

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/340732723>

# Bioma Pampa: relações solo-vegetação e experiências de restauração

Chapter · April 2013

---

CITATIONS

4

READS

210

1 author:



Ana Rovedder

Universidade Federal de Santa Maria

53 PUBLICATIONS 222 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Ecological restoration in subtropical ecosystems [View project](#)



RESTAURAÇÃO FLORESTAL EM PROPRIEDADES RURAIS: MATAS CILIARES E NASCENTES [View project](#)

Anais | Congresso | Encontro



# 64° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA

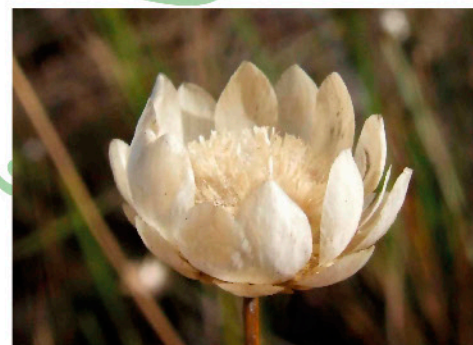
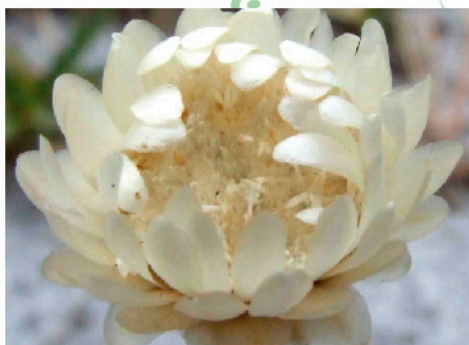
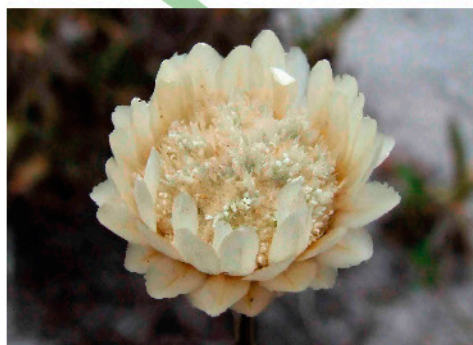
*BOTÂNICA SEMPRE VIVA*

**XXXIII ERBOT**

**Encontro Regional de Botânicos MG, BA e ES**

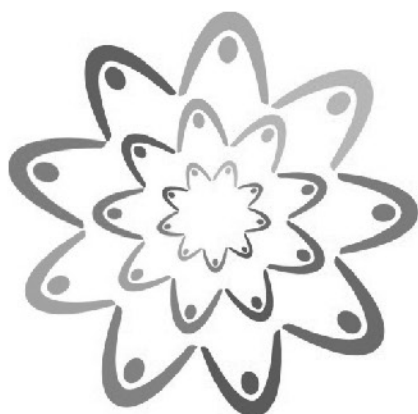
## Organizadores:

João Renato Stehmann  
Rosy Mary dos Santos Isaías  
Luzia Valentina Modolo  
Fernando Henrique Aguiar Vale  
Alexandre Salino



Belo Horizonte | MG  
Sociedade Botânica do Brasil  
2013



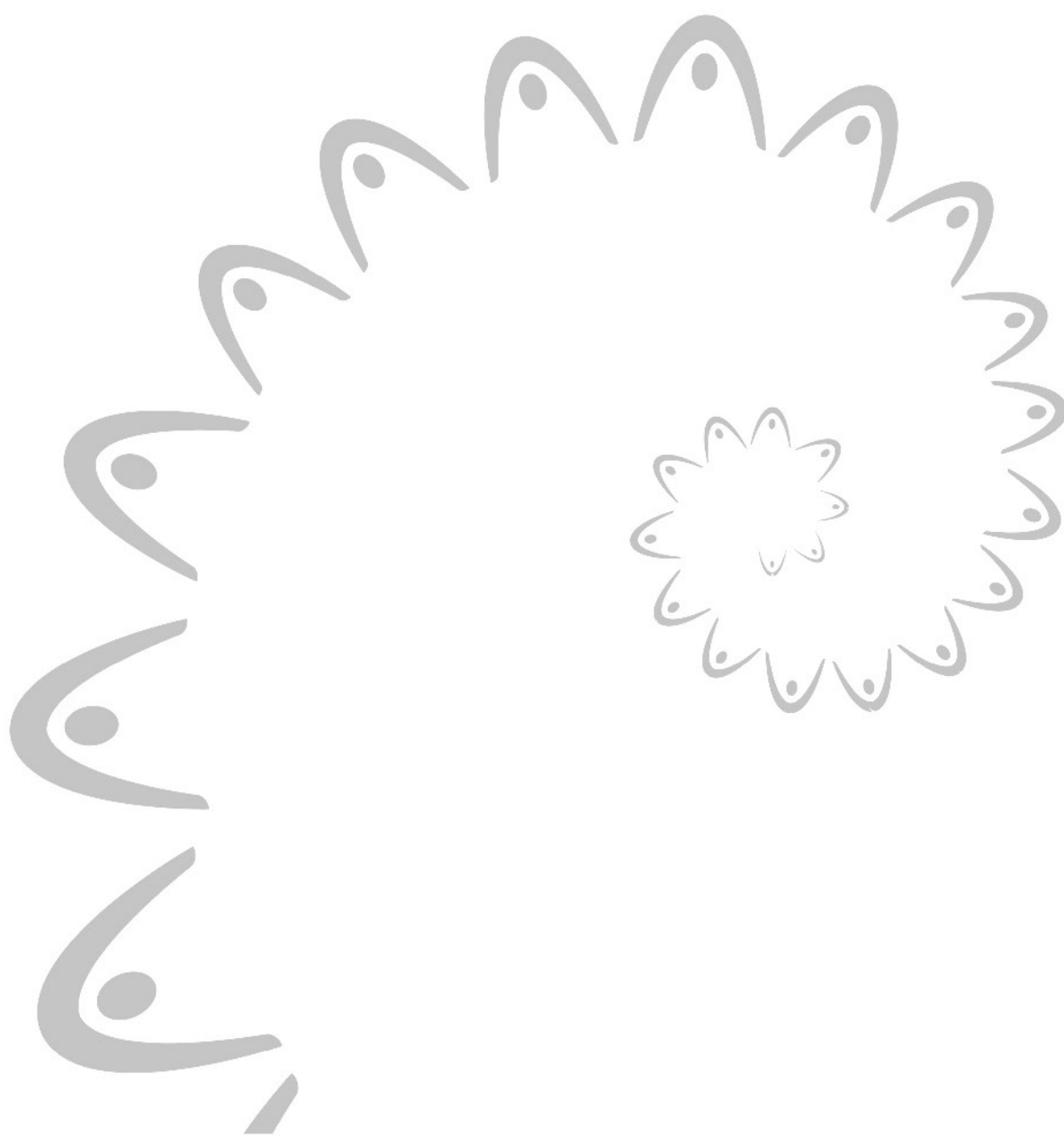


# **64° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA**

*BOTÂNICA SEMPRE VIVA*

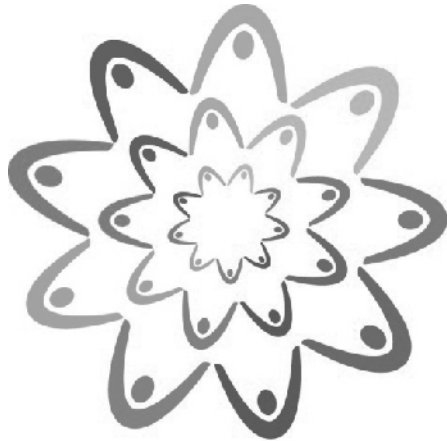
**XXXIII ERBOT**

**Encontro Regional de Botânicos MG, BA e ES**









# **64° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA**

*BOTÂNICA SEMPRE VIVA*

**XXXIII ERBOT**

**Encontro Regional de Botânicos MG, BA e ES**

## **Organizadores:**

João Renato Stehmann  
Rosy Mary dos Santos Isaias  
Luzia Valentina Modolo  
Fernando Henrique Aguiar Vale  
Alexandre Salino

**1ª Edição**

Belo Horizonte | MG  
Sociedade Botânica do Brasil  
2013

## Sociedade Botânica do Brasil

### Diretoria (2009-2013)

**Presidente:**

Carlos Wallace do Nascimento Moura (UEFS)

**1ª Vice-Presidente:**

Ana Maria Giulietti Harley (UEFS)

**2ª Vice-Presidente:**

Francisco de Assis Ribeiro dos Santos (UEFS)

**1ª Secretária:**

Cláudia Elena Carneiro (UEFS)

**1ª Tesoureira:**

Tânia Regina dos Santos Silva (UEFS)

**2ª Tesoureira:**

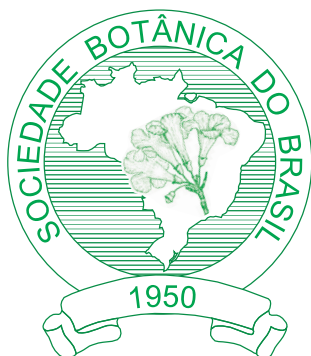
Daniela Santos Carneiro Torres (UEFS)

**Secretária-Geral:**

Vera Teresinha Rauber Coradin (Serviço Florestal Brasileiro | DF)

**Suplente da Secretária-Geral:**

Glocimar Pereira da Silva (Embrapa Cenargen | DF)



## 64° CNB & XXXIII ERBOT

### Comissão Organizadora

**Presidente:**

João Renato Stehmann (UFMG)

**Vice-Presidente:**

Rosy Mary dos Santos Isaias (UFMG)

**1ª Secretária:**

Luzia Valentina Modolo (UFMG)

**2º Secretário:**

Fernando Henrique Aguiar Vale (UFMG)

**1º Tesoureiro:**

Alexandre Salino (UFMG)

### Comitê de Programação Científica

João Renato Stehmann (UFMG)

Rosy Mary dos Santos Isaias (UFMG)

Ary Teixeira de Oliveira Filho (UFMG)

Clemens Peter Schindwein (UFMG)

Fernando Augusto de Oliveira e Silveira (UFMG)

José Pires de Lemos Filho (UFMG)

Luzia Valentina Modolo (UFMG)

Maria Bernandete Lovato (UFMG)

Miriam Pimentel (Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte)

Paulo Eugênio Oliveira (UFU)

Queila de Souza Garcia (UFMG)

Renata Maria Strozzi Alves Meira (UFV)

### Foto da "Sempre-Viva Gigante"

Lívia Echternacht

### Identidade Visual do Evento

Efeito Promoções e Eventos Ltda

### Arte Final "Anais 64° CNB & XXXIII ERBOT"

Pedro Peixoto / Bebop Design

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Congresso Nacional de Botânica (64. : 2013 : Belo Horizonte).

Anais [do] 64º Congresso Nacional de Botânica: botânica sempre viva [e] XXXIII ERBOT Encontro Regional de Botânicos MG, BA e ES. / organizadores João Renato Stehmann ... [et al.]. – Belo Horizonte : Sociedade Botânica do Brasil, 2013.

220 f.: il. ; 29,5 cm.

ISBN: 978-85-60428-07-6

1. Botânica – Congressos. 2. Fisiologia vegetal – Congressos. 3. Morfologia vegetal – Congressos. 4. Etnobotânica – Congressos. 5. Botânica – Classificação – Congressos. 6. Ecologia – Congressos. I. Stehmann, João Renato. II. Sociedade Botânica do Brasil. Encontro Regional de Botânicos (33. : 2013 : Belo Horizonte). III. Título.

CDU: 581(063)

# Apresentação

Temos o prazer de apresentar neste livro o texto de 36 palestras proferidas durante o 64º Congresso Nacional de Botânica e XXXIII ERBOT – Encontro Regional de Botânicos MG, BA e ES, realizado em Belo Horizonte, Minas Gerais, de 10 a 15 de novembro de 2013. Os textos das palestras, juntamente com os resumos publicados separadamente, constituem a memória do evento.

O tema do evento, “Botânica sempre viva”, foi uma alusão a duas urgências: 1) a necessidade de formação de recursos humanos atuantes e qualificados em botânica, área que se torna cada vez mais importante diante dos desafios desse novo século, caracterizado pelo acelerado desenvolvimento científico e tecnológico, pelas mudanças globais afetando o planeta em diferentes escalas e pela perda iminente de biodiversidade; 2) a conservação das espécies de “sempre-vivas”, grupo de plantas extremamente diversificado nas serras de Minas Gerais, representadas por espécies da família Eriocaulaceae, cujas inflorescências secas são utilizadas em arranjos florais e constituem fonte de renda para populações carentes em diversas regiões do sudeste, centro-oeste e nordeste do Brasil.

A programação científica incluiu onze palestras magnas e 42 simpósios e mesas-redondas, contando com a participação de 156 convidados, incluindo 22 estrangeiros, e objetivou divulgar os avanços científicos, tecnológicos e de inovação na área da Botânica, divulgar projetos e iniciativas que valorizem a conservação e o uso sustentável de plantas, analisar a situação atual e as perspectivas do ensino e da formação de botânicos, bem como o andamento das metas nacionais acordadas no programa Estratégia Global para Conservação de Plantas (CDB) para 2011-2020, em relação à diversidade de plantas, fungos e algas.

Agradecemos a todos os palestrantes pela contribuição dada à Botânica sempre viva e esperamos que os leitores apreciem os textos aqui apresentados.

João Renato Stehmann  
*Presidente do 64º Congresso Nacional de Botânica*





# Agradecimentos



# Agradecimentos

Os organizadores do 64º Congresso Nacional de Botânica agradecem o apoio recebido das agências de fomento de pesquisa CAPES, CNPq, FAPEMIG e FAPESP, para o custeio da vinda dos palestrantes convidados. Agradece também o patrocínio dos seguintes apoiadores: Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração – CBMM, GERDAU, VALE, Companhia Energética de Minas Gerais – CEMIG, Companhia de Saneamento de Minas Gerais – COPASA, Conselho Regional de Biologia 4ª Região – CRBIO 4, Instituto de Arte Contemporânea e Jardim Botânico – INHOTIM, Instituto Pristino, Sete Soluções e Tecnologia Ambiental, Biophocus Consultoria e Meio Ambiente, Síntese Biotecnologia, Bioma Meio Ambiente e Mercado Central de Belo Horizonte.

Pelo apoio institucional manifestamos nossa gratidão à Universidade Federal de Minas Gerais, mais particularmente à Antônio Gilberto Costa e Flávia dos Santos Faria, diretor e vice-diretor do Museu de História Natural e Jardim Botânico, respectivamente, e à Ricardo Santiago Gomez, Pró-Reitor de Pós-Graduação. Agradecemos também à Universidade Federal de Uberlândia, à Universidade Federal de Viçosa, Fundação Zoo-Botânica e Prefeitura Municipal de Belo Horizonte e Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, parceiras do evento. À diretoria da Sociedade Botânica do Brasil e da Regional Bahia, Minas Gerais e Espírito Santo, Carlos Wallace do Nascimento Moura e Renata Strozzi Meira, pelo apoio logístico e pela atenção dada durante o processo organizacional.

Por fim, não poderíamos esquecer de mencionar aqueles que estiveram à frente das tarefas de organização, planejamento e execução do evento. Destacamos aqui os colegas do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas Gerais, bem como os alunos do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, que literalmente vestiram a camisa do evento. O empenho e dedicação dispensados garantiram o sucesso alcançado.

*Comissão Organizadora do 64º Congresso Nacional de Botânica*





# Planta-Símbolo





# Planta-Símbolo

A planta escolhida como símbolo para o 64º Congresso Nacional de Botânica foi ***Comanthera magnifica*** (Giul.) L.R.Parra & Giul. Inflorescências de diversas espécies são comercializadas sob o nome genérico de Sempre-viva, por guardarem a aparência de estruturas vivas, mesmo muitos anos após colhidas e secas. Entretanto, em um sentido mais estrito, o nome Sempre-viva é empregado apenas para algumas espécies do gênero *Comanthera* (Eriocaulaceae). *Comanthera magnifica* (Eriocaulaceae) é uma das espécies mais atraentes, conhecida popularmente como Sempre-viva-gigante. As grandes dimensões do capítulo e a raridade da espécie contribuem para que seja a Sempre-viva de maior valor comercial. Todo o comércio baseia-se em extrativismo e grandes quantidades de inflorescências são comercializadas anualmente, nacional e internacionalmente. Há registros de apenas uma população, que ocorre na Serra do Ambrósio (município de Rio Vermelho), no nordeste da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais. O microendemismo, associado à super-exploração e à ausência de manejo sustentável, contribuem para que a espécie seja considerada criticamente em perigo de extinção.



Lívia Echternacht

## Referências bibliográficas:

Giulietti, A.M. 1996. Novas espécies no gênero *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae) para o Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** 15: 63–72.

Giulietti, A.M. 1996. Novas espécies no gênero *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae) para o Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** 15: 63–72.

Terra Brasilis. 1999. **Projeto sempre-vivas: subsídios para seu uso sustentado**. Belo Horizonte: Instituto Terra Brasilis.

Biodiversitas, 2007. **Revisão das Listas das Espécies da Flora e da Fauna Ameaçadas de Extinção do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas & Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte.





# Sumário



# Sumário

- 019** A ANATOMIA PODE EXPLICAR A OCORRÊNCIA DE SEMENTE SEM FERTILIZAÇÃO? ANATOMIA COMO FERRAMENTA NA ELUCIDAÇÃO DE MECANISMOS REPRODUTIVOS DAS ANGIOSPERMAS  
**Priscila Andressa Cortez**
- 023** A ANATOMIA VEGETAL RESOLVE PROBLEMAS TAXONÔMICOS?  
**Alessandra I. Coan, Paula M. Rabelo, Letícia Peres Poli & Elaine L. P. Nunes**
- 028** ANATOMIA DE ERIOCAULACEAE APLICADA À TAXONOMIA E FILOGENIA  
**Aline Oriani & Vera L. Scatena**
- 033** ANATOMIA E RELAÇÃO COM A TECNOLOGIA DA MADEIRA - METODOLOGIAS E EVOLUÇÃO  
**Mário Tomazello**
- 035** ASPECTOS BIOGEOGRÁFICOS E COMPONENTES ECOLÓGICOS NA DISTRIBUIÇÃO DE SAMAMBAIAS E LICÓFITAS NO BRASIL  
**Augusto César Pessôa Santiago**
- 043** BANCO DE DADOS: UMA FERRAMENTA PARA O ESTUDO DE PLANTAS MEDICINAIS  
**Mara Rejane Ritter & Stela Maris Kuze Rates**
- 046** BIOMA PAMPA: RELAÇÕES SOLO-VEGETAÇÃO E EXPERIÊNCIAS DE RESTAURAÇÃO  
**Ana Paula Rovedder**
- 054** BOTÂNICA SEMPRE VIVA NA ESCOLA: ENSINO SUPERIOR  
**Izabella Scalabrini Saraiva & Juliana de Lima Passos Rezende**
- 058** BURLE MARX E EU  
**Nanuza Luiza de Menezes**
- 063** DESENVOLVIMENTO DE FITOTERÁPICOS A PARTIR DE ESPÉCIES NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA  
**Davyson de Lima Moreira**
- 068** ECOLOGIA DE LIQUENS E APLICAÇÕES NO MONITORAMENTO AMBIENTAL  
**Suzana Maria de Azevedo Martins**

- 071** ECOLOGIA FUNCIONAL E FILTROS AMBIENTAIS NO CAMPO RUPESTRE  
Daniel Negreiros, Soizig Le Stradic, G. Wilson Fernandes & Henrique C. Rennó
- 080** ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS DE BRIÓFITAS TROPICAIS: ESTUDOS DE CASO COM MUSGOS E HEPÁTICAS OCORRENTES NO BRASIL  
Adaíses S. Maciel-Silva, Camila M.C. Alves, Denise P. Costa, Elisângela P. Gaspar, Fagner P. da Conceição, Flávia C. Lins da Silva, Ivany F. Marques Válio, Kátia C. Pôrto, Nivea D. dos Santos, Renata O. Knupp & Suellen S. Feitosa
- 089** EVIDÊNCIAS DE MEMÓRIA HÍDRICA EM SEMENTES DA CAATINGA  
Marcos Vinicius Meiado
- 095** EXTRACTIVE MANAGEMENT OF STAR-FLOWERS (ERIOCAULACEAE): SCIENCE AND TRADITIONAL KNOWLEDGE AS A BASIS FOR ASSESSING ITS ECOLOGICAL SUSTAINABILITY  
Lucio Cadaval Bede, Ana Carolina Neves & Rogério Parentoni Martins
- 100** FOTOSSÍNTESE EM GALHAS: ASPECTOS CITOLÓGICOS E FISIOLÓGICOS DA INTERAÇÃO  
Denis Coelho de Oliveira
- 106** FUNGAL DIVERSITY IN LIGNOCELLULOSIC WOODY PLANT RESIDUES FROM A NEOTROPICAL RAINFOREST FRAGMENT: A METAGENOMICS APPROACH  
Fernanda Badotti, Aline Vaz, Paula Fonseca, Laura Leite, Flávio Araújo, Anna Salim, Sara Cuadros, Guilherme Oliveira & Aristóteles Góes-Neto
- 113** IMPORTÂNCIA DAS ÁRVORES EM ESPAÇOS URBANIZADOS  
Demóstenes Ferreira da Silva Filho
- 119** INCT-HERBÁRIO VIRTUAL DA FLORA E DOS FUNGOS: HÁ CINCO ANOS APRIMORANDO O TRABALHO EM REDE E INCREMENTANDO O CONHECIMENTO SOBRE A DIVERSIDADE BRASILEIRA  
Leonor Costa Maia, Maria Regina de V. Barbosa, Dora Canhos, Ana Odete Vieira, Mariângela Menezes, Kátia Pôrto, João Renato Stehmann & Ariane Luna Peixoto
- 127** INTERAÇÕES PLANTA-ANIMAL NA RESTAURAÇÃO FLORESTAL  
Graziele Hernandes Volpato, Sebastião Venâncio Martins & Ednaldo Cândido Rocha

- 134** LACUNAS E BIOGEO: NOVAS FERRAMENTAS PARA O PLANEJAMENTO DE COLETAS  
Dora A. L. Canhos, Sidnei de Souza, Renato De Giovanni, Mariane de Sousa-Baena & Leonor C. Maia
- 139** MÉTODOS DE AMOSTRAGEM DE EPÍFITAS: O QUE TEMOS APRENDIDO NAS ÚLTIMAS DÉCADAS  
Rodrigo A. Kersten
- 146** MORFOFISIOLOGIA DE EPÍFITAS: SAMAMBAIAS COMO ESTUDO DE CASO  
Bruno Degaspari Minardi, Ana Paula Lorenzi Voytena, Marisa Santos & Áurea Maria Randi
- 151** MORFOGÊNESE VEGETAL EM RESPOSTA AO ESTRESSE BIÓTICO DA INDUÇÃO DE GALHAS  
Anete Teixeira Formiga
- 156** ONTOGENIA DA ESTRUTURA KRANZ E SEU PAPEL ECOLÓGICO  
Shirley Martins, Marccus Alves & Vera Lucia Scatena
- 160** O PROBLEMA DAS CIANOACTÉRIAS/CIANOTOXINAS E OUTROS METABÓLITOS NO TRATAMENTO DA ÁGUA  
Fernando Antônio Jardim
- 163** O QUE AS MOLÉCULAS TÊM A NOS CONTAR SOBRE AS SUBTRIBOS E GÊNEROS DE EUPATORIEAE: UM BREVE HISTÓRICO SOBRE A CLASSIFICAÇÃO  
Eric K. O. Hattori, Silvana C. Ferreira, Ana Claudia Fernandes, Caetano T. Oliveira, Vanessa Rivera, Nádia Roque, João A. N. Batista, José R. Pirani, Jose L. Panero, Jimi N. Nakajima & Cássio van den Berg
- 169** SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO: POTENCIALIDADES PARA ESTUDOS FILOGENÉTICOS EM ASTERACEAE. EXEMPLOS COM OS GÊNEROS *ALDAMA* (HELIANTHEAE) E *CHRESTA* (VERNONIEAE)  
Benoît Francis Patrice Loeuille & Carolina Moriani Siniscalchi
- 179** PERSPECTIVAS DOS ESTUDOS COM APOMIXIA E POLIEMBRIONIA EM MELASTOMATACEAE NEOTROPICAIS  
Clesnan Mendes-Rodrigues & Paulo Eugênio Oliveira

- 188** QUESTIONAMENTOS E SOLUÇÕES USANDO A MORFOLOGIA INTERNA DE ERIOCAULACEAE  
**Vera L. Scatena**
- 192** RECONCILING THE ROLE OF MORPHOLOGY AND GENOMICS IN MACROEVOLUTIONARY AND TAXONOMIC STUDIES ON LAND PLANTS  
**Harald Schneider**
- 197** RELEVANCE OF MICROORGANISMS IN THE BIOREMEDIATION OF HEAVY METALS CONTAMINATED SOILS  
**Rosario Azcón**
- 202** TÉCNICAS DE NUCLEAÇÃO E BIOINDICADORES DE AVALIAÇÃO DA RESTAURAÇÃO FLORESTAL  
**Sebastião Venâncio Martins**
- 210** THE EVOLUTION OF HOST PLANT MANIPULATION BY GALL-FORMING APHIDS: MECHANISMS AND FUNCTION  
**Moshe Inbar**
- 215** THE PROBLEM OF CYANOBACTERIA AND CYANOTOXINS IN AQUATIC ENVIRONMENTS: BLOOMS AND TOXINS IN RESERVOIRS OF MINAS GERAIS  
**Alessandra Giani**
- 219** USING INFORMATION ON THE ECOLOGY, TAXONOMIC OCCURRENCE AND PHYLOGENY OF SEED DORMANCY TO FACILITATE PROPAGATION OF PLANTS FOR RESTORATION  
**Carol C. Baskin**





# Capítulos





# A anatomia pode explicar a ocorrência de semente sem fertilização?

## Anatomia como ferramenta na elucidação de mecanismos reprodutivos das angiospermas

**Priscila Andressa Cortez**

Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, Brasil.  
priscilaacortez@gmail.com

As angiospermas se reproduzem principalmente de modo sexuado. A produção e a fusão entre os gametas haplóides permitem que haja variabilidade genética nos descendentes, devido a eventos de recombinação, segregação e singamia. Entretanto, um número expressivo de espécies adota a reprodução assexuada (apomixia) como uma forma natural alternativa ou mesmo obrigatória de reprodução, em que indivíduos geneticamente iguais à planta-mãe são originados por meio da propagação vegetativa e ou por agamospermia (Maheshwari 1950; Cocucci 1969; Grant 1981; Nogler 1984; Went & Willemse 1984; Asker & Jerling 1992; Naumova 1993; Endress 1994; Richards 1997; Raven *et al.* 1999; Mariath *et al.* 2006).

Os estudos mais recentes disponíveis na literatura utilizam o termo apomixia como sinônimo de agamospermia, ou seja, em referência aos casos em que a reprodução assexuada se dá obrigatoriamente por meio da formação de sementes (consultar Asker & Jerling (1992) e Mogie (1992) para informações terminológicas). Assim, em uma planta apomítica, a meiose é ausente ou modificada e a formação do embrião ocorre sem que haja fusão entre gametas (Asker & Jerling 1992; Naumova 1993; Koltunow *et al.* 1995; Vielle-Calzada *et al.* 1996; Carman 1997; Richards 1997; Drews *et al.* 1998; Berthaud 2001;

Grossniklaus *et al.* 2001b; Naumova 2008).

A apomixia é um método alternativo de reprodução via sementes, considerado derivado dos sistemas reprodutivos sexuados. Nele, a meiose ocorre de forma não usual (apomeiose) ou é completamente ausente e, embora o embrião seja formado sem que haja singamia, a fecundação dos núcleos polares geralmente é necessária para a formação do endosperma (pseudogamia) (Asker & Jerling 1992; Naumova 1993; Koltunow *et al.* 1995; Vielle-Calzada *et al.* 1996; Carman 1997; Richards 1997; Drews *et al.* 1998; Berthaud 2001; Grossniklaus *et al.* 2001b). Apomixia e reprodução sexuada não são eventos mutuamente exclusivos, sendo admitida a existência de cerca de 400 espécies distribuídas em 50 famílias, com apomixia facultativa ou obrigatória, sendo o fenômeno especialmente comum entre os membros de Gramineae, Asteraceae e Rosaceae (Nogler 1984; Asker & Jerling 1992; Carman 1997; Richards 1997; Judd *et al.* 1999; Grossniklaus *et al.* 2001a; Spillane *et al.* 2001). Estudos recentes têm revelado um grande número de espécies apomíticas também entre as Melastomataceae, particularmente no gênero *Miconia* (Renner 1989; Borges 1991; Sartor 1994; Goldenberg & SHEPHERD 1998; CORTEZ ET AL. 2012; CAETANO ET AL. 2013A, B).



Os primeiros estudos que relataram o fenômeno da apomixia em espécies de angiospermas datam da metade do século XIX, e seu padrão de distribuição no grupo indica uma origem polifilética (Asker & Jerling 1992; Grossniklaus *et al.* 2001a). Dois tipos básicos e distintos de apomixia são reconhecidos, embora a nomenclatura empregada seja numerosa e confusa devido, sobretudo, à dificuldade de se reconhecer padrões que possam ser extrapolados às diferentes espécies: (1) apomixia esporofítica, também denominada embriogenia adventícia, em que o embrião é formado diretamente a partir de células nucelares ou tegumentares do óvulo, e a apomixia gametofítica, em que há formação de um gametófito feminino não-reduzido a partir de uma célula mãe de megásporo (diplosporia) ou a partir de células somáticas do óvulo (aposporia) (Nogler 1984; Naumova 1993; Richards 1997; Koltunow *et al.* 1995; Grossniklaus *et al.* 2001a; Mendes-Rodrigues *et al.* 2005).

O desenvolvimento de um endosperma funcional é importante para a viabilidade da semente e, em espécies apomíticas, frequentemente requer adaptações especiais do desenvolvimento do gametófito feminino e dos processos de fecundação (Nogler 1984; Grossniklaus *et al.* 2001b; Vinkenoog *et al.* 2000). Embora o embrião seja formado sem que haja singamia, a formação do endosperma geralmente só acontece após a fusão entre o núcleo espermático e os núcleos polares, e as plantas que apresentam esse tipo de apomixia são denominadas pseudogâmicas (Maheshwari 1950; Nogler 1984; Naumova 1993; Koltunow *et al.* 1995; Vielle-Calzada *et al.* 1996; Grossniklaus *et al.* 2001a, b; Bhat *et al.* 2005), fenômeno este que prevalece entre as espécies apospóricas (Asker & Jerling 1992; Richards 1997).

Espécies com endospermogênese autônoma, como alguns membros de Compositae (Chaudhury *et al.* 2001), dispensam a fusão entre os núcleos haplóides para a formação do endosperma. Provavelmente devido à raridade desse fenômeno entre as espécies apomíticas (Koltunow & Grossniklaus 2003), pouco se conhece sobre os mecanismos fisiológicos ou genéticos que o regulam (Richards 1997). Além disso, há casos em que o embrião aparentemente se desenvolve sem que um endosperma funcional esteja presente, como observado em *Garcinia*, Clusiaceae (Richards 1990; Baarlen *et al.* 1999).

Várias características expressadas pelas

espécies apomíticas têm evidente aplicação na agricultura, dentre elas a possibilidade de fixação de genótipos estáveis (clones) e a produção e manutenção de híbridos (Asker & Jerling 1992; Naumova 1993; Vielle-Calzada *et al.* 1996; Richards 1997; Bhat *et al.* 2005) e vários estudos têm sido conduzidos em espécies economicamente importantes (Koltunow *et al.* 1995; Vielle-Calzada *et al.* 1996; Drews *et al.* 1998; Grossniklaus & Schneitz 1998; Savidan *et al.* 2001; Araujo & Falcão 2003; Albarouki & Peterson 2007). Grande parte dos trabalhos realizados com espécies apomíticas procura estabelecer as bases genéticas e moleculares da apomixia e de seu controle, e muitas mutações que afetam o desenvolvimento e a função do óvulo têm sido isoladas, com especial atenção àquelas que alteram o desenvolvimento do gametófito feminino (Drews *et al.* 1998; Grossniklaus *et al.* 2001a; Albertini *et al.* 2005).

Estudos estruturais e ultraestruturais de órgãos reprodutivos, sobretudo dos tecidos do óvulo e da antera diretamente relacionados à formação dos gametas femininos e masculinos, permitem reconhecer aspectos importantes relacionados ao sucesso reprodutivo de um táxon (Gibson & Diggle 1998; Ilarslan *et al.* 1999). Em linhagens estéreis, esses estudos têm mostrado que o fenômeno está, frequentemente, relacionado a alterações morfológicas e funcionais das células dos estratos parietais da antera, especialmente do tapete (Izhar & Frankel 1971; Bhandari 1984; Kronestedt-Robards & Rowley 1989; Johri *et al.* 1992; Loukides *et al.* 1995; Ilarslan *et al.* 1999), ou no próprio tecido esporogênico (Knox 1984; Peel *et al.* 1997). Tais alterações têm como causas principais determinadas irregularidades meióticas das células-mãe de micrósporos, a nutrição deficiente dos micrósporos e/ou a má-formação da parede dos micrósporos (geração esporofítica) e/ou dos grãos de pólen (geração gametofítica).

Estudos anatômicos e realizados e em andamento com espécies *Miconia* (Caetano *et al.* 2013a, b; Cortez *et al.* 2012) têm fornecido informações morfológicas importantes a respeito da inviabilidade dos grãos de pólen, bem como permitiram reconhecer os estádios de desenvolvimento mais informativos sobre o desenvolvimento de sementes formadas sem fecundação, servindo de base para estudos mais detalhados, além de fomentar discussões ecológicas importantes em um grupo de ampla distribuição geográfica e de grande diversidade morfológica.

## Referências bibliográficas

- Albarouki, E. & Peterson, A. 2007. Molecular and morphological characterization of *Crataegus* L. species (Rosaceae) in southern Syria. **Botanical Journal of the Linnean Society** **153**: 255-263.
- Albertini, E.; Marconi, G.; Reale, L.; Barcaccia, G.; Porceddu A.; Ferranti, F. & Falcinelli, M. 2005. SERK and APOSTART. Candidate genes for apomixis in *Poa pratensis*. **Plant Physiology** **138**: 2185-2199.
- Araujo, A.C.G. & Falcão, R. 2003. **Múltiplos sacos embrionários em ovários do acesso sexual de *Brachiaria brizantha* (Poaceae)**. EMBRAPA, Brasília.
- Asker, S.E. & Jerling, L. 1992. **Apomixis in plants**. CRC Press, Boca Raton.
- Bhandari, N.N. 1984. The microsporangium. In **Embryology of angiosperms** (Johri, B.M., ed). Springer-Verlag, New York. p. 53-121.
- Bhat, V.; Dwivedi, K.K.; Khurana, J.P. & Sopory, S.K. 2005. Apomixis: an enigma with potencial applications. **Current Science** **89**: 1879-1893.
- Borges, H.B.N. 1991. **Biologia reprodutiva de quatro espécies de Melastomataceae**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.
- Caetano, A.P.S.; Teixeira, S.P.; Forni-Martins, E.R. & Carmello-Guerreiro, S.M. 2013a. Pollen Insights into Apomictic and Sexual *Miconia* (Miconieae, Melastomataceae). **International Journal of Plant Sciences** **174**: 760-768.
- Caetano, A.P.S.; Simão, D.G.; Carmo-Oliveira, R. & Oliveira, P.E. 2013b. Diplospory and obligate apomixis in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological comparison with its sexual congener *M. chamissois*. **Plant Systematics and Evolution** **299**: 1253-1262.
- Carman, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society** **61**: 51-94.
- Chaudhury, A.M.; Koltunow, A.; Payne, T.; Luo, M.; Tucker, M.R.; Dennis E.S. & Peacock, W.J. 2001. Control of early seed development. **Annual Review of Cell and Developmental Biology** **17**: 677-699.
- Cocucci, A.E. 1969. El proceso sexual en Angiospermas. **Kurtziana** **5**: 407-423.
- Cortez, P.A.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Teixeira, S.P. 2012. Understanding male sterility in *Miconia* species (Melastomataceae): a morphological approach. **Australian Journal of Botany** **60**: 506-516.
- Drews, G.N., Lee, D. & Christensen, C.A. 1998. Genetic analysis of female gametophyte development and function. **Plant Cell** **10**: 5-18.
- Endress, P.K. 1994. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Gibson, P.J. & Diggle, P.K. 1998. Flower development and male sterility in *Ocotea tenera*. **International Journal of Plant Science** **159**: 405-417.
- Goldenberg, R. & Shepherd, G.J. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. **Plant Systematics and Evolution** **211**: 13-29.
- Grant, V. 1981. **Plant speciation**. 2nd ed. Columbia University Press, New York.
- Grossniklaus, U.; Nogler, G.A. & van Dijk, P.J. 2001a. How to avoid sex: the genetic control of gametophytic apomixis. **Plant Cell** **13**: 1491-1498.
- Grossniklaus, U.; Spillane, C.; Page, D.R. & Köhler, C. 2001b. Genomic imprinting and seed development: endosperm formation with and without sex. **Current Opinion in Plant Biology** **4**: 21-27.
- Ilarslan, H., Horner, H.T. & Palmer, R.G. 1999. Genetics and cytology of a new male-sterile, female-sterile soybean mutant. **Crop Science** **39**: 58-63.
- Izhar, S. & Frankel, R. 1971. Mechanism of male-sterility in *Petunia*. I. The relationship between pH, calase activity in the anthers and the breakdown of microsporogenesis. **Theoretical Applied Genetics** **41**: 104-108.
- Johri, B.M.; Ambegaokar, K.B. & Srivastava PS. 1992. **Comparative embryology of angiosperms**. Springer-Verlag, Berlin.

- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 1999. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates.
- Knox, R.B. 1984. The pollen grain. In **Embryology of angiosperms** (Johri, B.M., ed). Springer-Verlag, New York. p. 197-271.
- Koltunow, A.M.; Bicknell, R.A. & Chaudhury, A.M. 1995. Apomixis: molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. **Plant Physiology** **108**: 1345-1352.
- Loukides, C.A.; Broadwater, A.H. & Bedinger P.A. 1995. Two new male-sterile mutants of *Zea mays* (Poaceae) with abnormal tapetal cell morphology. **American Journal of Botany** **82**: 1017-1023.
- Maheshwari, P. 1950. **An introduction to the embryology of angiosperms**. McGraw-Hill, New York.
- Mariath, J.E.A.; Santos, R.P. & Bittencourt Júnior, N.S. 2006. Flor. In **Anatomia Vegetal** (Apezato-da-Glória, B. & Carmello-Guerreiro, S.M., eds). 2ª ed. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. p. 329-373.
- Mendes-Rodrigues, C.; Carmo-Oliveira, R.; Talavera, S.; Arista, M.; Ortiz, P.L. & Oliveira, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). **Plant Biology** **7**: 533-540.
- Mogie, M. 1992. **The evolution of asexual reproduction in plants**. Chapman & Hall, London.
- Naumova, T.N. 1993. **Apomixis in angiosperms: nucellar and integumentary embryony**. CRC Press, Boca Raton.
- Nogler, G.A. 1984. Gametophytic apomixis. In **Embryology of angiosperms** (Johri, B.M., ed). Springer-Verlag, New York. p. 475-518.
- Peel, M.D.; Carman, Z.W.L. & Wang, R.R.C. 1997. Meiotic anomalies in hybrids between wheat and apomitic *Elymus rectisetus*. **Crop Science** **37**: 717-723.
- Raven, P.H., Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. 1999. **Biology of plants**. 6<sup>th</sup> ed. Worth Publishers, New York.
- Renner, S.S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **76**: 496-518.
- Richards, A.J. 1990. Studies in *Garcinia*: tropical dioecious fruit trees: agamospermy. **Botanical Journal of the Linnean Society** **103**: 233-250.
- Richards, A.J. 1997. **Plant breeding systems**. 2nd ed. Chapman & Hall, London.
- Sartor, M.B.L.B. 1994. **Fenologia e biologia floral de *Miconia albicans* (Sw.) Triana e *Tibouchina stenocarpa* (DC.) Cogn. (Melastomataceae)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.
- Spillane, C.; Vielle-Calzada, J. & Grossniklaus, U. 2001. A sexy apomixis in *Como*. **The Plant Cell** **13**: 1480-1491.
- Vielle-Calzada, J.; Crane, C.F. & Stelly, D.M. 1996. Apomixis: the asexual revolution. **Science** **274**: 1322-1323.
- Vinkenoog, R.; Spielmann, M. & Scott, R.J. 2000. Autonomous endosperm development in flowering plants: how to overcome the imprinting problem? **Sexual Plant Reproduction** **14**: 189-194.
- Went, J.L. Van. & Willemse, M.T.M. 1984. **Fertilization**. In *Embryology of angiosperms* (Johri, B.M., ed.). Springer-Verlag, New York. p. 273-317.

# A anatomia vegetal resolve problemas taxonômicos?

Alessandra I. Coan<sup>1</sup>, Paula M. Rabelo, Letícia Peres Poli & Elaine L. P. Nunes

Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil.

<sup>1</sup> Autor para correspondência: aicoan@rc.unesp.br

Dentre os conjuntos de dados disponíveis para a classificação das plantas, a morfologia tem sido a mais utilizada, especialmente pela facilidade de visualização, acesso a um grande volume de dados disponíveis em herbários e baixo custo relativo (Tomlinson 1962; Davies & Heywood 1963; Stuessy 1990). Entretanto, dados anatômicos também vêm sendo utilizados para este fim desde o século XVII (Stuessy 1990).

Dentre os inúmeros trabalhos disponíveis para as Angiospermas, aqueles de Metcalf & Chalk (1950, 1979, 1983) estão entre os mais clássicos e abrangentes, pois organizaram dados anatômicos vegetativos por família, inicialmente no sistema de classificação de Bentham & Hooker (1865). Porém, tratavam exclusivamente do grupo então conhecido como “Dicotiledôneas”.

Para as monocotiledôneas, destacam-se os volumes publicados sob o título “Anatomy of the Monocotyledons”, tratando de diversos gêneros e famílias (Metcalf 1960; Tomlinson & Metcalfe 1961; Tomlinson 1969, 1982; Cutler 1979; Ayensu 1972; Rudall 1995) e cujo volume mais recente trata de Acoraceae e Araceae (Keating *et al.* 2003).

Apesar da revolução que os dados moleculares causaram na forma de classificar os seres vivos, muitas das sugestões de classificação filogenética baseadas em estudos anatômicos e morfológicos foram sustentadas no pioneiro APG I (1998) - como a monofilia das Monocotiledôneas, a parafilia das Dicotiledôneas e o posicionamento basal das Magnoliídeas.

Ainda assim, trabalhos baseados exclusivamente em dados anatômicos ou anatômicos

e morfológicos combinados ainda são executados, buscando uma melhor delimitação de espécies ou a resolução de relações onde a sistemática molecular não fornece dados conclusivos.

De acordo com Endress *et al.* (2000), os problemas principais nos estudos sistemáticos envolvem a definição de caracteres e o significado das homologies a partir deles.

A multidisciplinaridade que está envolvida nos estudos anatômicos nas últimas décadas vem de encontro a essas aspirações de se resolver, esclarecer, elucidar os “problemas” taxonômicos. Não que esta seja uma vertente que não existia anteriormente nos estudos anatômicos, mas que ganhou novo fôlego com os estudos moleculares.

Os estudos anatômicos dos órgãos vegetativos e reprodutivos com vistas à utilização na taxonomia e sistemática foram, por muito tempo, focados nas eudicotiledôneas. A partir da década de 1990, com a confirmação da monofilia das monocotiledôneas, atenção maior se voltou para o grupo e a busca por caracteres que possam constituir sinapomorfias morfológicas e anatômicas.

Isso pode ser constatado nas conferências internacionais dedicadas às monocotiledôneas, a cada cinco anos, desde 1993. Nessas conferências, dados morfológicos, anatômicos, moleculares e combinados (Stevenson & Loconte, 1995; Chase *et al.*, 2000, 2006) vêm contribuindo para a melhor compreensão do relacionamento e da diversidade do grupo.

De acordo com Givnish *et al.* (2010) a compreensão da origem, filogenia e padrões



de evolução morfológica, diversificação geográfica e radiação ecológica são um desafio nas monocotiledôneas e os estudos morfológicos e anatômicos dos órgãos reprodutivos e vegetativos em táxons-chave podem trazer grandes contribuições para o entendimento desses processos. Esse apontamento pode ser explicitado em alguns estudos de caso a seguir, em alguns grupos representativos de monocotiledôneas brasileiras.

Alismatales, Asparagales e Poales compreendem mais de 70% do total de espécies de monocotiledôneas (Stevens, 2012), englobando algumas das famílias mais representativas nos diversos ecossistemas brasileiros, como Araceae, Bromeliaceae, Cyperaceae, Eriocaulaceae, Orchidaceae e Poaceae.

Dentre as Alismatales, Araceae é a maior família (Stevens 2012), sendo *Anthurium* o maior gênero, com classificação infragenérica muito discutida. Recentemente, dados anatômicos e morfológicos do gineceu têm se mostrado promissores na delimitação e identificação de espécies. Poli *et al.* (2012) e Poli (2013) apontaram aspectos anatômicos inéditos do gineceu maduro de espécies de *Anthurium*, especialmente a estrutura e distribuição dos tricomas secretores de mucilagem. Através do estudo ontogenético do gineceu (Poli 2013), verificou-se a similaridade no seu desenvolvimento, independente da classificação infragenérica. A vascularização do gineceu também foi estudada (Poli 2013), indicando o caráter como não conservativo no gênero.

Ainda em Alismatales, em *Potamogeton* (Potamogetonaceae), a forma do estigma e a forma e a localização da abertura do canal estigmático auxiliaram na diferenciação das três espécies estudadas (Nunes *et al.* 2010, 2012).

Orchidaceae destaca-se dentre as Asparagales, bem como dentre as demais angiospermas, como a mais rica em número de espécies e mais diversa família vegetal (Dressler 1981). *Bulbophyllum*, considerado o segundo maior gênero de angiospermas (Frodin 2004), conta atualmente com seis seções neotropicais, baseadas em principalmente em caracteres moleculares (Smidt *et al.* 2011).

Estudos recentes utilizando caracteres micromorfológicos e anatômicos florais de espécies neotropicais de *Bulbophyllum* tem se mostrado úteis na caracterização e delimitação de espécies das seções *Didactyle* (Nunes *et al.* submetido) e *Micranthae*

(Nunes *et al.* em prep.). Para *B. sect. Didactyle* foram encontrados 25 caracteres úteis na diferenciação das espécies desta seção, além de caracteres comuns que corroboram seu agrupamento. Para *B. sect. Micranthae*, caracteres como o número de feixes vasculares nas peças florais, presença de tricomas ou estômatos e padrões de ornamentação na superfície das mesmas, auxiliam na diferenciação de espécies semelhante morfológicamente.

Poales se destaca como a segunda maior ordem de monocotiledôneas, com significativa representatividade econômica e ecológica (Givnish *et al.* 2010). Dentre as xyrídeas, Eriocaulaceae destaca-se pela representatividade e importância econômica no território brasileiro. Duas subfamílias são reconhecidas e suportadas por dados moleculares e morfológicos (Ruhland 1903; Andrade *et al.* 2010): Eriocauloideae e Paepalanthoideae. Estudos embriológicos (Coan *et al.* 2007, 2010a) apontaram a uniformidade dos caracteres na família, independente dos gêneros analisados. Foi confirmada a presença de opérculo micropilar na semente em Eriocauloideae, anteriormente apontada como exclusiva de Paepalanthoideae. Além disso, caracteres historicamente utilizados na taxonomia, como o número de microsporângios das anteras, foram apontados como instáveis e não consistentes para delimitação de grupos.

Ainda em Poales, o clado ciperídeo, formado por Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae (Linder & Rudall 2005), pode ser considerado um dos mais consistentes, suportado por dados moleculares e não-moleculares (Plunkett *et al.* 1995; Munro & Linder 1997). Devido à redução das estruturas florais e complexidade na forma e organização das inflorescências, a determinação das inter-relações entre as ciperídeas é dificultada, assim como o estabelecimento de homologias (Simpson 1995).

Cyperaceae é uma das três maiores famílias de monocotiledôneas em número de espécies (Simpson 1995) e sua classificação atual, baseada principalmente em dados moleculares, sustenta a subdivisão em duas subfamílias, Mapanioideae e Cyperoideae (Simpson *et al.* 2007; Muasya *et al.* 2009). Em Mapanioideae as categorias supragenéricas (tribos Hypolytreae e Chrysitricheae) são controversas, muito relacionadas à peculiaridade da estrutura floral do grupo (Goetghebeur 1998). A ontogenia do grão de pólen (Simpson *et al.* 2003; Coan *et al.* 2010b), bem como a constituição da micrópila e formação da

hipóstase no óvulo e natureza do pericarpo no fruto (Coan *et al.* 2008) foram apontados como aspectos-chave na compreensão da taxonomia e evolução da família e sua relação com as demais ciperídeas.

Será que a anatomia vegetal “resolve” mesmo problemas taxonômicos? O que são “problemas” taxonômicos? Difícil responder sem a interação do anatomista com o taxonomista e vice-versa. Independente do grupo estudado é importante conhecê-lo não apenas no laboratório e/ou herbário, não apenas peças ou partes fixadas, coletadas, mas no campo, em sua total interação com o ambiente para poder fazer as perguntas pertinentes. Feitas as perguntas pertinentes, com um “background” adequado, a anatomia ainda é capaz de resolver problemas taxonômicos, principalmente em escala infrafamiliar. Porém, a interação com a sistemática molecular é cada vez mais necessária e complementar.

#### Agradecimentos

As autoras agradecem ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (Processo: 306498/2012-0) e pelo Auxílio à Pesquisa (Processo: 475212/2011-8) à primeira autora e pela Bolsa de Doutorado (Processo: 141990/2013-9) à L.P. Poli e à Bolsa de Iniciação Científica – PIBIC (Processo: 119689/2013-8) à P.M. Rabelo. As autoras agradecem também à FAPESP pela Bolsa de Doutorado (Processo: 2011/11374-3) e pela Bolsa de Estágio em Pesquisa no Exterior – BEPE (Processo: 2012/03433-2) à E.L.P. Nunes.

#### Referências bibliográficas

- Andrade, M.J.G.; Giuliatti, A.M.; Rapini, A.; Queiroz, L.P.; Conceição, A.S.; Almeida, P.R.M. & Van Den Berg, C. 2010. A comprehensive molecular phylogenetic analysis of Eriocaulaceae: evidence from nuclear (ITS) and plastid (psbA-trnH and trnL-trnF) sequences. **Taxon** **59**: 379-388.
- Ayensu, E.S. 1972. **Anatomy of the monocotyledons VI. Dioscoreales**. Oxford, Clarendon Press.
- Bentham, G. & Hooker, J. D. 1865. **Genera plantarum**. London, Reeve & Company.
- Chase, M.W.; Soltis, D.E.; Soltis, P.S.; Rudall, P.J.; Fay, M.F.; Hahn, W.H.; Sullivan, S.; Joseph, J.; Givnish, T.; Sytsma, K.J. & Pires, J.C. 2000. Higher-level systematics of the monocotyledons: an assesment of current knowledge and a new classification. In: Wilson K. L.; Morrison, D.A. (Eds.), **Monocots: systematics and evolution, vol. II**. Melbourne, CSIRO.
- Chase, M.W.; Fay, M.F.; Devey, D.S.; Maurin, O.; Rønsted, N.; Davies, T.J. & Rai, H.S. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. **Aliso** **22**: 63-75.
- Coan, A.I.; Rosa, M.M. & Scatena, V.L. 2007. Contribution to the embryology of *Leiothrix fluitans* (Eriocaulaceae Poales). **Aquatic Botany** **87**: 155-160.
- Coan, A.I.; Alves, M.V. & Scatena, V.L. 2008. Comparative study of ovule and fruit development in species of *Hypolytrum* and *Rhynchospora* (Cyperaceae, Poales). **Plant Systematics and Evolution** **272**: 181-195.
- Coan, A.I.; Stützel, T. & Scatena, V.L. 2010a. Comparative embryology and taxonomic considerations in Eriocaulaceae (Poales). **Feddes Repertorium** **121**: 268-284.
- Coan, A.I.; Alves, M.V. & Scatena, V.L. 2010b. Evidence of pseudomonad pollen formation in *Hypolytrum* (Mapanioideae, Cyperaceae). **Australian Journal of Botany** **58**: 663-672.
- Cutler, D.F. 1969. **Anatomy of the monocotyledons IV: Juncales**. Oxford, Oxford University Press.
- Davis, P.H. & Heywood, V.H. 1963. **Principles of angiosperm taxonomy**. Edinburgh, Oliver and Boyd.
- Dressler, R. 1981. **The orchids: natural history and classification**. Cambridge, Harvard University Press.
- Endress, P.K.; Baas, P. & Gregory, M. 2000. Systematic plant morphology and anatomy: 50 Years of progress. **Taxon** **49**: 401-434.
- Frodin, D.G. 2004. History and concepts of big plant genera. **Taxon** **53**: 753-776.
- Givnish, T.J.; Ames, M.; McNeal, J.R.; McKain, M.R.; Steele, P.R.; de Pamphilis, C.W.; Graham, S.W.; Pires, J.C.; Stevenson, D.W.; Zomlefer, W.B.; Briggs, B.G.; Duvall, M.R.; Moore, M.J.; Heaney,

- J.M.; Soltis, D.E.; Soltis, P.S.; Thiele, K. & Leebens-Mack, J.H. 2010. Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **97**: 584-616.
- Goetghebeur, P. 1998. Cyperaceae. In: K. Kubitzki (Ed.). **The families and genera of vascular plants. IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)**. Berlin, Springer.
- Keating, R.C.; Gregory, M. & Cutler, D.F. 2003. **Anatomy of the monocotyledons IX: Acoraceae and Araceae**. Oxford, Clarendon Press.
- Linder, H.P. & Rudall, P.J. 2005. Evolutionary history of Poales. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** **36**: 107-124.
- Metcalf, C.R. 1960. **Anatomy of the monocotyledons I: Gramineae**. Oxford, Oxford University Press.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford, Clarendon Press.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol. I. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject. Oxford, Clarendon Press.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1983 **Anatomy of the dicotyledons**. Vol. II. Wood structure and conclusion of the general introduction. Oxford, Clarendon Press.
- Muasya, A.M.; Simpson, D.A.; Verboom, G.A.; Goetghebeur, P.; Naczi, R.F.C.; Chase, M.W. & Smets, E. 2009. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: current progress and future prospects. **Botanical Review** **75**: 2-21.
- Munro, S.L. & Linder, H.P. 1997. The embryology and systematic relationships of *Prionium serratum* (Juncaceae: Juncales). **American Journal of Botany** **84**: 850-860.
- Nunes, E.L.P.; Coan, A.I. & Moço, M.C.C. 2010. Contribution to the embryology of *Potamogeton* L. (Alismatales: Potamogetonaceae). **Aquatic Botany** **93**: 32-38.
- Nunes, E.L.P.; Lima, M.C.; Moço, M.C.C. & Coan, A.I. 2012. Floral development in *Potamogeton* (Potamogetonaceae, Alismatales) with emphasis on gynoecial features. **Aquatic Botany** **100**: 56-61.
- Plunkett, G.M.; Soltis, D.E.; Soltis, P.S. & Brooks, R.E. 1995. Phylogenetic relationships between Juncaceae and Cyperaceae: insights from rbcL sequence data. **American Journal of Botany** **82**: 520-525.
- Poli, L.P. 2013. **Ontogenia e anatomia do gineceu de *Anthurium* Schott (Araceae, Alismatales): seções *Pachyneurium* Schott, *Tetraspermium* Schott e *Urospadix***. Dissertação de Mestrado. Rio Claro, SP, Unesp.
- Poli, L.P.; Temponi, L.G. & Coan, A.I. 2012. Anatomical aspects of the gynoecium of species of *Anthurium* sect. *Urospadix* Engl. (Araceae, Alismatales). **Flora (Jena)** **207**: 615-621.
- Rudall, P.J. 1995. **Anatomy of the monocotyledons VIII: Iridaceae**. Oxford, Oxford University Press.
- Ruhland, W. 1903. Eriocaulaceae. In: Engler, A. (Ed.). **Das Pflanzenreich**. Leipzig, Wilhelm Engelmann.
- Simpson, D.A. 1995. Relationships within Juncales. In: P.J. Rudall; Cribb, P.J.; Cutler D.F.; Humphries, C.J. (Eds.). **Monocotyledons: systematics and evolution**. Kew, Royal Botanic Gardens.
- Simpson, D.A.; Muasya, A.M.; Alves, M.; Bruhl, J.J.; Dhooze, S.; Chase, M.W.; Furness, C.A.; Ghamkhar, K.; Goetghebeur, P.; Hodkinson, T.R.; Marchant, A.D.; Nieuwborg, R.; Reznicek, A.A.; Roalson, E.H.; Smets, E.; Starr, J.R.; Thomas, W.W.; Wilson, K.L. & Zhang, X. 2007. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data – a new rbcL analysis. **Aliso** **24**: 72-83.
- Stevens, P.F. 2012. **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 12, June 2012 (and more or less continuously updated since). <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (acesso em 12/09/2013).
- Stevenson, D.W. & Loconte, H. 1995. Cladistic analysis of monocot families. In: Rudall, P. J.; Cribb, P. J.; Cutler, D. F.; Humphries, C.J. (Eds.). **Monocotyledons: systematics and evolution**. Kew, Royal Botanic Gardens.
- Stuessy, T.F. 1990. **Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data**. New York, Columbia University Press.
- The Angiosperm Phylogeny Group. 1998. An ordinal

classification for the families of flowering plants.  
**Annals of the Missouri Botanical Garden 85:** 531-553.

Tomlinson, P.B. 1962. The leaf base in palms: its morphology and mechanical biology. **Journal of the Arnold Arboretum 43:** 23-50.

Tomlinson P.B. 1969. **Anatomy of the Monocotyledons III: Commelinales-Zingiberales.** Oxford, Clarendon Press.

Tomlinson, P.B. 1982. **Anatomy of the monocotyledons VII: Helobiae (Alismatidae).** New York, Oxford University Press.

Tomlinson, P.B. & Metcalfe, C.R. 1961. **Anatomy of the monocotyledons II: Palmae.** Oxford, Clarendon Press.





# Anatomia de Eriocaulaceae aplicada à taxonomia e filogenia

Aline Oriani<sup>1</sup> & Vera L. Scatena

Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil.

<sup>1</sup> Autor para correspondência: alineoriani@yahoo.com.br

É indiscutível a importância da anatomia para subsidiar estudos taxonômicos. Mesmo com o advento de estudos filogenéticos baseados em dados moleculares, a anatomia mostra-se essencial para caracterizar clados e identificar sinapomorfias que os sustentem.

Em Eriocaulaceae, estudos anatômicos iniciaram-se na década de 1980 com ênfase nos órgãos vegetativos, visando caracterizar os gêneros e relacionar a anatomia dessas plantas com o ambiente em que vivem. Examinando os resultados obtidos nesses estudos, observa-se grande convergência adaptativa, sendo a disponibilidade hídrica do solo o principal fator ambiental a influenciar o padrão fenotípico das espécies.

Existem na família, por exemplo, dois tipos anatômicos de raízes: aquelas que apresentam córtex heterogêneo, com aerênquima, e as que apresentam córtex homogêneo, com parênquima fundamental (Tomlinson 1969; Scatena *et al.* 2005a). Esses dois tipos estão relacionados à disponibilidade de água no solo. As primeiras se desenvolvem nas espécies aquáticas ou que crescem em solos encharcados ou alagados e têm a função de absorção. As segundas se desenvolvem nas espécies que crescem em ambientes secos, mas também naquelas aquáticas e anfíbias, nas quais exercem a função de fixação. Em *Tonina fluviatilis*, *Paepalanthus obtusifolius* e *Leiothrix fluitans*, por exemplo, cujos representantes crescem na beira de riachos, os dois tipos de raízes são encontrados em um mesmo indivíduo (Coan *et al.* 2002).

Apesar da convergência adaptativa, o padrão morfológico-anatômico das raízes apresenta valor taxonômico para determinados grupos, sendo útil

na sua diferenciação no campo. Hensold (1999), por exemplo, na chave diagnóstica de gêneros de Eriocaulaceae da Flora da Guiana Venezuelana, usa as características das raízes para distinguir as espécies de *Leiothrix* das de *Paepalanthus* e *Tonina*, pelo fato das primeiras geralmente apresentarem raízes esbranquiçadas, com aerênquima, enquanto as demais apresentam raízes fibrosas, sem aerênquima. Este caráter mostra-se útil para identificação das espécies no campo, considerando que os três gêneros apresentam indivíduos com flores morfológicamente semelhantes.

Hensold (1999) também usa a presença de diafragmas no aerênquima das raízes para diferenciar as espécies de *Eriocaulon* das dos demais gêneros. Esses diafragmas correspondem a conjuntos de células que atravessam transversalmente as lacunas de ar e têm a função de manter a integridade do espaço físico onde o ar fica acumulado, facilitando as trocas gasosas (Stützel 1988).

As raízes de *Actinocephalus* caracterizam-se pelo córtex homogêneo, sem aerênquima, em todas as espécies e pela presença de papilas intracelulares como caráter exclusivo do gênero (Scatena *et al.* 2005b). Essas papilas correspondem a um depósito de material entre a parede celular e a membrana plasmática e se formam em resposta à interação dessas raízes com fungos (Oriani & Scatena 2007).

Com relação aos padrões caulinares, estes foram estudados morfológica e anatomicamente em *Actinocephalus* (Oriani *et al.* 2008) e parecem refletir aqueles encontrados na família. Foram identificados quatro padrões morfológicos no gênero: 1) caule aéreo curto com folhas em roseta e paracládios surgindo das

axilas foliares; 2) caule aéreo curto do qual se origina um eixo alongado com paracládios dispostos em espiral; 3) caule aéreo curto do qual se origina um eixo alongado com paracládios dispostos em verticilos; 4) rizoma do qual se origina um eixo alongado que se ramifica em paracládios. Anatomicamente, essas estruturas caulinares diferenciam-se pelo tipo de espessamento que apresentam. Os paracládios e eixos alongados não apresentam espessamento, os rizomas apresentam espessamento resultante da atividade de um meristema de espessamento primário, enquanto que os caules aéreos curtos apresentam espessamento resultante da atividade dos meristemas de espessamento primário e secundário. O padrão morfológico 1 ocorre em muitos gêneros de Eriocaulaceae, enquanto o padrão morfológico 2 ocorre em *Actinocephalus*, *Paepalanthus* (*P. sect. Diphyomene* e *P. subsect. Polyactis*) e em *Syngonanthus*, com a diferença de que em *Actinocephalus* os escapos se fundem para formar os paracládios (Sano 2004). Os padrões morfológicos 3 e 4 são exclusivos de *Actinocephalus*. Já os padrões anatômicos encontrados nas estruturas caulinares podem ser generalizados para toda a família, uma vez que se repetem em espécies de outros gêneros (Scatena & Menezes 1995; Scatena & Rocha 1995; Scatena *et al.* 1999a; 2005a).

Com relação às folhas e aos escapos, estes são os órgãos mais sujeitos às intempéries ambientais e, portanto, com maior plasticidade fenotípica. São características da família para as folhas: presença de epiderme uniestratificada, com estômatos apenas na face abaxial e com câmaras subestomáticas, e mesofilo uniforme com feixes vasculares dispostos em uma única fileira e providos de bainha dupla com extensões voltadas a ambas as faces da folha nos feixes vasculares maiores. Já nos escapos as espécies de Eriocaulaceae compartilham: presença de epiderme uniestratificada, estômatos com câmaras subestomáticas, córtex constituído de parênquima clorofiliano que se alterna com parênquima fundamental ou tecido de sustentação formando costelas, e sistema vascular do tipo eustelo com feixes vasculares colaterais (Scatena & Rocha 1995; Scatena & Menezes 1996; Scatena & Moraes 1996; Scatena *et al.* 1999a,b; Coan *et al.* 2002; Oriani *et al.* 2005; Scatena *et al.* 2005a).

O espessamento das células epidérmicas varia nas folhas e nos escapos, bem como a presença ou ausência e natureza da hipoderme. Nas folhas, a estrutura do mesofilo na margem foliar também varia e o parênquima clorofiliano pode ser compacto

ou frouxo. São ainda características variáveis dos escapos a constituição e o número de costelas e a endoderme, que pode ser contínua ou descontínua. Devido a essa grande variabilidade, observada muitas vezes dentro de um mesmo indivíduo, e à pequena amostragem de espécies estudadas, torna-se difícil a identificação de estruturas que caracterizem os gêneros. Em uma abordagem comparativa, utilizando os trabalhos disponíveis na literatura e citados acima, o padrão anatômico das extensões de bainha dos feixes vasculares parece ser um dos poucos caracteres foliares com valor taxonômico em nível genérico.

A presença de extensões de bainha formadas por uma ou várias células de paredes finas e alongadas transversalmente, estendendo-se desde os feixes vasculares até a epiderme e ausência de hipoderme são características diagnósticas de *Actinocephalus* (Oriani *et al.* 2005). Tais características foram observadas também em *Paepalanthus flaccidus*, *P. strictus* e *P. trichophyllus*, diferenciando essas espécies das demais espécies de *Paepalanthus sect. Diphyomene* (Alves *et al.* 2013) e corroborando a proposta de exclusão das mesmas desta secção (Trovó & Sano 2010). Em espécies de *Syngonanthus*, *Paepalanthus* e *Leiothrix*, as extensões de bainha dos feixes vasculares são formadas por várias células alongadas longitudinalmente, que se apresentam arredondadas em secção transversal (Scatena & Rocha 1995; Scatena & Menezes 1996; Coan *et al.* 2002; Scatena *et al.* 2005a). Essa diferença anatômica provavelmente tem relação com a dinâmica de translocação de fluidos dentro do mesofilo. *Tonina* parece ser o único gênero no qual as extensões de bainha dos feixes vasculares estão ausentes. O gênero inclui apenas uma espécie aquática, *Tonina fluviatilis*, com características hidromórficas. As folhas de *Tonina* diferenciam-se ainda por apresentar células epidérmicas da face adaxial e abaxial de mesmo tamanho, enquanto que nas demais espécies aquáticas já estudadas as células epidérmicas da face adaxial da folha são maiores em relação às da face abaxial (Coan *et al.* 2002).

Outra característica de Eriocaulaceae presente nas folhas e nos escapos e com valor taxonômico é a estrutura das câmaras subestomáticas. Essas câmaras são delimitadas por células epidérmicas alongadas no sentido transversal, que podem ter o formato de “i”, “U” ou T invertido, ou são delimitadas por células do mesofilo, com paredes espessadas e formas variadas, que se organizam como trabéculas formando uma câmara multicompartimentada. As câmaras

subestomáticas delimitadas por células com forma de T invertido ocorrem em espécies de *Paepalanthus* (Castro & Menezes 1990). Em *Leiothrix*, as câmaras são delimitadas por células em formato de “i” ou “U” (Scatena & Rocha 1995). Já em *Actinocephalus*, elas são delimitadas por células em forma de “U” ou T invertido (Oriani *et al.* 2005). As câmaras subestomáticas multicompartimentadas são exclusivas de *Comanthera* subgen. *Thysanocephalus* (Scatena & Menezes 1993).

Ressalta-se que vários grupos ainda carecem de estudos anatômicos envolvendo órgãos vegetativos como *Mesanthemum* e *Rondonanthus*, ainda pouco estudados, e *Paepalanthus*, que é o gênero mais rico em número de espécies da família e o mais problemático em termos de circunscrição (Giulietti *et al.* 2012). Sabe-se que é possível identificar características anatômicas de folhas e escapos com valor taxonômico a nível específico, porém uma amostragem mais ampla é necessária a fim de se identificar características com valor taxonômico a nível genérico e de se buscar o entendimento da evolução dos caracteres vegetativos dentro da família.

Voltando-se para as flores, estas constituem importante fonte de características morfológicas e anatômicas para a taxonomia e filogenia devido à sua constância ou pouca variabilidade quando comparadas aos órgãos vegetativos. Na história taxonômica de Eriocaulaceae, os caracteres florais foram os mais utilizados para separar os grupos e embasaram a divisão da família em duas subfamílias: Eriocauloideae, com flores diplostêmones e com glândulas nas pétalas, e Paepalanthoideae, com flores isostêmones e sem glândulas nas pétalas (Ruhland 1903).

Estudos anatômicos das flores de Eriocaulaceae foram desenvolvidos por Rosa & Scatena (2003; 2007) e também contribuíram com a taxonomia e filogenia da família. Através desses estudos foi demonstrado que os estaminódios das flores pistiladas de Paepalanthoideae correspondem ao verticilo interno de estames reduzido (Rosa & Scatena 2003; 2007). Relatou-se também como característica inédita a presença de estaminódios escamiformes nas flores estaminadas de Paepalanthoideae, os quais correspondem ao verticilo externo de estames reduzido (Rosa & Scatena 2003; 2007). Tal característica não apenas representa uma sinapomorfia para a subfamília como contribui para o entendimento da evolução dos caracteres florais em Eriocaulaceae. A partir desses resultados, é possível traçar hipóteses evolutivas para a família: as flores

estaminadas podem ter derivado de um ancestral com flores hermafroditas e diplostêmones, tendo ocorrido a redução do gineceu a pistilódios, como encontrado em Eriocauloideae, e posteriormente a redução do verticilo externo de estames, como encontrado em Paepalanthoideae. Já as flores pistiladas, tanto em Eriocauloideae como em Paepalanthoideae, teriam derivado da redução dos estames das flores diplostêmones e hermafroditas.

Em *Rondonanthus*, são encontradas flores hermafroditas e unissexuais, sendo que os estaminódios das flores pistiladas são lineares, vascularizados e conspícuos (Rosa & Scatena 2007). Esses estaminódios podem então representar um passo na evolução dos estames férteis a estaminódios escamiformes (Rosa & Scatena 2007), corroborando a hipótese apresentada.

Rosa & Scatena (2007) demonstraram ainda que as ramificações do estilete presentes nas flores pistiladas de representantes de Paepalanthoideae são nectaríferas, assim como os pistilódios presentes nas flores estaminadas, os quais apresentam características anatômicas de estruturas secretoras. Pelo fato das porções nectaríferas do estilete serem vascularizadas enquanto que as porções estigmáticas são desprovidas de vascularização, acredita-se que as primeiras são homólogas aos estigmas das flores encontradas nos representantes de Eriocauloideae, cujo estilete não é ramificado e apresenta três estigmas vascularizados (Rosa & Scatena 2003).

Tais hipóteses abrem perspectivas de estudos futuros sobre anatomia floral, principalmente com grupos-chave e de posição filogenética incerta, como *Rondonanthus*, visando elucidar a evolução dos caracteres florais dentro da família.

Nesse sentido, ressalta-se a importância das múltiplas faces da anatomia, sendo esta uma ciência importante para auxiliar na resolução de problemas taxonômicos que surgem com as análises filogenéticas e no entendimento dos processos evolutivos.

## Agradecimentos

As autoras agradecem à FAPESP pela Bolsa de Pós-Doutorado concedida à primeira autora (Processo: 2011/11536-3) e pelo Auxílio à Pesquisa concedido à segunda autora (Processo: 2011/18275-0). Agradecemos

também ao CNPq pela Bolsa de Produtividade (Processo: 301692/2010-6) e pelo Auxílio à Pesquisa (Processo: 471837/2011-3) concedidos à segunda autora.

### Referências bibliográficas

- Alves, P.G.M.; Scatena, V.L. & Trovó, M. 2013. Anatomy of scapes, bracts, and leaves of *Paepalanthus* sect. *Diphyomene* (Eriocaulaceae, Poales) and its taxonomic implications. **Brittonia** **65**: 262-272.
- Castro, N.M. & Menezes, N.L. 1990. Considerações sobre a natureza das células altas da epiderme abaxial das folhas de *Paepalanthus* Kunth. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** **12**: 95-100.
- Coan, A.I.; Scatena, V.L. & Giulietti, A.M. 2002. Anatomia de algumas espécies aquáticas de Eriocaulaceae brasileiras. **Acta Botanica Brasilica** **16**: 371-384.
- Giulietti, A.M.; Andrade, M.J.G.; Scatena, V.L.; Trovó, M.; Coan, A.I.; Sano, P.T.; Santos, F.A.R.; Borges, R.L.B. & Van den Berg, C. 2012. Molecular phylogeny, morphology and their implications for the taxonomy of Eriocaulaceae. **Rodriguésia** **63**: 1-19.
- Hensold, N. 1999. Eriocaulaceae. Pp. 1-58. In: P.E. Berry; K. Yatskievych & B.K. Holst (eds). **Flora of the Venezuelan Guayana, Vol 5**. St Louis, Missouri Botanical Garden Press.
- Oriani, A. & Scatena, V.L. 2007. Intracellular papillae of *Actinocephalus* (Eriocaulaceae-Poales) roots and their interaction with fungi: A light and transmission electron microscopy study. **Micron** **38**: 611-617.
- Oriani, A.; Scatena, V.L. & Sano, P.T. 2005. Anatomia das folhas, brácteas e escapos de *Actinocephalus* (Koern.) Sano (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **28**: 229-240.
- Oriani, A.; Scatena, V.L. & Sano, P.T. 2008. Morphological architecture of *Actinocephalus* (Koern) Sano (Eriocaulaceae). **Flora** **203**: 341-349.
- Rosa, M.M. & Scatena, V.L. 2003. Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae). **Flora** **198**: 188-199.
- Rosa, M.M. & Scatena, V.L. 2007. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. **Annals of Botany** **99**: 131-139.
- Ruhland, W. 1903. Eriocaulaceae. Pp. 1-294. In: A. Engler (ed). **Das Pflanzenreich**. Leipzig, Wilhelm Engelmann.
- Sano, P.T. 2004. *Actinocephalus* (Koern.) Sano (*Paepalanthus* sect. *Actinocephalus*), a new genus of Eriocaulaceae, and other taxonomic and nomenclatural changes involving *Paepalanthus* Mart. **Taxon** **53**: 99-107.
- Scatena, V.L. & Menezes, N.L. 1993. Considerações sobre a natureza da câmara subestomática e das células epidérmicas das folhas de *Syngonanthus* Ruhl., seção *Thysanocephalus* Koern. (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **16**: 159-165.
- Scatena, V.L. & Menezes, N.L. 1995. Aspectos morfológicos e anatômicos do caule em espécies de *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae). **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** **14**: 91-107.
- Scatena, V.L. & Menezes, N.L. 1996. Anatomia de escapos e folhas de *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae) de campos rupestres. **Revista Brasileira de Biologia** **56**: 317-332.
- Scatena, V.L. & Moraes, A.R.S. 1996. Anatomia de raízes, folhas e escapos de *Paepalanthus* subgênero *Platycaulon* (Eriocaulaceae) da Serra do Cipó - MG. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **39**: 1021-1035.
- Scatena, V.L. & Rocha, C.L.M. 1995. Anatomia dos órgãos vegetativos e do escapo floral de *Leiothrix crassifolia* (Bong.) Ruhl. Eriocaulaceae, da Serra do Cipó - M.G. **Acta Botanica Brasilica** **9**: 195-211.
- Scatena, V.L.; Cardoso, V.A. & Giulietti, A.M. 1999a. Morfoanatomia de espécies de *Blastocaulon* Ruhland (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica** **13**: 29-41.
- Scatena, V.L.; Giulietti, A.M. & Cardoso, V.A. 1999b. Anatomia de raízes, escapos e folhas de espécies de *Eriocaulon* L. (Eriocaulaceae). **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** **18**: 11-20.

