

METHEREL, Adam H. *et al.* The application of ultrasound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples (flaxseed). **Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids**, v. 81, n. 5-6, p. 417-423, 2009.

MIQUEL, S. Morphologie fonctionnelle de plantules d'espèces forestières du Gabon. **Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle. Section B, Adansonia**, v. 9, n. 1, p. 101-121, 1987.

MIRAY, Romane *et al.* Molecular control of oil metabolism in the endosperm of seeds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1621, 2021.

MOREIRA, Thiago Batista *et al.* A genome-scale metabolic model of soybean (*Glycine max*) highlights metabolic fluxes in seedlings. **Plant physiology**, v. 180, n. 4, p. 1912-1929, 2019.

NOVOA, R.; LOOMIS, R. S. Nitrogen and plant production. **Plant and soil**, v. 58, p. 177-204, 1981.

NUNES, Tayara Colins *et al.* Cotyledons as the primary source of carbon and mineral nutrients during early growth of a savanna tree. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, p. 1-18, 2024.

PALHARES, Dario; FRANCO, Augusto César; ZAIDAN, Lillian Beatriz Penteado. Respostas fotossintéticas de plantas do cerrado nas estações seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 2, 2010.

PORET, Marine *et al.* Proteomic investigations of proteases involved in cotyledon senescence: a model to explore the genotypic variability of proteolysis machinery associated with nitrogen remobilization efficiency during the leaf senescence of oilseed rape. **Proteomes**, v. 5, n. 4, p. 29, 2017.

RAMADAN, Mohamed Fawzy *et al.* Fatty acids, bioactive lipids and radical scavenging activity of *Celastrus paniculatus* Willd. seed oil. **Scientia Horticulturae**, v. 123, n. 1, p. 104-109, 2009.

TO, Jennifer PC; REITER, Wolf-Dieter; GIBSON, Susan I. Mobilization of seed storage lipid by *Arabidopsis* seedlings is retarded in the presence of exogenous sugars. **BMC Plant Biology**, v. 2, p. 1-11, 2002.

SANTOS, Mariana *et al.* Whole plant water status and non-structural carbohydrates under progressive drought in a Caatinga deciduous woody species. **Trees**, v. 35, p. 1257-1266, 2021.

SILVA, Larissa Gabrielle Ferreira da *et al.* Could the presence of preformed leaves inside the seed be more important than seed size for the establishment and growth of Cerrado seedlings?. **Acta Botanica Brasilica**, v. 37, p. e20230119, 2023.

SILVA, Karen Fernanda Oliveira e *et al.* Darkness and low-light alter reserve mobilization during the initial growth of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 33, p. 55-68, 2021.

SORIANO, Diana *et al.* Seed reserve translocation and early seedling growth of eight tree species in a tropical deciduous forest in Mexico. **Plant Ecology**, v. 214, p. 1361-1375, 2013.

SORIANO, Diana *et al.* Analysis of nitrogen seed reserves of ten tree species of the tropical dry forest. **South African Journal of Botany**, v. 97, p. 149-153, 2015.

SOUZA, João Paulo *et al.* Shoot-foliage relationships in deciduous, semideciduous, and evergreen Cerrado tree species. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 21, p. 76-86, 2009.

SWEETLOVE, Lee J. *et al.* Not just a circle: flux modes in the plant TCA cycle. **Trends in plant science**, v. 15, n. 8, p. 462-470, 2010.

- VENTURI, Silvia; PAULILO, Maria Terezinha Silveira. Esgotamento das reservas na semente de *Euterpe edulis* Mart. e efeito da nutrição mineral nas plântulas. *Acta Botanica Brasilica*, v. 12, p. 215-220, 1998.
- VOELKER, Toni; KINNEY, Anthony J. Variations in the biosynthesis of seed-storage lipids. **Annual review of plant biology**, v. 52, n. 1, p. 335-361, 2001.
- WELLBURN AR (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Plant Physiol* 144:307–313.
- YANG, Yue *et al.* Root carbon resources determine survival and growth of young trees under long drought in combination with fertilization. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 929855, 2022.
- ZHANG, Xudong *et al.* Mineral nutrients and crop starch quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 114, p. 148-157, 2021.

Capítulo 2

Os efeitos da remoção cotiledonar na nutrição de plântulas de espécies nativas do Cerrado

RESUMO

A dependência que as plântulas possuem de seus cotilédones está relacionado ao aporte nutricional e energético que esses proporcionam. A compreensão do papel cotiledonar no desenvolvimento das plântulas permite que as técnicas de manejo utilizadas em programas de restauração sejam otimizadas. Logo, o manejo mais eficiente na fase plântula pode ser crucial para o sucesso das ações de semeadura direta. Espera-se que a remoção cotiledonar cause efeitos negativos no desenvolvimento inicial da plântula. A depender da intensidade da remoção cotiledonar (total ou parcial) e da idade da plântula, é possível determinar o grau e tempo de dependência da plântula das reservas cotiledonares, qual o cenário mais severo para a remoção cotiledonar, e com maiores impactos no desenvolvimento da parte aérea e radicular. Nesse estudo foram utilizadas as espécies arbóreas do Cerrado *Aspidosperma macrocarpon*, *Tabebuia aurea* e *Kielmeyera coriacea*. Em uma escala da função dos cotilédones, de predominante de reserva para a função fotossintetizante, as espécies se distribuem na seguinte ordem: *Aspidosperma macrocarpon*, *Tabebuia aurea* e *Kielmeyera coriacea*. Cotilédones que se diferenciam em relação a função predominante devem responder de maneira diferente a sua remoção. As plântulas foram submetidas à remoção de um ou dos dois cotilédones aos 5, 10, 20 e 40 dias após a germinação. Aos 90 dias as plântulas foram avaliadas quanto ao seu aspecto geral total (radicular, caulinar e foliar), acumulação e distribuição de biomassa, e foi verificado que os cotilédones suprem as demandas nutricionais e energéticas durante o desenvolvimento inicial, enquanto são gradualmente utilizados. Entre os tratamentos, os efeitos mais severos ocorreram nas plântulas que tiveram os dois cotilédones removidos aos 5 e 10 dias após a germinação. Desta maneira, a intensidade dos efeitos causados pela remoção cotiledonar vá ser maiores nos primeiros dias após a germinação, período em que a plântula teve pouco tempo para translocar as reservas necessárias para assegurar o seu pleno desenvolvimento.

Palavras chaves: Plântulas, Remoção Cotiledonar, Cotilédones, Desenvolvimento Inicial.

ABSTRACT

The dependence that seedlings have on their cotyledons is related to the nutritional and energy supply provided by these structures. Understanding the role of cotyledons in seedling development allows for the optimization of management techniques used in restoration programs. Therefore, efficient management during the seedling phase can be crucial for the success of direct seeding efforts. It is expected that cotyledon removal will have negative effects on early seedling development. Depending on the extent of cotyledon removal (total or partial) and the age of the seedling, it is possible to determine the degree and duration of the seedling's dependence on cotyledonary reserves, as well as identify the most critical stage for cotyledon removal and its greater impacts on shoot and root development. In this study, the tree species *Aspidosperma macrocarpon*, *Tabebuia aurea*, and *Kielmeyera coriacea*, native to the Cerrado, were used. On a scale of cotyledon function, ranging from predominant storage to predominantly photosynthetic, these species are distributed in the following order: *Aspidosperma macrocarpon*, *Tabebuia aurea*, and *Kielmeyera coriacea*. Cotyledons that differ in their predominant function are expected to respond differently to removal. Seedlings were subjected to the removal of one or both cotyledons at 5, 10, 20, and 40 days after germination. At 90 days, seedlings were evaluated for overall condition (root, stem, and leaf development), biomass accumulation and distribution. It was found that cotyledons meet the nutritional and energy demands during early development while being gradually depleted. Among the treatments, the most severe effects were observed in seedlings that had both cotyledons removed at 5 and 10 days after germination. Thus, the severity of the effects caused by cotyledon removal is greater in the first few days after germination, a period when the seedling has had little time to translocate the necessary reserves to ensure its proper development.

Keywords: Seedlings: Cotyledon Removal, Cotyledons, Early Development.

6.1 INTRODUÇÃO

O estudo dos padrões de desenvolvimento inicial de plântulas de espécies nativas do Cerrado é crucial para a aplicação de técnicas de restauração que utilizam a semeadura direta como ferramenta estratégica. O estágio plântula representa um período de elevada vulnerabilidade, no qual a compreensão das demandas nutricionais e energéticas iniciais das plântulas, especialmente no que diz respeito à proteção e utilização eficiente de suas reservas cotiledonares, é fundamental. Essa abordagem, consoa com os estudos que tem por objetivo aumentar a eficiência do estabelecimento e o recrutamento de indivíduos (Ferreira & Vieira, 2024), reduzindo perdas durante a fase de estabelecimento e contribuindo para o sucesso das práticas de restauração ecológica.