- Scatena, V.L.; Giulietti, A.M.; Borba, E.L. & Van der Berg, C. 2005a. Anatomy of Brazilian Eriocaulaceae: correlation with taxonomy and habitat using multivariate analyses. **Plant Systematics and Evolution** **253**: 1-22.
- Scatena, V.L.; Oriani, A. & Sano, P.T. 2005b. Anatomia de raízes de *Actinocephalus* (Koern.) Sano (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica** **19**: 835-841.
- Stützel, T. 1988. Root anatomy in Eriocaulaceae. **Flora** **180**: 223-239.
- Tomlinson, P.B. 1969. Commelinales - Zingiberales. In: C.R. Metcalfe (ed). **Anatomy of the Monocotyledons III**. Oxford, Clarendon Press.
- Trovó, M. & Sano, P.T. 2010. Taxonomic survey of *Paepalanthus* section *Diphyomene* (Eriocaulaceae). **Phytotaxa** **14**: 49-55.



# Anatomia e relação com a tecnologia da madeira - metodologias e evolução

## Mario Tomazello

Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil.  
mtomazel@usp.br

### Resumo histórico da anatomia da madeira

As primeiras referências da anatomia vegetal são atribuídas à Teofrasto (369-202 AC) na Grécia, e, somente no século XVI são descritos registros da estrutura interna das plantas por Cordus (1515-1544) e Caesalpino (1519-1603).

No entanto, Grew com a publicação “The anatomy of plants” (1682) e Malpighi com “Anatome Plantarum” (1675), são considerados como os fundadores da anatomia e fisiologia vegetal (século XVII).

Posteriormente, no século XVIII, foram registradas as importantes contribuições sobre a anatomia do lenho foram feitas por Leeuwenhoek e Duhamel du Monceau. Como precursores da anatomia da madeira são citados, no século XIX, Auguste Mathiew, da Escola Florestal de Nancy, França e Hermann Nordlinger, da Escola de Florestas de Hohenheim e de Tübingen, Alemanha pelas pesquisas e publicações em anatomia da madeira.

No mesmo século, André Thil, pesquisador francês construiu o primeiro micrótomo, obtendo as lâminas histológicas do lenho de árvores ocorrentes na França, apresentando-as na Exposição Universal (1889), além da publicação do livro “Constitution anatomique du bois”.

Na Alemanha, na mesma época, Robert Hartig difundiu os princípios da identificação das madeiras pela análise da sua estrutura. A literatura especializada reporta as significativas contribuições de pesquisadores em inúmeras instituições de pesquisa e universidades de diferentes países.

O Brasil destacou-se nas pesquisas em anatomia da madeira pelos trabalhos de Milanez (1925), Miranda Bastos (1926) e Mattos Filho (1947) no Jardim Botânico do Rio de Janeiro e Aranha Pereira e Calvino Mainieri no Laboratório de Ensaio de Materiais da Escola Politécnica de São Paulo, hoje Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo – IPT (Ferreirinha, M. Elementos de anatomia de folhosas portuguesas. 135p. 1958).

### Anatomia, aplicações e tecnologia da madeira

Considera-se que os avanços na anatomia da madeira tiveram estreita relação com o aperfeiçoamento do microscópio ótico no início do século XIX.

No entanto, seja com observações a olho nu e/ou com instrumentos óticos primitivos a anatomia da madeira mostrou significativa evolução como uma importante ciência, desde as primeiras referências da Grécia antiga.

Anteriormente, os conhecimentos milenares das comunidades tradicionais, transmitidos de geração a geração, propiciaram a caracterização e utilização da madeira de espécies florestais para usos específicos (energia, habitação, armas, embarcações, etc.) de “forma empírica”. A literatura indica que a análise da estrutura da madeira - desde os primórdios da anatomia – visavam, dentre outros aspectos, a descrição da variação intra e interespecífica, a identificação das espécies, a sistemática botânica, filogenia, a relação com as propriedades e utilização da madeira, etc.

Posteriormente, a anatomia da madeira transformou-se na ciência básica para o entendimento dos processos fisiológicos no tronco das árvores, da anisotropia e retratibilidade da madeira, das relações com o ambiente – anatomia ecológica e dendrocronologia, etc.

Neste aspecto, dentre inúmeros registros da literatura, destaca-se o de Mathieu (1854), nos primórdios da anatomia como ciência, indicando que “as aplicações tão variadas da madeira são consequência da composição e estrutura de que resultam as suas propriedades”.

### Anatomia, metodologias e evolução

A anatomia da madeira como ciência iniciou-se com o preparo de seções finas da madeira confeccionadas manualmente e/ou com equipamentos rudimentares, observadas à olho nu, ou com auxílio dos primeiros equipamentos óticos.

O desenvolvimento do micrótomo de madeira, por André Thil (1849-1918), do microscópio ótico e das técnicas histológicas de preparo de lâminas das seções da madeira propiciaram as condições básicas para a evolução do ensino e das pesquisas da anatomia da madeira em inúmeros países do mundo.

A evolução da anatomia da madeira e das ciências correlatas seguiu-se com o desenvolvimento de novos microscópios (polarização, fluorescência, contraste de fase, mais recentemente, confocal, etc.).

Os avanços na análise da ultraestrutura da madeira foram possíveis com os microscópios eletrônicos de transmissão (MET) e de varredura (MEV). Ainda, na linha de pesquisas de análise da imagem da estrutura anatômica da madeira, seguiram-se novos avanços com a aplicação da tomografia e da microtomografia de raios X, de ressonância magnética, da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), da microdensitometria de raios X, dentre outros.

Os resultados da evolução da anatomia da madeira, seus ramos e aplicações, as relações com a tecnologia e utilização da madeira, incluindo a utilização dos simples microscópios óticos até os mais sofisticados e modernos equipamentos podem ser aferidos através das revistas especializadas, principalmente a publicada há décadas pela “International Association of Wood Anatomy”- IAWA, denominada de IAWA Journal. Pelo

exposto, o presente trabalho tem como objetivo discutir a anatomia e relação com a tecnologia da madeira, com ênfase às metodologias e a sua evolução nos laboratórios das instituições de pesquisa e universidades no Brasil.

### Anatomia da madeira no Brasil: aspectos históricos

As pesquisas na área de anatomia de madeiras foram iniciadas no Brasil, na década de 20, por Arthur de Miranda Bastos, Fernando Romano Milanez e José Aranha Pereira. Em 1930, os anatomistas de madeira brasileiros participaram do 5º Congresso Internacional de Botânica realizado em Cambridge, sendo discutida a importância da padronização da terminologia e da criação de uma associação internacional. Esta associação foi instalada no Congresso Internacional de Silvicultura em Paris, em 1931 e, em 1930, foi realizada a 1ª Reunião de Anatomistas Brasileiros no Rio de Janeiro. Esta reunião foi organizada por F. R. Milanez e por A. de M. Bastos, sendo apresentados 10 trabalhos científicos, além das conclusões e recomendações referentes ao tema da anatomia e propriedades da madeira.

A partir desta data inúmeros anatomistas da madeira se destacaram: Calvino Mainieri, Armando de Mattos Filho, Paulo Agostinho de Matos Araújo, Eduardo Cunha Mello, Sérgio Tavares, dentre outros.

A anatomia da madeira apresentou, a partir dos primeiros trabalhos, um significativo desenvolvimento, principalmente na identificação e nas propriedades da madeira de espécies arbóreas, em um país com elevada diversidade florestal.

O número atual de anatomistas de madeira nos Institutos e Universidades demonstra a importância e nível atingido por esta ciência no Brasil. Entretanto, a dispersão das informações técnico-científicas constitui, atualmente, na principal limitação para as consultas dos pesquisadores e interessados nesta área.

### Referências bibliográficas

- Anônimo. 1937. Annaes da Primeira Reunião de Anatomistas do Brasil realizada em Setembro de 1936. **Revista Rodriguésia**, ano III, n. 11, p. 302-384.
- Ferreirinha, M. P. 1958. **Elementos da anatomia de Madeiras**. Lisboa: Junta de Investigação do Ultramar. Memórias 3. 133 p.

# Aspectos biogeográficos e componentes ecológicos na distribuição de samambaias e licófitas no Brasil

**Augusto César Pessôa Santiago**

Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.  
augustosantiago@hotmail.com

As samambaias e licófitas compreendem duas linhagens evolutivas de plantas vasculares, anteriormente designados sob o nome “pteridófitas” (Smith *et al.* 2008). Este termo abrangia as plantas vasculares sem sementes, com marcada alternância de gerações, apresentando duas fases de vida livre, sendo o gametófito passageiro e o esporófito duradouro. Com os avanços nos estudos de filogenia molecular, na última década foi possível entender que as “pteridófitas” não constituíam um grupo monofilético, sendo representadas por duas linhagens evolutivas, onde o clado das samambaias (incluindo cavalinhas e psilotáceas) é grupo irmão das plantas com sementes (Pryer *et al.* 2001; Smith *et al.* 2008).

Estes dois grupos foram avaliados como um conjunto em diversos aspectos nos trabalhos mais antigos, incluindo distribuição e ecologia das espécies. Assim se torna muito difícil desmembrar alguns dados em relação a riqueza florística de vários trabalhos, bem como aplicar alguns conceitos de distribuição ou considerações ecológicas separadamente para cada grupo.

Outro aspecto importante, ressaltado por Moran (2008), é que os estudos filogenéticos apontaram para uma grande mudança no

sistema de classificação destas plantas. As novas delimitações de famílias e gêneros, por exemplo, podem mudar o panorama relacionado à distribuição geográfica dos táxons de samambaias e licófitas. Alguns novos gêneros propostos (ex. *Moranopteris* Hirai & Prado e *Mickelia* R.C. Moran, Labiak & Sundue) são formados por espécies Neotropicais, e anteriormente estavam inseridos em gêneros que ocorrem no velho mundo. Assim, apesar da alta capacidade de dispersão, devido a seus esporos, é possível que aspectos comparativos no nível de gêneros, como os propostos por Smith (1972), tenham que ser reavaliados numa nova perspectiva.

Samambaias e licófitas possuem distribuição cosmopolita. Representantes destes grupos podem viver numa vasta gama de ambientes, incluindo regiões próximas aos círculos polares e até em áreas semiáridas, como por exemplo, na Caatinga (Windisch 1990; Xavier *et al.* 2012). Contudo, a maioria das espécies apresenta uma preferência pelas florestas úmidas das regiões tropicais, sendo observado que os centros de diversidade estão relacionados a locais com grande diversidade ecológica e normalmente associados a regiões serranas e com elevada precipitação (Tryon & Tryon 1982; Tryon 1986;



Moran 2008). Cerca de 65% das espécies ocorrem em ambientes tropicais úmidos, umas poucas vivem em regiões de clima temperado (15%), tropical xérico (15%) e tropical alpino (5%) (Tryon & Tryon 1982). É interessante observar também que algumas áreas do globo merecem destaque quanto à riqueza e endemismo da flora destes grupos, já que concentram mais de 500 espécies e níveis de endemismo superiores a 30% (Tryon 1972).

### **A riqueza de espécies de samambaias e licófitas no Brasil e fatores importantes na sua distribuição**

Mundialmente as samambaias são representadas por cerca de 12.240 espécies e as licófitas por 1.360, num total de 13.600, onde 3.500 são estimadas para a América do Sul (Moran 2008). No Brasil são registradas 1.107 espécies de samambaias e 137 licófitas, representando cerca de 9% e 10% do total encontrado para o mundo, respectivamente (Carvalho *et al.* 2012; Prado & Sylvestre 2013).

O Brasil é um país de dimensões continentais com posição essencialmente tropical, com uma região costeira ampla e boa parte do território se estendendo ao interior do continente. Essa disposição geográfica, somada as condições de relevo e clima, leva a uma considerável diversificação de ecossistemas e conseqüentemente a uma grande riqueza de fauna e flora, incluindo as samambaias e licófitas.

Na Lista da Flora do Brasil são apresentados dados de distribuição geográfica das espécies, considerando-se endemismos, domínios fitogeográficos e localização por estado da federação destas espécies (Prado & Sylvestre 2013). Considerando-se os dois grupos, merecem destaque os estados de Minas Gerais (686 spp.), São Paulo (573 spp.) e Rio de Janeiro (535 spp.) (Prado & Hirai 2011; Salino 2011; Prado & Sylvestre 2013). Por outro lado, alguns estados possuem poucas espécies registradas, como o Piauí (22 spp.), Sergipe (18 spp.) e Rio Grande do Norte

(13 spp.), o que, entretanto, pode estar associado ao fato de não terem sido conduzidos estudos florísticos sistematizados nestas localidades.

Para Minas Gerais, Almeida (2009) destaca que as áreas mais ricas em espécies de samambaias e licófitas estão no nível entre 800 e 1500 metros de altitude. Em suas análises a autora também relata a influência dos padrões de temperatura na distribuição das espécies.

Apesar do grande avanço de estudos nas últimas décadas sobre a flora de samambaias e licófitas no Brasil, ainda há muito para se entender sobre estes grupos em território nacional, no que se refere a vários aspectos, como composição, distribuição, resposta as alterações ambientais, fatores importantes para seu estabelecimento e desenvolvimento, entre outros, quer seja numa perspectiva atual ou histórica.

Trabalhos de coletas em áreas não exploradas, como observado por Salino (2011), têm acrescentado espécies em listas regionais, contribuído com o acréscimo de espécies conhecidas em território brasileiro e também com a descoberta de novas espécies para a ciência.

Considerando os domínios fitogeográficos do país, temos em destaque a Mata Atlântica com cerca de 840 espécies (Salino & Almeida 2009). Em seguida temos a Amazônia com cerca de 460 espécies, o Cerrado com 240, o Pantanal com 120, a Caatinga (região semiárida) com 50 e os Pampas com apenas cinco espécies (Figura 1) (Assis 2007; Xavier *et al.* 2012; Carvalho *et al.* 2012; Prado & Sylvestre 2013; Xavier *et al.* dados inéditos).

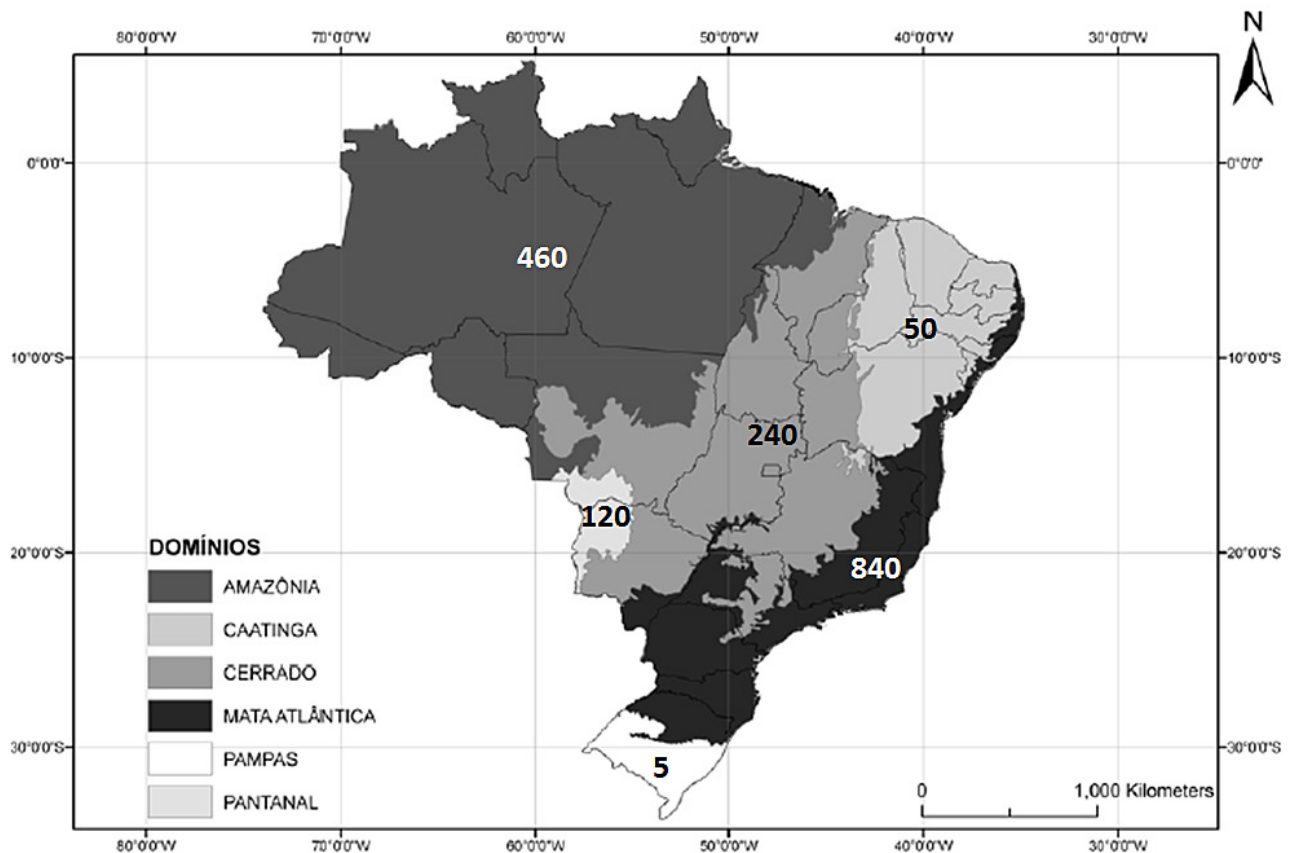


Figura 1 - Riquezas de espécies de samambaias e licófitas nos Domínios Fitogeográficos do Brasil.  
(Mapa modificado de Forzza et al. 2010)

Mesmo na Caatinga e no Cerrado, muitas espécies são associadas aos locais com certa umidade e com reservas ou cursos d'água. No Cerrado, a maioria das espécies está associada às formações florestais deste domínio (Mendonça et al. 1998). Poucas espécies de samambaias e licófitas suportam os ambientes mais xéricos como os da Caatinga, destacando-se algumas espécies decíduas (*Adiantum deflectens* Mart.) ou poiquilohídricas (*Anemia filiformis* (Cav.) Sw., *Doryopteris concolor* (Langsd. & Fisch.) J. Sm., *Pleopeltis polypodioides* (L.) Andrews & Windham, *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring e *Selaginella sellowii* Hieron) (Xavier et al. 2012). As espécies aquáticas das famílias Azollaceae, Marsileaceae, Salviniaceae (com esporocarpos) e Isoetaceae (com o corno subterrâneo protegendo os esporos), também se destacam nos ambientes da Caatinga, apresentando notável adaptação aos

ambientes com sazonalidade marcante (Xavier et al. 2012).

A distribuição de espécies, nos domínios fitogeográficos brasileiros, evidencia a preferência destes grupos para os ambientes de florestas úmidas, fato amplamente discutido nas abordagens biogeográficas (Moran 2008), onde aparecem a Floresta Atlântica e Amazônia com o maior número de espécies.

Um fato importante a ser destacado é que, enquanto na Amazônia brasileira o nível de endemismo chega a pouco mais de 5%, na Floresta Atlântica chega a 32% (Salino & Almeida 2009; Prado & Sylvestre 2013). Este fato foi relatado por Tryon (1972) que considerou as florestas do Sudeste brasileiro como um dos importantes centros de endemismo e especiação das "pteridófitas" na América. As áreas destacadas

pelo autor, normalmente estão associadas a regiões com altitudes elevadas. No caso da Floresta Atlântica, o trecho das áreas Sul-Sudeste concentra a maior parte das espécies endêmicas, com algumas se estendendo a porção da Floresta Atlântica ao norte do Rio São Francisco (Floresta Atlântica Nordestina), e nenhuma é exclusiva desta última região.

Em relação à importância das montanhas na diversidade e no endemismo de pteridófitas, Moran (1995) traz uma série de exemplos de famílias e gêneros que são normalmente mais diversificados ou até exclusivos de regiões serranas. A maioria das regiões que apresentam alta riqueza de espécies destes grupos são áreas montanhosas, como Nova Guiné (2.000 spp.), Andes (2.500 spp.), Costa Rica (1.165 spp.) e Sul-Sudeste do Brasil (cerca de 800 spp.) (Tryon 1986; Moran 1995; Prado & Sylvestre 2013).

Muitos grupos Neotropicais, como Lycopodiaceae, Cyatheaceae, samambaias gramitidóides (Polypodiaceae), *Diplazium* Sw., *Hymenophyllum* J. Sm., *Ctenitis* (C. Chr.) C. Chr., *Elaphoglossum* Schott.ex J.Sm., *Stigmatopteris* C. Chr., entre outros, tendem a ser mais ricos em regiões montanhosas (Moran 1995). A causa da riqueza de espécies e do alto número de endemismo nas regiões montanas é foco de grande debate. A variedade de habitats encontrados nestes locais, criados pela diferença na elevação, inclinações, diferentes exposições a luz e ventos, solos, tipos de rochas, estrutura da vegetação, entre outros (Brade 1942; Moran 1995), tendem a oferecer uma variedade de nichos que podem ser ocupados por espécies que requerem microhabitats diferentes.

Brade (1942), para a Serra do Itatiaia (RJ) e Windisch & Tryon (2001), para a Serra Ricardo Franco (MT), trazem significantes contribuições sobre a importância da altitude na composição da flora local. Os autores abordam a distribuição das espécies encontradas, indo desde espécies com ampla distribuição a interessantes casos de disjunções, como os elementos andinos, discutindo os aspectos que podem ter contribuído

com esta composição, como a expansão e retração das florestas, de acordo com mudanças no paleoclima em função dos ciclos glaciais.

O aspecto do histórico das áreas montanhosas também se revela um importante fator na riqueza e endemismo das samambaias e licófitas. Eventos paleoclimáticos são associados ao reduzido número de espécies da flora da África Tropical e ao baixo número de espécies endêmicas verificado em parte da Argentina, onde as alterações foram mais marcantes (Tryon 1986; Kornás 1993; Ponce *et al.* 2002). Na América do Sul, na região dos Andes e na porção Sudeste da Floresta Atlântica brasileira, as condições climáticas permaneceram mais estáveis, possivelmente tendo poucas alterações na vegetação (Bigarella *et al.* 1975). Assim, nestas regiões houve um maior tempo para especiação do grupo e hoje são consideradas centro de endemismos e diversidade na América (Tryon 1986). A diversidade de habitats nestas regiões serranas e a manutenção das condições climáticas, durante as épocas passadas, ofereceram condições ideais para a diversificação do grupo (Tryon 1986; Kornás 1993). Numa faixa estreita da costa do Chile, onde as alterações também não foram tão severas, apesar de apresentar poucas espécies, são registrados 77% dos endemismos do Cone Sul (Ponce *et al.* 2002).

Quando consideramos a Floresta Atlântica Nordestina se observa que esta sofreu grandes alterações no último período glacial, assim como boa parte da bacia Amazônica brasileira (ver Bigarella *et al.* 1975). Tudo indica que estas áreas sofreram forte redução de sua estrutura florestal, ficando com uma paisagem dominada por florestas semiáridas. Outro aspecto que pode ter afetado o número de espécies de pteridófitas na Floresta Atlântica ao Norte do São Francisco também deve ter sido a grande influência gerada pela imensa devastação das áreas florestadas da região desde a colonização e que já foram reduzidas a menos de 8% da área original (Tabarelli *et al.* 2002).

A análise da resposta das samambaias e licófitas as alterações ambientais causadas pela

antropização também é uma importante vertente para se entender a distribuição destes grupos em alguns ecossistemas. Muitas samambaias tendem a perecer em condições adversas, principalmente as epífitas (de la Sota 1971). De um modo geral o processo de fragmentação e suas consequências tendem a diminuir a diversidade e espécie de vários grupos, visto que ocorre uma alteração nas condições microclimáticas (Primack & Rodrigues 2001).

Os trabalhos com esta abordagem ainda são escassos no Brasil e em regiões como a da Floresta Atlântica Nordeste, onde a maioria dos fragmentos está reduzido a menos de 50 ha, a análise dos efeitos de fragmentação pode ser muito importante para nortear estratégias de conservação e fazer inferências biogeográficas. A fragmentação leva a uma série de alterações, onde a perda de elementos florestais pode levar a um aumento da incidência de ventos e da irradiância solar, que levam a uma queda na umidade local, uma das condições essenciais para o estabelecimento e desenvolvimento das samambaias e licófitas. Em alguns pequenos fragmentos na Floresta Atlântica Nordeste também é possível observar a alteração, ou perda total, dos cursos de rios e córregos.

Considerando o limite desta Floresta, Barros *et al.* (2006) analisaram a relação de diversidade e riqueza de samambaias e licófitas em fragmentos com diferentes tamanhos. Foi encontrada uma correlação positiva entre o tamanho do fragmento e a riqueza de espécies. Além da riqueza pode ser observado também que a composição é muito diferente, estando as espécies mais raras restritas aos maiores fragmentos e também aqueles que apresentam um bom manancial hídrico.

Silva *et al.* (2011) observaram a influência negativa do efeito de borda em um fragmento de Floresta Atlântica Nordeste, onde o ambiente de interior apresentou maior riqueza e diversidade de espécies quando comparado com o ambiente de borda,. Além disso, os autores registraram

a diferença encontrada na composição das comunidades entre estes dois ambientes. Este padrão foi observado também por Paciencia & Prado (2004, 2005a, b) analisando uma paisagem fragmentada no sul da Bahia. O avanço destes estudos poderá proporcionar a classificação de espécies bioindicadoras que serão importantes em futuros estudos de conservação.

É possível que o processo de devastação das Florestas nordestinas tenha levado algumas espécies a extinção local e outras a ficarem restritas em poucas localidades (Santiago & Barros 2002; Santiago 2006). Espécies coletadas nas décadas de 70 e 80, não são mais recoletadas em alguns fragmentos, como nas serras de Caruaru e Taquaritinga do Norte (obs. Pessoal).

Ainda assim, estudos recentes, principalmente em florestas serranas, tem trazido o registro de novas ocorrências para a região (Santiago *et al.* 2004; Santiago *et al.* 2013). Contudo, estas áreas continuam sob constante ameaça da ação antrópica. Isto não é uma exclusividade da Floresta Atlântica Nordeste, mas esta é a porção mais devastada da Floresta Atlântica no Brasil.

Outro aspecto que merece destaque é a relação edáfica apresentada pelos grupos. Estudos na Amazônia vêm avaliando esta relação e discutindo a composição florística das áreas em resposta ao tipo de solo, estrutura da floresta e distância entre os sítios (Tuomisto *et al.* 2002; Ruokolainen *et al.* 2007; Zuquim *et al.* 2007, 2008). Estes trabalhos mostram a importância da diferenciação de nicho na determinação das comunidades de pteridófitas em diversas escalas, mesmo que este fator não consiga explicar toda variação presente, observando-se em alguns casos que também há influência da limitação de dispersão.

Os aspectos ecológicos podem ser importantes também na delimitação de espécies. Lehtonen & Tuomisto (2007) descreveram uma nova espécie de *Lindsaea* Pic. Serm. (*L. digitata*), destacando a diferença nos aspectos ecológicos



das espécies, morfologia da fronde jovem e genética.

Paciencia (2008) realizou uma análise da flora de samambaias e licófitas ao longo de um gradiente altitudinal em áreas da Serra do Mar no estado do Paraná e observou a influência dos aspectos abióticos do solo e da estrutura física de floresta na riqueza geral observada. Também observou que cotas altitudinais semelhantes, mesmo em morros distantes eram mais similares quanto a composição florística, do que cotas adjacentes de uma mesma montanha.

O autor traz uma interessante discussão sobre os modelos de diferenciação de nicho e de limitação da dispersão para as samambaias e licófitas. Destaca que apesar da alta capacidade de dispersão, áreas mais próximas podem apresentar uma tendência de serem mais similares entre si, mas que as samambaias e licófitas também estão sujeitas a estreitas relações com os gradientes edáficos e estruturais das florestas tropicais, citando Tuomisto *et al.* (2002), Zuquim *et al.* (2007), Paciencia & Prado (2005b).

Desta forma, pode ser dito que ainda há um longo caminho no estudo da distribuição geográfica das samambaias e licófitas no território brasileiro. O conhecimento das espécies ocorrentes no país ainda está longe de ser finalizado e os estudos nas diversas áreas da ecologia poderão trazer importantes contribuições para o entendimento da distribuição das espécies e seus requisitos, bem como abordagens em genética de populações poderão ajudar a compreender a história evolutiva das diferentes regiões.

### Agradecimentos

Ao Dr. Mateus L. B. Paciencia pela leitura e sugestões no texto.

### Referências bibliográficas

- Almeida, T.E. 2009. **Análise quantitativa da distribuição das espécies de pteridófitas ocorrentes no estado de Minas Gerais, Brasil.** Dissertação de Mestrado. 53f. Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Assis, E.L. 2007. **Pteridófitas da borda oeste do Pantanal Sul-Matogrossense, Brasil.** Dissertação de Mestrado. 187f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Barros, I.C.L.; Santiago, A.C.P.; Pereira, A.F.N. & Pietrobon, M.R. 2006. Pteridófitas. Pp 148-171. In: Porto, C.K.; Almeida-Cortez, J.S. & Tabarelli, M. (Eds). **Diversidade Biológica e Conservação da Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco.** Brasília, Ministério do Meio Ambiente.
- Bigarella, J.J.; Andrade-Lima, D. & Rihes, P.J. 1975. Considerações a respeito das mudanças paleoambientais na distribuição de algumas espécies vegetais e animais no Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 47(supl.): 411-464.
- Brade, A.C. 1942. A composição da flora pteridofita do Itatiaia. Contribuição para a fitogeografia dessa região. **Rodriguésia** 6(15): 29-43.
- Carvalho, F.A.; Salino, A. & Zartman, C.E. 2012. New Country and Regional Records from the Brazilian Side of Neblina Massif. **American Fern Journal** 102(3): 228-232.
- Forzza, R. C.; Baumgratz, J.F.; Bicudo, C.E.M. *et al.* 2010. Pp. 21-42. Síntese da Diversidade. In: Forzza, R.C. *et al.* (Org.). **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil v.1.** 1ed. Rio de Janeiro, Andrea Jakobsson Estúdio & Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Kornás, J. 1993. The significance of historical factors and ecological preference in the distribution of African pteridophytes. **Journal of Biogeography** 20: 281-286.
- De la Sota, E.R. 1971. El epifitismo y las pteridofitas en Costa Rica (América Central). **Nova Hedwigia** 21: 401-465.
- Lehtonen, S. & Tuomisto, H. 2007. Ecological and genetic notes on *Lindsaea digitata* (Lindsaeaceae), a new fern species from western Amazonia. **Nordic Journal of Botany** 25: 145-151.

- Mendonça, R.C.; Felfili, J.M.; Walter, B.M.T.; Silva Júnior, M.C.; Rezende, A.V.; Filgueiras, T.S. & Nogueira, P.E. 1998. Pp. 287-556. Flora Vascular do Bioma Cerrado. In: Sano, S.M.; Almeida, S. P. (Orgs.). **Cerrado: Ambiente e Flora**. 1ªed. Planaltina, Embrapa – CPAC.
- Moran, R.C. 1995. The importance of mountains to pteridophytes, with emphasis on Neotropical Montane Forests. Pp. 359-363. In: Churchill, S.P. Baslev, H., Forero, E. & Luteyn, J.L. (Eds.). **Biodiversity and conservation of Neotropical Montane Forests**. New York, The New York Botanical Garden.
- Moran, R.C. 2008. Diversity, biogeography, and floristics. Pp. 397-394. In: Ranker, T.A. & Haufler, C.H. (Eds.). **Biology and evolution ferns and lycophytes**. New York, Cambridge University Press.
- Paciencia, M.L.B. 2008. **Diversidade de pteridófitas em gradientes de altitude na Mata Atlântica do Estado do Paraná, Brasil**. 229f. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Paciencia, M.L.B. & Prado J. 2004. Efeitos de borda sobre a comunidade de pteridófitas na Mata Atlântica da região de Una, sul da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 27(4): 641-653.
- Paciencia, M.L.B. & Prado J. 2005a. Distribuição espacial da assembléia de pteridófitas em uma paisagem fragmentada de Mata Atlântica no sul da Bahia, Brasil. **Hoehnea** 32(1): 103-117.
- Paciencia, M.L.B. & Prado J. 2005b. Effects of Forest fragmentation on pteridophyte diversity in a tropical rain Forest in Brazil. **Plant Ecology** 180: 87-104.
- Ponce, M.; Mehltreter, K. & de la Sota, E.R. 2002. Análisis biogeográfico de la diversidad pteridofítica en Argentina y Chile continental. **Revista Chilena de Historia Natural** 75: 703-717.
- Prado, J. & Hirai, R.Y. 2011. Checklist das licófitas e samambaias do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica** 11(supl.1): 161-190.
- Prado, J. & Sylvestre, L. 2013. **Samambaias e Licófitas** in: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/florado-brasil/FB128483>)
- Primack, R.B. & Rodrigues, H. 2001. **Biologia da Conservação**. Londrina: Editora Midiograf.
- Pryer, K.M.; Schneider, H.; Smith, R.; Cranfill, R.; Wolf, P.G.; Hunt, J.S. & Sipes. 2001. Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants. **Nature** 409: 618–622.
- Ruokolainen, K.; Tuomisto, H.; Macía, M.J.; Higgins, M.A. & Yli-Halla, M. 2007. A floristic and edaphic patterns in Amazonian rain forest congruent for tress, pteridophytes and Melastomataceae. **Journal of Tropical Ecology** 23: 13-25.
- Salino, A. 2011. Perspectivas de estudos de pteridófitas em regiões inexploradas do Brasil. Pp260-263. In: Lucena, E.M.P. & Amorim, A.V. (Org.). **Botânica e Desenvolvimento Sustentável**. Fortaleza: Editora Universidade Estadual do Ceará.
- Salino, A. & Almeida, T.E. 2009. Pteridófitas. Pp. 19-25. In: Stehmann, J.R.; Forzza, R.; Salino, A.; Sobral, M.; Costa, D.P. & Kamino, L.H.Y. (Org.). **Plantas da Floresta Atlântica**. 1ed. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Santiago, A.C.P. 2006. **Pteridófitas da Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco: Florística, Biogeografia e Conservação**. Tese de Doutorado. 124 f. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Santiago, A.C.P. & Barros, I.C.L. 2002. Florestas Serranas de Pernambuco e sua pteridoflora: Necessidade de Conservação. Pp. 563-573. In: **Anais do III Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação**. Fortaleza: Rede PROUC e Fundação O Boticário.
- Santiago, A.C.P.; Barros, I.C.L. & Sylvestre, L.S. 2004. Pteridófitas Ocorrentes em três Fragmentos Florestais de um Brejo de Altitude (Bonito, Pernambuco, Brasil). **Acta Botanica Brasilica** 18(4): 781-792.
- Santiago, A.C.P.; Xavier, S.R.S.; Pietrobon, M.R.S. & Barros, I.C.L. 2013. *Pecluma recurvata* (Kaulf.) M.G. Price (Polypodiopsida: Polypodiaceae): Distribution extension in Atlantic Forest, Brazil. **Check List** 9(3): 670–671.
- Silva, I.A.A.; Pereira, A.F.N. & Barros, I.C.L. 2011. Edge effects on fern community in an Atlantic Forest remnant of Rio Formoso, PE, Brazil. **Brazilian**



- Journal of Biology** 71(2): 421-430.
- Smith, A.R.. 1972. Comparison of Fern and Flowering Plant Distribution with Some Evolutionary Interpretations for Ferns. **Biotropica** 4(1): 4-9.
- Smith, A.R.; Pryer, K.M.; Schuettpelz, E.; Korall, P.; Schneider, H. & Wolf, P.G. 2008. Fern classification. Pp. 417-467. In: Ranker, T.A. & Haufler, C.H. (Eds.). **Biology and evolution ferns and lycophytes**. New York, Cambridge University Press.
- Tabarelli, M.; Martins, J.F. & Silva, J.M. 2002. La biodiversidad brasileña amenazada. **Investigación e Ciencia** 308:42-49.
- Tryon, R.M. 1972. Endemic Areas and Geographic Speciation in Tropical American Ferns. **Biotropica** 4(3): 121-131.
- Tryon, R.M. 1986. The biogeography of species, with special reference to ferns. **The Botanical Review** 52: 117-156.
- Tryon, R.M. & Tryon, A.F. 1982. **Ferns and Allied Plants with Special Reference to Tropical America**. New York, Springer - Verlag.
- Tuomisto, H.; Ruokolainen, K.; Poulsen, A.D.; Moran, R.C.; Quintana, C.; Cañas, G. & Celi, J. 2002. Distribution and diversity of pteridophytes and Melastomataceae along edaphic gradients in Yasuní National Park, Ecuadorian Amazonia. **Biotropica** 34(4): 516-533
- Xavier, S.R.; Barros, I.C.L. & Santiago, A.C.P. 2012. Ferns and lycophytes in Brazil's semi-arid region. **Rodriguésia** 63(2): 483-488.
- Windisch, P. G. 1990. **Pteridófitas da Região Norte-Ocidental do Estado de São Paulo - Guia para excursões**. São José do Rio Preto, UNESP.
- Windisch, P.G. & Tryon, R.M. 2001. The Serra Ricardo Franco (State of Mato Grosso, Brazil) as probable migration route and its present fern flora. **Bradea** 8(39): 267-276,
- Zuquim, G.; Costa, F.R.C. & Prado, J. 2007. Fatores que determinam a distribuição de espécies de pteridófitas da Amazônia Central. **Revista Brasileira de Biociências**, 5(supl. 2): 360-362.
- Zuquim, G.; Costa, F.R.C.; Prado, J. & Braga-Neto. 2009. Distribution of pteridophyte communities along environmental gradients in Central Amazonia, Brazil **Biodiversity and conservation** 18: 151-166.