A dependência nutricional e energética das plântulas para com os seus cotilédones, está intimamente associada à taxa de crescimento máxima (Hanley *et al.*, 2004). Assim que a plântula atinge o máximo de crescimento suportado pelas reservas, deve ocorrer a transição gradual de dependência das reservas cotiledonares para a autotrofia. A compreensão desse processo é fundamental para otimizar técnicas de manejo em programas de restauração ecológica, especialmente em ecossistemas degradados do Cerrado.

O Cerrado, em que predominam formações savânicas, é caracterizado por uma forte sazonalidade no regime de chuvas, com uma estação seca bem-marcada, de quatro a cinco meses de duração (Colli, Vieira & Dianese, 2020.). As espécies arbóreas decíduas do Cerrado, ao germinarem e se estabelecerem na época chuvosa, desde a fase plântula, alocam os seus recursos energéticos nos tecidos radiculares (Hoffmann *et al.*, 2004, Nunes *et al.*, 2024, capítulo 1), o que pode vir a refletir nos padrões de massa seca, área e comprimento. E essa alocação inicial das reservas, majoritariamente em formato de amido (Macneill *et al.*, 2017 & Zhao *et al.*, 2018) se deve ao incremento energético disponibilizado originalmente pelas sementes. Logo, espera-se que o déficit das reservas originais, por meio da remoção cotiledonar, possa vir a causar efeitos negativos no desenvolvimento radicular e na sua capacidade de acumulação de reservas de carbono (Corte *et al.*, 2006) e, portanto, na sua capacidade de sobreviver durante a estação seca subsequente, muitas vezes associada a queimadas que provocam a perda da parte aérea ou das folhas (Vernooij *et al.*, 2021).

Espécies anemocóricas geralmente compõem os mix de sementes utilizados na restauração (comunicação direta com o grupo Tikré: Soluções Ambientais e Suprimentos para a Restauração), e a forma compactada das reservas dessa classe de sementes é uma

característica discutida por autores (De Melo *et al.*, 2023). Dentre as espécies geralmente utilizadas estão na composição desses mixes: *Aspidosperma macrocarpon*, *Tabebuia aurea* e *Kielmeyera coriacea*; que são espécies arbóreas decíduas. Em estudo anterior sobre a variação temporal dos estoques de carbono (na forma de amido, açúcares solúveis e lipídeos) e de nitrogênio nos cotilédones destas três espécies (capítulo 1), permitiu concluir que estas dependem dos cotilédones como fornecedores de carbono e nitrogênio para o seu desenvolvimento inicial, e que em *K. coriacea* e *T. aurea*, essas estruturas são também fotossintetizantes. Em uma escala, da função predominante de reserva para a função fotossintetizante, as espécies ficam na seguinte ordem: *Aspidosperma macrocarpon*, *Tabebuia aurea* e *Kielmeyera coriacea*.

Através da remoção total ou parcial dos cotilédones em diferentes períodos, é possível determinar o grau e por quanto tempo as plântulas são dependentes das reservas cotiledonares, qual o cenário mais severo causado pela remoção cotiledonar, e que viria a causar maiores impactos no desenvolvimento da parte aérea e radicular. Esperávamos que as espécies respondessem negativamente à remoção cotiledonar, especialmente para aquelas que foram privadas de suas reservas nos dias iniciais após a germinação. Partimos da premissa que logo após a germinação as plântulas além de não possuírem sistema próprio para a aquisição de carbono e nutrientes minerais (folhas e raízes) de fontes externas, essas ainda não teriam mobilizado a quantidade necessária de reservas de carbono e nutrientes minerais dos cotilédones que garantisse a formação do sistema radicular e órgãos fotossintetizantes. Portanto, comprometeria a sobrevivência ou o pleno estabelecimento da plântula, a depender do tempo de remoção. Contudo, a função cotiledonar predominante pode influir sobre a severidade da remoção. Espécies com cotilédones de função fotossintética predominante teriam acesso a uma fonte renovável de carbono, e deveriam ser mais dependentes e por um prazo maior dos cotilédones. Por outro lado, espécies com cotilédones de reserva dependeriam de uma utilização mais rápida do carbono estocado nos cotilédones para desenvolver as folhas e ter acesso ao carbono da atmosfera. O objetivo deste estudo foi analisar a influência da manipulação dos recursos disponíveis nos cotilédones, durante o desenvolvimento inicial em plântulas de espécies anemocóricas, através da remoção parcial ou total dos cotilédones em diferentes períodos.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes utilizadas nesse estudo foram todas provenientes de mosaicos vegetacionais das fitofisionomias Cerradão e Cerrado Denso, localizadas nos estados de Goiás, Minas Gerais e no Distrito Federal e foram coletadas de no mínimo três indivíduos por espécie. As coordenadas de pontos próximos das matrizes de *A. macrocarpon*, *K. coriacea* e *T. aurea* são respectivamente: 16°12'20"S 47°15'44"W; 15°46'25"S 47°51'55"W e 15°25'23"S 47°28'09"W. Os experimentos foram realizados no Departamento de Botânica da Universidade de Brasília (UnB) e na Estação Experimental do Instituto de Ciências Biológicas (EEB), ambos localizados no Distrito Federal.

Foram selecionadas cem sementes livres de avarias (predadas, fungadas, malformadas ou quebradas), para determinação da massa fresca em balança de precisão de quatro casas decimais. Em seguida, as sementes foram separadas individualmente em pacotes de papel alumínio, identificadas, e acondicionadas em saquinhos *zip lock*, que foram colocados no congelador à -28°C por no mínimo 72 horas e em sequência foram liofilizados por no mínimo 72 horas. Após a liofilização, as sementes foram pesadas (para a obtenção da massa seca) em balança de quatro casas decimais. Para a realização dos testes bioquímicos e determinação da concentração de nutrientes minerais, as sementes liofilizadas foram moídas até serem reduzidos a pó, em cadinho e pistilo com a adição de nitrogênio líquido. As sementes foram combinadas em 3 (três) amostras compostas de 33 sementes cada para realização das análises bioquímicas e de nutrientes minerais em laboratório de análise comercial. Os nutrientes quantificados foram: os macronutrientes cálcio (Ca), enxofre (S), magnésio (Mg), nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) e os micronutrientes: boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn). Os dados das reservas de carbono (lipídeos, amido e açúcares solúveis) destas sementes estão disponíveis no capítulo 1.

Para cada espécie, foi preparada uma bandeja para a deposição das sementes. As bandejas foram forradas com duas folhas de papel filtro do tipo germinatest umedecidas com água destilada. Sobre as folhas foram distribuídas, sem sobreposição, 200 sementes livres de avaria e sem as alas, em seguida foram cobertas com uma camada de papel filtro, em seguida foram regadas com água destilada e vedadas com papel filme para evitar possíveis contaminações externas e manter a umidade. As bandejas, foram depositadas em câmaras de crescimento do tipo B.O.D., com temperatura constante de 28°C e fotoperíodo de 12 horas. A rega e conferência da germinação, foram realizadas a cada 2 dias. Após a emissão da radícula,

as sementes germinadas foram levadas para casa de vegetação, onde foram transplantadas, individualmente, em recipientes de plástico transparente e de formato de tronco de cone, com altura de 15cm e volume de 500ml, preenchidos com areia da marca Dancor® que teve a composição química analisada por meio do método de Texeira *et al.* (2017). Quando necessário, devido ao crescimento radicular, os recipientes contendo os indivíduos tiveram o fundo recortado e em baixo foi adicionado outro recipiente preenchido de areia. A distribuição ocorreu de forma aleatória entre os recipientes, e estes foram posteriormente identificados dentre os tratamentos de forma inteiramente casualizada (metodologia compartilhada com o capítulo 1). Foram coletadas amostras do substrato utilizado no início e final do experimento, para análises de composição química, por meio do método de Texeira *et al.* (2017), que determinou a concentração de: Al (alumínio), B (boro), Ca (cálcio), Cu (cobre), Fe (ferro), K (potássio), Mg (magnésio), Mn (manganês), N (nitrogênio), Na (sódio), P (fósforo), S (enxofre), Zn (zinco) e a acidez (H + Al).