# Banco de dados: uma ferramenta para o estudo de plantas medicinais

**Mara Rejane Ritter<sup>1</sup> & Stela Maris Kuze Rates**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>1</sup> Autor para correspondência: mara.ritter@ufrgs.br

O levantamento de dados através de trabalhos de revisão é uma ferramenta que contribui para a análise de um grande número de informações associadas, que muitas vezes não são percebidas quando analisadas individualmente. O armazenamento destas informações em bancos de dados informatizados facilitam o gerenciamento e a análise das mesmas, disponibilizando informações coerentes para pesquisadores e outros usuários (Ningthoujam *et al.* 2012). Também facilitam a transmissão e o compartilhamento do conhecimento entre os pesquisadores.

A grande maioria dos trabalhos etnobotânicos realizados no Brasil aborda pesquisas sobre plantas medicinais, o que já foi relatado por Oliveira *et al.* (2009), que constataram que 64% das publicações analisadas referiam-se a pesquisas com este tema. Isto também se observa no Rio Grande do Sul, principalmente a partir da década de 90, quando começam a surgir mais estudos sobre plantas medicinais.

A maioria dos trabalhos ainda é descritiva, contemplando apenas dados qualitativos. Este fato já havia sido detectado por Oliveira *et al.* (2009) em relação aos trabalhos em Etnobotânica realizados no Brasil. Os mesmos autores destacam a importância dos pesquisadores realizarem também abordagens quantitativas, as quais são complementares às qualitativas.

A falta de uniformidade entre a

metodologia empregada nos trabalhos é um dos problemas enfrentados, o que pode prejudicar algumas análises. Apesar de variações nas abordagens, as informações disponíveis permitem uma visão mais ampla do tema, principalmente para áreas regionais específicas, detectando lacunas ou sobreposições de esforços de coleta de dados.

Nesse contexto, elaborou-se um projeto de pesquisa que partiu de uma revisão bibliográfica de levantamentos etnobotânicos referentes à utilização de plantas medicinais, realizados no Rio Grande do Sul. Vários destes estudos foram realizados na forma de trabalhos de conclusão de curso de graduação e de dissertações de mestrado, desde a década de 90. Os dados obtidos nesses trabalhos, como as espécies vegetais citadas como medicinais e seus usos, foram registrados em um banco de dados fomentado por pesquisadores e alunos do Departamento de Botânica (Instituto de Biociências) e do Departamento de Produção de Matéria Prima (Faculdade de Farmácia) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

O principal objetivo desta revisão é reunir informações sobre as plantas medicinais utilizadas pela população do Rio Grande do Sul, nas diferentes regiões fisiográficas do Estado. Estas informações permitem a realização de outros estudos, como a validação do uso de espécies medicinais e análise dos riscos para a saúde da população, contribuindo para a utilização segura

de plantas medicinais (Trojan-Rodrigues *et al.* 2012).

No Rio Grande do Sul, a medicina popular é bastante difundida, principalmente no meio rural, onde a população enfrenta dificuldade em acessar os serviços de atenção primária à saúde (Souza *et al.*, 2004). Já nas áreas urbanas, o uso de plantas para tratamentos de saúde aumentaram consideravelmente. Brasileiro *et al.* (2008) afirmam que a utilização de plantas medicinais é uma constante nas áreas urbanas, pois em seu estudo, poucas pessoas afirmaram que não utilizam plantas medicinais.

Até o momento, localizou-se 28 levantamentos etnobotânicos realizados no Rio Grande do Sul. Outros trabalhos não foram incluídos neste estudo por apresentarem problemas metodológicos, como a falta de informações na coleta de dados, a identificação incorreta de espécies ou a falta de rigor científico.

As espécies utilizadas como medicinais pela população são colocadas no banco de dados e os nomes científicos válidos e as eventuais sinonímias das espécies citadas são confirmadas em bases de dados como *Tropicos* (2013) e *The Plant List* (2013). As famílias botânicas são atualizadas pelo sistema de classificação APG III (Stevens 2011).

Vários estudos a partir do banco de dados de plantas medicinais já puderam ser realizados, como:

- **Plantas nativas do Rio Grande do Sul utilizadas como medicinais** (gerou um Trabalho de Conclusão de Curso). Foram compilados nove levantamentos etnobotânicos. Os estudos analisados citaram em seu conjunto 475 espécies utilizadas na medicina popular do RS. Dessas, 229 são nativas no Estado. Entre os usos mais citados destacam-se aqueles relacionados a problemas circulatórios, digestórios e urinários.

- **Plantas utilizadas na medicina popular como antidiabéticas** (gerou uma dissertação de Mestrado e um artigo publicado: Trojan-

Rodrigues *et al.* (2012). Foram consultados 16 levantamentos etnobotânicos realizados no Estado e selecionadas as espécies utilizadas no tratamento de diabetes. Foram citadas 83 espécies, distribuídas em 42 famílias, sendo as mais representativas Asteraceae e Myrtaceae, com 16 e oito espécies respectivamente. Vinte e oito espécies apresentaram ao menos duas citações de uso para diabetes no Estado.

- **Plantas utilizadas como medicinais com indícios de toxicidade** (gerou um Trabalho de Conclusão de Curso) – Foram compilados 19 estudos etnobotânicos. Foram registradas 625 espécies utilizadas como medicinais, predominando as nativas do Brasil com 314 espécies. Foram listadas 33 espécies citadas em 13 ou mais trabalhos, sendo a pitanga (*Eugenia uniflora* L.) aquela que aparece em todos os 19 trabalhos. As buscas na bibliografia especializada revelaram que 23 das 33 espécies apresentam algum indício de toxicidade.

- **Plantas utilizadas na medicina popular para tratamento da dor** (gerou um artigo que está submetido à publicação) - Foram compilados 19 estudos etnobotânicos. As espécies nativas do Rio Grande do Sul citadas para tratamento da dor em pelo menos 50% dos trabalhos foram selecionadas, num total de 34 espécies. As espécies mais mencionadas para dor foram *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., *Baccharis articulata* (Lam.) Pers, *Baccharis trimera* (Less.) DC., *Coronopus didymus* (L.) Sm., *Eugenia uniflora* L. e *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch.

- **Plantas medicinais com nome popular associado a medicamentos comerciais no Rio Grande do Sul, Brasil: uma análise exploratória do conhecimento popular e suas relações químicas e farmacológicas** (gerou uma dissertação de Mestrado) - Nos 27 levantamentos etnobotânicos selecionados foram encontradas 24 espécies com 22 diferentes nomes populares de medicamentos comerciais. 59% das espécies possuem seus usos populares concordantes com as indicações contidas nas bulas dos medicamentos comerciais.

• **Plantas utilizadas como medicinais para sintomas e ou doenças relacionadas ao SNC** (vai gerar um Trabalho de Conclusão de Curso; em fase inicial). Espécies vegetais utilizadas para tratamentos de sintomas e/ou doenças relacionadas à ansiedade e depressão (angústia, insônia, irritabilidade, tristeza, nervosismo, cansaço, desânimo, fadiga) citadas em estudos etnobotânicos serão selecionadas.

• **Espécies de Pteridófitas utilizadas como medicinais** (vai gerar um Trabalho de Conclusão de Curso; em fase inicial). Levantamento das espécies de pteridófitas citadas como medicinais nos estudos etnobotânicos, verificando quais seus usos e seus dados científicos.

• **Espécies da família Asteraceae utilizadas como medicinais** (vai gerar um Trabalho de Conclusão de Curso; em fase inicial). Levantamento das espécies da família Asteraceae citadas como medicinais nos estudos etnobotânicos, verificando quais seus usos e seus dados científicos.

Este projeto é dinâmico e a busca de informações obtidas em novos trabalhos fomenta o banco de dados, possibilitando novos estudos e novas abordagens.

## Referências Bibliográficas

Brasileiro, B. G.; Pizziolo V.R.; Matos, D.S.; Germano, A.M. & Jamal, C.M. 2008. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “Programa de Saúde da Família”, Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** **44**(4): 229-236.

Ningthoujam, S.S.; Talukdarb, A.D.; Potsangbamc, K.S. & Choudhury, M.D. 2012. Challenges in developing medicinal plant databases for sharing ethnopharmacological knowledge. **Journal of Ethnopharmacology** **141**: 9– 32.

Oliveira, F.C.; Albuquerque, U.P.; Fonseca-Kruel, V.S. & Hanazaki, N. 2009. Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil. **Acta Botanica Brasilica** **23**(2): 590-605.

Souza, G.C.; Haas, A.P.S.; von Poser, G. & Elisabetsky, E. 2004. Farmácias caseiras comunitárias do município de Maquiné (RS): uma avaliação etnofarmacológica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** **6**: 83-9.

Stevens, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012 [and more or less continuously updated since].” will do.

The Plant List. 2012. Version 1. Disponível em: <http://www.theplantlist.org>.

Trojan-Rodrigues, M.; Alves, T.L.S.; Soares, G.L.G. & Ritter, M.R. 2012. Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology** **139**:155–163.

Tropicos. 2012. **Missouri Botanical Garden (Mobot)**. Disponível em: <http://www.tropicos.org>.

# Bioma Pampa: relações solo-vegetação e experiências de restauração

**Ana Paula Rovedder**

Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil  
anarovedder@gmail.com

O termo Pampa deriva da língua indígena Quéchua e significa região plana, planície. O Pampa ocorre na chamada Metade Sul do Rio Grande do Sul, em parte da Argentina e no território uruguaio. Corresponde a 63% do território gaúcho e a 2,07% do território nacional (MMA, 2007). A classificação como bioma foi dada a partir de 2004 e ajudou a dar visibilidade à região, valorizando sua riqueza enquanto conjunto natural e ressaltando a necessidade de conservação.

O bioma pampa é o único bioma brasileiro que ocorre inteiramente em um único estado da federação. No ideário comum que nos remete ao Pampa a imagem mais frequente é a de extensos campos em planícies onduladas pelo vento. No entanto, a paisagem pampeana é bem mais diversa. As diferentes classes de solos e de relevo e as variações meteorológicas são as principais responsáveis pela diversidade paisagística, influenciando na composição dos ecossistemas. O componente florestal está presente em afloramentos rochosos, margens de mananciais hídricos e encostas declivosas.

A questão cultural também contribui para a diversidade do Pampa. Insulado em um país predominantemente tropical, sua posição meridional gerou um tipo humano único, capaz de conviver com os rigores do inverno e adaptar-se às possibilidades de sobrevivência proporcionadas pela paisagem. O gaúcho pampeano é a representação humana dessa formação, intimamente ligada à atividade pecuária. Esta é a atividade primordial do Pampa e ocorre de

forma extensiva, tendo no rebanho bovino o seu grande representante.

A introdução do rebanho bovino ocorreu em meados do século XVII, com o abandono de missões jesuíticas espanholas na região do Rio da Prata. Atualmente a pecuária ocorre tanto nos campos ditos nativos ou naturais e em pastagens cultivadas ou campos antrópicos para alguns autores.

Consensos em relação ao Pampa são raros. Um dos poucos diz respeito ao papel da pecuária na delimitação da tensão ecológica campo-floresta. A presença do gado não permite a colonização das áreas abertas pelo componente florestal, muito embora um clima propício. Nesse sentido também há uma compreensão de que a própria pecuária possa ser uma grande aliada na conservação do campo nativo, desde que seja feita respeitando-se a capacidade de suporte do ecossistema, o que ainda não é uma realidade.

Apesar de toda a riqueza de diversidade e história, o Pampa enfrenta obstáculos para preservar sua identidade e, ao mesmo tempo, permitir o desenvolvimento sustentável de suas comunidades humanas. Entre estes, pode-se citar a frequência de ocorrência de espécies exóticas invasoras, a ausência de planejamento apropriado às características do pampa, a degradação do solo, entre outras.

O presente texto tem por objetivo apresentar aspectos da relação da vegetação do pampa com as formações pedológicas, bem como os principais desafios que o bioma enfrenta para sua conservação.



## Relação solo-vegetação no bioma Pampa

O Bioma Pampa ocupa 62,2% do território do Rio Grande do Sul, delimitando-se ao norte, aproximadamente no Paralelo 30 com o Bioma Mata Atlântica (MMA, 2007).

O clima da região é do tipo Cfa, segundo classificação de Koeppen, subtropical úmido, sem estação seca.

Desde os fatores de manutenção da formação campestre do Pampa à origem do gaúcho como tipo humano, há uma grande heterogeneidade de opiniões sobre como surgiram e como se mantêm. Essa diversidade se alinha à riqueza paisagística, encontrada facilmente por um olhar mais atento sobre o Pampa.

Ao observar-se o mapa geológico e o mapa de solos do Rio Grande do Sul a primeira percepção que se pode ter é da grande variedade de tipologias que se encontra, aproximadamente, ao sul do Paralelo 30. A cobertura vegetal faz jus a essa variedade geológica e pedológica.

O pampa brasileiro se espalha pelas regiões fisiográficas da Depressão Central, Campanha Gaúcha, Serra do Sudeste, Encosta do Sudeste, parte das Missões e Litoral Sul. A Depressão Central se encontram em bacia sedimentar. Já na Serra e Encosta do Sudeste, tem-se a porção de afloramento do embasamento cristalino, com material de origem granítico e metamórfico. Na planície litorânea encontram-se depósitos de sedimentos relativamente recentes de origem marinha. Na Campanha Gaúcha e na porção das Missões predominam solos de origem basáltica. Na primeira ocorre ainda área considerável de solos de origem sedimentar, basicamente de arenito (Streck et al., 2008).

Em relação ao clima, atualmente é favorável à expansão das formações florestais. No entanto, essas ainda ficam restritas a condições específicas como as calhas dos rios aluviais, afloramentos rochosos e elevações como os platôs de arenito silicificado na porção sudoeste e os morros graníticos na serra do sudeste. Uma das teorias para a não expansão florestal no bioma sustenta que o pastejo é um dos responsáveis, limitando a regeneração florestal. A frequência de fogo nas áreas de maior aporte de biomassa também seria um fator limitante. Nesse sentido, a própria colonização por ameríndios tem sido apontada como uma das causas iniciais de seleção da

transição campo-floresta no Pampa.

Em macroescala as condições meteorológicas são importantes para definição da vegetação, mas, em escala local predomina a relação solo-vegetação. Relações típicas de solo-vegetação ocorrem de acordo com gradientes de recursos, entre os quais se destaca o grau de fertilidade, hidromorfia e profundidade do solo.

As relações entre os solos e a vegetação nativa do Pampa ainda são pouco conhecidas em suas especificidades, carecendo-se de mais informações científicas. No entanto alguns padrões já são reconhecidos e registrados. A seguir serão apresentados alguns dados já disponíveis sobre a relação solo-vegetação do pampa. Essa análise está enfocada principalmente na feição campestre da Campanha Gaúcha e Depressão Central e suas formações florestais.

## Os solos do Bioma Pampa

As classes de solo encontradas no Pampa são Argissolos, Planossolos, Gleissolos, Luvisolos, Vertissolos, Cambissolos, Neossolo Litólico, Neossolo Regolítico, Neossolo Quartzarênico, Chernossolos, Cambissolos, Plintossolos e, à beira dos rios de aluviões, Neossolo Flúvico. Tem-se ainda pequenas áreas de latossolos. Organossolos ocorrem em condições muito específicas, principalmente, na proximidade de lagoas da Planície Litorânea e em áreas mal drenadas de planícies de inundação e coxilhas (Streck et al., 2008).

Gleissolos, Planossolos e Argissolos formam uma das toposequências típicas do Pampa, principalmente na Depressão Central e Campanha Gaúcha, com Gleissolos e Planossolos ocupando as cotas mais baixas nas grandes várzeas sujeitas à inundação, enquanto os argissolos ocupam porções mais elevadas, nas chamadas coxilhas. Esses são solos já bastante convertidos à agricultura.

Na Campanha Gaúcha, em direção a Santana do Livramento ocorrem Neossolos Litólicos e Regolíticos em associação com Vertissolos de origem basáltica, de elevada fertilidade.

Na porção sul do Bioma, na região de Dom Pedrito, Bagé, Candiota, e para leste em direção a





Figura 1. Paisagens do Pampa: Neossolo Quartzarênico em processo de arenização, Alegrete (1A); morro granítico do Escudo Cristalino, Caçapava do Sul (1B); pecuária em campo nativo sobre solo de origem basáltica, Alegrete (1C) e aspecto do campo nativo em associação Vertissolo- Neossolo Litólico/Neossolo Regolítico, Santana do Livramento (1D).

Piratini e Pinheiro Machado ocorrem grandes e médias manchas de Luvisolos.

Na porção sudoeste, em direção aos municípios de Alegrete, Rosário do Sul, Maçambará e demais municípios do entorno, tem-se área considerável de solos arenosos, de origem sedimentar, entre eles Argissolos e Neossolos Quartzarênicos. Nessa região ocorre a arenização, um dos fenômenos de origem pedológica mais interessantes do Pampa e onde se pode notar uma relação solo-vegetação muito particular (Figura 1A).

### Relação solo-vegetação nos campos do Pampa

A vegetação campestre no Pampa predomina na região centro-sul e sudoeste, principalmente na Campanha Gaúcha e Depressão Central, ocorrendo em associação à vegetação arbustiva e florestal na Serra e Encosta do Sudeste. Como principais gêneros

nessas formações são citados *Andropogon*, *Aristida*, *Axonopus*, *Eragrostis*, *Paspalum*, *Piptochaetium* e *Schizxachyrium* (Poaceae), *Bacharis*, *Eupatorium*, *Gamochaeta*, *Senecio*, *Vernonia* (Asteraceae), *Trifolium*, *Vicia*, *Stylosanthes*, *Desmodium* (Fabaceae), entre outros gêneros (Quadros & Pillar, 2002). Outras famílias de expressão nesses campos são Rubiaceae, Cyperaceae, Umbelliferae, Myrtaceae, Verbenaceae (Quadros & Pillar, 2002; Porto, 2002).

Menção também se faz às cactáceas e apiáceas. As cactáceas ocorrem principalmente nos campos arenosos do sudoeste, de forma isolada, e em afloramentos rochosos da Campanha Gaúcha e são abundantes nas formações graníticas da Serra do Sudeste (Figura 1B). *Cereus hildmannianus* K. Schum. é um dos principais representantes e ocorre junto à formações rochosas e também associado a formações florestais. As apiáceas ocorrem em todo o Pampa desde o litoral até a campanha e seus principais representantes são os gravatás ou caraguatás. Alguns são indicadores de solos úmidos, como o *Eryngium*

*elegans* Cham. & Schltldl., enquanto outros ocorrem em campos secos e arenosos, relacionados a baixa fertilidade e elevada acidez como o *Eryngium horridum* Malme e o *Eryngium ciliatum* Cham. & Schltldl.

Assim como esses caraguatás, em relação à feição de campos se nota gradientes de ocorrência de espécies que se relacionam com a fertilidade do solo. Tanto que, definições regionais como campos sujos, campos grossos e campos finos ou poteiros foram determinadas para definir a distinção entre formações campestres relacionadas a solos mais ou menos férteis.

Campos grossos dizem respeito às formações entouceiradas, com baixa cobertura do solo entre touceiras, típicas de solos menos férteis como os solos arenosos. De maneira geral, os solos arenosos oriundos de rochas sedimentares dão origem a solos de baixa fertilidade. Esses podem ser exemplificados pelos Argissolos Distróficos e os Neossolos Quartzarênicos de ocorrência no oeste do pampa. Nos Argissolos e Neossolos Quartzarênicos predominam formações em touceiras, com baixa cobertura do solo, onde se destaca o *Andropogon lateralis* e se encontram diversas espécies especializadas neste ambiente como a *Eugenia pitanga*, a *Eugenia arenosa*, *Psidium incanum*, portulacáceas, entre outros (Rovedder et al., 2004). Esses solos têm por característica o elevado conteúdo de fração areia o que lhes confere características físicas de porosidade estrutural, baixo potencial de retenção de água e características químicas como reduzida saturação por bases (distróficos) e elevada saturação por alumínio. As espécies que colonizam estes campos apresentam adaptações típicas de um período pretérito frio e seco (Pleistoceno), tais como folhas modificadas, xilopódios e exsudação de óleos resiníferos que auxiliam a sua permanência atual em solos com baixa retenção de umidade, como os Neossolos Quartzarênicos. É importante citar também os butiazais dos campos arenosos desta região do Pampa. Segundo Marchiori (2002) os densos agrupamentos de *Butia lallemanti* têm forte dependência edáfica, separados das formações campestres típicas ao redor, principalmente pelas áreas de várzeas.

Campos sujos é a denominação geralmente utilizada para designar áreas de interação entre vegetação herbácea, subarbusciva e arbustiva, com expressiva participação de outras famílias que não apenas Poaceae. Podem ocorrer nos solos graníticos da Serra do Sudeste, nas áreas de restinga da Planície

Litorânea e como manchas disseminadas pelo Pampa. *Senecio*, *Eupatorium*, *Baccharis* e *Vernonia* podem ser destacados como os principais gêneros de arbustos e subarbuscivos encontrados. Entre as espécies podem ser destacadas *Eupatorium bupleurifolium* DC., *Eupatorium hecatanthum* (DC.) Baker, *Senecio brasiliensis* (Spreng.) Less., entre outros. *Baccharis trimera*, conhecida como carqueja, pode ser encontrada formando agrupamentos e está relacionada a solos ácidos e de baixa fertilidade. Também podem ser encontrados nas bordas de mato e nos primeiros estágios sucessionais da regeneração da floresta estacional decidual, quando a área ainda não está sombreada intensamente. A presença de asteráceas na vegetação campestre também é associada ao manejo pecuário acima da capacidade suporte, o que reduz a cobertura pelas espécies forrageiras, afeta a qualidade química do solo e o expõe, tornando o ambiente propício para a colonização por espécies como *Soliva pterosperma*, *Conyza bonariensis*, *Pluchea sagittalis*, *Senecio brasiliensis*, entre outras (Boldrini, 2009). A vegetação subarbusciva e arbustiva do Pampa ainda é muito pouco estudada, faltando pesquisas mais aprofundadas sobre sua ocorrência, fitossociologia, associações às formações pedológicas, potencial de uso, etc. Também é comum vincular-se o surgimento de espécies arbustivas e semiarbuscivas à exclusão de pastejo.

Os campos finos são aqueles relacionados a solos de melhor qualidade química como os de origem basáltica da Campanha Gaúcha (Figura 1C), como Vertissolos, Luvissolos, Chernossolos, Neossolos Litólicos e Regolíticos. Nesses campos encontram-se gêneros de maior potencial forrageiro como *Paspalum*, *Estilosanthes*, *Macropitilium*, *Trifolium*, *Desmodium*.

A associação Vertissolo-Neossolo Litólico ou Vertissolo- Neossolo-Regolítico na Campanha Gaúcha, derivados de basalto e com alta fertilidade natural, é um exemplo do local de ocorrência de campos de melhor qualidade (Figura 1D). A presença de argilas expansivas nos Vertissolos, associada a pouca profundidade dos Neossolos torna essa associação uma das mais propícias à manutenção dos campos nativos, devido, principalmente, à dificuldade de mecanização. Tentativas de conversão destes solos em agricultura, geralmente são frustradas, porque a expansão e contração das argilas nos Vertissolos dificultam a mecanização, enquanto a pouca profundidade dos Neossolos Litólicos, além de reduzir as possibilidades de preparo do solo, requer métodos intensivos de conservação.

## Relação solo-vegetação nas formações florestais do Pampa

O Bioma Pampa não é formado apenas pela vegetação campestre. Em sua porção brasileira, o Pampa também representa importante parte da diversidade florestal encontrada no RS. Muito embora a pressão antrópica sobre estas, especialmente as matas ciliares, o bioma apresenta remanescentes importantes que guardam espécies com potencial de uso não apenas madeireiro.

O componente arbóreo está presente na forma de matas ciliares, árvores isoladas e “capões”. Capão é o termo regional para as matas insulares em meio ao campo. No Bioma Pampa essas formações se desenvolvem naturalmente em locais que não favorecem o desenvolvimento da florística campestre, tais como em afloramentos rochosos e em enclaves em meio ao campo nativo.

As matas ciliares da Floresta Estacional Decidual são o principal reduto florestal do bioma. Acompanham os rios e arroios, principalmente nas toposequências de Neossolos Flúvicos, Gleissolos e Planossolos nos grandes rios aluviais da região. São comuns, como espécies em contato com a água *Cephalanthus glabratus* (Spreng.) K.Schum., *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll.Arg., *Sebastiania schottiana* (Müll.Arg.) Müll.Arg., *Pouteria salicifolia* (Spreng) Radlk., *Terminalia australis* Cambess., *Salix humboldtiana* Willd. e *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L.B. Sm. & Downs. Na mata ciliar propriamente dita encontra-se *Inga vera* Willd., *Luehea divaricata* Mart. & Zucc., *Allophylus edulis* (A.St.-Hill., Cambess. & A.Juss.) Radlk., *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan, *Daphnopsis racemosa* Griseb., *Eugenia uniflora* L., entre outras.

No entanto, as matas ciliares do bioma se apresentam intensamente suprimidas. Nas planícies foram substituídas, em grande parte, pela lavoura arrozeira, que muitas vezes chega até a beira dos rios, com perda da diversidade e funcionalidade da mata ciliar nessa situação.

Em relação às matas uma questão controversa diz respeito a uma possível colonização das áreas de campo pelas florestas. O clima do Pampa, com precipitação bem distribuída e sem estação seca, atua como um facilitador da colonização e ocupação por florestas o que, no entanto, não ocorre. O que

garantiria a manutenção das áreas campestres seria o fator antrópico, como o próprio manejo do gado que, ao pastejar e selecionar as espécies herbáceas e impedir o estabelecimento do banco de sementes florestais, atua como um mantenedor do campo. Este fato implica em outra controvérsia que ganhou contornos mais recentes com o novo código florestal. Esta diz respeito às áreas de preservação permanente no Pampa. É fundamental que áreas de preservação permanente e reserva legal no Pampa incluam as formações campestres, além do componente florestal nativo. Contudo, com a conversão de área de mata e do próprio campo nativo em outros usos, é cada vez mais difícil se saber onde antes era floresta e onde realmente inicia-se o componente campestre.

As formações florestais do Pampa são menos conhecidas que as formações campestres e suas relações específicas com as condições de solo, pouco esclarecidas. Em um enclave da Floresta Estacional Decidual em meio ao campo nativo, na região da Depressão Central, Rovedder et al. (no prelo) encontraram relação entre a distribuição de grupos fitossociológicos e a qualidade química do solo em Neossolo Regolítico, Neossolo Litólico e Neossolo Quartzarênico. O grupo G1, representado por *Trichilia clausenii*, *Cupania vernalis* e *Cryosophyllum marginatum* como espécies indicadoras, apresentou maior correlação com cálcio, matéria orgânica, capacidade de troca de cátions (CTC) e magnésio, em elevada declividade. Já o grupo G2, tendo como espécies indicadoras *Sebastiania commersoniana* e *Luehea divaricata*, apresentou forte correlação com o percentual de argila, nessa mesma declividade. Os autores concluíram que elevadas declividades aumentaram a relação entre grupos fitossociológicos e a qualidade química do solo, enquanto os melhores fatores diferenciadores do ambiente foram índice pH, cálcio, capacidade de troca de cátions efetiva, saturação por alumínio e saturação por bases.

Já na região da Campanha Gaúcha, próximo dos municípios de Bagé, Dom Pedrito e Hulha Negra ocorrem Luvisolos com argilas expansivas e relativa fertilidade nas áreas mais altas da toposequência. Nestes locais podem ser observadas formações florestais nas áreas de formação de vertentes e córregos. Em resquícios dessas formações é possível reconhecer a presença da *Scutia buxifolia* Reissek (Rhamnaceae), popularmente conhecida como coronilha, associada à *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae) e outras espécies de adaptação à hidromorfia. Convém citar,



no entanto, que as formações florestais de locais mais altos estão muito degradadas, devido à retirada para conversão à agricultura ou ao pisoteio do gado. Mesmo em locais onde estas ainda são observadas, o fluxo gênico encontra-se interrompido pela fragmentação e pela degradação do banco de semente pelo pisoteio do gado.

Na região dos solos arenosos e de ocorrência de arenização, a sudoeste, a tensão ecológica campo-floresta é nitidamente marcada pelos afloramentos rochosos em meio ao campo. Nesses, a fina camada de solo não é favorável para o sistema radicular das herbáceas, enquanto espécies arbóreas podem se adaptar e fixarem suas raízes entre os matacões. Nessa região de solos com fertilidade muito baixa, as adaptações a baixa disponibilidade de nutrientes ocorrem tanto em herbáceas quanto em arbóreas ou arbustivas, sendo as adaptações a condições físicas

as que mais diferenciam ambientes. A Figura 2A apresenta área de tensão ecológica campo-floresta em solos arenosos, com o componente florestal dominando um platô de arenito silicificado. Na mesma região do Pampa, outro platô de arenito silicificado foi colonizado por um maciço de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (Figura 2B). Nas duas imagens o campo predomina nos solos arenosos e profundos ao redor, formado por Argissolos e Neossolo Quartzarênico. A Figura 2C apresenta um afloramento de arenito em meio ao campo nativo e a figura 2D apresenta a colonização das elevações graníticas do Escudo Cristalino, na região centro-sul do Bioma.

Menção deve ser feita ao Parque do Espinilho, vegetação gramíneo-lenhosa, representativa da província chaquenha, que ocorre no extremo oeste do Bioma. Nessa formação, Redin (2013) encontrou associação entre a presença da pecuária e o aumento



Figura 2. Vegetação florestal em áreas de afloramentos rochosos no Bioma Pampa: em platô de arenito silicificado, São Francisco de Assis (2A), adensamento de *Syagrus romanzoffiana* em arenito silicificado, Alegrete (2B), afloramento rochoso em meio ao campo nativo, Alegrete (2C) e vegetação arbustivo-arbórea em morro granítico no Escudo Cristalino, Caçapava do Sul.

de frequência de indivíduos de *Vachellia caven* (Molina) Seigler & Ebinger, demonstrando a ocorrência de desequilíbrio na diversidade natural da formação, por seleção de espécies mais adaptadas.

### Desafios de conservação para o Bioma Pampa

Os principais problemas ambientais no Bioma Pampa estão centrados na conversão de terras para fins econômicos sem respeito à vocação natural do solo e às peculiaridades regionais, nas dimensões que essas conversões podem tomar acarretando fragmentação de habitats e suprimindo fluxo gênico, na contaminação biológica por espécies invasoras e na degradação do solo. Nesses casos, a perda de potencial e de riqueza do bioma é imensa, pois pouco foi estudado até o momento.

Em relação às formações florestais, estas se encontram altamente reduzidas e degradadas. Faz-se necessário a restauração das áreas de preservação permanente ao longo dos cursos d'água, como forma de se estabelecer corredores ecológicos, reduzindo-se a ameaça de erosão genética.

Nas formações campestres, um dos principais problemas é a carga animal acima da capacidade de suporte do campo, o que degrada o solo e reduz a cobertura por espécies forrageiras. Pesquisas têm demonstrado que técnicas simples como a adaptação do número de cabeça por hectare de acordo com a capacidade de suporte e o diferimento de campo nativo podem dar ótimos resultados para a pecuária, além de manterem a florística campestre (Overbeck et al., 2009, Castilhos et al., 2011)).

Além dos problemas relacionados ao uso antrópico, o Pampa apresenta apenas 0,36% em unidade de conservação, índice muito abaixo do recomendado. Com ou sem nenhum uso antrópico, a vegetação corre o risco de contaminação biológica por outras espécies. Entre essas, destaca-se o capim anoni (*Eragrostis plana*-Poaceae). É comum encontrá-lo em toda a região da Campanha, sendo de difícil erradicação.

Diante desse cenário, os desafios que devem ser enfrentados pela sociedade do Pampa podem ser citados como:

1. Manter a identidade cultural
2. Aumentar as áreas de proteção à biodiversidade
3. Aumentar e/ou efetivar a interconectividade entre áreas naturais
4. Definir estratégias de redução da invasão biológica
5. Melhorar o nível de conhecimento sobre suas espécies e interações ente estas
6. Diversificar a matriz produtiva e fortalecer a pecuária regional
7. Agregar conhecimento técnico às atividades produtivas
8. Melhorar o nível de informações etnobotânicas

Por fim, é importante salientar a importância do Bioma Pampa em um contexto mais abrangente, não apenas em âmbito regional. Em um mundo com alta pressão antrópica sobre os recursos naturais e necessidade crescente de produção de alimentos, a conservação de um bioma assume grande relevância. Nesse sentido, a conservação do Pampa possui importância não apenas pela questão ambiental, mas também no contexto sócio-econômico, por abrigar uma ampla possibilidade de produção de alimentos e no contexto histórico-cultural, como patrimônio da memória latino-americana. A percepção desta importância nos remete à necessidade premente de aplicação dos preceitos do desenvolvimento sustentável nesta região do país.

### Referências bibliográficas

- Boldrini, I.I. 2009. A flora dos campos do Rio Grande do Sul. p. 63-77. In: Pillar et al. (Eds.) **Campos Sulinos. Conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília: Ministério do Meio ambiente.
- Castilhos, Z. M. S. *et al.* 2011. **Unidade de validação: práticas de manejo do campo nativo em área de pecuarista familiar em solo suscetível à arenização no Bioma Pampa**. Circular Técnica, 27, Porto Alegre, Fepagro.
- Marchiori, J.N.C. 2002. Considerações terminológicas sobre os campos sulinos. **Ciência & Ambiente 24**: 139-150.

- Ministério do Meio Ambiente (MMA). 2007. Áreas Prioritárias para Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade Brasileira: Atualização – Portaria MMA n. 9, de 23 de janeiro de 2007. Brasília, Ministério do Meio Ambiente.
- Overbeck *et al.* 2009. Os Campos Sulinos: um Bioma negligenciado p. 26-41.. In: Pillar, V. P. et al. (Eds.). **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Brasília: Ministério do Meio ambiente.
- Porto, M.L. 2002. Os campos sulinos. Sustentabilidade e manejo. **Ciência & Ambiente 24**: 119-138.
- Quadros, F.L.F. & Pillar, V.P. 2002 Transições floresta-campo no Rio grande do Sul. **Ciência & Ambiente 24**: 109-118.
- Redin, C.G. **Efeito do pastoreio sobre a vegetação natural em fragmento de savana estépica parque, RS, Brasil**. 95f. 2013. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal (Dissertação de Mestrado), UFSM, Santa Maria
- Rovedder, A.P.M. *et al.* 2005. Análise da composição florística do campo nativo afetado pelo fenômeno da arenização no sudoeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência 11** (4): 501-503.
- Rovedder, A.P.M. *et al.* Relação solo-vegetação em remanescente da floresta estacional decidual na Região Central do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural** (no prelo).
- Streck, E.V. *et al.* 2008. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2 ed., Porto Alegre, EMATER/RS-ASCAR,



# Botânica Sempre Viva na escola: ensino superior

Izabella Scalabrini Saraiva<sup>1</sup> & Juliana de Lima Passos Rezende

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

<sup>1</sup>Autor para correspondência: iscalabrini@yahoo.com

Ensinar botânica na graduação tem despertado o interesse de pesquisadores (Silva 2005; Silva *et al* 2006; Sano 2006; Gullich 2006, Rezende, 2006; 2007; Borges 2007; Saraiva 2012), devido à necessidade de tornar o ensino de botânica mais significativo para os discentes, cabendo à nós professores, refletir sobre a prática docente no ensino superior, para que o aluno seja protagonista na aquisição e construção dos conhecimentos científicos. Dentro desta perspectiva, a aprendizagem significativa deve fazer parte do cotidiano dos docentes de ensino superior. Segundo Pelizzari (2002), “a aprendizagem é muito mais significativa à medida que o novo conteúdo é incorporado às estruturas de conhecimento de um aluno e adquire significado para ele a partir da relação com seu conhecimento prévio. Do contrário, a aprendizagem se torna mecânica, uma vez que se produziu menos essa incorporação e atribuição de significado, e o novo conteúdo passa a ser armazenado isoladamente ou por meio de associações arbitrárias na estrutura cognitiva”. Para haver aprendizagem significativa, o aluno precisa ter uma disposição para aprender e o conteúdo acadêmico a ser aprendido tem que ser potencialmente significativo para ele. O foco de atenção na sala de aula deve recair no aluno e não mais no professor. Sano (2006) acredita que os professores devem se portar como orientadores e deixar que os alunos assumam sua função de investigadores e construtores do seu próprio conhecimento e a nossa responsabilidade não deve traduzir na disseminação do conhecimento, mas sim de condutores do processo.

“Assim estaremos preparados e aptos a enfrentar os novos desafios do ensino de botânica, na busca da formação de um profissional que não apenas reproduza modelos, mas seja capaz de cria-los”.