Os tratamentos utilizados foram oito e controle. Os tratamentos foram: a remoção de um cotilédone aos cinco, dez, vinte e quarenta dias; a remoção dos dois cotilédones aos cinco, dez, vinte e quarenta dias; controle, cujas plantas não tiveram remoção de cotilédones (Figura 18). Em cada tratamento foram utilizadas vinte plantas, totalizando cento e oitenta indivíduos por espécie. A remoção cotiledonar, foi feita com auxílio de um bisturi, de maneira a evitar danos nos primórdios foliares e nas radículas. Ao atingir noventa dias após a germinação, o experimento foi finalizado e foram quantificados os indivíduos mortos. As plântulas foram retiradas do substrato, lavadas, identificadas e levadas ao laboratório aonde foram novamente lavadas com água destilada para a máxima remoção das impurezas, em seguidas foram fotografadas. Finalizado o registro fotográfico, foi aferido o comprimento máximo (cm) do sistema radicular, medindo o a extensão máxima que as raízes atingiram quando esticadas, o comprimento (cm) da parte aérea e do caule. Após as medições, as plântulas foram separadas em folhas, caules e raízes, que foram pesadas para a obtenção da massa fresca (g). Em seguida, as raízes e folhas foram digitalizadas para a obtenção da área (cm²), utilizando um *scanner* de mesa, e analisadas pelo software livre *ImageJ*. Finalizada as medições, todas os indivíduos foram acondicionados em pacote de papel alumínio, identificados e perfurados (para permitir a saída da água). Os pacotes com as amostras foram colocados em congelador à -28°C por no mínimo 72h. Em seguida o material vegetal foi liofilizado, e pesado (folhas, caules e raízes) para obtenção da massa seca (g).

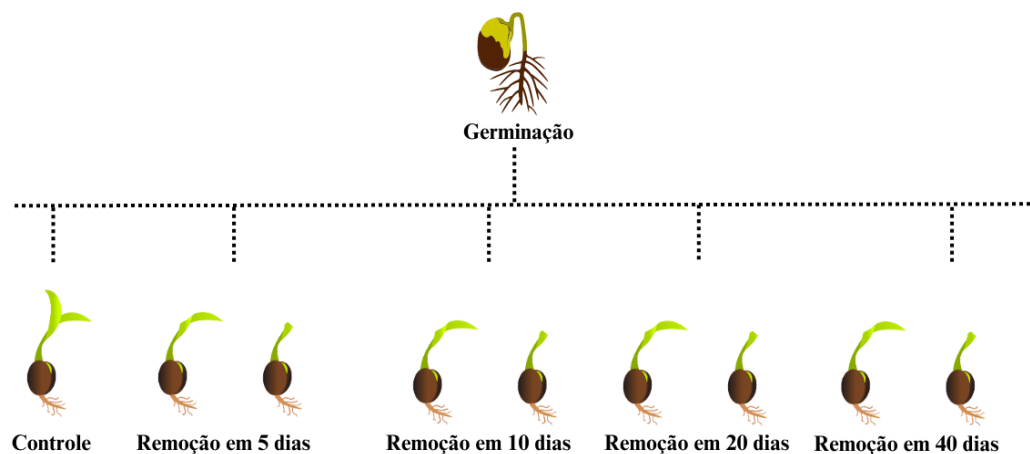


Figura 18. Esquema experimental correspondente a remoção cotiledonar parcial e total de plântulas de *A. macrocarpon*, *K. coriacea* e *T. aurea*, nos respectivos tratamentos.

O experimento teve delineamento inteiramente ao acaso e o nível de significância utilizado foi igual à 5% para todas as análises. As análises estatísticas feitas para os dados que apresentaram normalidade (pelo teste de Shapiro Wilk) e homoscedasticidade (pelo teste de Bartlett) no programa R, foram realizados por ANOVAs com pos.hoc. de testes de Tukey, e para dados não paramétricos foi realizado o teste de Kruskal Wallis com o pos.hoc. de teste de Dunn-Bonferroni, ambos com $p < 0,05$.

6.3 RESULTADOS

A análise da composição química das sementes (Tabela 7) mostrou que as três espécies possuem composição nutricional próximas em concentração. Entre os macronutrientes, Ca e S são os nutrientes presentes em menores concentrações, enquanto o N é o nutriente presente em maior concentração. A concentração de N encontrada foi próximo ao encontrado nos cotilédones (capítulo 1) aos 5 dias após a germinação. As variações encontradas nos macro e micronutrientes não forneceram evidências suficientes para que fundamentar a diferenciação entre os tipos cotiledonares.

Tabela 7. Composição química das sementes sem alas (NSs) de *A. macrocarpon*, *K. coriacea* e *T. aurea*. Valores médios $\pm$ Erro Padrão, $n = 3$. Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B). Dados expressos em termos de média $\pm$ erro padrão $N=3$

Componentes	<i>A. macrocarpon</i>	<i>K. coriacea</i>	<i>T. aurea</i>
N dag/kg	4,52 $\pm$ 0,06	4,37 $\pm$ 0,03	4,30 $\pm$ 0,03

P dag/kg	0,59 ± 0,02	0,79 ± 0,01	0,81 ± 0,02
K dag/kg	1,13 ± 0,05	1,35 ± 0,01	1,40 ± 0,02
Ca dag/kg	0,25 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,24 ± 0,02
Mg dag/kg	0,43 ± 0,02	0,40 ± 3,9E ⁻¹⁷	0,27 ± 0,07
S dag/kg	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0,24 ± 0,01
Zn mg/kg	40,53 ± 1,73	54,53 ± 1,16	37,87 ± 0,48
Fe mg/kg	26,27 ± 2,32	30,00 ± 0,23	42,13 ± 6,47
Mn mg/kg	42,40 ± 0,46	28,93 ± 1,27	4,40 ± 0,40
Cu mg/kg	12,80 ± 5,22	16,80 ± 0,40	15,87 ± 0,13
B mg/kg	29,13 ± 0,99	40,95 ± 0,68	10,23 ± 2,48

A análise do substrato está descrita na Tabela 8, onde é possível observar que as baixas concentrações dos elementos analisados, em comparação com solos do Cerrado (Carneiro *et al.*, 2009), exceto para as concentrações de Ca e P. A capacidade de troca catiônica é baixa, logo, os nutrientes possuem baixa disponibilidade.

Tabela 8. Análise química da composição da Areia utilizada como substrato do experimento. Alumínio (Al), Sódio (Na) Capacidade de Troca Catiônica (CTC), Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Enxofre (S), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Boro (B), Fósforo (P) e Nitrogênio (N).

Análise química da Areia	
Composição	Concentração (cmolc/dm ³)
Al	0,20
Na	0,02
CTC	1,60
K	0,03
Ca	0,30
Mg	0,10
Composição	Concentração (mg/dm ³)
S	20,30
Fe	5,80
Mn	0,50
Zn	1,07
Cu	0,90
B	0,04
P	12,00
Composição	Concentração (mg/kg)
N	25,20

No decorrer do experimento houve mortalidade de plântulas (Figura 19). A perda de plântulas foi menor para *Kielmeyera coriacea*, enquanto as maiores perdas de plântulas ocorreram em *A. macrocarpon*.

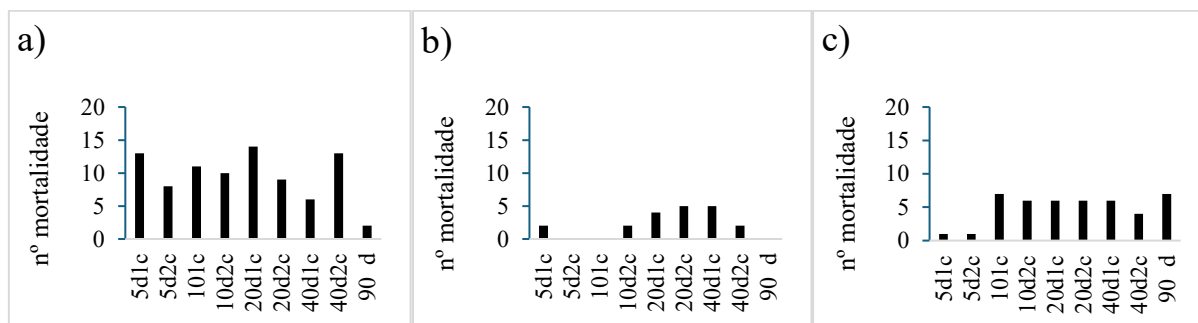


Figura 19. Gráficos de referentes ao número mortalidade em cada tratamento aos 90 dias após a germinação. a) *Aspidosperma macrocarpon*, b) *Kielmeyera coriacea*, c) *Tabebuia aurea*.