Este relato pretende mostrar algumas alternativas viáveis para ensinar e aprender botânica na graduação, que se refletem na formação inicial dos estudantes e os colocam como agentes ativos na construção do conhecimento. Todas as metodologias citadas neste relato foram possíveis utilizando como eixo norteador a formação docente inicial dos alunos que se faz presente nas disciplinas de Estágio Supervisionado de Licenciatura II, Didática Especial, Estágio de Bacharelado I e Práticas de Ensino de Botânica e Ecologia, do Curso de Ciências Biológicas da PUC Minas, no Campus de Betim. Salienta-se também a importância do PIBID (Programa Institucional de Iniciação à Docência), financiado pela Capes, que muito tem contribuído para transformar a realidade do ensino de botânica não só na graduação, mas também no ensino médio.

## Resultados

A Feira de Prática de Ensino do Curso de Ciências Biológicas da PUC Minas em Betim começou no ano de 2011 como uma atividade de cunho interdisciplinar e de extensão. A preocupação em desenvolver competências humanísticas, necessárias à formação de um profissional, que seja capaz de atuar de maneira efetiva, baseada no conhecimento científico, na identificação de problemas e na solução destes sempre se fez presente. As disciplinas do curso que participam da feira são: Estágio Supervisionado de Licenciatura II, Didática Especial Práticas de Ensino de Botânica e Ecologia e Anatomia Funcional dos Vertebrados. Os convidados da feira são os alunos do ensino fundamental e médio de escolas públicas,

que participam das atividades práticas propostas pelos estudantes da graduação. Os objetivos da feira são: complementar o conteúdo das disciplinas envolvidas e realizar a transposição didática; planejar, executar e avaliar atividades práticas voltadas para o ensino de Ciências ou Biologia; construir instrumentos de coleta de dados para pesquisa empírica em sala de aula; permitir aos alunos de graduação a vivência em grupo de atividades integradas e interdisciplinares de ensino e vivenciar a prática de docência junto aos alunos de ensino fundamental e médio, reconhecendo os desafios e possibilidades deste campo de atuação. Durante os dois anos, mais de vinte atividades práticas de botânica já foram realizadas. Dentre elas podemos citar: “Á procura da vitamina C; Quebrando Mitos em Botânica; O açúcar nos alimentos; DNA Vegetal; Fotossíntese; Amido nos Vegetais e vários jogos pedagógicos sobre botânica: *Damophyta; O que é o Que é Vegetal; Qual é a estrutura – aprendendo com a botânica; Biopife; Investigador Ambiental: uma proposta didática para o ensino de botânica*, sendo todos estes jogos já apresentados em Congressos e/ou encontros de Botânica e Ensino de Biologia.

A atividade Pesquisador por um dia na Serra do Cipó teve como instrumento norteador um dos resultados obtidos através do diagnóstico realizado em 2012 em duas escolas estaduais parceiras do PIBID. Tal resultado mostrou que os alunos não possuem o hábito de frequentar a biblioteca para realizar qualquer tipo de leitura. Por essa razão sentiu-se a necessidade de incentivá-los a utilizar este importante espaço através da leitura do Livro “A história de uma planta ameaçada de extinção: *Vellozia gigantea*” (Saraiva 2012). A partir da leitura indicada, iniciou-se o Projeto “Pesquisador por Um Dia” no Parque Nacional da Serra do Cipó, local de ocorrência das Velózias. Os objetivos desta visita foram desenvolver com os alunos uma atividade de educação ambiental, incentivar o lado pesquisador e observador dos mesmos e mostrar a importância que as Unidades de Conservação têm para espécies endêmicas ameaçadas de extinção. O Projeto “Pesquisador Por um Dia” apresentou as seguintes etapas: elaboração do Edital, divulgação do edital nas escolas para seleção dos alunos através da escrita de uma carta de intenção; leitura e análise das cartas de intenção, entrevista gravada com os candidatos selecionados, preparação para a Visita através de uma palestra conferida pelas Coordenações de área do PIBID nas escolas, entrega dos livros doados aos alunos para a leitura antes da ida ao Parque Nacional da Serra

do Cipó, visita ao Parque Nacional da Serra do Cipó no dia 08/06/2013 e concurso de Fotografia nas escolas, evidenciando a percepção ambiental dos alunos.

Para significar mais a botânica, os alunos da graduação elaboraram um livro intitulado “98 maneiras de reaproveitar os alimentos em sua residência”, com o intuito de trabalhar essa temática tão importante e necessária com futuros professores e gestores ambientais durante as aulas de Estágio de Bacharelado I. Para esta atividade de botânica e educação ambiental, os graduandos realizaram pesquisas bibliográficas, escolheram as receitas e testaram seis: bolinho frito com casca de batata, biscoito de casca de limão, bolo de casca de banana, rabanada, suco de casca de abacaxi e bolo de limão. Para a apresentação do livro, os graduandos de Ciências Biológicas prepararam uma palestra de 40 minutos e depois houve um momento para degustação das receitas testadas. Ao final da atividade, os participantes puderam avaliar a mesma através de um diálogo.

Os alunos da graduação em Ciências Biológicas, com a orientação da professora de Práticas de Ensino de Botânica e Ecologia realizaram uma pesquisa nas escolas municipais e estaduais de Betim e Contagem com o intuito de conhecer a percepção dos estudantes de ensino médio sobre o ensino de botânica. O trabalho intitulado *Tão Longe, tão perto: percepções de estudantes do Ensino Médio sobre o Ensino de Botânica foi apresentado no 57º Congresso Nacional de Botânica em 2006. A monografia “Um olhar sobre as concepções dos alunos do terceiro ano do Ensino Médio a respeito de temas na área de botânica” também foi desenvolvida com graduandos de Ciências Biológicas.*

Não basta saber apenas a percepção que os estudantes de ensino médio têm sobre a botânica e por esta razão foi realizada uma prática investigativa com os alunos iniciantes da graduação em Ciências Biológicas da PUC Minas para entender as concepções destes sobre a botânica. Tal prática foi apresentada no II Encontro Nacional de Ensino de Biologia e I Encontro Regional de Ensino de Biologia, 2007.

Não se pode esquecer das atividades de botânica elaboradas e desenvolvidas para alunos que possuem necessidades educacionais especiais. Esta temática tem sido objeto de estudo nas disciplinas de Estágio Supervisionado de Licenciatura e bacharelado. Os professores precisam buscar novos conhecimentos

quando recebem alunos com deficiência na sala de aula e os cursos de licenciatura e bacharelado precisam garantir este tipo de conhecimento para os seus futuros professores e educadores. Pensando na educação inclusiva como um desafio que professores irão enfrentar nas escolas é que surgiu a vontade de desenvolver atividades na área de botânica para deficientes visuais. Um dos estudos foi desenvolvido por alunos do Estágio de Bacharelado do curso de Ciências Biológicas da PUC Minas em Betim com os deficientes visuais que participam de diversas atividades na Associação dos Deficientes de Betim. O objetivo deste foi fazer com que as pessoas com deficiência visual percebessem a exuberância que a natureza nos revela através de uma maneira dinâmica e interativa.

O trabalho “*Dia a dia com uma horta: Relato de caso da implementação de um programa de horta em Cooperativa de Educação Especial*” foi desenvolvido durante o Estágio de Licenciatura II da PUC Minas na Cooperativa Dia Dia, uma escola de educação especial, que atende pessoas de faixa etária heterogênea, desde crianças até idosos com deficiência mental ou com transtornos da cognição social, como o autismo.

### Considerações finais

Aprender e ensinar botânica na graduação pode não ser fácil, mas é possível à medida que refletimos sobre a prática docente e que percebemos que o sujeito mais importante do processo de aprendizagem é o aluno. As vivências relatadas aqui tiveram sucesso, a partir do momento em que o ensino de botânica na graduação foi trabalhado de forma contextualizada, interdisciplinar, o que é extremamente importante para ressignificar o ensino de botânica nas Instituições de Ensino Superior. Todas as atividades citadas ao longo do texto foram desenvolvidas através do diálogo entre a Universidade, os alunos de graduação, os professores e os estudantes do ensino fundamental e médio. Acreditamos que sem essa parceria, ficaria muito difícil trabalhar com a botânica de uma forma diferente da tradicional.

Ensinar botânica com ênfase na aprendizagem significativa do aluno possibilita ao mesmo desenvolver suas capacidades intelectuais de pensar, de raciocinar, de refletir, de buscar informações, de criticar, de dar significado pessoal aos novos conhecimentos

adquiridos por ele. O aluno adquire nesse processo o saber trabalhar em equipe, através do diálogo e da troca de experiências com profissionais (Teodoro *et al*, 2003). Portanto, o grande desafio que temos é formar um profissional não apenas competente, mas comprometido com a sociedade em que vive e que possa em um futuro próximo possibilitar uma aprendizagem ainda mais significativa para seus alunos, através da contextualização e da interdisciplinaridade.

### Referências Bibliográficas

- Borges, R.M.R. & Lima, V.M.R. 2007. Tendências contemporâneas do ensino de biologia no Brasil. **Rev. Electrónica de Enseñanza de las Ciencias**. 6: 165-175.
- Carmo, S.; Moreira, C.; Ferreira F. P.; Rezende, J. L.P. & Allain, L. R. 2006. Tão Longe, tão perto: percepções de estudantes do Ensino Médio sobre o Ensino de Botânica. In: **Anais do 57° Congresso Nacional de Botânica**: Gramado.
- Carvalho, L.G.; Rezende, J.L.P. & Saraiva, I.S. 2011. Feira de práticas de ensino em botânica e ecologia: a vivência prática na docência. In: **19° Seminário de Iniciação Científica** da PUC Minas.
- Ferreira, A.C.A.; Neves, N.D.; Franca, I.F.; Saraiva, I.S. & Rezende, J.L.P. 2012. Uma nova perspectiva para ensinar morfologia vegetal externa. In: **XXXII ERBOT**: Uberlândia.
- Gullich, R.I.C. 2006. As práticas de ensino de botânica e a SBB. Pp. 695-699. In: **Os avanços da Botânica no início do Século XXI**. Porto Alegre.
- Nigri, P.; Diniz, M. & Rezende, J. L.P. 2007. Estudo de Algumas Concepções Prévias sobre ensino de Botânica existentes nos alunos do ensino médio do Colégio Tiradentes. Trabalho de Conclusão de Curso da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
- Nigri, P.; Camargos, T. & Rezende, J. L. P. Concepções dos alunos iniciantes da graduação do curso de Ciências Biológicas/PUC - Betim quanto aos conhecimentos na disciplina Botânica. 2007. In: **II Encontro Nacional de Ensino de Biologia e I Encontro Regional de Ensino de Biologia**: Uberlândia.

- Oliveira, A.L.S.; Saraiva, I. S. & Paula, M.F.M. 2010. Dia a Dia com uma horta: relato de caso de implementação de um programa de horta em cooperativa de educação especial. In: **VI Seminário Sociedade Inclusiva**. Belo Horizonte.
- Pelizzari, A.; Kriegl, M.L.; Baron, M.P.; Finck, N.T. & Dorocinski, S.I. 2002. Teoria da aprendizagem significativa segundo Ausubel. **Rev. PEC**,1:37-42.
- Pinto, P.M.; Silva, M.J.M.; Saraiva, I.S.S. & Rezende, J.L.P. 2012. Biopife: um jogo de cartas para ensinar botânica. In: **20º Seminário de Iniciação Científica**: Belo Horizonte.
- Sano, P.T. 2006. O ensino de botânica na Universidade. Pp. 689-691. In: **Os avanços da Botânica no início do Século XXI**. Porto Alegre.
- Santos, L.; Silva, N.A.; Sobrinho, E.V.A.; Almeida, H.K.P.; Damasceno, C.; Andrade, M.A. & Saraiva, I.S. 2011. Jardim Sensorial: uma percepção diferente para pessoas especiais. In: **I Jornada Botânica Integrando Academia e Sociedade**: Viçosa.
- Saraiva, I.S. 2012. **A História de uma planta ameaçada de extinção: *Vellozia gigantea***. Belo Horizonte: Fumarc.
- Silva, L.M.; Cavallet, V.J. & Alquini, Y. 2005. Contribuição à reflexão sobre concepção de natureza no ensino de botânica. **R.Bras.Est.pedag.** 213/214:110-120.
- Silva, L.M.; Cavallet, V.J. & Alquini, Y. 2006. O professor, o aluno e o conteúdo no ensino de botânica. **S. Maria**: 1:67-80. <http://coralx.ufsm.br/revce/revce/2006/01/r5.htm> (Acesso em 06/10/2013)
- Suzuki, A.Y.M.; Melo, A.R.; Ribeiro, D.K.N.; Maia, L.S.; Santos, S.G.D.; Saraiva, I.S. & Rezende, J. L.P. 2012. Qual é a estrutura? Proposta Metodológica de ensino em morfologia interna dos vegetais. In: **XXXII ERBOT**: Uberlândia.
- Teodoro, A. & Vasconcelos, M.L. 2003. **Ensinar e aprender no ensino superior**. São Paulo: Mackenzie.



# Burle Marx e eu

## Nanuza Luiza de Menezes

Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.  
nanuzalm@usp.br

Conhecer e conviver com Roberto Burle Marx foi, sem a menor dúvida, uma das mais extraordinárias experiências de minha vida.

Tudo começou quando pedi a dois importantes botânicos brasileiros, Graziela Maciel Barroso e Dárdano de Andrade Lima, que me introduzissem ao Roberto pois, como presidente da seção regional de São Paulo da Sociedade Botânica do Brasil, precisava da sua presença em São Paulo para falar aos biólogos e arquitetos paisagistas.

Na época, em 1974, o Roberto já era muito conhecido, não apenas por seus magníficos jardins no Brasil e no exterior,



Figura 1. Roberto Burle Marx, como mais gostava no meio das plantas na serra de Grão-Mogol.

dentre aqueles, especialmente, na recém-criada capital Brasília, onde seus jardins valorizavam muito pelo uso discreto e perfeitamente adequado das plantas, o palácio da Alvorada e o Itamarati. Roberto já aparecia na mídia, também, por sua grande capacidade crítica às obras absurdas em desenvolvimento, no Brasil especialmente, a grande derrubada de árvores seculares para a construção da transamazônica. Sempre que apareciam notícias sobre desmatamentos nos jornais, na época, Roberto era requisitado a falar.

Numa das primeiras vezes que o chamei para falar, ele estava no auge da crítica à Volkswagen do Brasil que colocara fogo numa área equivalente ao país Holanda, para transformar em pastagem.

A maneira com que Roberto apresentava suas críticas era tão apaixonante que nos envolviam a todos expectadores e despertava em todos a vontade de lutar contra esses ataques a nossa flora e a nossa fauna.

A maneira de colocação dos problemas pelo Roberto era única. Quando se referia à perda de grande área do Jardim Botânico do Rio de Janeiro para a construção do Jockey Club, ocorrida no começo do século, entre outras insinuações dizia: "... os cavalinhos correndo e os cavalões comendo". Sobre o incêndio que a Volkswagen afirmava ser seletivo para queimar apenas a vegetação herbácea e não atingir as árvores, ele comentava "... o fogo ia caminhando na Amazônia e decidindo – esta pode queimar, esta não pode".

Com o primeiro convite para ele ministrar palestras, começamos a falar sobre Velloziaceae, a família de plantas com a qual eu fazia pesquisa e que ele gostava muito. Ele falou-me que sempre quis ter velózias na sua magnífica coleção de plantas no sítio

Santo Antonio da Bica, na Barra de Guaratiba, mas não conseguia cultivá-las.

Graças ao sucesso de suas palestras (juntamente com outros conservacionistas, entre eles, José Lutzenberger, do Rio Grande do Sul, Luiz Emygdio de Mello Fo., do Museu Nacional da UFRJ, Aziz Ab-Saber da USP e Victor Del Mazzo, do Viveiro Manequinho Lopes (Ibirapuera-São Paulo), assistidas por público cada vez mais numeroso, tivemos dinheiro suficiente para que eu propusesse à Sociedade de Botânica do Brasil, regional de São Paulo a criação da Revista Brasileira de Botânica, até hoje uma das melhores revistas científicas em Botânica publicadas no Brasil.

Os jovens estudantes, principalmente da biologia, eram ávidos por esses ciclos de palestras e de tal modo engajados que quando o então governador de São Paulo, resolveu tirar a vegetação que representava parte do cinturão verde da cidade de São Paulo, na região de Caucaia do Alto para a construção do aeroporto internacional, foi maciça a participação na campanha “Defenda o verde de Caucaia” liderada pela Sociedade Botânica do Brasil, seção Regional de São Paulo (da qual eu era a presidente). Também participaram, inicialmente, a APPN dos grandes conservacionistas Waldemar Paioli e Piero Luoni e a ADEMA do Paulo Nogueira Neto e de José Carlos Magalhães. Esta foi, sem dúvida, a primeira vitória dos conservacionistas no estado de São Paulo e o papel de Roberto Burle Marx foi fundamental para o êxito da campanha.



Figura 2. Roberto e seus arquitetos, fotografando na serra do Grão Mogol.

Naturalmente, a partir do momento em que Roberto começou a atender solicitações para realizar palestras, comecei a freqüentar o magnífico Sítio Santo

Antonio da Bica. E foi então que conheci o Roberto Burle Marx botânico. Eu disse a ele certa vez que entre todas as outras aptidões dele (paisagista, pintor, escultor, arquiteto, desenhista, cantor de ópera, etc.) ele também deveria acrescentar a de ser também um biólogo de coração, graças ao seu vasto conhecimento sobre as plantas e o seu grande amor pela natureza.

Impressionava-me a sua extraordinária memória. Andávamos por todo sítio no meio das coleções de aráceas, (principalmente filodendrons e antúrios) de bromeliáceas (principalmente criptantus, vrisias, honhergias, bromélias) e tantas outras plantas ornamentais e árvores magníficas. E ele sabia o nome científico de quase todas!



Figura 3. Roberto Burle Marx cantando ópera no campo, externando sua felicidade.

Impressionava-me a sua extraordinária memória. Andávamos por todo sítio no meio das coleções de aráceas, (principalmente filodendrons e antúrios) de bromeliáceas (principalmente criptantus, vrisias, honhergias, bromélias) e tantas outras plantas ornamentais e árvores magníficas. E ele sabia o nome científico de quase todas!

Apreendi muito com ele! E ele sempre dizia que aprendera muito comigo. Uma vez, resolvi ensinar um pouco de morfologia vegetal e biologia floral para os seus jardineiros e outros auxiliares do sítio (inclusive, para alguns arquitetos paisagistas, que sempre estavam em volta dele, em busca de novos conhecimentos). Aconteceu, então, algo que eu jamais esperava. Aquela pessoa tão inquieta, que quando não estava pintando estava andando por entre suas magníficas plantas ou cantando ao piano, sentou-se, também, para ouvir o que eu estava ensinando aos outros. E ele ficou simplesmente maravilhado. Jamais



esquecerei o seu deslumbramento quando lhe mostrei fotos de uma orquídea do gênero *Ophrys* que tem sua pétala maior imitando a fêmea de uma vespa e que inclusive, produz o mesmo feromônio da vespa fêmea, atraindo o macho que na tentativa de cópula faz movimentos e acaba carregando o pólen (as polínias) de uma flor para outra.

Certa vez, em viagem à serra do Grão-Mogol, em Minas Gerais, mostrei a ele o encanto do ciátio (inflorescência) de uma eufórbia (*Euphorbia* sp). Ele se deslumbrou ao reconhecer a flor feminina e as flores masculinas de cada inflorescência.



Figura 4. Roberto Burle Marx e Graziela Barroso extasiados com um ramo florido de *Bowdichia* (pau-roxo).

Aliás, quando estivemos nesta excursão à serra de Grão Mogol, na companhia, também, de Graziela Barros, do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, passamos por uma experiência interessante, que me fez conhecer melhor o caráter do Roberto e o seu lado humano (Na Fig. 3, nota-se parte dos participantes da excursão entre eles Roberto, Graziela Barroso e o irmão maestro, Walter Burle Marx).

Deveríamos chegar a um determinado ponto, além da cidadezinha Grão Mogol, para podermos alcançar uma balsa que atravessaria os carros da comitiva. Infelizmente, só conseguimos chegar dez minutos após às 24:00 horas, quando a balsa já se afastava. A única alternativa seria voltarmos a Grão Mogol e procurarmos algum lugar para dormir.

Na época (1974), a cidade era muito pequena, infestada de barbeiros, não possuía e apenas uma senhora alugava quarto. Só que já era uma hora da manhã e o quarto que ela costumava alugar para um mascate, estava ocupado por outra pessoa. Quando ela soube que se tratava de Roberto Burle Marx, ela

pediu ao homem que lá estava, que deixasse a cama para o Roberto. Primeiro, Roberto não quis aceitar, depois acabou aceitando, para que Graziela e eu pudéssemos dormir.



Figura 5. Roberto Burle Marx, um grupo de arquitetos, Graziela Barroso à direita dele. O último à direita na foto é Robério Dias, diretor do Sítio por vários anos e, ao seu lado, o grande maestro Walter Burle Marx.

O mais incrível me pareceu ele atravessar a rua, entrar num boteco que estava aberto e servindo pinga a freqüentadores e, simplesmente, pediu licença ao dono encostou na parede 4 cadeirinhas de madeira (com o assento de palha) e lá se deitou, no que foi seguido pelo seu irmão, o maestro e compositor Walter. Eu fiquei muito impressionada com essa atitude de ambos: o Roberto, por ser quem era e o Walter, que passou toda viagem compondo uma sinfonia, e igualmente importante, tanto que hoje ele é nome de teatro na Filadélfia.

O máximo é que mais ou menos às 3:00 horas da manhã chegou o mascate, dono do quarto. Ele se postou em frente à porta do quarto, que ficava no pequeno terraço da casa, e começou a bater: - Abram, eu quero minha cama! O rapaz tinha bebido muito e não parava de bater na porta e gritar que queria sua cama. Graziela com seu jeito meigo peculiar, no alto de seus 70 anos, levantou-se e tentou conversar com ele o que o fez colocar um pé para impedir que a gente fechasse a porta. Foi muito difícil convencê-lo a nos deixar. Pela manhã, ele chorava e pedia perdão, pois dizia que Graziela era igualzinha a sua mãe e reconhecia que jamais deveria nos ter perturbado.

Após muitos anos de convivência decidi, com meu grande amigo, João Semir, da UNICAMP, homenagear o Roberto lhe dedicando um gênero na família Velloziaceae. Dedicamos-lhe o gênero *Burlemarxia* Menezes & Semir, com três espécies:

*Burlemarxia spiralis*, *Burlemarxia rodriguesii* e *Burlemarxia pungens*. Isto por reconhecer que graças a ele, consegui coletar várias espécies de Velloziaceae uma das famílias que ele mais gostava. Quero deixar bem claro que sempre que viajavamos, o Roberto e sua equipe pegavam quase que exclusivamente plantas na beira das estradas, que são as primeiras a desaparecer com a utilização das estradas, e em matas mexidas ou devastadas e sempre, para a coleção do Sítio Santo Antonio da Bica, que hoje é um patrimônio nacional.

No campo era muito engraçado, pois ele ficava em baixo, na beira da estrada e eu em cima dos morros, procurando minhas velózias. E a cada instante, ele gritava: - Nanuza! Tem alguma planta nova aí? Eu respondia lá do alto: - Tem Roberto! E ele retrucava: Eu tenho? Se eu dissesse: - Não, Roberto! Ele imediatamente gritava: - Então eu quero! Mas um quero já com o, que ele mesmo dizia, prazer da posse.

Mas ele estava sempre querendo saber mais sobre as “minhas velózias”. E, quanto mais eu lhe falava sobre elas, mais ele as admirava.

Era muito bom estar com ele no campo, pois ele ficava profundamente feliz e cantava com toda a força de seus pulmões, especialmente árias de óperas de Wagner.

No entanto, às vezes, se emocionava às lágrimas, como aconteceu no ano anterior ao de sua morte. Todos os anos, Roberto fazia festas monumentais para comemorar seus aniversários, com amigos que vinham de todas as partes do mundo. Naquele ano de 1993, ele decidiu pedir para que eu organizasse uma expedição para levar amigos especiais, em vez de fazer uma festa.



Figura 6. Roberto, em Brasília, explicado à Koiti Mori e à Nanuza Menezes, sua inspiração ao fazer os jardins do Palácio da Alvorada.

Quando passamos pela Serra do Cipó resolvi que o levaria para o mais lindo local onde crescem as velózias. É o meu recanto predileto e eu tinha certeza que ele iria adorar. Teríamos que andar saindo da estrada, por mais ou menos um quilômetro. Ele já mancava em decorrência de um problema na bacia e ficou preocupado, achando que não iria agüentar. Mas, graças a Deus, eu insisti e o convenci, dizendo que havia muitos amigos que até o carregariam se fosse preciso.

Devagar, fomos atravessando um campo forrado de xiris, outro com muitos pepalantos e finalmente, chegamos ao meu velozietum.

Foi, sem dúvida, um dos momentos mais lindos de todos aqueles bons momentos que desfrutei com Roberto no meio das plantas. Ele parou como que estarecido de ver tanta beleza! Os olhos dele se encheram de lágrimas e ele me disse – Vou guardar este momento na minha memória e vou procurar desenhar todo este esplendor algum dia.

Infelizmente, com o aparecimento do câncer que o levou à morte, ele não pode realizar esse seu sonho.

Gosto de lembrar que em nossas viagens ele só se sentia tranquilo quando eu guiava a Kombi que nos levava. Para que eu pudesse descansar um pouco, os outros tinham que interferir: - Ela precisa dormir um pouco Roberto! E ele, enquanto eu dormia ao menor movimento perguntava: - Já descansou? Você pode guiar de novo?

Essa confiança absoluta tinha alguma razão de ser. Durante uma de nossas viagens ao Vale do rio Pancas, nos estados do Rio de Janeiro e do Espírito Santo, chovia à cântaros. Todas as estradas estavam alagadas e mal conseguíamos descer do carro. Havia um caminhão com os jardineiros, e mais três ou quatro carros, de acompanhantes, além da Kombi que eu guiava. Num determinado ponto da viagem o caminhão atolou e todos tivemos que ajudar para retirá-lo da lama. E cada carro que foi passando, foi atolando. No momento em que Roberto, eu e a Kombi íamos passar, todos se postaram para registrar, em câmeras, o meu atolamento. E, por incrível que pareça, eu passei sem que o carro atolasse. A partir daí, só eu guiava o carro em que ele viajava.

Mas era tudo muito bom. Estar no campo, com ele, ou nas nossas cidades dormitórios sempre,

do período colonial. E ele tinha um prazer enorme em me ensinar tudo sobre aqueles santos barrocos, explicando cada detalhe, desde o “santinho do pau oco” até o tipo de olho de cada santo dependendo de sua época.



Figura 7. Roberto e eu no interior da igreja de Datas.

Nunca vou me esquecer com que orgulho e emoção ele descreveu cada detalhe utilizado na belíssima ornamentação do Palácio da Alvorada e do Itamaraty (Fig. 6). Ele sempre explicava o porquê de utilizar esta ou aquela espécie de planta. Felizmente, o mundo sempre entendeu e valorizou a sua intenção. O único que não o entendeu e não gostou foi o Niemayer. Para mim e para todos que conheço, e que conhecem essas obras, uma atitude completamente incompreensível.



Figura 8. Robério Dias, Conceição Piló, Roberto Burle Marx, Nanuza Menezes e Walter Burle Marx.



# Desenvolvimento de fitoterápicos a partir de espécies nativas da Mata Atlântica

**Davyson de Lima Moreira**

Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.  
dmoreira@far.fiocruz.br

Os produtos naturais já foram o único recurso terapêutico disponível e, ainda hoje, continuam a fornecer modelos para síntese ou semi-síntese de novos medicamentos. O Brasil, um país de proporção continental e que concentra uma megadiversidade biológica e química, desponta como uma das principais nações no cenário mundial para obtenção de novas moléculas com atividade biodinâmica (Marinho *et al.*, 2008; Mont'alverne & Andrade 2011). Essa complexidade de recursos naturais faz crer que grande parte das espécies vegetais brasileiras possua alguma propriedade medicinal, entretanto, do ponto de vista químico e farmacológico, estima-se que somente cerca de 1% dessas espécies foram adequadamente estudadas (Peixoto & Morim 2003; Mont'alverne & Andrade 2011).

Dentre os diferentes ecossistemas brasileiros, destaca-se a Mata Atlântica, considerada um *hotspot* de biodiversidade, que tem sido altamente ameaçado pela ação do homem, desde a chegada dos colonizadores. A Mata Atlântica concentra grande diversidade vegetal endêmica e estima-se que 80% de sua área concentra fragmentos de floresta com menos do que 50 hectares. Somente 1% da floresta permanece como área nativa e apenas 9% estão protegidos em áreas de preservação (Carnaval *et al.* 2009; Ribeiro *et al.* 2009). Esses números são bastante alarmantes e, considerando a grande quantidade de espécies vegetais nativas e endêmicas da Mata Atlântica, urge a necessidade de conhecer e explorar racionalmente os recursos naturais desse valioso ecossistema.

Dentre as muitas espécies vegetais de diferentes famílias identificadas e catalogadas na Mata Atlântica, destacam-se as da família Piperaceae. Nos últimos anos tem sido verificado que espécies dessa família têm apresentado valiosas substâncias ativas em sistemas biológicos diversos e só recentemente a química de Piperaceae tem sido abordada com sucesso (Parmaret *al.* 1997; Moreira 1999a; Graham *et al.* 2000; Sunila & Kuttan 2004). A família Piperaceae é predominantemente tropical com boa representatividade nas Américas Central e do Sul, ocorrendo principalmente no México, Panamá, Peru, Costa Rica e de Norte a Sul do Brasil, até o Sudeste da Argentina. Os representantes de Piperaceae possuem hábito herbáceo (ervas, trepadeiras e arbustos), havendo registro da ocorrência de árvores de pequeno porte (Figura 1). O gênero *Piper* é o maior da família Piperaceae, apresentando mais de 1000 espécies, das quais cerca de 170 crescem de forma nativa no Brasil. *Piper nigrum* L. (pimenta-do-Reino) é a espécie de maior valor econômico de Piperaceae, pois desde a antiguidade seus frutos são usados como condimento (Yunker 1972; Joly 1985; Guimarães *et al.* 1992; Tebbs 1993; Jaramillo & Manos, 2001; Souza & Lorenzi 2005). Recentemente, a taxonomia da família passou por revisão (Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society 161:105–121.) e de acordo com a nova classificação taxonômica, cinco são os gêneros que compõe a família: *Piper*, *Peperomia*, *Manekia*, *Zippelia* e *Verhuellia*. No entanto, uma vez que diversos trabalhos realizados

por nosso grupo levou em consideração classificações taxonômicas anteriores, neste trabalho continuaremos distinguindo os gêneros *Piper*, *Ottonia* e *Pothomorphe*.



Figura 1 – *Piper aduncum* L., representante de Piperaceae. Destaque para as inflorescências. Foto: coleção particular do autor.

A química de Piperaceae tem como base, principalmente, as substâncias isoladas de espécies do gênero *Piper* (amidas, lignanas, neolignanas, derivados C6-C3, arilpropanóides, flavonóides ecromenos), entretanto, a literatura registra a ocorrência de metabólitos especiais em espécies dos gêneros *Peperomia* (derivados do ácido benzóico e seconeolignanas), *Ottonia* (amidas alifáticas, aristolactamas e derivados C6-C4) e *Pothomorphe* (derivados catecólicos) (Parmar *et al.* 1997; Moreira 1999; Velozo 2004). Investigações fitoquímicas de espécies da família Piperaceae realizadas por nosso grupo levaram ao isolamento de centenas de substâncias conhecidas e de algumas inéditas, como por exemplo, kaplanina, lhotzcromeno e blandacromenos I e II (Moreira *et al.* 1998; Moreira *et al.* 2000; Santos *et al.* 2001; Velozo *et al.* 2006; Velozo *et al.* 2009; Mesquita *et al.* 2011).

A atividade biológica determinada para extratos, frações semi-purificadas e substâncias puras isoladas de Piperaceae da Mata Atlântica mostra uma riqueza fantástica, principalmente, em relação aos efeitos anti-inflamatório e analgésico, depressor e estimulante do sistema nervoso central, antimicrobiano e citotóxico (Moreira *et al.* 2001a;

Guadalupe-Rojas *et al.* 1999; Torres-Santos *et al.* 1999a; Velozo 2004).

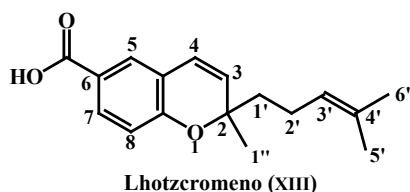
A seguir destacarei alguns resultados importantes alcançados nos mais de 15 anos de pesquisa com espécies de Piperaceae da Mata Atlântica, sempre objetivando o isolamento e caracterização de substâncias com atividade biológica:

(1) *Ottonia anisum* Spreng. – Planta coletada em Paraty, próximo à divisa dos Estados do Rio de Janeiro e São Paulo. O óleo essencial das folhas dessa espécie mostrou ser rico (>95%) no derivado C6-C4 denominado 3,4-metilenodioxibutilbenzeno (Moreira *et al.* 1997). Esta substância pode ser usada como precursor para síntese de substâncias com atividade biológica. A partir do extrato das raízes de *O. anisum* coletada em fragmento de Mata Atlântica em Duque de Caxias (RJ) foram isoladas diversas aristolactamas (Mesquita *et al.* 2011).

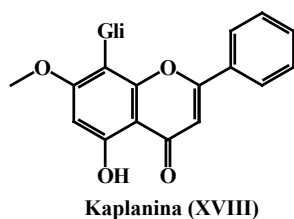
(2) *Piper gaudichaudianum* Kunth – Espécie coletada na Floresta da Tijuca, cidade do Rio de Janeiro e em Teresópolis. A partir dos extratos das folhas foi possível o isolamento de flavonoides, sendo o principal a 2',6'-dimetoxi-4'-hidroxichalcona. Os extratos e partições demonstraram possuir efeito anti-inflamatório e analgésico *in vivo* (Moreira *et al.*, 2001b).

(3) *Piper lhotzkyanum* Kunth – Planta coletada em Teresópolis. Os extratos de baixa e média polaridade renderam duas substâncias inéditas, sendo um cromeno (lhotzcromeno, I) e um flavonóide denominado de kaplanina (II), em homenagem à Profa. Dra. Maria Auxiliadora Coelho Kaplan. Esse flavonóide foi o primeiro C-glicosilado com anel B não substituído isolado no Reino Vegetal. Além dessas substâncias inéditas, outras conhecidas foram isoladas, como o flavonóide sakuranetina, derivados de ácido ferúlico, dois cromenos-ácidos (*E*) e (*Z*) 4-hidroxi-3-(3,7-dimetil-1-oxo)-2,6-octadienilbenzóico (III) e sesquiterpenos oxigenados (Moreira *et al.*, 1998a & 2000).

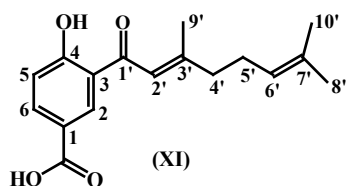




(I) - lhotzcromeno



(II) - kaplanina



(III) – ácido(E) 4-hidroxi-3-(3,7-dimetil-1-oxo)-2,6-octadienilbenzôico

(4) *Piper aduncum* L. – Espécie coletada em fragmentos de Mata Atlântica próximos aos municípios de Volta Redonda e de Carmo, Estado do Rio de Janeiro (Figura 2). Os extratos do caule e das folhas forneceram vários flavonoides conhecidos (flavonas, flavanonas e chalconas), além de um cromeno inédito (2,2-dimetil-8-(3-metil-2-butenil)-2H-cromeno-6-carboxilato de metila) e de um cromeno conhecido como eupatoriocromeno. A chalcona 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi isolada do extrato das folhas de *P. aduncum* demonstrou excelente atividade leishmanicida contra formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (Torres-Santos *et al.*, 1999a & 1999b). O óleo essencial das folhas de *P. aduncum* revelou a presença de monoterpênicos, sesquiterpênicos e arilpropanóides, com destaque para dilailol e apiol (Moreira *et al.* 1998b).

(5) *Piper solmsianum* C.DC. – O material botânico foi coletado em Teresópolis. O extrato em hexano dessa espécie forneceu a neoligana

eupomatenóide-6 e o sesquiterpenocalameno. O óleo essencial das folhas, após purificação em coluna de sílica, rendeu as substâncias puras D3-careno e sarisan. Essas substâncias demonstraram relevante efeito depressor e estimulante no sistema nervoso central (Moreira *et al.* 1995, 2001a).

(6) *Piper cabralanum* C.DC. – Planta coletada em Teresópolis. A partir da fração apolar do extrato metanólico das folhas foi possível o isolamento e identificação de esteroides (sitosterol, estigmasterol e campesterol), sesquiterpênicos, hidrocarbonetos alifáticos e ésteres de ácidos graxos (Moreira *et al.*, 2010). Em menor quantidade foram isolados e identificados derivados de ácido cinâmico (3,4-dimetoxi-dihidrocinamato de metila e ácido 3,4-dimetoxi-dihidrocinâmico) e mistura de sitosterol e estigmasterol glicosilados. Avaliações em cultura de promastigotas de *Leishmania amazonensis* demonstraram boa atividade para o extrato bruto metanólico das folhas e para sua partição em *n*-hexano (Moreira *et al.*, 2010). Testes com células leucêmicas das linhagens K-562 e K-562 Lucena-1 demonstraram excelente atividade antitumoral para a fração apolar do extrato metanólico das folhas de *P. cabralanum*. Essa fração foi nanoencapsulada usando polimetilmetacrilato de metila. O nanoencapsulamento provou ser eficiente em aumentar a atividade da fração ativa (dados não publicados).