Em avaliação visual das plântulas de *A. macrocarpon* (Figura 20), foi possível observar que ao final do experimento as folhas em todos os tratamentos estavam livres de clorose, as raízes se desenvolveram sem sintomas de patologias, as gemas apicais não apresentaram sintomas de murcha, necrose e deformação aparente que possibilitassem a distinção entre os tratamentos. Para as plântulas que mantiveram um ou os dois cotilédones, esses estavam em aspecto de murcha aos 90 dias AG, em alguns indivíduos os cotilédones estavam com coloração marrom à preta, em outros os cotilédones já haviam caído. Em remoção total dos cotilédones nos 5, 10 e 20 dias AG, os indivíduos se distinguiram dos demais devido ao aspecto geral reduzido (Figura 20).



Figura 20. Plântulas de *A. macrocarpon* aos 90 dias após a germinação (AG) e que tiveram um ou dois cotilédones removidos aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação.

Para as plântulas de *K. coriacea* (Figura 21) pertencentes aos tratamentos de remoção um cotilédono e sem remoção (90d), não foi registrado queda cotiledonar, estes permaneceram com aspecto saudável, sem indicação de queda ou murcha. Foi comum para essa espécie a ausência de folhas, sendo a parte aérea composta apenas dos caules e cotilédones. Ao observar os indivíduos em que foi realizada a remoção total dos cotilédones, todos possuíam ao menos uma folha. As raízes, sem distinção de tratamento, estavam com aspecto tuberoso com raízes secundárias pouco aparentes, e sem sintomas de patologia. A gema apical e caules não apresentavam sintomas de patologia, deformação e necrose aparente que diferenciasssem entre os tratamentos e que fosse passível de observação visual.

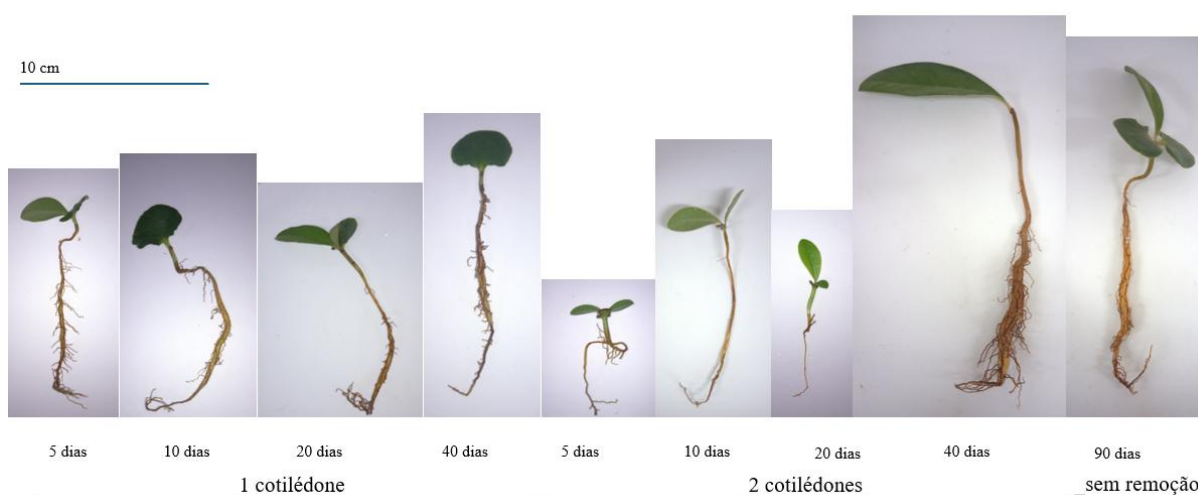


Figura 21. Plântulas de *K. coriacea* aos 90 dias após a germinação (AG) e que tiveram um ou dois cotilédones removidos aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação.

Nas plântulas de *T. aurea* (Figura 22) submetidas aos tratamentos de remoção parcial dos cotilédones ou sem remoção, os cotilédones presentes apresentaram um aspecto de murcha, em alguns casos exibiam coloração que variava de marrom a preta, enquanto, em outros, já haviam caído completamente. Contudo, os indivíduos em todos os tratamentos apresentavam aspecto saudável com folhas presentes em todos os indivíduos, com marcada heterofilia, o que se deve ao fato de as folhas iniciais das plântulas serem simples em vez de compostas como nos indivíduos adultos. Gemas apicais e caules, não apresentaram sintoma visual que permitisse distinção entre os tratamentos. As raízes, com aspecto tuberoso, não continham traços que indicassem patologias.



Figura 22. Plântulas de *T. aurea* aos 90 dias após a germinação (AG) e que tiveram um ou dois cotilédones removidos aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação.

Os efeitos da remoção dos cotilédones na área foliar, área radicular e na razão de área foliar/ área radicular em *A. macrocarpon* (Figura 23) foram maiores para as plântulas que tiveram os dois cotilédones removidos, especialmente dos 5 aos 20 dias após a germinação. A remoção parcial dos cotilédones só resultou em efeitos significativos nas raízes dos indivíduos aos 5 dias, pois houve redução da área radicular em comparação com as plântulas aos 90 dias AG (após a germinação) SRM (sem remoção cotiledonar). Nos indivíduos que tiveram ambos os cotilédones removidos, ocorreu uma redução significativa na área foliar, área radicular e um aumento na razão área radicular/foliar) nas plântulas aos 5, 10 e 20 dias AG em relação as plântulas aos 90 dias AG SRC (Sem Remoção Cotiledonar).

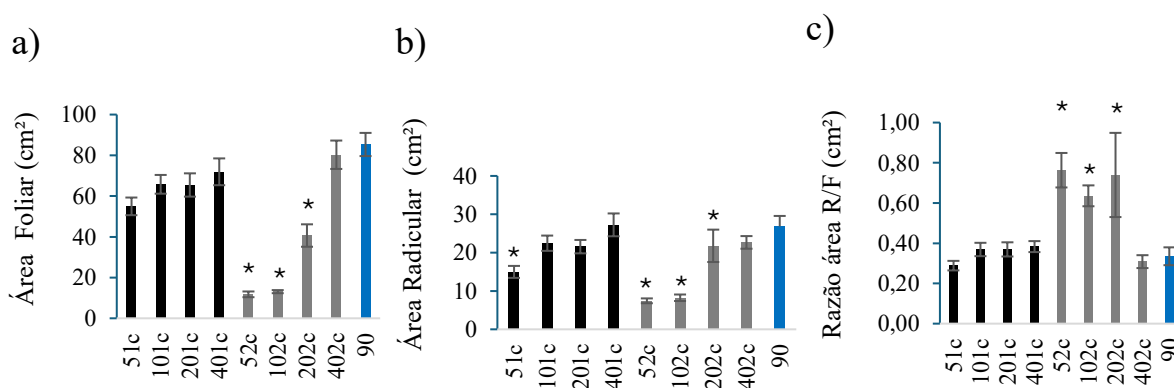


Figura 23. Gráficos referentes as áreas: a) foliares (cm²), b) áreas radiculares (cm²), c) e razão da área radicular pela foliar (R/F) (cm²) para as plântulas de *A. macrocarpon* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificada a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

Os valores de área foliar, área radicular e razão de área foliar/ área radicular, em *K. coriacea* (Figura 24), foram menores nas plântulas que tiveram os dois cotilédones removidos aos 5 aos 20 dias AG. A remoção resultou na redução significativa da área foliar aos 5 dias AG em comparação as plântulas aos 90 dias AG SRC. Na área radicular, houve redução significativa aos 10, 20 e 40 dias AG, enquanto na razão entre área radicular e foliar, a redução foi significativa aos 10 e 20 dias AG. Já na remoção de dois cotilédones, foram observadas diferenças significativas aos 5, 10 e 20 dias AG para a área foliar e área radicular, a na razão entre área radicular e foliar as diferenças ocorreram aos 10, 20 e 40 dias AG.