Estudos de componentes voláteis de espécies de Piperaceae da Mata Atlântica tem revelado frações ricas em componentes diversos, com destaque para monoterpênicos e sesquiterpênicos. Registra-se, ainda, a presença de arilpropanóides. Os óleos essenciais tem demonstrado excelentes atividades biológicas. Por exemplo, o óleo essencial das folhas da espécie *Piper clausenianum* (Miq.) C.DC. revelou-se rico em nerolidol (ca. 80%) e o óleo das inflorescências revelou-se abundante em linalool (ca. 50%) e nerolidol (ca. 20%). O óleo essencial das folhas foi muito ativo contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (Mesquita, 2010). O estudo dos componentes voláteis de 10 espécies de Piperaceae de fragmento de Mata Atlântica próximo ao município de Paraty, realizado por Santos *et al.* (2001) revelou frações ricas e diversificadas em monoterpênicos e sesquiterpênicos não oxigenados. Os sesquiterpênicos identificados são derivados do precursor imediato pirofosfato de *E,E*-farnesila. Chamou a atenção nesse estudo a ausência de arilpropanóides, comuns em óleos essenciais de espécies de Piperaceae. A baixa frequência de

arilpropanóides em espécies de Piperaceae da Mata Atlântica pode ser devido a uma função adaptativa, uma vez que essas substâncias são muito frequentes em espécies de Piperaceae da Floresta Amazônica.

As substâncias isoladas de Piperaceae, assim como, misturas e frações, tem demonstrado grande potencial para o desenvolvimento de novos fitomedicamentos. Considerando-se que nem 10% das espécies de Piperaceae nativas da Mata Atlântica foram estudadas com sucesso, nossos esforços objetivam pesquisar justamente essas espécies, no sentido de contribuir para o conhecimento da química da família; para o aprimoramento das rotinas de isolamento, purificação e elucidação estrutural; formação de recursos humanos; e obtenção de novos produtos farmacêuticos.

#### Agradecimentos

Ao Instituto de Tecnologia em Fármacos da Fiocruz/ RJ, à professora Elsie Franklin Guimarães pela valiosa parceria e na identificação taxonômica e à professora Maria Auxiliadora Coelho Kaplan, pelas lições de vida.

#### Referências Bibliográficas

- Carnaval, A.C.; Hickerson, M.J.; Haddad, C.F.B.; Rodrigues, M.T. & Moritz, C. 2009. **Science** **323**(5915): 785-789.
- Guadalupe-Rojas, M.; Moreira, D.L.; Pereira, N.A. & Kaplan, M.A.C. 1999. Atividade antiinflamatória de extratos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmácia** **80**: 5-6.
- Guimarães, E.F. *et al.* 1992. Estudos Taxonômico e farmacológico e bioensaios de *Piper lhotzkyanum* Kunth (Piperaceae), uma espécie ocorrente em Minas Gerais. **Daphne** **2**(3): 10-13.
- Grahan, J.G. *et al.* 2000. Plants used against cancer - an extension of the work of Jonathan Hartwell. **J. Ethnopharmacol.** **73**: 347-377.
- Jaramillo, M.A. & Manos, P.S. 2001. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany** **88**(4): 706-716.
- Joly, A.B. 1985. P.p. 777. **Introdução à Taxonomia Vegetal**. 7ª ed. São Paulo: Ed. Nacional.
- Marinho, V.M.C.; Seidl, P.R. & Longo, W.P. 2008. O papel governamental como ator essencial para a P&D de medicamentos – um estudo de caso. **Quim. Nova** **31**(7): 1912-1917.
- Mesquita, A.M.; Velozo, L.S.M.; Barreto, A.L.; Batista, E.M.; Curvelo, J.A.; Moreira, D.L.; Guimarães, E.F.; Soares, R.M. & Kaplan, M.A.C. 2010. Chemistry and Biological Activity of Essential Oils from *Piper clausenianum* (Miq.) C.DC. (Piperaceae). **Natural Product Communications** **5**: 1837-1840.
- Mesquita, A.M.; Velozo, L.S.M.; Moreira, D.L.; Guimarães, E.F. & Kaplan, M.A.C. 2011. Aristolactams from roots of *Ottonia anisum* Spreng. (Piperaceae). **Natural Product Communications** **6**: 939-942.
- Mont'alverne, T.F. & Andrade, D.A. 2011. O acesso justo e equitativo à biodiversidade brasileira como direito fundamental à saúde. **Constituição e garantia de direitos** **4**(1): 1-14.
- Moreira, D.L.; Guimarães, E.F. & Kaplan, M.A.C. 1995. Constituintes Químicos de *Piper solmsianum* C.DC. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmácia** **76**(4): 106-109.
- Moreira, D.L.; Guimarães, E.F.; Kaplan, M.A.C. 1997. Butyl-3,4-methylenedioxybenzene as the Major Constituent of the Essential Oil from *Ottonia anisum*. **The Journal of Essential Oil Research** **9**(5): 175-178.
- Moreira, D.L.; Guimarães, E.F. & Kaplan, M.A.C. 1998a. Non-Polar Constituents from *Piper lhotzkyanum*. **Phytochemistry** **49**(5): 1054-1057.
- Moreira, D.L.; Guimarães, E.F. & Kaplan, M.A.C. 1998b. A chromene from *Piper aduncum*. **Phytochemistry** **48**(3): 1075-1077.
- Moreira, D.L. 1999. **Aspectos químicos e farmacológicos de Piperaceae**. Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais) - Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 147p.
- Moreira, D.L.; Guimarães, E.F. & Kaplan, M.A.C. 2000. A C-glucosyl flavone from Leaves of *Piper lhotzkyanum*. **Phytochemistry** **55**(7): 783-786.

- Moreira, D.L.; Cardoso, G.L.; Souza, P.O.; Guimarães, E.F.; Pereira, N.A. & Kaplan, M.A.C. 2001a. Effect to Leaf Essential Oil from *P. solmsianum* C.DC. in Mice Behaviour. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** **73**(1): 33-37.
- Moreira, D.L.; Souza, P.O.; Cardoso, G.L.; Pereira, N.A. & Kaplan, M.A.C. 2001b. Estudos Fitoquímico e Farmacológico de *Piper gaudichaudianum* Kunth (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmácia** **82**(1/2): 29-32.
- Moreira, D.L.; Fonseca, V.M.; Bhering, C.A.; Vasconcelos, F.G.; Torres-Santos, E.C. & Kaplan, M.A.C. 2010. Estudo Químico e da Atividade leishmanicida de frações de *Piper cabralanum* C.DC. (Piperaceae). **Revista Fitos (ALANAC)** **5**: 92-98.
- Parmar, V.S. *et al.* 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry** **46**(4): 597-673.
- Peixoto, A.L. & Morim, M.P. 2003. Coleções botânicas: documentação da biodiversidade brasileira. **Cienc. Cult.** **55**(3): 21-24.
- Ribeiro, M.C.; Metzger, J.P.; Martensen, A.C.; Ponzonib, F.J. & Hirota; M.M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is there remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation** **42**(6): 1141-1153.
- Santos, P.R.D.; Moreira, D.L.; Guimarães, E.F. & Kaplan, M.A.C. 2001. Essential Oil Analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic Forest. **Phytochemistry** **58**(4): 547-551.
- Souza, V.C. & Lorenzi, H. 2005. 639p. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, São Paulo, Instituto Plantarum.
- Stevens, P. F. 2001. Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 28/9/2013.
- Sunila, E.S. & Kuttan, G. 2004. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperine. **J. Ethnopharmacol.** **90**(2-3): 339-346.
- Tebbs, M.C. 1993. Piperaceae. Pp. 516-520. In: K. Kubitzki; J. G. Rohwer; V. Bittrich. **Flowering Plants Dicotyledons - The Families and Genera of Vascular Plants**. vol. 2. Springer Berlin Heidelberg.
- Torres-Santos, E.C. ; Moreira, D.L. & Kaplan, M.A.C.; Bergmann, B.R.; Meirelles, M.N. 1999a. Selective Effect of 2',6'-Dihydroxy-4'-methoxychalcone Isolated from *Piper aduncum* *Leishmania amazonensis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** **43**: 1234-1241.
- Torres-Santos, E.C.; Moreira, D.L.; Rodrigues, J.M.; Kaplan, M.A.C. & Bergmann, B.R. 1999b. Improvement of *in vitro* and *in vivo* Anti leishmanial Activity of 2',6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone in Poly (D,L-Lactide) Nanoparticles. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** **43**(7): 1776-1778.
- Veloze, L.S.M. 2004. Química e Atividade Biológica de Piperaceae Brasileiras, Tese (Doutorado em Química de Produtos Naturais) - Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 150p.
- Veloze, L.S.M.; Ferreira, M.J.P.; Santos, M.I.S.; Moreira, D.L.; Emerenciano, V.P. & Kaplan, M.A.C. Unusual chromenes from *Peper omiablанда*. **Phytochemistry** **67**: 492-496.
- Veloze, L.S.M.; Ferreira, M.J.P.; Santos, M.I.S.; Moreira, D.L.; Guimarães, E.F.; Emerenciano, V.P. & Kaplan, M.A.C. 2009. C-glycosylflavones from *Peper omiablанда*. **Fitoterapia** **80**: 119-122.
- Yunker, T.G. 1972. The Piperaceae of Brazil. **Hoehnea** **2**(19): 19-366.

# Ecologia de líquens e aplicações no monitoramento ambiental

**Suzana Maria de Azevedo Martins**

Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil  
suzana-martins@fzb.rs.gov.br

Os líquens são componentes importantes de muitos ecossistemas florestais e compreendem grande parte dos componentes epífitos em florestas (Sillet *et al.* 2000; Valencia & Ceballos 2002; Will-Wolf *et al.* 2002). Os líquens epífitos corticícolos se destacam por sua abundância nos trópicos (Valencia & Ceballos 2002), sendo que a maior diversidade é encontrada na América do Sul (Hawksworth & Hill 1984). Eles também apresentam um modelo de distribuição similar a outros grupos de organismos maiores. Determinadas espécies são amplamente distribuídas, denominadas cosmopolitas, enquanto que outras apresentam distribuição restrita a alguns ambientes (Hawksworth 1975; Nash 1996).

Os líquens são utilizados como indicadores de estágios florestais demonstrando se o ecossistema permaneceu intacto ao longo do tempo, sendo mais desenvolvidos em florestas antigas do que em florestas mais jovens (McCune 1993; Esseen *et al.* 1996). A ocorrência de indivíduos de hábito folioso com talos grandes, pode indicar estágios superiores de sucessão (Topham 1977).

A razão do porque algumas espécies liquênicas serem muito mais comuns em florestas antigas não é bem clara, mas muitos trabalhos têm demonstrado que isto ocorre devido ao lento crescimento dos líquens, ao fato do microhabitat dessas florestas serem mais estáveis, e pela baixa eficiência de dispersão dos líquens (Hinds & Hinds 2007).

A estrutura do substrato e as características ambientais estão entre os fatores que mais afetam a distribuição dos líquens em áreas florestais. Uma vez que a preferência por habitats e microhabitats é muito desenvolvida por esses organismos, mínimas

diferenças em fatores químicos como pH, conteúdo mineral, fatores físicos como luz, temperatura, umidade, vento, porosidade, dureza, rugosidade do substrato, etc. podem explicar a substituição de espécies (Brodo 1973; Hale 1955).

Todas as atividades humanas têm consequências para o meio ambiente. A maneira mais sutil de degradação ambiental é a poluição, sendo que as causas mais comuns dessa degradação são os produtos químicos liberados por indústrias, emissões de fábricas e automóveis. Os líquens são muito sensíveis a qualquer tipo de contaminação atmosférica, pois não possuem estômatos e cutícula, permitindo que os gases absorvidos se difundam pelo tecido chegando ao fotobionte. Alterações no balanço simbiótico entre o foto e o micobionte podem ser evidenciadas através da ruptura desta associação. O fotobionte responsável pelo balanço fotossintético é o primeiro a ser afetado provocando anormalidades no talo, bem como o branqueamento da clorofila e o desenvolvimento de áreas marrom - amareladas é observado no cloroplasto. Certamente os efeitos da poluição podem ocorrer em vários níveis de organização, mas sempre inicia ao nível de célula através do acúmulo de poluentes e consequentes alterações nas rotas metabólicas.

Estudos realizados em área industrial demonstram alterações na estrutura das comunidades liquênicas devido aos efeitos dos poluentes atmosféricos, como diminuição da cobertura do talo das espécies mais sensíveis e o aumento das mais tolerantes. Portanto, as emissões aéreas a que os líquens ficam expostos, ao longo do tempo, provocam alterações na estrutura de sua comunidade em função da qualidade ambiental das áreas monitoradas.



O monitoramento de contaminantes atmosféricos pode ser realizado através de dois processos: monitoramento ativo que consiste na transferência de material biológico, por um determinado período de tempo de uma área sem influência de poluentes provenientes de zonas industriais e urbanas, para a área a ser monitorada. E, o monitoramento passivo que compreende na constatação dos danos nos bioindicadores em campo, através da observação e análise da vegetação local. Uma forma muito utilizada é o estudo fitossociológico da comunidade líquênica através do levantamento de frequência, cobertura e diversidade das espécies (Le Blanc & De Sloover 1970).

Através da realização dos monitoramentos ambientais pode se conhecer as espécies líquênicas indicadoras de ambientes preservados bem como aquelas comuns aos grandes centros urbano/industriais; identificar as principais zonas de impacto causadas pela interferência antrópica; caracterizar a presença de contaminantes químicos característicos da contribuição industrial relacionando-os com os danos morfofisiológicos das espécies amostradas; correlacionar as respostas dos líquens com as concentrações dos poluentes emitidos; além de monitorar a emissão de contaminantes aéreos. O conhecimento das respostas fisiológicas das espécies avaliadas frente ao efeito de poluentes pode auxiliar em planos de gestão ambiental, sobre tudo em áreas propícias, ou impróprias, à instalação de indústrias e/ou outro tipo de atividade poluidora (Martins-Mazzitelli 2006).

Neste sentido, a ampliação dos estudos de avaliação ambiental em áreas urbanas, industriais e florestais servirá de subsídio para elaboração de Planos de Manejo e/ou Zoneamento Ecológico-Econômico de UC's, que juntamente com outros estudos poderão ser utilizados como ferramentas à gestão das Unidades de Conservação.

A avaliação da qualidade ambiental dessas áreas virá também a subsidiar ações que visam atender as metas de Aichi em relação à biodiversidade, sendo que, uma delas é a minimização de pressões antrópicas sobre os ecossistemas para que sua integridade e funcionamento sejam mantidos.

Ainda existem muitas lacunas quanto à relação dos líquens com seu substrato ou com o ambiente onde se encontram, sabe-se que de modo geral, os líquens

acompanham as alterações temporais da vegetação e são também importantes para a sucessão de epífitos no tronco. O conhecimento ecológico sobre líquens é escasso, portanto, surge a necessidade de novos estudos sobre a relação funcional desses organismos com o ambiente.

## Referências Bibliográficas

- Brodo, I. M. 1973. Substrate ecology. *In*: M.E. Hale (ed.). **The Lichens**. Academic Press, New York, pp. 401-436.
- Esseen, P.A. & Renhorn, K.E. & Pettersson, R.B. 1996. Epiphytic lichen biomass in managed and old-growth boreal forests: effect of branch quality. **Ecol. Appl.** 6:228-238.
- Hale, M.E. 1955. Phytosociology of Corticolous Cryptogams in the Upland Forests of Southern Wisconsin. **Ecology** 36:45-63.
- Hawksworth, D.L. 1975. Lichens – New Introductory, matter and supplementary. Index by Smith, A. L. 1921. **The Richmond Publishing CO**. Cambridge.
- Hawksworth, D.L. & Hill, D.J. 1984. **The Lichen – Forming Fungi**. Blackie, New York, 158p.
- Hinds, J.W. & Hinds, P.L. 2007. **Themacrolichens of New England. Memoirs of the New York Botanical Garden 96**. New York, The New York Botanical Garden Press.
- Le Blanc, F. S. C. & De Sloover, J. 1970. Relation industrialization and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal. **Canadian Journal of Botany**. Ottawa, Canada 48(8): 1485-96.
- Martins-Mazzitelli, S.M. de A.; Mota Filho, F. de O.; Pereira, E.C. & Figueira, R. 2006. Utilização de líquens no Biomonitoramento da qualidade do ar. *In*: L. Xavier Filho *et al.* (ed.) **Biologia de Líquens**. Âmbito Cultural, Rio de Janeiro, BR, PP. 99-143.
- McCune, B. 1993. Gradients in epiphyte biomass in three *Pseudotsuga-Tsuga* forests of different ages in western Oregon and Washington. **Bryologist** 96:405-411.
- Nash III, T. H. 1996. Photosynthesis, respiration, productivity and growth. *In*: T. H. Nash III, (ed.).



- Lichen Biology.** Cambridge University Press, Cambridge, pp. 88-120.
- Sillet, S.C.; McCune, B.; Peck, J.E. & Rambo, T.R. 2000. Four years of epiphyte colonization in Douglas-fir forest canopies. **Bryologist** **103**: 661-669.
- Topham, P.B. 1977. Colonization, Growth, Succession and Competition, *in*: M.R.D Seward, (ed.), **Lichen Ecology**. Academic press, London, pp. 31-68.
- Valencia, M. C. de & Ceballos, J. A. 2002. **Hongos liquenizados**. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 220 p.
- Will-Wolf, S., Essen, P.A. & Neitlich, P. 2002. Monitoring biodiversity and ecosystem function: Forests. *In*: Nimis, P.L., Scheidegger, C. e Wolseley, P.A. (eds), **Monitoring with lichens – Monitoring lichens**, pp. 203-222.

# Ecologia funcional e filtros ambientais no campo rupestre

Daniel Negreiros<sup>1,3</sup>, Soizig Le Stradic<sup>1,2</sup>, G. Wilson Fernandes<sup>1</sup> & Henrique C. Rennó<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, França

<sup>3</sup> Autor para correspondência: negreiros.eco@gmail.com

## Introdução

A classificação das espécies vegetais em tipos funcionais reflete a necessidade de se usar uma linguagem comum que permita estabelecer comparações entre diferentes floras, regiões e escalas, maximizando a utilidade dos dados (Weiher *et al.* 1999).

Uma longa série de investigações levou à identificação de um conjunto de atributos que são quase sempre bons correlatos de habilidades funcionais chave para as plantas (e.g., taxa de crescimento relativo, taxa de decomposição foliar, durabilidade foliar, investimento reprodutivo), dessa maneira permitindo a quantificação destes atributos em um grande número de espécies (Cornelissen *et al.* 2003).

Segundo o esquema de estratégias ecológicas conhecido como “CSR” (C: competitivo; S: estresse-tolerante; R: ruderal; Grime 2001, Grime & Pierce 2012), conjuntos de atributos funcionais delimitam estratégias de sobrevivência nas plantas, representando compromissos (*tradeoffs*) entre a habilidade para competir com vizinhos (estratégia C), tolerar estresses (estratégia S) ou sobreviver a destruição de parte da biomassa (estratégia R). Conforme este esquema, as plantas podem exibir em diferentes proporções as características associadas a cada uma das três estratégias primárias: plantas com maior estatura que investem em crescimento e aquisição rápida de recursos (C); plantas de estatura reduzida e alta longevidade devido ao investimento

em estruturas duráveis e bem defendidas (S); e plantas pequenas com baixa longevidade e com alto investimento reprodutivo (R).

O método de classificação CSR proposto por Hodgson *et al.* (1999) utiliza sete atributos de fácil medição para o cálculo da importância relativa dessas três estratégias primárias em espécies herbáceas (i.e., não-lenhosas). Este método já foi utilizado em diversos estudos e aplicado em mais de 1000 espécies de diversos ambientes na Europa (Caccianiga *et al.* 2006, Pierce *et al.* 2007, Massant *et al.* 2009, Cerabolini *et al.* 2010a, b, Navas *et al.* 2010), revelando em geral uma forte conexão com processos ecossistêmicos chave. A aplicação dessa classificação em outras vegetações pelo mundo tem o potencial de melhorar a compreensão das hipóteses subjacentes à teoria CSR, além de beneficiar as comunidades estudadas por proverem informações úteis a programas de conservação, manejo e restauração dessas vegetações.

O campo rupestre é um ecossistema que ocorre principalmente nos picos e cristas das montanhas que compõem a cordilheira do Espinhaço. Esta ecorregião possui reconhecida importância no cenário conservacionista mundial devido a sua enorme biodiversidade vegetal composta por uma grande proporção de espécies endêmicas (Giulietti *et al.* 1997, Echernacht *et al.* 2011). De uma forma geral o campo rupestre se apresenta como uma fisionomia herbácea entremeada por pequenos arbustos esclerófilos e sempre verdes (Giulietti *et al.*, 1997). A vegetação associada a este ecossistema está submetida a fortes estresses ambientais devido aos solos de origem

quartzítica extremamente inférteis e com altos teores de alumínio (Benites *et al.* 2007, Negreiros *et al.* 2008, Le Stradic 2012), à pronunciada seca sazonal, intensa luminosidade e ventos fortes e constantes.

Não obstante sua aparente homogeneidade fisionômica, este ecossistema pode ser melhor definido como um mosaico de habitats condicionados principalmente pela granulometria do substrato (Carvalho *et al.* 2012, Le Stradic 2012), que varia desde solos com uma textura mais fina em turfeiras e frestas de afloramentos rochosos a solos onde predomina areia (campos arenosos) e cascalho (campos pedregosos).

Em comparação com os campos arenosos, os campos pedregosos possuem uma cobertura vegetal mais esparsa, com grande proporção de substrato rochoso desnudo, porém com teores relativamente maiores de nutrientes (Le Stradic 2012). Portanto, estes dois habitats de campo rupestre se apresentam como um sistema natural ideal para o teste de algumas hipóteses que preveem uma relação direta entre as características ambientais do habitat e o estado dos atributos funcionais de sua vegetação componente. Nesse contexto, o presente estudo aplica pela primeira vez a classificação de estratégias vegetais CSR (Hodgson *et al.* 1999) em uma vegetação localizada no hemisfério Sul.

No presente estudo buscamos avaliar a importância relativa das estratégias C, S e R em dois habitats típicos de campo rupestre através da classificação de uma amostra representativa das espécies herbáceas e da avaliação da proporção dessas estratégias (dentre as 19 categorias possíveis) nessas duas comunidades. A expectativa foi de que em ambos habitats houvesse uma predominância da estratégia estresse-tolerante e em geral de atributos que maximizam a conservação e proteção dos recursos adquiridos (tipo conservativo; Díaz *et al.* 2004, Wright *et al.* 2004), visto que há indicações de que ambientes cronicamente improdutivos favoreçam espécies com atributos típicos da síndrome de resistência ao estresse (Chapin *et al.* 1993, Aerts & Chapin 2000). Adicionalmente foi testada a hipótese de que o campo pedregoso e arenoso apresentam distintas características funcionais, havendo uma conexão entre os atributos biológicos de suas espécies componentes e as peculiaridades ambientais características de cada habitat. Embora ambas as comunidades ocorram lado a lado em manchas na paisagem e compartilhem

em grande parte as mesmas espécies (Le Stradic 2012), espera-se que os diferentes filtros ambientais nesses dois habitats favoreçam distintas estratégias e características funcionais (Pierce *et al.* 2007).

## Material e Métodos

### Área de estudo e espécies amostradas

Este estudo foi realizado na Reserva Natural Vellozia (19°17'46"S, 43°35'28"W, altitude em torno de 1200 m) e em áreas do entorno, localizada na Área de Proteção Ambiental Morro da Pedreira, Serra do Cipó, porção sul da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil. O clima regional é considerado mesotérmico (Cwb na classificação Köppen) e marcadamente sazonal, com duas estações bem definidas, sendo uma chuvosa e quente (entre novembro a abril) e outra seca e fria (entre maio e outubro), com precipitação anual de 1370 mm e temperatura média anual de 21,2°C (Madeira & Fernandes 1999).

Com base no levantamento fitossociológico feito por Le Stradic (2012), foram selecionadas 49 espécies herbáceas (não lenhosas) para as medidas de atributos funcionais. A seleção foi feita de modo a incluir as espécies com maior valor de importância (IVI) em cada habitat, embora também tenham sido amostradas espécies com baixa importância a fim de obter uma maior representatividade na descrição funcional das duas comunidades estudadas. As espécies amostradas corresponderam a 81,9% e a 82,5% do IVI médio do campo pedregoso e arenoso, respectivamente. O restante do IVI não amostrado corresponde a 127 e 115 espécies respectivamente no campo pedregoso e arenoso (Le Stradic 2012). Dentre as 37 espécies com ocorrência em ambos os habitats, 22 espécies de maior importância foram coletadas em cada habitat separadamente. As 15 espécies restantes foram coletadas nos habitats onde ocorrem com maior IVI (Tabela 1). As amostras florísticas foram realizadas em cinco áreas de cada hábitat, havendo a distância mínima entre réplicas de 800 m. Em cada área foram amostrados 15 e 20 quadrados (1x1 m) nos campos arenosos e pedregosos, respectivamente. Para cada espécie foi calculada a importância relativa em cada área conforme Mueller-Dombois & Ellenberg (1974). Para detalhes na amostragem fitossociológica, veja Le Stradic (2012).

### *Atributos funcionais e classificação CSR*

Foram amostrados atributos funcionais de reconhecida importância nos processos ecossistêmicos (Weiher *et al.* 1999, Díaz *et al.* 2004) e amplamente utilizados em estudos de ecologia funcional (e.g., Cerabolini *et al.* 2010a). Todas as medidas seguiram os protocolos padronizados extensivamente descritos por Cornelissen *et al.* (2003). Em cada espécie, foram amostrados dez indivíduos adultos e saudáveis, no entorno das áreas onde foram feitas medidas fitossociológicas, durante os meses de dezembro a fevereiro (2010 a 2012), auge da estação chuvosa e período considerado como a estação mais favorável ao crescimento nos campos rupestres.

O cálculo da importância relativa das estratégias C, S e R é feito com o uso de sete atributos de medição relativamente fácil. Quatro parâmetros são avaliados *in situ*: altura das plantas (do solo ao topo da copa), extensão lateral (seis categorias relativas à arquitetura e clonalidade da planta; veja Hodgson *et al.* 1999), duração da floração e mês de início da floração (obtidos ao longo de dois anos de observação e cedidos para este estudo por Le Stradic *et al.*, comunicação pessoal). Para determinação dos três atributos foliares necessários aos cálculos das estratégias CSR (área foliar específica, conteúdo de matéria seca foliar e massa seca foliar) foram coletados ramets inteiros no campo, de preferência com parte do sistema radicular (e.g., bulbos ou touceiras) para evitar a dessecação do material foliar, sendo evitado o horário de maior incidência solar (10-15 horas). Os ramets coletados foram imediatamente saturados com água usando um borrifador de água, embalados em sacos de papel umedecidos, selados em saco plástico, e armazenados em caixa térmica até o transporte para o laboratório. O material vegetal coletado foi mantido em geladeira a 4°C por no mínimo 12 horas para obtenção da completa turgidez. As medidas foram feitas em duas folhas (inclusive pecíolo) por indivíduo em até 48 h após a coleta em campo. Foram amostradas apenas folhas jovens completamente expandidas e endurecidas, sem sinais de patógenos, herbivoria ou má formação, de acordo com Cornelissen *et al.* (2003). A área foliar foi obtida com o uso de um scanner de mesa e o software Leaf Area Measurement (A.P. Askew 2003, The University of Sheffield, UK). Folhas curvadas foram cortadas em fragmentos e posicionadas de maneira a entrarem totalmente em contato com a superfície do scanner. A massa fresca foliar foi obtida nas folhas turgidas

previamente secas com papel toalha macio, e a massa seca foliar foi determinada com balança analítica (precisão de 0,1 mg) após 96 horas de secagem em estufa a 60°C. Além dos atributos utilizados no cálculo das estratégias CSR, foram determinados a largura e dureza foliar. A largura (considerando a região central das folhas) foi medida com o uso de um paquímetro digital (precisão de 0,1 mm) e a dureza foliar estimada com o uso de um penetrômetro digital (Chatillon modelo DFE-010, Largo, Florida, USA) acoplado a uma ponta em formato de cone (modelo SPK-FMG-009A). Os valores de dureza foliar foram standardizados pela espessura foliar, que foi obtida com o uso de um micrômetro digital (Mitutoyo series 293, precisão de 0,0001 mm). O grau de endemismo das espécies avaliadas foi determinado a partir dos dados de distribuição geográfica das espécies, disponíveis em Le Stradic (2012). Os valores médios dos atributos medidos em cada espécie avaliada estão disponíveis em Negreiros (2013) e Negreiros *et al.* (submetido).

A classificação das espécies nas categorias de estratégias CSR (dentre os 19 tipos possíveis) foi feita com o uso da planilha disponível em Hodgson *et al.* (1999). O atributo início da floração foi utilizado apenas nos cálculos das espécies não-graminóides. Tendo em vista que este estudo foi feito no hemisfério Sul, foi feita uma correção de seis meses nos valores do mês de início da floração (veja, Weiher *et al.* 1999). Com o fim de avaliar a importância relativa das estratégias C, S e R nos campos pedregosos e arenosos, foi determinada a somatória da importância relativa (IVI) das espécies pertencentes a cada categoria de estratégias CSR (dentre as 19 possíveis). A representação das categorias de estratégias CSR em cores foi feita através da conversão das coordenadas C, S e R respectivamente nas cores vermelho, verde e azul, conforme Pierce *et al.* (2007).

### *Conexão entre atributos biológicos e ambientais*

Para testar a hipótese de conexão entre os atributos funcionais das espécies e as características do habitat, utilizamos duas ferramentas estatísticas complementares que fazem o uso simultâneo de três matrizes (florística, biológica e ambiental) no estudo de filtros ambientais em comunidades ecológicas: a análise *fourth corner* (Dray & Legendre 2008) e a RLQ (Dolédec *et al.* 1996, Pavoine *et al.* 2011). Na matriz florística as linhas correspondem às áreas (5 réplicas × 2 habitats) e as colunas às 49 espécies, com cada célula

contendo o valor do IVI considerando as espécies amostradas em cada área. Na matriz biológica as linhas correspondem às espécies e as colunas aos atributos funcionais. Foram utilizados os valores médios para as espécies que foram amostradas nos dois habitats. Na matriz ambiental as linhas correspondem às áreas e as colunas aos parâmetros ambientais. Os dados utilizados nessa matriz foram obtidos do estudo de Le Stradic (2012). O pH, percentual de matéria orgânica, saturação de alumínio, soma de bases (K + Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup>) e teores de fósforo e nitrogênio foram determinados conforme (Silva *et al.* 1999) em três repetições por área na estação seca e chuvosa. Os percentuais de solo fino (fração do solo com partículas menores que 2 mm) e areia fina foram determinados conforme EMBRAPA (1999) em três repetições por área. O percentual de solo descoberto e de cobertura por serrapilheira foi estimado em cada quadrado de 1×1 m utilizado na descrição fitossociológica (15 a 20 repetições em cada área). Para todos os parâmetros ambientais, foram considerados nas análises os valores médios de cada área. Para atingir os pressupostos de normalidade, foram logaritmizados os atributos: competitividade, altura, duração da floração, área foliar específica, massa seca foliar, largura foliar, dureza foliar, soma de bases e teores de nitrogênio e fósforo. Visto que a estresse-tolerância apresentou *skewness* negativo, a normalidade foi atingida pela raiz-quadrada dos valores refletidos, sendo feita novamente a reflexão dos dados após a transformação, de acordo com Quinn & Keough (2002). As variáveis ordinais (extensão lateral, início da floração e endemismo) foram rankeadas e tratadas daí em diante como variáveis quantitativas. Primeiramente utilizando todos 13 atributos biológicos descritos anteriormente, a análise *fourth corner* foi empregada com o fim de avaliar a significância da correlação destes atributos com cada parâmetro ambiental, sendo utilizado o método “combinado” dos modelos nulos 2 e 4, conforme sugerido em Dray & Legendre (2008). Após esta etapa foram selecionados para a análise RLQ apenas os atributos biológicos significativamente correlacionados com mais de um parâmetro ambiental. A análise RLQ foi desenvolvida para acessar a combinação de atributos biológicos com covariância máxima com uma dada combinação de parâmetros ambientais (Dolédec *et al.* 1996). Para a realização da RLQ, foi empregada a análise de correspondência para a matriz florística, enquanto nas matrizes biológica e ambiental foi utilizada a análise de componentes principais (PCA). Na PCA biológica as espécies receberam um peso relativo (*weight*) que

correspondeu à média do IVI considerando todas áreas juntas (Dolédec *et al.* 1996, Dray & Dufour 2007, Pavoine *et al.* 2011). Foi atribuído peso idêntico às dez áreas na PCA ambiental, visto que medida de abundância utilizada foi o IVI relativo (i.e., a soma do IVI em cada área é 100%). Ambas as análises foram feitas no ambiente R (R Development Core Team, 2012) com o uso do pacote “ade4” (Dray & Dufour 2007) e de algumas funções providas por Pavoine *et al.* (2011).

## Resultados

Considerando as 19 possíveis categorias de estratégias no espaço CSR (Figura 1A-B), fica evidente a preponderância nos dois habitats das estratégias próximas ao vértice estresse-tolerante do triângulo (Figura 1C-D). Embora haja uma grande semelhança entre os dois habitats, no campo pedregoso existe um predomínio mais intenso da estresse-tolerância, visto que o IVI das espécies enquadradas na categoria “S” somam 54,5% (Figura 1C), enquanto no campo arenoso há uma tendência de partição mais equânime do IVI entre as estratégias dominantes (Figura 1D).



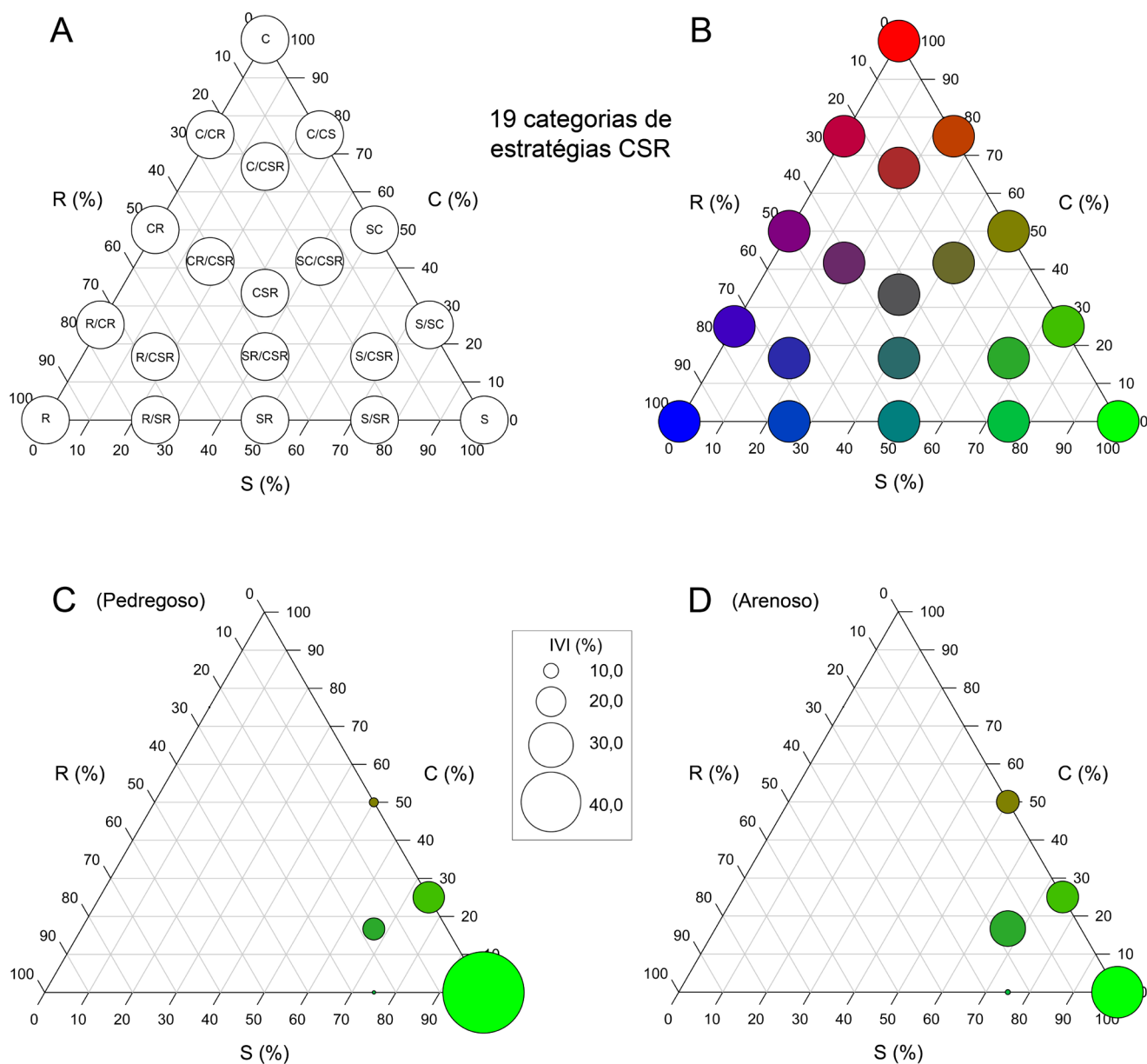


Figura 1: Categorias de estratégias CSR e sua representatividade em duas comunidades herbáceas de campo rupestre na Serra do Cipó, MG. (A): denominações e coordenadas das 19 categorias CSR; (B): representação em cores de cada categoria CSR (resultante da conversão da proporção de C, S e R respectivamente em vermelho, verde e azul, conforme Pierce et al. 2007); (C) e (D): representatividade das categorias CSR respectivamente no campo pedregoso e arenoso de acordo com o índice de valor de importância (IVI %).

Dos 13 atributos funcionais avaliados, dez se correlacionaram significativamente com mais de um parâmetro ambiental, segundo a análise *fourth corner* (Figura 2A). A associação global entre os atributos das espécies e a estrutura do habitat foi significativa ( $p = 0,0065$ ), segundo o teste baseado na co-inércia total da análise RLQ (Monte-Carlo com 100.000 permutações). O eixo 1 da análise RLQ explicou 93,9% da variação

total. O lado positivo deste eixo corresponde a áreas com maior proporção de solo fino (granulometria menor que 2 mm), com maior saturação de alumínio, pH menos ácido, maior proporção de areia fina, menores teores de nutrientes e matéria orgânica e com pouco solo descoberto (Figura 2B). As espécies com maior importância nessas áreas

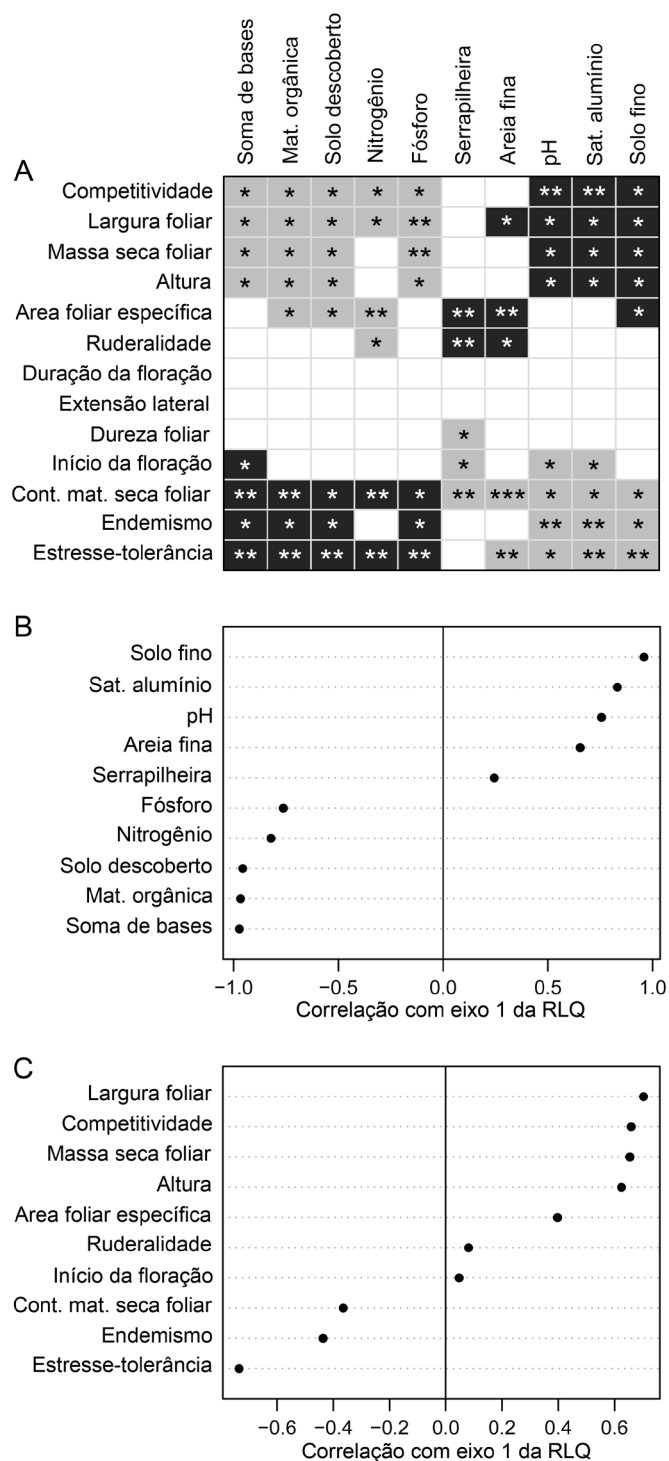


Figura 2: Relação entre atributos biológicos e ambientais em vegetação de campo arenoso e pedregoso na Serra do Cipó, MG. (A): resultado da análise fourth corner representando correlações não significativas em branco, significativamente positivas em preto e significativamente negativas em cinza. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ . (B): Correlação de Pearson entre os parâmetros ambientais e as coordenadas das áreas no eixo 1 da análise RLQ. (C): Correlação de Pearson (ponderada pelo IVI médio de cada espécie) entre os atributos biológicos e as coordenadas das espécies no eixo 1 da análise RLQ. Para os atributos ordinais (endemismo e início da floração) são reportadas a correlação de Spearman.

compartilharam atributos similares, apresentando distribuição geográfica mais ampla, menor estresse-tolerância, maior competitividade, maior estatura, com folhas maiores, mais largas e menos esclerófilas (i.e., com maior área foliar específica e menor conteúdo de matéria seca foliar) (Figura 2C). Em contraste, o lado negativo deste eixo representou áreas com solo predominantemente pedregoso (granulometria maior que 2 mm), com maiores teores de nutrientes e matéria orgânica, mais ácido embora com menor saturação de alumínio e com grande percentagem de solo descoberto (Figura 2B). As espécies com maior importância nessas áreas em geral apresentaram distribuição geográfica mais restrita, maior estresse-tolerância, menor competitividade, menor estatura, com folhas menores, mais finas e mais esclerófilas (Figura 2C).

### Discussão

O presente estudo avaliou *in situ* características funcionais de duas comunidades herbáceas submetidas a fortes estresses ambientais, evidenciando o papel dos filtros ambientais na determinação da diversidade e caráter funcional das plantas nesses habitats. A maior importância da estresse-tolerância em ambos os habitats confirmou a expectativa de que ambientes cronicamente improdutivos favoreçam espécies com atributos típicos da síndrome de resistência ao estresse (Chapin *et al.* 1993, Aerts & Chapin 2000) e em geral de atributos que maximizam a conservação dos recursos adquiridos (Díaz *et al.* 2004, Wright *et al.* 2004). Em ambos os habitats não foram encontradas espécies predominantemente ruderais e as poucas espécies com maior competitividade foram pouco representativas (i.e., com IVI abaixo de 1%), evidenciando uma convergência funcional em resposta ao alto estresse ambiental, exatamente conforme as predições da teoria CSR (Grime 2001, Grime & Pierce 2012). Por outro lado, as peculiaridades ambientais que diferenciam os dois habitats resultaram em uma relativa maior importância da categoria “S” no campo pedregoso e das categorias “SC” e “S/CSR” no campo arenoso. Portanto, há indicações de que a classificação CSR seja suficientemente sensível para detectar diferenças ambientais mesmo em situações em que se compara comunidades aparentemente sujeitas a pressões ambientais semelhantes e que compartilham a maioria das espécies.

Os resultados das análises *fourth corner* e RLQ indicaram uma forte associação entre a estresse-tolerância e competitividade com o gradiente ambiental existente nas áreas estudadas. Tal fato ressalta a validade da classificação CSR proposta por Hodgson *et al.* (1999) e adaptada por Caccianiga *et al.* (2006) em estudos de filtros ecológicos. Nesse sentido, dentre as 13 características funcionais avaliadas no presente estudo, o percentual de estresse-tolerância foi o atributo que apresentou maior correlação com o gradiente ambiental presente nas áreas amostradas. Além disso, a oposição entre a estresse-tolerância e a competitividade refletiu ambos os espectros de economia foliar e de tamanho, previamente reconhecidos como os dois principais eixos de especialização da flora mundial (Wright *et al.* 2004, Diaz *et al.* 2004, Cerabolini *et al.* 2010a), considerando a fase estabelecida do ciclo de vida das plantas. Por outro lado, a ruderalidade e os dois fatores relacionados à fase regenerativa do ciclo de vida das plantas (início e duração da floração) de uma maneira geral não se associaram ao gradiente ambiental avaliado, indicando uma baixa participação dos distúrbios na estruturação destes habitats (veja, Lavorel & Garnier 2002).

As áreas com maior disponibilidade de nutrientes abrigaram uma maior proporção de espécies de menor estatura, maior esclerofilia e estresse-tolerância. Esta situação aparentemente contraditória indica que em estudos ecológicos de vegetações naturais, os parâmetros usados para caracterizar a estrutura dos habitats devem ser escolhidos de maneira mais abrangente possível, jamais considerando o status nutricional de forma isolada. No caso específico da vegetação estudada, há indicações de que o estresse ambiental esteja mais associado a fatores como a proporção de solo desnudo e a disponibilidade de espaço físico para as raízes, visto que nos campos pedregosos a quantidade solo fino é em média de apenas 40% (Le Stradic 2012). O espectro funcional evidenciado pela oposição da estresse-tolerância com a competitividade também se relacionou com o endemismo das espécies avaliadas, ressaltando a importância conservacionista de estudos dessa natureza, visto que o reduzido tamanho populacional é frequentemente citado como uma das principais causas de ameaça de extinção das espécies de plantas neste ecossistema (Mendonça & Lins 2000).

Implícito nas análises desenvolvidas para evidenciar filtros ambientais em comunidades

ecológicas (e.g., Dolédec *et al.* 1996, Dray & Legendre 2008, Pavoine *et al.* 2011) está a atribuição de pesos relativos às espécies de acordo com a abundância relativa das mesmas. Tal fato reflete a ideia de que as espécies dominantes devam exercer maior influência nos processos ecossistêmicos (Grime 1998). Tendo em vista que atualmente se dispõe de uma longa lista de atributos de fácil medição altamente correlacionados com importantes atributos fisiológicos, processos ecológicos e serviços ecossistêmicos (Weiher *et al.* 1999, Cornelissen *et al.* 2003, Díaz *et al.* 2004, 2007), argumentamos que em outras vegetações herbáceas de grande relevância conservacionista deveriam ter suas espécies dominantes amostradas quanto a estes atributos funcionais, como os utilizados no presente estudo. Dessa forma, com um relativo baixo esforço se pode dispor de informações que devem ser incorporadas em programas de conservação e manejo por serem relevantes no entendimento dos processos de resiliência e resistência desses ecossistemas aos impactos das alterações climáticas e no uso e ocupação do solo (Suding *et al.* 2008).

Este estudo mostrou uma forte conexão entre os atributos da vegetação e a estrutura do habitat. As áreas com maior disponibilidade de nutrientes e menos espaço para as raízes abrigaram espécies com características menos competitivas, indicando que a competição seja relativamente menos importante que processos de facilitação na estruturação de vegetações montanhosas sujeitas a alto estresse ambiental (Callaway *et al.* 2002).

## Agradecimentos

Agradecemos a S. Pierce por compartilhar suas perspectivas e gentilmente responder a inúmeras questões sobre a teoria CSR, a F.A.O. Silveira pelos comentários críticos, a P.L. Viana, B. Loeuille, R. Mello-Silva, L. Echternacht, N.O.M. Furtado e F.A.O. Silveira pelas identificações botânicas. Agradecemos ao apoio logístico da Reserva Natural Vellozia e ao CNPq (163020/2013-2, 141696/2009-5, 558250/2009-2, 563304/2009-3, 303352/2010-8, 403781/2012-4, 457519/2012-6), FAPEMIG (APQ 04105-10) e FAPEMIG / FAPESP / FAPESPA / VALE S.A (RDP 00048-10) pelo apoio financeiro.

## Referências bibliográficas

- Aerts, R. & Chapin, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. **Advances in Ecological Research** **30**: 1-67.
- Benites, V.M.; Schaefer, C.E.R.; Simas, F.N.B. & Santos, H.G. 2007. Soil associated with rock outcrops in the Brazilian mountain ranges Mantiqueira and Espinhaço. **Revista Brasileira de Botânica** **30**: 569-577.
- Caccianiga, M.; Luzzaro, A.; Pierce, S.; Ceriani, R.M. & Cerabolini, B. 2006. The functional basis of a primary succession resolved by CSR classification. **Oikos** **112**: 10-20.
- Callaway, R.M.; Brooker, R.W.; Choler, P.; Kikvidze, Z.; Lortie, C.J.; *et al.* 2002. Positive interactions among alpine plants increase with stress. **Nature** **417**: 844-848.
- Carvalho, F.; Souza, F.A.; Carrenho, R.; Moreira, F.M.S.; Jesus, E.C. & Fernandes, G.W. 2012. The mosaic of habitats in the high-altitude Brazilian rupestrian fields is a hotspot for arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Soil Ecology** **52**: 9-19.
- Cerabolini, B.E.L.; Brusa, G.; Ceriani, R.M.; de Andreis, R.; Luzzaro, A. & Pierce, S. 2010a. Can CSR classification be generally applied outside Britain? **Plant Ecology** **210**: 253-261.
- Cerabolini, B.; Pierce, S.; Luzzaro, A. & Ossola, A. 2010b. Species evenness affects ecosystem processes in situ via diversity in the adaptive strategies of dominant species. **Plant Ecology** **207**: 333-345.
- Chapin, F.S.; Autumn, K. & Pugnaire, F. 1993. Evolution of suites of traits in response to environmental stress. **American Naturalist** **142**: 578-592.
- Cornelissen, J.H.C.; Lavorel, S.; Garnier, E.; Diaz, S.; Buchmann, N.; *et al.* 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. **Australian Journal of Botany** **51**: 335-380.
- Díaz, S.; Hodgson, J.G.; Thompson, K.; Cabido, M.; Cornelissen, J.H.C.; *et al.* 2004. The plant traits that drive ecosystems: evidence from three continents. **Journal of Vegetation Science** **15**: 295-304.
- Dolédec, S.; Chessel, D.; ter Braak, C.J.F. & Champely, S. 1996. Matching species traits to environmental variables: a new three-table ordination method. **Environmental and Ecological Statistics** **3**: 143-166.
- Dray, S. & Dufour, A.B. 2007. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. **Journal of Statistical Software** **22**: 1-20.
- Dray, S. & Legendre, P. 2008. Testing the species traits-environment relationships: the fourth-corner problem revisited. **Ecology** **89**: 3400-3412.
- Echternacht, L.; Trovó, M.; Oliveira, C.T. & Pirani, J.R. 2011. Areas of endemism in the Espinhaço Range in Minas Gerais, Brazil. **Flora** **206**: 782-791.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA 1997. **Manual de métodos e análises de solo**. Rio de Janeiro, 2a ed., EMBRAPA/CNPQ.
- Giulietti, A.M.; Pirani, J.R. & Harley, R.M. 1997. Espinhaço range region, eastern Brazil. Pp 397-404. In: Davis, S.D.; Heywood, V.H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J.; Hamilton, A.C. (Eds.). **Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation**. WWF/IUCN, Cambridge.
- Grime, J.P. 1998. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. **Journal of Ecology** **86**: 901-910.
- Grime, J.P. 2001. **Plant strategies, vegetation processes and ecosystem properties**, 2a ed., Chichester, Wiley.
- Grime, J.P. & Pierce, S. 2012. **The evolutionary strategies that shape ecosystems**. Chichester, Wiley-Blackwell.
- Hodgson, J.G.; Wilson, P.J.; Hunt, R.; Grime, J.P. & Thompson, K. 1999. Allocating C-S-R plant functional types: a soft approach to a hard problem. **Oikos** **85**: 282-294.
- Lavorel, S. & Garnier, E. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. **Functional Ecology** **16**: 545-556.
- Le Stradic, S. 2012. **Composition, phenology and restoration of campo rupestre mountain grasslands - Brazil**. Tese de doutorado, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon &



- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Madeira, J. & Fernandes, G.W. 1999. Reproductive phenology of sympatric taxa of *Chamaecrista* (Leguminosae) in Serra do Cipó. **Journal of Tropical Ecology** **15**: 463-479.
- Massant, W.; Godefroid, S. & Koedam, N. 2009. Clustering of plant life strategies on meso-scale. **Plant Ecology** **205**: 47-56.
- Mendonça, M.P. & Lins, L.V. 2000. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Belo Horizonte, Biodiversitas & Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte.
- Mueller-Dombois, D. & Ellenberg, H. 1974. **Aims and methods in vegetation ecology**. New York, John Wiley & Sons.
- Navas, M.-L.; Roumet, C.; Bellmann, A.; Laurent, G. & Garnier, E. 2010. Suites of plant traits in species from different stages of a Mediterranean secondary succession. **Plant Biology** **12**: 183-196.
- Negreiros, D. 2013. **Estratégias ecológicas de plantas de campo rupestre**. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Negreiros, D.; Moraes, M.L.B. & Fernandes, G.W. 2008. Caracterização da fertilidade dos solos de quatro espécies de leguminosas de campos rupestres, Serra do Cipó, MG, Brasil. **Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal** **8**: 30-39.
- Negreiros, D.; Le Stradic, S.; Fernandes, G.W. & Rennó, H.C. Plant ecological strategies in highly diverse and harsh tropical grasslands: the connection between environment and community traits. (Submetido).
- Pavoine, S.; Vela, E.; Gachet, S.; de Bélair, G. & Bonsall, M.B. 2011. Linking patterns in phylogeny, traits, abiotic variables and space: a novel approach to linking environmental filtering and plant community assembly. **Journal of Ecology** **99**: 165-175.
- Pierce, S.; Luzzaro, A.; Caccianiga, M.; Ceriani, R.M. & Cerabolini, B. 2007. Disturbance is the principal  $\alpha$ -scale filter determining niche differentiation, coexistence and biodiversity in an alpine community. **Journal of Ecology** **95**: 698-706.
- Quinn, G.P. & Keough, M.J. 2002. **Experimental design and data analysis for biologists**. Cambridge, Cambridge University Press.
- R Development Core Team 2012) **R: a language and environment for statistical computing**. Version 2.15.1. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. disponível em <http://www.r-project.org> (acesso em 16/05/2012).
- Silva, F.C.; Eira, P.A.; Van Raij, B.; Silva, C.A.; Abreu, C.A.; *et al.* 1999. Análises químicas para a avaliação da fertilidade do solo. Pp. 75-169. In: Silva, F.C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, EMBRAPA.
- Suding, K.N.; Lavorel, S.; Chapin, F.S.; Cornelissen, J.H.C.; Díaz, S.; Garnier, E.; Goldberg, D.; Hooper, D.U.; Jackson, S.T. & Navas, M.-L. 2008. Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. **Global Change Biology** **14**: 1125-1140.
- Weihner, E.; Van Der Werf, A.; Thompson, K.; Roderick, M.; Garnier, E. & Eriksson, O. 1999. Challenging Theophrastus: a common core list of plant traits for functional ecology. **Journal of Vegetation Science** **10**: 609-620.
- Wright, I.J.; Reich, P.B.; Westoby, M.; Ackerley, D.D.; Baruch, Z. *et al.* 2004. The worldwide leaf economics spectrum. **Nature** **428**: 821-827.



# Estratégias reprodutivas de briófitas tropicais: estudos de caso com musgos e hepáticas ocorrentes no Brasil

**Adaíses S. Maciel-Silva<sup>1,6</sup>, Camila M.C. Alves<sup>1</sup>, Denise P. Costa<sup>2</sup>, Elisângela P. Gaspar<sup>2</sup>, Fagner P. da Conceição<sup>1</sup>, Flávia C. Lins da Silva<sup>3</sup>, Ivany F. Marques Válio<sup>4</sup>, Kátia C. Pôrto<sup>5</sup>, Nivea D. dos Santos<sup>5</sup>, Renata O. Knupp<sup>1</sup> & Suellen S. Feitosa<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil

<sup>2</sup> Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>3</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

<sup>4</sup> Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

<sup>5</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

<sup>6</sup> Autor para correspondência: adaisesmaciel@hotmail.com

Diferentes organismos, tais como plantas, fungos e animais; podem ser agrupados de acordo com as estratégias que possuem em relação a sua história de vida, captura e utilização dos recursos, resposta ao clima e biologia regenerativa (Grime 2001). Estratégias ou táticas são o agrupamento de características similares ou análogas que ocorrem amplamente entre espécies ou populações, resultando em similaridades ecológicas (Grime 2001). Espécies vegetais amplamente distribuídas são frequentemente expostas a diferentes condições do ambiente (Joshi *et al.* 2001) e, como resposta a essas condições, são conhecidas por variar em expressão de características e estratégias de história de vida (Petrů *et al.* 2006). A variação fenotípica encontrada em uma população pode dever-se a plasticidade fenotípica ou diferenciação ecotípica, determinada geneticamente (Bradshaw 1965, Schilchting 1986, Stearns & Koella 1986, Sultan 2003). Nesse contexto, tanto a plasticidades fenotípica quanto a adaptativa (diferenciação ecotípica) são evolutivamente relevantes porque elas influenciam o sucesso de organismos na natureza (Sultan 2003). Apesar de uma ideia equivocada de que a plasticidade fenotípica é um meio, não regulado geneticamente, de lidar com as mudanças no ambiente, é importante

ressaltar que a plasticidade fenotípica é o produto de uma interação do genótipo com o ambiente, podendo ser adaptativa ou não (Schilchting 1986).

A teoria de história de vida tenta entender os fatores que produzem variação em histórias de vida encontradas entre e dentro de espécies, e como as características de vida são moldadas pela seleção natural para produzir o maior número possível de descendentes sobreviventes, ou seja, atingir uma maior aptidão (Roff 2007). Entre as características de vida diretamente relacionadas à aptidão de uma espécie estão: idade e tamanho na maturidade, taxa de crescimento, número e tamanho da prole, fecundidade e sobrevivência (Stearns 2000, Roff 2007). Outras características contribuem indiretamente para a aptidão e são classificadas como morfológicas, fisiológicas ou comportamentais (Roff 2007). A combinação dessas características resulta frequentemente em demandas conflitantes, com custos e benefícios para o indivíduo (Stearns 1989, 2000). Exemplos bem documentados na literatura de demandas conflitantes são: 1) Idade vs. tamanho na maturidade – a fecundidade tende a aumentar com o tamanho até certa idade, mas quanto maior a idade

no primeiro evento reprodutivo, maior a chance de mortalidade antes da maturidade; 2) Fecundidade vs. sobrevivência – quanto maior o número de eventos reprodutivos, maiores também os custos da reprodução e as chances de mortalidade com a idade; 3) Tamanho vs. número da prole – produzir mais descendentes significa apostar em um maior número de sobreviventes, mas quanto maior a prole menor a disponibilidade de recursos para cada descendente e sua probabilidade de sobrevivência (Stearns & Koella 1986, Stearns 1989, 2000 e referências).

A descrição das características de história de vida, assim como detecção de padrões (normas de reação) e estratégias resultantes da história de vida de populações e espécies de plantas têm sido frequentes para diferentes grupos taxonômicos vegetais, de briófitas a angiospermas (Hedderson & Longton 1996, Guo *et al.* 2003, Reich *et al.* 2003, Petruš *et al.* 2006, Violle *et al.*, 2007, de Deyn *et al.* 2008, Hedderson & Longton 2008, Kleyer *et al.* 2008, Powes & Tiffin, 2010, Manyanga *et al.* 2011). During (1979) propôs um modelo conceitual para a definição de estratégias de história de vida em briófitas, a partir da reprodução, tempo de vida, mortalidade e adaptações a períodos de estresse severo (evitação vs. tolerância), confirmado posteriormente por Hedderson & Longton (1996) utilizando características de história de vida de espécies de musgo. No entanto, investigações sobre a história de vida em espécies de briófitas são geralmente concentradas em um conjunto de espécies, e pouco é sabido sobre a variação da história de vida intraespecífica ao longo de diferentes habitats ocupados por uma espécie (Hedderson & Longton 2008, Manyanga *et al.* 2011). Estudos que abordem detalhadamente a variação de histórias de vidas ao longo da distribuição de uma espécie são interessantes do ponto de vista da biologia evolutiva, por não apresentarem pseudoreplicação filogenética, um problema comum em estudos comparativos entre diferentes espécies (Roff 2007).

Briófitas podem ser bons modelos para a investigação da história de vida em plantas. Características como frequência de reprodução sexuada e assexuada; produção, dispersão e estabelecimento de diásporos; longevidade do gametófito, entre outras, quando combinadas com o sistema sexual das espécies (monoicas *versus* dioicas) e o habitat onde vivem, auxiliam no entendimento das estratégias de vida dessas plantas (Söderström & Gunnarsson, 2003). Uma vez que briófitas são plantas

pequenas, com populações bem delimitadas, de ciclo de vida curto em relação à maioria das traqueófitas, poiquilohídricas (uma vez secas, param seu crescimento e mantém o mesmo estágio fenológico, que é facilmente acessado via reidratação), e com diversidade de sistemas reprodutivos (sistema sexual associado ao padrão de fertilização), briófitas fornecem um campo interessante para a pesquisa de parâmetros envolvidos na reprodução de plantas.

As briófitas compõem um grupo não monofilético de pequenas plantas que compartilham inúmeras características como dominância da geração haploide, poiquilohidria e reprodução por esporos e diásporos assexuados (Longton & Schuster, 1983; Shaw, 2000; Glime, 2007). Esse grupo é composto por aproximadamente 15.000 espécies distribuídas entre os filos Bryophyta (musgos), Marchantiophyta (hepáticas) e Anthocerotophyta (antóceros) (Gradstein *et al.*, 2001; Rydin, 2009). Suas colônias tendem a ser distribuídas como pequenas manchas separadas umas das outras no ambiente, comportando-se como sub-populações de uma mesma metapopulação (Söderström & Herben, 1997), nas quais a expressão das características genéticas dentre os indivíduos (diferentes rametas, mas geneticamente similares) é fortemente determinada pelo(s) diásporo(s) que originou(ram) cada colônia. Assim, é possível encontrar populações exclusivamente femininas ou masculinas de espécies dioicas, cujo grau de isolamento das demais populações influencia as chances de fertilização dos indivíduos femininos e, conseqüente, de formação de esporófitos (Longton, 1992; Longton & Schuster, 1983; Oliveira & Pôrto, 2001). A dificuldade na produção de esporófitos em briófitas dioicas é uma das causas da raridade de muitas espécies dioicas em campo (Longton, 1992; Laaka-Lindberg *et al.*, 2000; Longton, 2006), associada ao fato de que muitas espécies não contam com meios eficazes de propagação assexuada. Por outro lado, a raridade de espécies monoicas parece estar relacionada aos problemas relacionados à autofertilização obrigatória e possível depressão endogâmica (Longton, 1992; 2006).

Há registros esparsos ou anedóticos sobre a história de vida de espécies de briófitas tropicais, mas grande parte da informação provém de ecossistemas temperados. Por exemplo, em habitats de clima temperado é comum a combinação da condição dioica com gametófitos perenes, frequente reprodução assexuada e baixa produção de esporófitos (Longton & Schuster, 1983; Longton, 1998). Já táxons monoicos são

comumente espécies colonizadoras, anuais e fugitivas, com alto esforço reprodutivo destinado à reprodução sexuada por meio de esporos (During, 1979). Desta forma, espécies monoicas tendem a investir mais em reprodução sexuada comparativamente às espécies dioicas. Outra demanda conflitante parece existir entre longevidade do gametófito e o número de esporos produzidos, onde musgos perenes produzem esporos pequenos e em alto número por cápsula, enquanto musgos anuais têm esporos grandes e em menor número (Longton & Schuster, 1983). Ainda é possível encontrar diásporos cujas reservas são em sua maioria lipídicas, que por isso apresentam maior longevidade quando comparados àqueles cujas reservas são principalmente de amido ou outros compostos. Da mesma forma, diásporos menores e com menos reservas (e.g. esporos) geralmente perdem a viabilidade mais rapidamente que diásporos maiores e com mais reservas (e.g. gemas) (Löbel & Rydin 2010).

A seguir é apresentado um compêndio de estudos, já realizados ou sob desenvolvimento, com enfoque na biologia reprodutiva de diferentes espécies de briófitas ocorrendo principalmente em ecossistemas do Brasil.

**1. Bancos de diásporos** – Bancos de diásporos são importantes para a manutenção e resiliência de comunidades vegetais. Estudando comunidades de briófitas em duas fitofisionomias (floresta de restinga e montana) da Floresta Atlântica do Parque Estadual da Serra do Mar - SP, Maciel-Silva *et al.* (2012a) observaram que indivíduos de diferentes espécies foram capazes de emergir a partir de diferentes substratos (solo, cascas de árvore e troncos caídos em decomposição) não ocupados por briófitas, coletados em campo e cultivados em laboratório. A riqueza em espécies foi baixa no solo (22) e mais alta em cascas de árvore e troncos em decomposição (68 e 55, respectivamente), em concordância com levantamentos florísticos de briófitas em florestas úmidas. Por outro lado, musgos foram mais representativos em número de espécies e indivíduos, e espécies monoicas prevaleceram comparadas às dioicas. Espécies que comumente produzem esporófitos e gemas tiveram contribuição relevante no banco de diásporos de ambas fisionomias de floresta. Apesar dos bancos de diásporos terem representado moderadamente a brioflora de ambas localidades, destacou-se de forma diferenciada a prevalência de musgos (ao invés de hepáticas) e espécies monoicas e provavelmente de vida curta (comparadas às dioicas e de ciclo de vida mais longo).

Os autores sugerem que a dinâmica desses bancos de diásporos é controlada não só por características do ambiente, mas por características intrínsecas da história de vida das espécies (ex. filo e sistema sexual), e que após perturbações devem contribuir para o rápido estabelecimento de musgos dioicos que se reproduzem assexuadamente e, sobretudo, de musgos monoicos que frequentemente produzem esporófitos e se reproduzem via esporos.

**2. Fenologia reprodutiva** – Eventos da reprodução sexuada de onze espécies de briófitas (musgos: *Pyrrhobryum spiniforme* (Hedw.) Mitt., *Neckeropsis disticha* (Hedw.) Kindb., *N. undulata* (Hedw.) Reichenhardt, *Leucoloma serrulatum* Brid., *Leucobryum crispum* Müll. Hal., *L. clavatum* Hampe, *Phyllogonium viride* Brid.; hepáticas: *Plagiochila martiana* Nees, *P. disticha* (Lehm. & Lindenb.) Lindenb., *Bazzania heterostipa* (Steph.) Fulford e *B. phyllobola* Spruce) foram investigados em duas localidades (floresta de restinga e montana) da Floresta Atlântica do P.E. Serra do Mar - SP ao longo de 15 meses (Maciel-Silva & Válio 2011). A expressão do sexo (gametângios recém produzidos) foi contínua em muitas espécies durante o período do estudo, independentemente da sazonalidade e da localidade de estudo. Espécies dioicas não apresentaram alteração da condição sexual específica. Dentre as monoicas, espécies sinoicas apresentaram estratégias para aumentar as chances de fertilização cruzada - ramos com gametângios apenas masculinos ou femininos, em adição aos ramos bissexuais. Apesar do padrão de produção dos gametângios diferir entre as espécies, quando analisado em conjunto mostrou-se similar entre as duas localidades de estudo. A produção de gametângios e esporófitos foi influenciada pela estação do ano, onde gametângios masculinos tornaram-se maduros principalmente no final da estação seca. A fertilização de gametângios femininos se deu principalmente nos meses mais úmidos (outubro a dezembro) e esporófitos desenvolveram-se durante a estação seca, dispersando seus esporos ainda durante essa estação. Gametângios femininos, por outro lado, estiveram receptivos durante todo o período do estudo, mas a maioria tornou-se madura antes do começo da estação chuvosa, em concordância com a natureza dos gametas flagelados encontrados nas briófitas. Gametângios masculinos, diferentemente dos femininos, desenvolveram-se mais lentamente e abortaram em maior número. Diferentemente dos padrões fenológicos comuns em florestas temperadas

ou desertos, onde existe uma estação (geralmente fria/quente e seca) que restringe o crescimento e a reprodução de briófitas, em florestas tropicais úmidas as temperaturas amenas e a umidade constante permitem que certos estádios reprodutivos não entrem em dormência, continuando o seu desenvolvimento. Com exceção de pequenas variações nos padrões fenológicos, o ciclo reprodutivo geral foi bastante similar entre populações das mesmas espécies ou pares congêneros habitando fisionomias diferentes da mesma floresta.

3. *Desempenho reprodutivo* – Estudando as mesmas espécies descritas acima, em floresta de restinga e montana do P.E. Serra do Mar – SP, Maciel-Silva *et al.* (2012b) testaram se diferenças no desempenho reprodutivo das espécies foram influenciadas pelo sistema sexual das espécies (monoica ou dioica). As seguintes variáveis foram monitoradas em diferentes populações das espécies e ao longo de 15 meses: produção de ramos sexuais por massa total; número de gametângios por ramo sexual; frequência de fertilização e produção de esporófitos. Espécies monoicas apresentaram maior desempenho reprodutivo (maior número de ramos sexuais, frequência de fertilização e produção de esporófitos). Espécies na floresta de restinga produziram mais ramos sexuais comparadas àquelas em floresta montana. Adicionalmente, plantas na floresta de restinga, comparadas à montana, apresentaram razão sexual dos gametângios desbalanceada, com predominância de gametângios femininos. Por outro lado, eventos de fertilização foram mais frequentes na floresta montana, e esporófitos foram produzidos em números similares nos dois locais de estudo. Os autores concluíram que o sistema sexual das espécies não foi o único fator influenciando o desempenho reprodutivo das espécies de briófitas, visto que mesmo dioicas produziram gametângios em número moderado, mas não foram capazes de completar o ciclo com a fertilização de gametângios femininos e a produção de esporófitos. O habitat também foi um importante fator, determinando a diferenciação na história de vida das espécies. A razão sexual dos gametângios voltada principalmente para o sexo feminino, na floresta de restinga, em adição às baixas taxas de fertilização parecem ser compensadas pela alta produção de ramos sexuais nas fases iniciais do ciclo reprodutivo, resultando em produção de esporófitos similar às plantas na floresta montana.

4. *Características dos esporos* – Maciel-Silva *et al.* (2013) caracterizaram os esporos dos musgos *Pyrrhobryum spiniforme* e *Neckeropsis undulata* quanto ao tamanho (diâmetro maior), número por cápsula, viabilidade (percentual de germinação) e histoquímica. Além disso, o comprimento da seta esporofítica, um provável indicador da habilidade de dispersão dos esporos, foi analisado em *P. spiniforme*. *Neckeropsis undulata* foi representada por colônias em floresta montana e *P. spiniforme* por colônias em floresta montana e de restinga do P.E. Serra do Mar – SP. Quatro a seis colônias por espécie foram analisadas em cada local de estudo. O musgo pleurocárpico *Neckeropsis undulata* na floresta montana produziu os maiores esporos (ca. 19  $\mu\text{m}$ ), com maior percentual de germinação (ca. 90%). Já o musgo cladocárpico *Pyrrhobryum spiniforme* apresentou esporos de tamanho similar em ambas localidades de estudo (ca. 16  $\mu\text{m}$ ); produziu mais esporos por cápsula na floresta montana (ca. 150.000) que na Floresta de restinga (ca. 40.000); e as setas esporofíticas foram mais longas na floresta de restinga (ca. 64  $\mu\text{m}$ ) do que na montana (ca. 43  $\mu\text{m}$ ). Esporos de *N. undulata* e *P. spiniforme* contiveram lipídios e proteínas no citoplasma, e lipídios ácidos/neutros e pectinas na parede. Corpúsculos lipídicos foram maiores em *N. undulata* que em *P. spiniforme*, o que pode ter ligação com o tamanho médio maior dos esporos em *N. undulata* ou ao hábito preferencial das espécies (*N. undulata*, epífita e de vida moderada-longa vs. *P. spiniforme*, epíxila e de vida curta). Não foi observado amido nos esporos. *Pyrrhobryum spiniforme* na floresta montana, diferente da floresta de restinga, apresentou estratégia caracterizada pelo baixo esforço reprodutivo (Maciel-Silva *et al.* 2012b), mas muitos esporos por cápsula, seta esporofítica mais curta e maior número de substratos sobre o chão da floresta (tronco em decomposição; Veiga 2010) para colonizar.

5. *Reprodução em escala espacial restrita e ampla* – Maciel-Silva *et al.* (2013) estudaram colônias do musgo autoico e pantropical *Octoblepharum albidum* Hedw. (Figura 1A) presentes em remanescentes de floresta úmida e de restinga no estado de Pernambuco. Essa espécie se reproduz frequentemente por modos sexuado e assexuado, produzindo esporófitos (e consequentemente esporos), gemas e protonemas/rizoides/pequenas plantas sobre os filídios. As autoras observaram que plantas presentes na restinga, comparadas às de floresta úmida, apresentaram maior número de esporófitos, ramos sexuais femininos e



masculinos por indivíduo, gametângios masculinos por ramo sexual, além de setas esporofíticas de maior comprimento. Todas essas características foram levantadas no tecido fotossinteticamente ativo. Os gametângios femininos, apesar de variarem em número por ramo sexual entre diferentes plantas, não apresentou diferença entre plantas da mata e da restinga. Esporófitos e protonemas, diferentemente de gemas, foram mais frequentes em indivíduos mais compridos do que curtos, porém essa relação só foi observada em áreas de floresta úmida. O maior comprimento das setas esporofíticas em adição ao melhor desempenho reprodutivo (i.e. número de gametângios masculinos por ramo sexual e esporófitos por planta) deve favorecer a dispersão de esporos e a colonização por novas plantas na restinga.