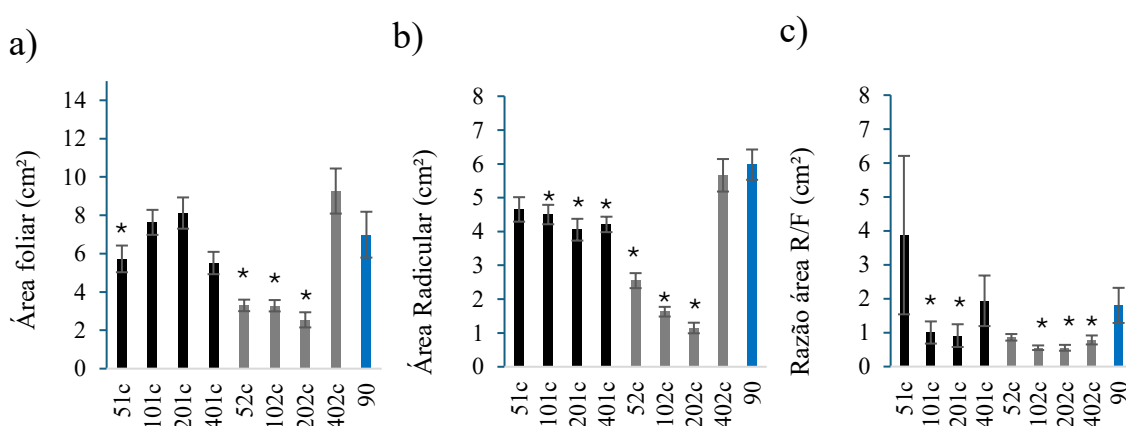


Figura 24. Gráficos referentes às áreas: a) foliares (cm²), b) áreas radiculares (cm²), c) e razão da área radicular pela foliar (R/F) (cm²) para as plântulas de *K. coriacea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificada a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

A remoção cotiledonar em plântulas de *T. aurea* (Figura 25) resultou em diferenças significativas apenas na remoção de 2 cotilédones, nos tratamentos 5 e 10 dias AG. A remoção de dois cotilédones causou uma redução significativa na área foliar e radicular aos 5 e 10 dias, e um aumento na razão área radicular / área foliar em relação aos 90 dias AG SRC. A remoção parcial em *Tabebuia aurea* nos diferentes períodos não resultou em diferenças significativas na área foliar, área radicular e na razão radicular/foliar em relação às plântulas avaliadas aos 90 dias AG SRC.

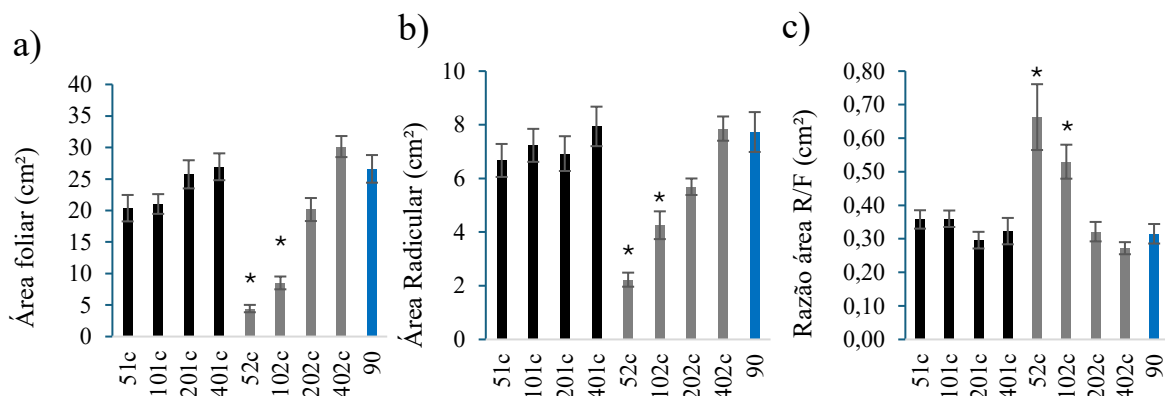


Figura 25. Gráficos referentes às áreas: a) foliares (cm²), b) áreas radiculares (cm²), c) e razão da área radicular pela foliar (R/F) (cm²) para as plântulas de *T. aurea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificada a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

A remoção dos cotilédones afetou o crescimento da parte aérea e comprimento máximo do sistema radicular das plântulas de *A. macrocarpon* (Figura 26). Aos 90 dias AG em comparação a plantas de mesma idade sem remoção, evidenciou-se que a maior quantidade de efeitos significativos ocorreu na remoção cotiledonar total. Para as plântulas que tiveram um cotilédone removido, o comprimento da parte aérea e a razão comprimento máximo radicular/comprimento parte aérea nas plântulas avaliadas aos 5 e 10 dias AG, diferiram em relação às plântulas aos 90 dias AG SRC, já no comprimento radicular não houve efeito significativo. Na remoção total dos cotilédones, houve uma diminuição no comprimento da parte aérea (aos 5, 10 e 20 dias AG), no comprimento radicular (aos 5 e 10 dias AG) e um aumento na razão comprimento radicular / e comprimento da parte aérea (aos 5, 10, 20 e 40 dias AG), quando comparadas às plântulas aos 90 dias AG SRC.

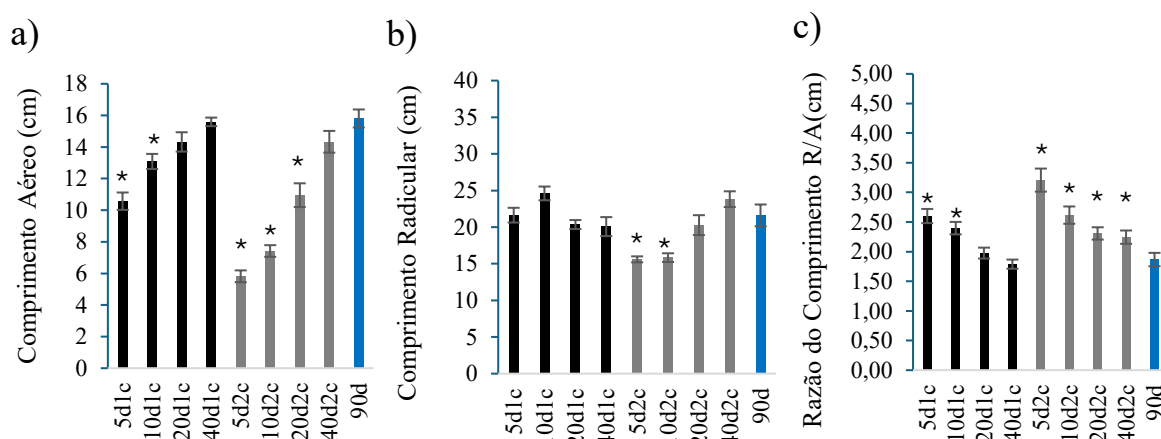


Figura 26. Gráficos referentes os comprimentos: a) Comprimentos Aéreo (cm), b) Comprimento radicular (cm) e c) Razão do comprimento radicular pelo comprimento aéreo (R/A) (cm) para plântulas de *A. macrocarpon* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificada a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

Assim como para *A. macrocarpon*, a remoção cotiledonar em *Kielmeyera coriacea* (Figura 27) teve os efeitos no comprimento de parte aérea, comprimento radicular e a razão entre o comprimento radicular / comprimento parte aérea, concentrados na remoção total, mas os períodos em que houve significância diferiram. A remoção de um cotilédono não afetou a parte aérea, no entanto, no comprimento radicular, o efeito foi observado apenas aos 20 dias após a germinação (AG), resultando em uma redução no comprimento. Para a razão do comprimento radicular/ comprimento parte aérea (R/A), houve diferença significativa aos 10 e 20 dias AG. Na remoção de dois cotilédones, o comprimento da parte aérea apresentou aumento significativo apenas aos 40 dias AG, em comparação com as plântulas aos 90 dias AG, sem remoção cotiledonar (SRC). Já no comprimento radicular, houve redução em todos os tratamentos, exceto aos 40 dias AG, que não diferiu do controle. Para a razão R/A, as plântulas avaliadas aos 20 e 40 dias AG apresentaram valores menores em relação às plântulas aos 90 dias AG SRC.

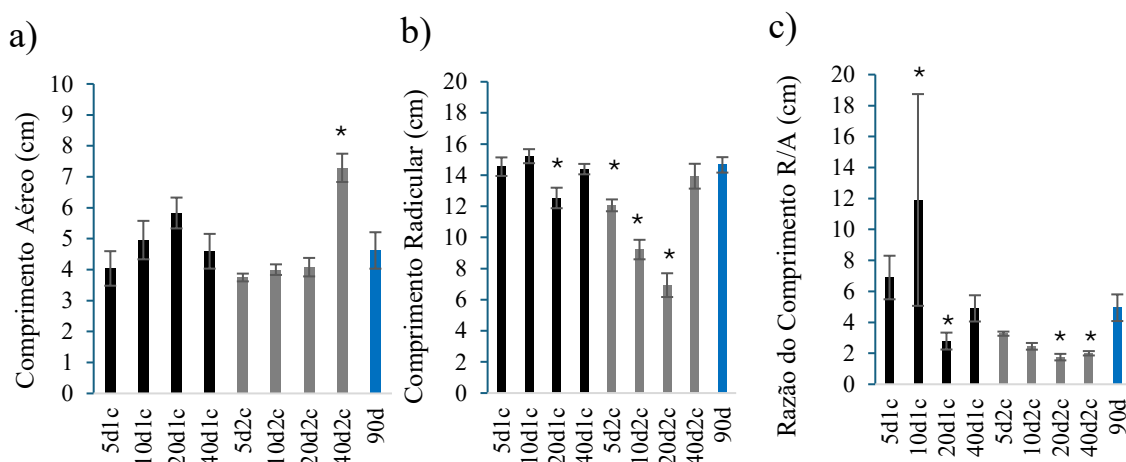


Figura 27. Gráficos referentes os comprimentos: a) Comprimentos Aéreo (cm), b) Comprimento radicular (cm) e c) Razão do comprimento radicular pelo comprimento aéreo (R/A) (cm) para plântulas de *K. coriacea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

Os efeitos da remoção cotiledonar no comprimento da parte aérea, comprimento radicular e razão comprimento radicular/parte aérea em plântulas de *T. aurea* (Figura 28) foram maiores nas que tiveram os dois cotilédones removidos, principalmente aos 5 dias. A remoção de um cotilédone em *T. aurea* resultou em efeitos significativos apenas no comprimento da parte aérea, com redução observada nas plântulas com remoção aos 5 e 10 AG, em comparação às plântulas aos 90 dias AG SRC. A remoção de dois cotilédones causou redução no comprimento da parte aérea nas plântulas com remoção aos 5, 10 e 20 dias AG, além de redução no comprimento radicular aos 5 dias AG. Para a razão comprimento radicular/ comprimento de parte aérea (R/A), foi observado um aumento significativo aos 5 e 10 dias AG.

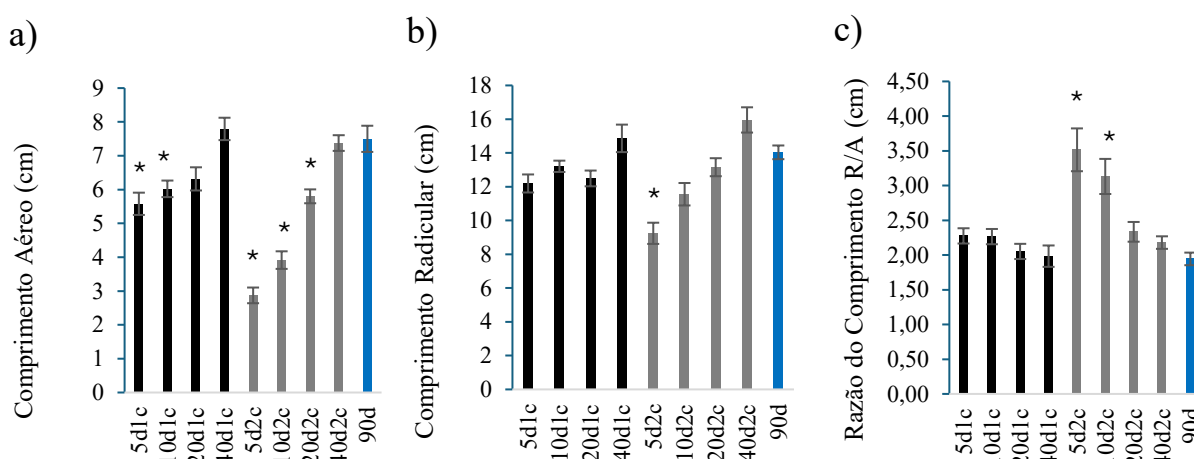


Figura 28. Gráficos referentes os comprimentos: a) Comprimentos Aéreo (cm), b) Comprimento radicular (cm) e c) Razão do comprimento radicular pelo comprimento aéreo (R/A) (cm) para plântulas de *T. aurea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

A massa seca das plântulas de *A. macrocarpon* (Figura 29) aos 90 dias AG foi afetada majoritariamente pela remoção cotiledonar total, principalmente aos 5 e 10 dias AG. Remoção de um cotilédone não teve influência nas massas secas foliares e radiculares, mas na massa seca caulinar, em que as plântulas que tiveram um dos cotilédones removidos aos 5 dias AG, a massa seca caulinar foi significativamente menor do que o controle, cujas plântulas não tiveram os cotilédones removidos. A remoção total dos cotilédones aos 5, 10 e 20 dias AG resultou na diminuição da massa seca foliar e das massas secas caulinares e radiculares para as que tiveram os cotilédones removidos aos 5 e 10 dias AG.

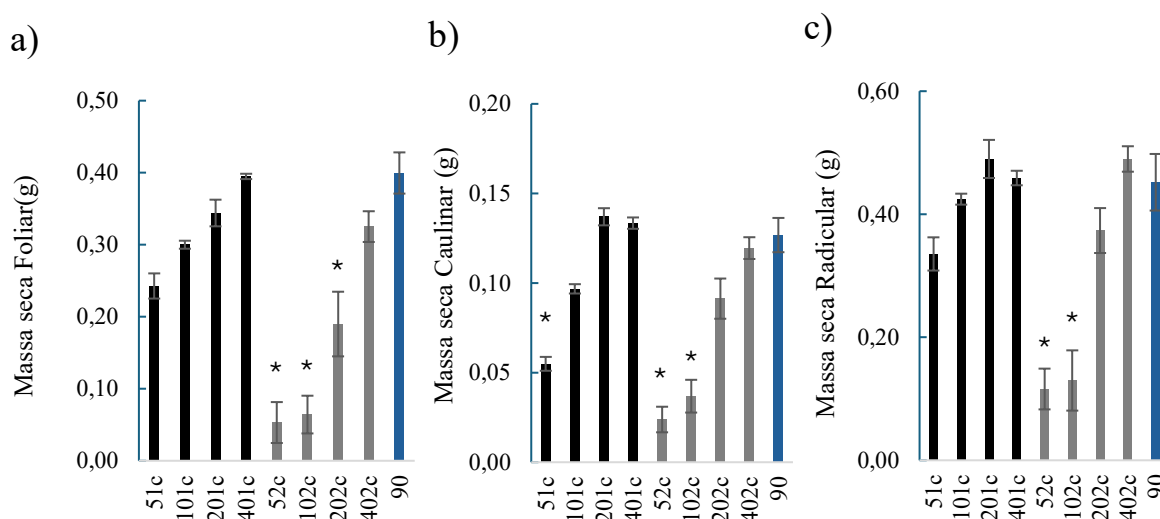


Figura 29. Gráficos referentes as massas secas: a) Massa seca foliar (g), b) massa secas caulinares (g) e c) massa secas radiculares (g) para plântulas de *A. macrocarpon* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

Os padrões de distribuição de massa seca das plântulas de *K. coriacea* (Figura 30) foram mais afetados pela remoção cotiledonar total, principalmente aos 20 dias AG. A remoção de um cotilédone em *K. coriacea*, teve como efeito a redução nas massas secas caulinares (5 dias AG) e radiculares (5 dias e 40 dias) em comparação as plântulas do controle. A ausência de um dos cotilédones não interferiu na massa seca foliar em nenhum dos tratamentos. A remoção dos dois cotilédones resultou no decréscimo da massa seca foliar para as que tiveram os cotilédones removidos aos 20 dias e aumento para as que tiveram os cotilédones removidos aos 40 dias AG; na massa seca caulinar e radicular para as que tiveram os cotilédones removidos aos 5, 10 e 20 dias AG houve redução em relação as plântulas do controle, que não tiveram os cotilédones removidos.

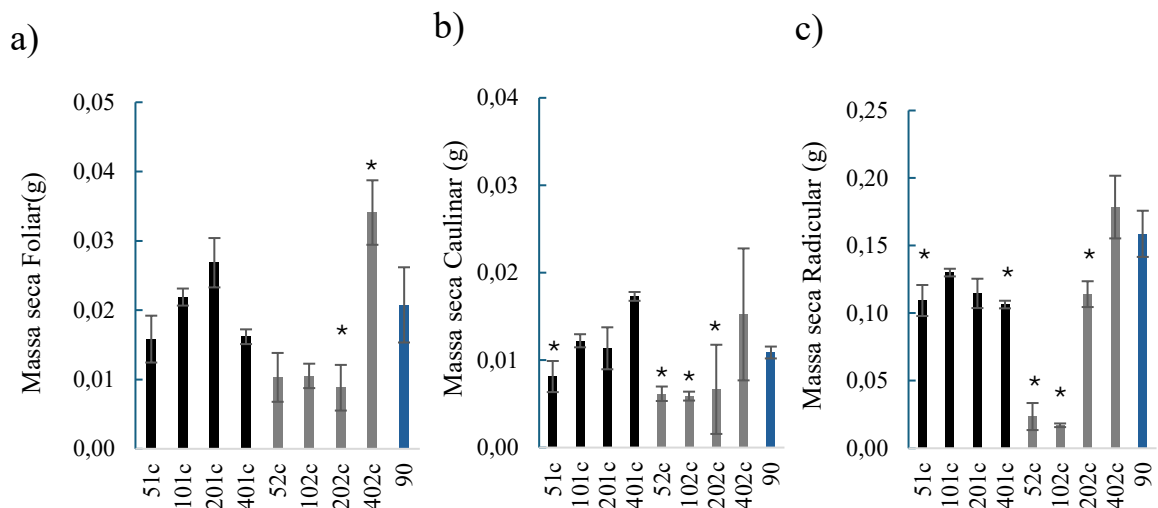


Figura 30. Gráficos referentes as massas secas: a) Massa seca foliar (g), b) massa secas caulinares (g) e c) massa secas radiculares (g) para plântulas de *K. coriacea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “*”.

A remoção cotiledonar em plântulas de *T. aurea* (Figura 31), resultou em efeitos mais severos na massa seca, quando retirados os dois cotilédones, especificamente quando estes foram retirados aos 5 e 10 dias AG. A remoção de um cotilédone não surtiu efeitos significativos na massa seca foliar de *T. aurea*, para a massa seca caulinar e radicular a retirada parcial gerou redução quando comparadas aos caules e raízes das plântulas que não tiveram os cotilédones removidos. A remoção cotiledonar total, induziu a redução da massa seca foliar, caulinar e radicular nas plântulas que tiveram os cotilédones removidos aos 5 e 10 dias AG.

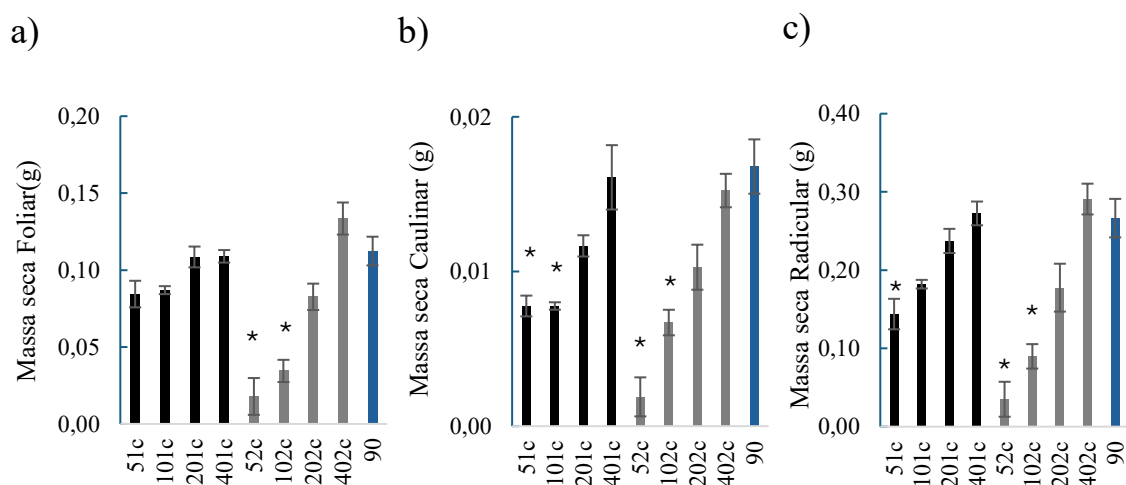


Figura 31. Gráficos referentes as massas secas: a) Massa seca foliar (g), b) massa secas caulinares (g) e c) massa secas radiculares (g) para plântulas de *T. aurea* nos diferentes tratamentos aos 90 dias AG. Os tratamentos correspondem à remoção de um (1c) ou dois (2c) cotilédones aos 5, 10, 20 ou 40 dias após a germinação e os controles (90), que não tiveram os cotilédones removidos. Em teste Dunn-Bonferroni

foi verificado a diferença estatística entre o controle e os demais tratamentos, que ao diferirem significativamente ($p < 0,05$) foram sinalizados com “**”.

6.4 DISCUSSÃO

A areia utilizada como substrato, quando comparado com os solos de Cerrado, foi no geral mais pobre. Quando comparado com Latossolo Vermelho, o solo predominante nos fitofisionomias de ocorrência das espécies aqui estudadas, as concentrações de Mg e K no latossolo encontrados por Carneiro *et al.* (2009) são superiores aos encontrados na areia utilizada, contudo a areia apresentou maiores concentrações de Ca e P. Estudos que comparam solo do Cerrado com areia, mostram que o solo do Cerrado é mais ácido e com maiores quantidades de alumínio, e na maioria dos casos as amostras de areia continham mais cálcio e fósforo, enquanto que o substrato com maiores valores de potássio e de magnésio alternaram entre os solos de Cerrado e a areia (Dantas *et al.*, 2009; De Paiva *et al.*, 2011; Siqueira Neto *et al.*, 2009). A baixa disponibilidade dos nutrientes, com exceção para Ca e P, e os baixos valores de capacidade de Troca Catiônica do substrato, em comparação com o solo nativo do Cerrado, indicam que as plântulas dependeriam principalmente das reservas cotiledonares neste estágio de desenvolvimento, contudo não podemos descartar uma possível absorção de Ca e P do substrato para suprir as necessidades da plântula, pois durante seu estudo, Nunes *et al.* (2024), verificou que em areia, mesmo com a baixa Capacidade de Troca Catiônica e baixo valor nutricional, as plântulas conseguiram absorver os nutrientes Ca, Fe e Mn.

De qualquer maneira, é razoável supor que o crescimento inicial da plântula dependeu em grande parte do aporte nutricional conferido pelas reservas cotiledonares que estavam originalmente presente nas sementes. Esse aporte nutricional, permitiu com que as plântulas se desenvolvessem, como observado nas plântulas que mantiveram os dois cotilédones. Analisando as variáveis para as plântulas 90 dias AG e que mantiveram os dois cotilédones, a razão área radicular / área foliar foi menor do que um, para *A. macrocarpon* e *T. aurea*, o que significa maior área foliar. Já em *K. coriacea* a área radicular foi maior, pois o valor da razão foi superior a um. Possivelmente a diferença entre o investimento na área foliar, se deve ao fato de os indivíduos de *K. coriacea* possuírem de poucas a nenhuma folha nesta fase do desenvolvimento. Contudo, nos três casos, o comprimento máximo do sistema radicular (um indicador da profundidade máxima do sistema radicular) foi maior do que da parte aérea. O maior comprimento radicular pode ser justificado pelo fato de que raízes profundas no desenvolvimento inicial melhoram o estabelecimento em locais onde há períodos de secas

extensos (Hoffmann, Orthen & Franco, 2004). Além disso, para as três espécies há uma maior acumulação de massa no sistema radicular do que na parte aérea, com razão raiz/parte aérea maior do que 1, pois as raízes apresentam características tuberosas devido a notável diferença entre a espessura da raiz principal em relação as raízes secundárias. As raízes que possuem tais espessuras, no caso de *K. coriacea*, parecem apresentar estruturas que possibilitam as rebrotas, ou seja, possíveis xilopódios (Self, 1989.), o que implicaria na capacidade do indivíduo emergir após intemperes ambientais que tenham resultado no comprometimento da parte aérea.

Utilizando como parâmetro o desenvolvimento das plântulas que não tiveram os cotilédones removidos, aos 90 dias após a germinação, esperava-se que o desenvolvimento das plântulas com um ou dois cotilédones removidos fosse reduzido ou modificado à medida em que se aumentasse o grau da remoção cotiledonar em plântulas com idade mais próxima da germinação. Os atributos físicos aqui utilizados, forneceram uma métrica em relação ao período em que as plântulas são mais sensíveis a perda das reservas cotiledonares. A razão da área radicular / área foliar teve aumento significativo para as plântulas de *A. macrocarpon* e *T. aurea*, em que foram removidos os 2 cotilédones entre 5 e os 20 dias AG. Mas, mesmo com aumento significativo, as plântulas possuem maior área foliar do que radicular. Em *K. coriacea*, a razão área radicular/área foliar diminuiu, sugerindo que as plântulas de remoção parcial aos 10 e 20 dias, e as de remoção total aos 10, 20 e 40 dias investiram proporcionalmente mais em área foliar do que as plântulas que não tiveram os cotilédones removidos.

Os efeitos da remoção cotiledonar na razão entre o comprimento radicular e a parte aérea variaram entre as espécies. Em *K. coriacea*, a remoção levou à redução dessa razão, sugerindo maior investimento no crescimento da parte aérea. Em contraste, em *A. macrocarpon* e *T. aurea*, a remoção dos cotilédones, especialmente dos dois, intensificou o crescimento radicular. Essa diferença observada em *K. coriacea* pode estar associada à redução da área fotossintética decorrente da remoção cotiledonar total, uma vez que os cotilédones dessa espécie desempenham função predominantemente fotossintética.

Entre os tratamentos foi observado que os efeitos mais severos ocorreram nas plântulas que tiveram os cotilédones removidos aos 5 e 10 dias AG, momento em que os cotilédones das três espécies estavam em expansão. Aos 5 dias, período em que se concentra as reduções significativas no desenvolvimento inicial da remoção cotiledonar, os cotilédones das três espécies, ainda estavam expressando a coloração verde, o que pode estar associado ao grau de danos que a remoção cotiledonar pode conferir para o desenvolvimento inicial. Portanto os efeitos que a remoção cotiledonar causa vai depender do momento no qual os cotilédones foram

removidos. Isso porque nos primeiros dias após a germinação, a quantidade de reservas translocadas é maior do que nos dias mais distantes da germinação (capítulo 1).

Segundo Thomas & Costa (1993) as primeiras folhas das plântulas de *Glycine max* atuam como dreno, e assim as reservas cotiledonares são quem mantêm o crescimento da plântula até a expansão foliar. O crescimento da plântula, sinalizado como o desenvolvimento da parte aérea e radicular, atua como dreno, e é limitado e dependente das reservas cotiledonares, que possuem função fonte no desenvolvimento primário. Para Grisi *et al.* (2019) ao analisar estabelecimento inicial plântulas de *Hymenaea courbaril*, notou-se que o desenvolvimento após a germinação envolve o uso metabolicamente controlado das substâncias de reserva, até que sejam capazes de obter do ambiente os nutrientes necessários para o seu crescimento e diferenciação. Os resultados aqui encontrados corroboram com estudos semelhantes, onde a remoção cotiledonar afetou negativamente o desenvolvimento de plântulas de diversas espécies (Guzmán & Sánchez, 2004; Nunes *et al.*, 2024; Yi *et al.*, 2019)

Compreender os limites da dependência cotiledonar é essencial para determinar o momento em que o déficit nutricional de um solo degradado começa a influenciar negativamente o estabelecimento do indivíduo. Em cenários de campo, a observação de plântulas aparentemente vigorosas e saudáveis, mas ainda dependentes das reservas dos cotilédones, pode levar a uma superestimação do sucesso inicial da restauração, visto que a capacidade de mobilização das reservas cotiledonares independe da disponibilidade nutricional do solo (Yi & Wang, 2015). Essa percepção equivocada ocorre porque o vigor observado é sustentado, em grande parte, pelas reservas internas, e não pela capacidade da plântula de obter nutrientes do solo. Assim, identificar o ponto em que as plântulas se tornam totalmente autotróficas permite uma avaliação mais precisa do impacto das condições do solo degradado sobre o sucesso do estabelecimento e a viabilidade a longo prazo dos indivíduos em programas de restauração ecológica. O impacto da perda parcial ou total dos cotilédones no crescimento e na sobrevivência das plântulas deve ser muito maior em condições em campo, devido aos estresses ambientais, principalmente a disponibilidade hídrica, pois as plântulas possuem em seus cotilédones aporte nutricional suficiente para manter o seu desenvolvimento inicial.

6.5 CONCLUSÃO

Através dos resultados aqui encontrados, foi possível concluir que os cotilédones suprem grande parte das demandas nutricionais e energéticas da plântula após a germinação, sendo gradualmente utilizadas. Logo, não só a remoção dos cotilédones pode causar danos no desenvolvimento inicial, especialmente em solos pobres em nutrientes como os do Cerrado, mas dependendo do momento em que ocorre, os efeitos podem ser mais severos ou mais brandos. A remoção total no período mais próximo a germinação, resulta em efeitos negativos mais graves, isso devido ao pouco tempo que a plântula teve para translocar as reservas necessárias para garantir o seu desenvolvimento inicial bem-sucedido.

6.6 REFERÊNCIAS

- BUCKERIDGE, MARCOS S. *et al.* Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. especial, p. 137-162, 2000.
- CARNEIRO, Marco Aurélio Carbone *et al.* Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 147-157, 2009.
- COLLI, Guarino R.; VIEIRA, Cecília R.; DIANESE, José Carmine. Biodiversity and conservation of the Cerrado: recent advances and old challenges. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, n. 5, p. 1465-1475, 2020.
- DANTAS, Bárbara França *et al.* Taxas de crescimento de mudas de catingueira submetidas a diferentes substratos e sombreamentos. **Revista Árvore**, v. 33, p. 413-423, 2009.
- DE PAIVA, Emmanoela Pereira *et al.* Composição do substrato para o desenvolvimento de mudas de manjerição (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 62-67, 2011.
- FERREIRA, Maxmiller Cardoso; VIEIRA, Daniel Luis Mascia. Making the most of native seeds: Management techniques interact with seed and seedling traits for enhancing direct seeding success. **Forest Ecology and Management**, v. 574, p. 122-353, 2024.
- GRISI, Patrícia Umeda *et al.* Ex situ initial seedling development of *Hymenaea courbaril* L.(Fabaceae): a crucial phase to preserve the species. **Hoehnea**, v. 46, p. e742018, 2019.
- GUZMÁN, Guadalupe Barajas; SÁNCHEZ, Francisco Javier Álvarez. Asignación de recursos e influência de los cotiledones en el crecimiento de plántulas de *Nectandra ambigens* (Blake)

CK Allen (Lauraceae) en una selva tropical húmeda. **Boletín de la Sociedad Botánica de México**, n. 74, p. 5-11, 2004.

HANLEY, M. E. *et al.* Early plant growth: identifying the end point of the seedling phase. **New Phytologist**, v. 163, n. 1, p. 61-66, 2004.

HOFFMANN, William A.; ORTHEN, Birgit; FRANCO, Augusto C. Constraints to seedling success of savanna and forest trees across the savanna-forest boundary. **Oecologia**, v. 140, p. 252-260, 2004.

KITAJIMA, Kaoru. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: **Tropical forest plant ecophysiology**. Boston, MA: Springer US, 1996. p. 559-596.

MACNEILL, Gregory J. *et al.* Starch as a source, starch as a sink: the bifunctional role of starch in carbon allocation. **Journal of experimental botany**, v. 68, n. 16, p. 4433-4453, 2017.

NUNES, Tayara Colins *et al.* Cotyledons as the primary source of carbon and mineral nutrients during early growth of a savanna tree. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 36, n. 2, p. 265-282, 2024.

SELF, Guy K. Studies of xylopodium formation and early seedling growth in *Kielmeyera coriacea* Mart. 1989. 2019. 215 p. Thesis (Doctor of Philosophy University of Edinburgh).

SIQUEIRA NETO, Marcos *et al.* Carbono total e atributos químicos com diferentes usos do solo no Cerrado. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, p. 709-717, 2009.

SOBRAL, Lafayette Franco *et al.* Guia prático para interpretação de resultados de análises de solos. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015. 13 p. (Documentos, 206).

TEIXEIRA, Paulo César *et al.* Manual de métodos de análise de solo. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2017. 574p.

THOMAS, André Luis; COSTA, José Antonio. Crescimento de plântulas de soja afetado pelo sombreamento dos cotilédones e suas reservas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 8, p. 925-929, 1993.

VERNOOIJ, Roland *et al.* Intraseasonal variability of greenhouse gas emission factors from biomass burning in the Brazilian Cerrado. **Biogeosciences**, v. 18, n. 4, p. 1375-1393, 2021.

YI, Xianfeng; WANG, Zhenyu. The importance of cotyledons for early-stage oak seedlings under different nutrient levels: a multi-species study. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 35, p. 183-189, 2016.

YI, Xianfeng *et al.* Responses of seedling growth and survival to post-germination cotyledon removal: An investigation among seven oak species. **Journal of Ecology**, v. 107, n. 4, p. 1817-1827, 2019.

ZHAO, Ming *et al.* Mobilization and role of starch, protein, and fat reserves during seed germination of six wild grassland species. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 234, 2018.