Novamente investigando *O. albidum*, em outras localidades de mata e de restinga (distantes ca. 763m) em Pernambuco, Alves *et al.* (2013) constataram um padrão similar ao apresentado no estudo acima. Plantas da restinga apresentaram maior tendência à reprodução via esporófitos quando comparadas às plantas da mata ( $95\% \pm 5,7\%$  vs.  $75\% \pm 28,5\%$ ); colônias da mata apresentaram mais plantas com gemas comparadas às de restinga ( $83\% \pm 16,5\%$  vs.  $27\% \pm 22,4\%$ ); e a frequência de protonema foi similar entre plantas de ambas as localidades ( $81\% \pm 19,7\%$  vs.  $53\% \pm 25,6\%$ ). As colônias da restinga apresentaram maiores valores médios comparadas às colônias da mata, para as seguintes características: comprimento da planta e seta esporofítica; número de ramos sexuais masculinos e femininos por planta, e número de gametângios masculinos por ramo sexual. As colônias da mata apresentaram maior número de gametângios femininos por ramo sexual. Apesar da diferença estatisticamente significativa, o número de ramos e de gametângios femininos foi de pouca significância biológica, uma vez que não ultrapassaram a diferença de um ramo sexual ou gametângio feminino. As diferenças observadas nessa pequena escala espacial podem dever-se a: 1) plantas na restinga possuem maior idade e suas colônias são melhor estabelecidas; ou 2) devido à natureza microclimática da restinga, comparada à mata (i.e. região arbustiva e de dossel esparsa, sujeita a maior radiação solar e temperatura média mais elevada; Scarano 2002), colônias de *O. albidum* (musgo comumente classificado como generalista; Gradstein *et al.* 2001) conseguem se estabelecer rapidamente e aproveitar melhor a luz incidente tanto para o crescimento quanto para a

reprodução.

Quando a mesma espécie foi avaliada em escala espacial mais ampla, foi possível usar variáveis ambientais disponíveis em bases de dados climáticos, modelados de 1950 a 2000, na resolução de 2.5 arc min (WorldClim 2012), para investigar seus possíveis efeitos sobre a produção de gametângios masculinos e femininos por ramo sexual da espécie. Essas duas características foram selecionadas por já ter demonstrado variações entre localidades de ocorrência da espécie, e por contribuírem para o balanço final da fertilização, produção de esporófitos e dispersão de esporos.

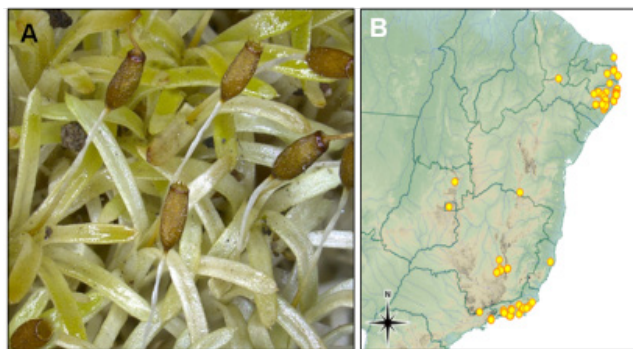


Figura 1. A. Musgo *Octoblepharum albidum* Hedw. B. Pontos amarelos representam amostras de *O. albidum* analisadas no presente estudo.

Foram investigadas 156 amostras (= diferentes colônias) até o momento (Figura 1B). Uma vez que ainda não foi possível obter um contínuo de amostras do Nordeste ao Sudeste, preferiu-se analisar os dados obtidos até o momento em dois blocos: Nordeste e Sudeste.

O número de gametângios masculinos e femininos por ramos sexual em plantas da região Sudeste foi influenciado principalmente pela isothermalidade (amplitude térmica diurna /amplitude anual da temperatura) e sazonalidade da precipitação. A isothermalidade e sazonalidade da precipitação tiveram efeitos negativos sobre a produção de gametângios (isothermalidade: ♂  $P = 0,007$ ,  $R^2 = 0,164$ ; ♀  $P = 0,010$ ,  $R^2 = 0,147$ ; sazonalidade da precipitação: ♂  $P = 0,010$ ,  $R^2 = 0,152$ ; ♀  $P = 0,004$ ,  $R^2 = 0,181$ ), indicando que localidades com chuvas frequentes e bem distribuídas ao longo do ano e temperaturas que variam pouco ao longo do dia apresentam plantas com maior número de gametângios masculinos e femininos por ramo sexual. Já com gametângios da região Nordeste, as



variáveis ambientais apresentaram pouca influência. Para gametângios masculinos somente a altitude influenciou negativamente ( $P= 0,021$ ,  $R^2= 0,157$ ), ou seja, a produção diminuiu com o aumento da altitude. Gametângios femininos não foram influenciados pelas variáveis testadas. A influência da sazonalidade da precipitação concorda com dados sobre a fenologia reprodutiva de briófitas (Pôrto & Oliveira 2002), onde gametângios são produzidos principalmente sob condições de umidade estável. Isso é esperado, visto que briófitas são dependentes de água para a reprodução sexuada, com gametas masculinos flagelados que se deslocam pela água ao encontro do gameta feminino (Glime 2007). Outras variáveis como temperatura média no trimestre mais úmido e precipitação anual, que estiveram correlacionadas ao número de gametângios masculinos, mas não apresentaram efeito direto, indicam que temperaturas altas podem induzir a produção gametangial sob condições de alta umidade (Chopra & Bhatla 1983).

Amostras de diferentes localidades vêm sendo coletadas em campo ou obtidas em herbário para uma investigação detalhada do comportamento reprodutivo de *O. albidum*. Além disso, amostras oriundas de diferentes ecossistemas estão sob cultivo em laboratório, a fim de elucidar se as variações observadas em campo são exclusivas de determinadas colônias e localidades ou são consequência de plasticidade fenotípica.

6. *Expressão do sexo em uma espécie com distribuição disjunta* – A hepática dioica *Jamesoniella rubricaulis* (Nees) Grolle (Figura 2A) foi selecionada por ser comum nas montanhas neotropicais e apresentar distribuição geográfica disjunta. Um dos objetivos do estudo é mapear a expressão sexual da espécie em diferentes populações no Neotrópico, além de averiguar um possível efeito da altitude sobre a expressão sexual das populações de *J. rubricaulis*. Foram coletadas e avaliadas amostras de 28 populações distribuídas em oito montanhas dispersas pelo Neotrópico (Figura 2B).

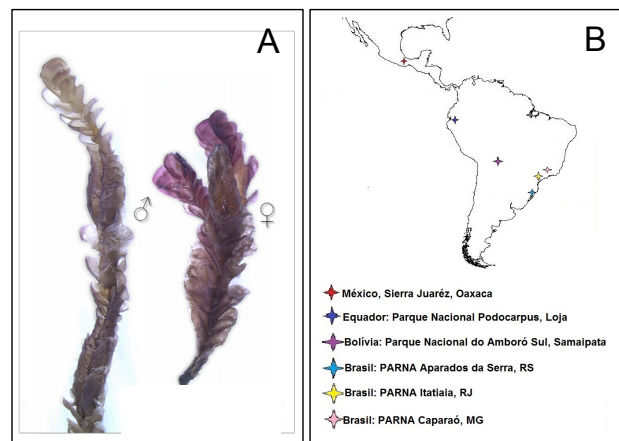


Figura 2. A. Hepática *Jamesoniella rubricaulis* (Nees) Grolle. B. Distribuição das populações de *J. rubricaulis* no Neotrópico analisadas no estudo.

Foram encontradas populações femininas, masculinas, bissexuais e sem expressão de sexo: 11 populações ♀, 4♂, 3♀♂, 10 sem expressão de sexo). A altitude não influenciou a probabilidade de ausência da expressão sexual em *J. rubricaulis* (teste de Wald = 0,691;  $P= 0.4058$ , g.l.= 1; Goodness: Scaled Deviance= 1,3756). Após a exclusão de dois *outliers* (duas populações de Aparados da Serra – RS, a ca. 1.000 m, e sem expressão sexual), observou-se que a probabilidade de ausência da expressão sexual aumentou com o aumento da altitude (teste de Wald = 5,802;  $P= 0,016$ , g.l.= 1; Goodness: Scaled Deviance= 0,934). Populações masculinas estiveram presentes em altitudes de 1.503 m a 2.897m e femininas estiveram restritas de 2.100m a 2.897m. Embora os resultados sejam ainda preliminares, o padrão observado pode ser explicado segundo a tendência de que plantas sob elevadas altitudes investem mais em crescimento vegetativo do que em reprodução sexuada (Hassel *et al.* 2005; Hautier *et al.* 2009). Vale ressaltar que o aumento do relevo acarreta na diminuição da média da temperatura, e esta variável possivelmente deve influenciar a expressão sexual em briófitas.

### Considerações finais

Apesar da grande diversidade de espécies de briófitas no Brasil, estudos sobre a biologia reprodutiva dessas plantas só tomaram impulso nas duas últimas décadas, coincidindo com um aumento significativo no número de profissionais treinados em briologia (estudo de briófitas). Muitas espécies e ecossistemas

permanecem inexplorados com relação às briófitas, embora possam ser fontes interessantes de novos sistemas de estudo. É importante, contudo, salientar que pesquisas futuras na área tentem abranger também outras disciplinas como a biologia evolutiva, biogeografia e ecologia funcional, a fim de promover o entendimento comparativo dos padrões e processos reprodutivos nas plantas em geral e não apenas nas briófitas.

### Agradecimentos

Aos órgãos de fomento pelo financiamento por meio de bolsas de estudo e auxílios financeiros: FAPESP pelo auxílio financeiro (nº FAPESP 03/12595-7); CNPq e CAPES por bolsas de estudo concedidas à primeira autora durante seu doutorado; FACEPE pela bolsa de fixação do pesquisador concedida à primeira autora (nº BFP- 0003-2.03/11); FAPERJ pelas bolsas de estudo concedidas a Elisângela P. Gaspar (nº E103.478/2012), Fagner P. da Conceição (nº E102.908/2013) e Camila M. C. Alves (nº E102.429/2013); e pelos auxílios APQ<sub>1</sub> concedidos à primeira autora (nº E-26/ 110.386/2012) e à Denise P. Costa (nº E26/111.368/2011).

### Referências Bibliográficas

- Alves, C.M.C.; Knupp, R.O.; Feitosa, S.S.; Costa, L.P.P. & Maciel-Silva, A.S. 2013. Reprodução do musgo *Octoblepharum albidum* (Calymperaceae) em mata úmida e restinga. In: **Anais do 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte 2013.**
- Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. **Advances in Genetics 13**:115-155.
- Chopra, R.N. & Bhatla, S.C. 1983. Regulation of gametangial formation in bryophytes. **The Botanical Review 49**: 29-63.
- de Deyn, G.B.; Cornelissen, J.H.C. & Bardgett, R.D. 2008. Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. **Ecology Letters 11**: 516-531.
- During, H.J. 1979. Life strategies of bryophytes: a preliminary review. **Lindbergia 5**: 2-18.
- Foster, S.A. & Janson, C.H. 1985. The relationship between seed size and establishment conditions in tropical woody plants. **Ecology 66**: 773-780.
- Glime, J.M. 2007. **Bryophyte Ecology**. Volume 1. Physiological Ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Último acesso em setembro 2013 em <http://www.bryoecol.mtu.edu/>.
- Gradstein, S.R.; Churchill, S.P. & Salazar Allen, N. 2001. Guide to the Bryophytes of Tropical America. **Memories of the New York Botanical Garden 86**: 1-577.
- Grime, J.P. 2001. **Plant strategies, vegetation processes and ecosystem properties**. New York, John Wiley & Sons,.
- Guo, Q.; Kato, M & Ricklefs, R.E. 2003. Life history, diversity and distribution: a study of Japanese pteridophytes. **Ecography 26**: 129-138.
- Hassel, K.; Pedersen, B. & Söderström, L. 2005. Changes in life-history traits in an expanding moss species: phenotypic plasticity or genetic differentiation? A reciprocal transplantation experiment with *Pogonatum dentatum*. **Ecography 28**: 71-80.
- Hautier, Y.; Randin, C.F. & Guisan, A. 2009. Changes in reproductive investment with altitude in an alpine plant. **Journal of Plant Ecology 2**: 125-134.
- Hedderson, T.A. & Longton, R.E. 1996. Life history variation in mosses: water relations, size and phylogeny. **Oikos 77**: 31-43.
- Hedderson, T.A. & Longton, R.E. 2008. Local adaptation in moss life histories: population-level variation and a reciprocal transplant experiment. **Journal of Bryology 30**: 1-11.
- Hewitt, N. 1998. Seed size and shade-tolerance: a comparative analysis of North American temperate trees. **Oecologia 114**: 432-440.
- Joshi, J.; Schmid, B.; Caldeira, M.C.; *et al.* 2001. Local adaptation enhances performance of common plant species. **Ecology Letters 4**: 536-544.
- Kleyer, M.; Bekker, R.M.; Knevel, I.C.; *et al.* 2008. The LEDA Traitbase: a database of life-history traits of Northwest European flora. **Journal of Ecology 96**: 1266-1274.

- Laaka-Lindberg, S., Hedderson, T.A. & Longton, R.E. 2000. Rarity and reproductive characters in the British hepatic flora. **Lindbergia** **25**: 78-84.
- Löbel, S. & Rydin, H. 2010. Trade-offs and habitat constraints in the establishment of epiphytic bryophytes. **Functional Ecology** **24**: 887-897.
- Longton, R.E. & Schuster, R.M. 1983. Reproductive Biology. Pp. 86-462. In: R.M Schuster (ed.). **New manual of Bryology**. Nichinan, The Hattori Botanical Laboratory.
- Longton, R.E. 1992. Reproduction and rarity in British mosses. **Biological Conservation** **59**: 89-98.
- Longton, R.E. 1998. Reproductive biology and life-history strategies. Pp. 369. In: J.W. Bates, N.W. Ashton & J.G. Duckett (eds.). **Bryology for the twenty-first century**. Leeds, Maney and British Bryological Society.
- Longton, R.E. 2006. Reproductive ecology of bryophytes: what does it tell us about the significance of sexual reproduction? **Lindbergia** **31**: 16-26.
- Maciel-Silva, A.S.; Pôrto, K.C. & Coelho, M.L. 2013. Reproductive traits in the tropical moss *Octoblepharum albidum* differ between rainforest and coastal sites. **Journal of Bryology** **35**: 206-215.
- Maciel-Silva, A.S. & Válio, I.F.M.. 2011. Reproductive phenology of bryophytes in tropical rain forests: the sexes never sleep. **The Bryologist** **114**: 708-719.
- Maciel-Silva, A.S.; Válio, I.F.M. & Rydin, H. 2012a. Diaspore bank of bryophytes in tropical rain forests: the importance of breeding system, phylum and microhabitat. **Oecologia** **168**: 321-333.
- Maciel-Silva, A.S.; Válio, I.F.M. & Rydin, H. 2012b. Altitude affects the reproductive performance in monoicous and dioicous bryophytes: examples from a Brazilian Atlantic rainforest. **AoB Plants** **2012**: pls016; doi:10.1093/aobpla/pls016, available online at [www.aobplants.oxfordjournals.org](http://www.aobplants.oxfordjournals.org).
- Maciel-Silva, A.S.; Lins da Silva, F.C. & Válio, I.F.M. 2013. All green, but equal? Morphological traits and ecological implications on spores of three species of mosses in the Brazilian Atlantic forest. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** (submitted).
- Manyanga, P.; Söderström, L. & Hedderson, T.A. 2011. Co-variation of life history characters in the family Lophoziaceae: a multivariate analysis. **The Bryologist** **114**: 583-594.
- Matallana, G.; Wendt, W.; Araújo, D.S.D.; *et al.* 2005. High abundance of dioecious plants in a Tropical coastal vegetation. **American Journal of Botany** **92**: 1513-1519.
- McLetchie, D.N. & Puterbaugh, M.N. 2000. Population sex ratios, sex-specific clonal traits and tradeoffs among these traits in the liverwort *Marchantia inflexa*. **Oikos** **90**: 227-237.
- Milla, R.; Giménez-Benavides, L.; Escudero, A. & Reich, P.B. 2009. Intra- and interspecific performance in growth and reproduction increase with altitude: a case study with two *Saxifraga* species from northern Spain. **Functional Ecology** **23**: 111-118.
- Oliveira, S.M. & Pôrto, K.C. 2001. Reproductive phenology of the moss *Sematophyllum subpinnatum* in a tropical lowland Forest of north-eastern Brazil. **Journal of Bryology** **23**: 17-21.
- Petrů, M.; Tielbörger, K.; Belkin, R.; *et al.* 2006. Life history variation in an annual plant under two opposing environmental constraints along an aridity gradient. **Ecography** **29**: 1-9.
- Pôrto, K.C. & Oliveira, S.M. 2002. Reproductive phenology of *Octoblepharum albidum* (Bryopsida, Leucobryaceae) in a tropical lowland forest of north-eastern Brazil. **Journal of Bryology** **24**: 291-294.
- Powes, J.S. & Tiffin, P. 2010. Plant functional type classifications in tropical dry forests in Costa Rica: leaf habitat versus taxonomic approaches. **Functional Ecology** **24**: 927-936.
- Reich, P.B.; Wright, I.J.; Cvender-Bares; *et al.* 2003. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. **International Journal of Plant Science** **164**: S143-S164.
- Rydin, H. 2009. Population and community ecology of bryophytes. Pp. 393-444. In: B. Goffinet & Shaw J. (eds.), **Bryophyte Biology**, Cambridge, Cambridge University Press.
- Roff, D.A. 2007. Contributions of genomics to life-

- history theory. **Nature Reviews Genetics** **8**: 116-125.
- Scarano, F.R. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. **Annals of Botany** **90**: 517-524.
- Schilchting, C.D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annual Review of Ecology and Systematic** **17**: 667-693.
- Shaw, A.J. 2000. Population ecology, population genetics, and microevolution. Pp. 369-402. In: A.J. Shaw & B. Goffinet (eds.). **Bryophyte Biology**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Söderström, L. & Gunnarsson, U. 2003. **Life History Strategies. A Catalogue of population Biology Parameters for Bryophytes occurring in North-Western Europe**. Manual v. 1.0 - BryoPlanet, Trondheim.
- Söderström, L. & Herben T. 1997. Dynamics of bryophyte metapopulations. **Advances in Bryology** **6**: 205-240.
- Stearns, S.C. 1989. Trade-offs in life-history evolution. **Functional Ecology** **3**: 259-268.
- Stearns, S.C. 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. **Naturwissenschaften** **87**: 476-486.
- Stearns, S.C. & Koella, J.C. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. **Evolution** **40**: 893-913.
- Sultan, S.E. 2003. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution & Development** **5**: 25-33.
- Veiga, L.G. 2010. **Estoque de madeira morta ao longo de um gradiente altitudinal de Mata Atlântica no nordeste do estado de São Paulo**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Pp. 70.
- Violle, C.; Navas, M-L.; Vile, D.; *et al.* 2007. Let the concept of trait be functional. **Oikos** **116**: 882-892.
- Worldclim - Global Climate Data**. 2012. Acessado em <http://www.worldclim.org/> em 20 de janeiro de 2012.

# Evidências de memória hídrica em sementes da caatinga

**Marcos Vinicius Meiado**

Universidade Federal de Sergipe, Itabaiana, SE, Brasil  
meiado@ufs.br

Após a dispersão, as sementes da maioria das espécies de angiospermas encontram-se livres no ambiente onde vão germinar e as plântulas se estabelecer (Baskin & Baskin 1998). Para iniciar o processo germinativo, as sementes precisam absorver água para reidratar seus tecidos que desidrataram durante a produção das sementes (Baskin & Baskin 1998). Devido à ocorrência desta desidratação natural, as sementes reduzem seu metabolismo antes de serem dispersas no ambiente e permanecem viáveis e aptas para germinar por um maior período de tempo (Baskin & Baskin 1998, Castro *et al.* 2004). Porém, dependendo do local onde a espécie foi dispersa, esse evento de reidratação que proporcionará a germinação das sementes pode ser interrompido pela ausência de água no solo e, quando isso ocorre, as sementes interrompem o processo germinativo e começam a perder a água absorvida para o solo seco. Este evento é observado, com maior frequência, nas regiões áridas e semiáridas do planeta, pois, mesmo no período da estação chuvosa, estas regiões tendem a apresentar uma limitação espaço-temporal na disponibilidade de água no solo (Kigel 1995).

As regiões áridas e semiáridas cobrem cerca de 30% das superfícies continentais do mundo (Kigel 1995). Como mencionado, o processo de absorção de água pelas sementes nestas regiões é fortemente influenciado por fatores abióticos como, por exemplo, a temperatura e a disponibilidade de água no solo; e bióticos, como a permeabilidade do tegumento e a capacidade de retenção da água absorvida pelas sementes (Bansal *et al.* 1980). Estes fatores determinarão o sucesso germinativo e o padrão de distribuição das plantas nestas regiões (Bansal *et al.* 1980, Wilson & Witkowski 1998, Tobe *et al.* 2001).

Muitas espécies que ocorrem em ecossistemas áridos e semiáridos produzem e dispersam sementes que germinam nas camadas mais superficiais do solo (Kigel 1995). Estas sementes têm água disponível para embebição por um curto período, pois a evaporação da água do solo ocorre mais rapidamente nestas camadas (Gutterman 1993, Kigel 1995). Como visto, a embebição das sementes nestes ecossistemas pode não ser contínua, ocorrendo ciclos de hidratação e desidratação (Dubrovsky 1998). Esta hidratação descontínua e a disponibilidade de água por intervalos de tempo diferenciados exercem um papel importante na persistência e dinâmica das plantas nestes ambientes (Wilson & Witkowski 1998, Tobe *et al.* 2001, Ren & Tao 2003). De acordo com Dubrovsky (1996, 1998), a hidratação descontínua proporciona às sementes um elevado índice de sobrevivência durante a dessecação, demonstrando que estas sementes podem apresentar uma memória hídrica, ocasionada pelo processo de embebição, a qual preserva as características resultantes da hidratação prévia.

Dentre as principais vantagens atribuídas aos ciclos de hidratação e desidratação em sementes pode-se destacar o elevado índice de sobrevivência durante a dessecação e o aumento significativo na germinabilidade e na velocidade média de germinação (Dubrovsky 1996, 1998). Sendo assim, as sementes que passam por uma hidratação descontínua germinam mais rapidamente após a reidratação e apresentam uma germinação mais sincronizada (Dubrovsky 1996). Além da germinação das sementes, outras fases do ciclo de vida das plantas podem ser favorecidas pela hidratação descontínua, como por exemplo, o recrutamento e crescimento das plântulas (Dubrovsky 1996). Desta forma, a hidratação descontínua parece



estar intimamente relacionada ao sucesso reprodutivo de espécies que produzem sementes em ambientes áridos e semiáridos, como a Caatinga.

### A Caatinga e suas sementes

Com mais de 1500 espécies de plantas (Queiroz *et al.* 2006), a Caatinga (nome de origem tupi-guarani – “mata branca”) é um ecossistema semiárido exclusivamente brasileiro que se estende de 2°54’ a 17°21’S e ocupa cerca de 850.000 km<sup>2</sup>, que representa mais de 10% do território nacional (Queiroz 2009). Esse ecossistema é formado por manchas de florestas sazonalmente secas de vegetação esclerófila (*sensu* Mooney *et al.* 1995, Pennington *et al.* 2000) que ocorrem em todos os Estados da região Nordeste e na parte norte de Minas Gerais (Sampaio 1995, Queiroz 2009). Sua área é dividida em oito ecorregiões (CNRBC 2004) e a variação na estrutura da vegetação é condicionada pela topografia, por distúrbios antrópicos e, principalmente, pela combinação entre a baixa precipitação pluvial e as características edáficas do ambiente (Sampaio 1995, Prado 2003).

As médias anuais de precipitação pluvial variam de 240 mm.ano<sup>-1</sup>, nas áreas mais secas do ecossistema situadas na denominada “Depressão Sertaneja Setentrional”, a 900 mm.ano<sup>-1</sup>, em regiões ecotonais (Sampaio 1995, Queiroz 2009). Entretanto, mesmo nessas regiões ecotonais, onde são observados elevados índices de precipitação pluvial, as chuvas, mesmo que intensas, são concentradas em poucos dias do ano, o que restringe temporalmente este recurso importante para a germinação das sementes.

Por sua vez, as origens geomorfológicas e geológicas da Caatinga proporcionaram a formação de vários mosaicos de solos complexos com características muito variadas em pequenas distâncias, considerados de moderadamente férteis, argilosos e superficiais a profundos, arenosos e empobrecidos. Além disso, dependendo do tipo de solo, a retenção de água e a disponibilização para as sementes podem variar intensamente, sendo fortemente afetadas pelas elevadas temperaturas observadas no ecossistema em questão (Sampaio 1995).

É nesse ambiente extremamente sazonal e caracterizado por um alto grau de endemismo florístico (Giulietti *et al.* 2002, 2004) que muitas plantas que produzem sementes desenvolveram estratégias

para se estabelecer e suportar as condições de aridez. A vegetação é formada, predominantemente, por espécies lenhosas caducifólias e de pequeno porte, e plantas com espinhos – representantes da família Cactaceae, por exemplo, são frequentes e amplamente distribuídas na Caatinga (Taylor & Zappi 2004). As herbáceas anuais ocorrem mais intensamente durante a estação chuvosa e Fabaceae é a família que apresenta o maior número de espécies encontrado neste ecossistema (Queiroz 2009). De acordo com Meiado *et al.* (2012), uma ampla variação na quantidade e na morfologia de diásporos produzidos pelas plantas é observada em espécies nativas deste ecossistema, a qual pode afetar direta e indiretamente seu padrão de dispersão e resposta germinativa.

Os frutos são produzidos na Caatinga ao longo de todo o ano e, dependendo do período de produção, as sementes dispersas interagem por mais tempo com a comunidade, pois podem permanecer no solo até encontrar condições favoráveis para a germinação (Meiado *et al.* 2012). A maioria das espécies com padrão fenológico avaliado até o momento produz frutos e dispersa sementes no início da estação chuvosa (Meiado *et al.* 2012). Essa sincronização fenológica favorece o sucesso reprodutivo das espécies da Caatinga, pois essas plantas dispersam suas sementes em períodos favoráveis para a germinação e o estabelecimento das plântulas (Barbosa *et al.* 1989, Machado *et al.* 1997, Barbosa *et al.* 2003, Quirino 2006, Siqueira Filho *et al.* 2009, 2013, Lima & Rodal 2010).

Independentemente do ecossistema, após a dispersão, as sementes permanecem no solo até encontrarem condições favoráveis para a germinação (Almeida-Cortez 2004). Na Caatinga, dependendo da época de produção das sementes, esse período pode representar algumas semanas, para as sementes produzidas no início da estação chuvosa, ou vários meses, para aquelas produzidas no início da estação seca (Meiado *et al.* 2012).

Como mencionado anteriormente, para iniciar o processo germinativo, as sementes precisam absorver água, reidratar os tecidos e reativar o metabolismo celular (Barbosa 2003, Araújo *et al.* 2006). Em algumas espécies da Caatinga, a entrada de água é dificultada pela presença de um tegumento seminal espesso e impermeável, que protege o embrião dos ataques de inimigos naturais e das condições ambientais extremas do ecossistema (Barbosa 2003, Araújo *et al.* 2006,

Meiado *et al.* 2012). Entretanto, após a superação desta dormência tegumentar comum a várias espécies da Caatinga, as sementes iniciarão seu processo germinativo e poderão passar por ciclos de hidratação e desidratação, que podem influenciar a germinação das sementes e o estabelecimento das plântulas e, conseqüentemente, o sucesso reprodutivo das espécies que ocorrem neste ecossistema.

### Evidências da memória hídrica nas sementes da Caatinga

Os dados que serão apresentados a seguir e que demonstram as evidências da memória hídrica em sementes que são produzidas por espécies da Caatinga foram retirados de artigos publicados (Rito *et al.* 2009) e estudos desenvolvidos pelo Centro de Referência para Recuperação de Áreas Degradadas da Caatinga (CRAD), da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF). As espécies avaliadas nos estudos sobre memória hídrica pertencem às principais famílias de plantas que ocorrem na Caatinga como, por exemplo, Anacardiaceae, Arecaceae, Cactaceae, Euphorbiaceae e Fabaceae e todas as sementes utilizadas nos estudos que serão mencionados abaixo foram obtidas da Coleção de Sementes da Caatinga, do Laboratório de Sementes, do CRAD/UNIVASF.

Os dados apresentados fazem parte de um estudo sobre técnicas alternativas para a recuperação de áreas degradadas da Caatinga, o qual tinha como objetivo principal a avaliação da utilização de sementes em técnicas de semeadura e plantio direto, destinadas ao incremento de espécies em áreas de Caatinga com diferentes estádios de regeneração.

Até o momento, as espécies que foram submetidas a ciclos de hidratação e secagem para avaliação da memória hídrica foram: *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae), *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (Arecaceae), *Cereus jamacaru* DC. subsp. *jamacaru* (Cactaceae), *Cnidoscolus quercifolius* Pohl (Euphorbiaceae), *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Sm., *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P. Queiroz (Fabaceae).

Com o objetivo de desenvolver uma técnica eficiente para maximizar o recrutamento de plântulas em áreas de Caatinga e que fosse de fácil execução e baixo custo, todos os experimentos foram realizados utilizando-se água destilada para

a indução das sementes aos ciclos artificiais de hidratação/desidratação. As sementes passaram por tratamentos de 0, 1, 2 e 3 ciclos de hidratação (12 horas a 25°C) e secagem (48 horas a 30°C) e foram avaliadas em laboratório (para maiores informações dos procedimentos metodológicos realizados em laboratório veja Rito *et al.* 2009) e em campo. Os parâmetros avaliados foram a germinabilidade, o tempo médio de germinação, o índice de velocidade e de sincronização, bem como a sobrevivência das plântulas, sendo utilizada a emergência das plântulas como critério para se considerar sementes germinadas. Os experimentos de campo foram montados no início do período chuvoso (Novembro de 2010) e as observações das sementes germinadas foram feitas semanalmente, por um período de seis meses, sem o controle e manutenção do suprimento hídrico (condições naturais).

Com a exceção das sementes de *Syagrus coronata*, as sementes de todas as espécies avaliadas apresentaram um aumento significativo na germinabilidade, uma redução no tempo médio de germinação e um aumento na velocidade e na sincronização. Além disso, também foi observado um aumento significativo na sobrevivência das plântulas formadas a partir de sementes que foram induzidas a ciclos de hidratação e secagem e que se estabeleceram em condições naturais, em áreas de Caatinga com diferentes estádios de regeneração. Entretanto, o número elevado de ciclos artificiais de hidratação e secagem pode prejudicar a germinação e o estabelecimento das plântulas de algumas espécies. Por exemplo, as sementes de *Spondias tuberosa*, conhecida popularmente como umbuzeiro, apresentaram um aumento de cerca de 80% na germinabilidade quando as sementes foram submetidas a 1 e 2 ciclos de hidratação/secagem. Porém, quando as sementes da mesma espécie foram submetidas a 3 ciclos, foi observada uma redução de 10% da germinabilidade quando comparadas com as sementes do controle. Além disso, a sobrevivência das plântulas deste tratamento de 3 ciclos foi inferior a todos os tratamentos avaliados, incluindo as plântulas que não passaram por ciclos de hidratação e secagem. Um comportamento germinativo similar foi observado nas sementes de *Amburana cearensis*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Poincianella pyramidalis*.

Os vários eventos de chuvas em pequenas quantidades incapazes de promover a efetiva germinação são responsáveis por estes ciclos de

hidratação e desidratação que ocorrem naturalmente na Caatinga, quando as sementes se encontram no solo. Essa hidratação descontínua favorece a germinação e o estabelecimento das plântulas, como observado em sementes de *Cereus jamacaru* subsp. *jamacaru* analisadas em laboratório (Rito *et al.* 2009). Na maioria dos casos, esse favorecimento está relacionado a uma maior porcentagem de sementes germinadas e a uma maior velocidade de germinação que, por sua vez, estão associados à produção de plântulas mais vigorosas (Rito *et al.* 2009).

Os dados preliminares apresentados neste texto indicaram que várias espécies da Caatinga podem apresentar uma memória hídrica e ser favorecidas por eventos de hidratação descontínua. Estas evidências reforçam a importância de que estas análises sejam feitas em diferentes fases do ciclo de vida da planta, para uma maior compreensão dos efeitos do tempo de embebição e da hidratação descontínua. Além disso, os resultados encontrados até o momento sugerem que os intervalos de embebição devem ser ajustados de acordo com o comportamento germinativo de cada espécie, como observado para as sementes de *Cereus jamacaru* subsp. *jamacaru* (Rito *et al.* 2009), o qual é influenciado pelos diferentes ecossistemas onde estas sementes irão germinar. Para finalizar, sugere-se a realização de novos estudos que possam abordar aspectos bioquímicos e moleculares do comportamento germinativo das espécies da Caatinga que apresentam memória hídrica e que são influenciadas pela hidratação descontínua, para que se possam compreender todos os mecanismos relacionados a esta estratégia germinativa.

#### Agradecimentos

O autor agradece ao Centro de Referência para Recuperação de Áreas Degradadas da Caatinga, da Universidade Federal do Vale do São Francisco, na pessoa do Diretor Executivo Dr. José Alves de Siqueira Filho e aos ministérios do Meio Ambiente e da Integração Nacional pela infraestrutura e apoio financeiro para a execução de parte dos experimentos utilizados na elaboração deste capítulo.

#### Referências Bibliográficas

- Almeida-Cortez, J.S. 2004. Dispersão e banco de sementes. Pp. 225-235. In: Ferreira, A.G. & Borghetti, F. (orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre, Artmed.
- Araújo, E.L.; Canuto, V.T.B.; Leite, F.V.A.; Lima, V.C. & Canuto, N.N. 2006. Germinação e protocolos de dormência de plantas do semiárido nordestino. Pp. 73-110. In: Giuliatti, A.M. & Queiroz, L.P. (eds.). **Recursos genéticos do semiárido nordestino**. Vol. V. Recife, Instituto do Milênio do Semiárido.
- Bansal, R.P.; Bhati, P.R. & Sen, D.N. 1980. Differential specificity in water imbibition of Indian arid zone seeds. **Biologia Plantarum** **22**(5): 327-331.
- Barbosa, D.C.A. 2003. Estratégias de germinação e crescimento de espécies lenhosas da Caatinga com germinação rápida. Pp. 625-656. In: Leal, I.R.; Tabarelli, M. & Silva, J.M.C. (eds.). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife, Editora Universitária da UFPE.
- Barbosa, D.C.A.; Alves, J.L.H.; Prazeres, S.M. & Paiva, A.M.A. 1989. Dados fenológicos de 10 espécies arbóreas de uma área de Caatinga (Alagoinha – PE). **Acta Botanica Brasilica** **3**: 109-117.
- Barbosa, D.C.A.; Barbosa, M.C.A. & Lima, L.C.M. 2003. Fenologia de espécies lenhosas da Caatinga. Pp. 657-693. In: Leal, I.R.; Tabarelli, M. & Silva, J.M.C. (eds.). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife, Editora Universitária da UFPE.
- Baskin, J.M. & Baskin, C.C. 1998. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego, Academic Press.
- Castro, R.D. & Hilhorst, H.W.M. 2004. Embebição e reativação do metabolismo. Pp. 149-162. In: Ferreira, A.G. & Borguetti, F. (eds.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre, Artmed.
- CNRBC (Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Caatinga). 2004. **Cenários para o bioma Caatinga**. Recife, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente.
- Dubrovsky, J.G. 1996. Seed hydration memory in Sonoran Desert cacti and its ecological implication. **American Journal of Botany** **83**: 624-632.

- Dubrovsky, J.G. 1998. Discontinuous hydration as a facultative requirement for seed germination in two cactus species of the Sonoran Desert. **Journal of the Torrey Botanical Society** **125**(1): 33-39.
- Giulietti, A.M.; Bocage Neta, A.L.; Castro, A.A.J.F.; Gamarra-Rojas, C.F.L.; Sampaio, E.V.S.B.; Virgínio, J.F.; Queiroz, L.P.; Figueiredo, M.A.; Rodal, M.J.N.; Barbosa, M.R.V. & Harley, R.M. 2004. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. Pp. 47-90. In: Silva, J.M.C.; Tabarelli, M.; Fonseca, M.T. & Lins, L.V. (orgs.). **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Brasília, Ministério do Meio Ambiente.
- Giulietti, A.M.; Harley, R.M.; Queiroz, L.P.; Barbosa, M.R.V.; Bocage Neta, A.L. & Figueiredo, M.A. 2002. Espécies endêmicas da Caatinga. Pp. 103-108. In: Sampaio, E.V.S.B.; Giulietti, A.M.; Virgínio, J. & Gamarra-Rojas, C.F.L. (eds.). **Vegetação e flora da Caatinga**. Recife, Associação de Plantas do Nordeste.
- Guterman, Y. 1993. **Seed germination in desert plants**. New York, Springer.
- Kigel, J. 1995. Seed germination in arid and semiarid regions. Pp. 645-699. In: Kigel, J. & Galili, G. (eds.). **Seed development and germination**. New York, Marcel Dekker, Inc.
- Lima, A.L.A. & Rodal, M.J.N. 2010. Phenology and Wood Density of Plants Growing in the Semi-Arid Region of Northeastern Brazil. **Journal of Arid Environments** **74**: 1363-1373.
- Machado, I.C.S.; Barros, L.M.; Sampaio, E.V.S.B. 1997. Phenology of Caatinga species at Serra Talhada, PE, Northeastern Brazil. **Biotropica** **29**: 57-68.
- Meiado, M.V.; Silva, F.F.S.; Barbosa, D.C.A. & Siqueira Filho, J.A. 2012. Diásporos da Caatinga: Uma revisão. Pp. 306-365. In: Siqueira Filho, J.A. (org.). **Flora das Caatingas do Rio São Francisco - História Natural e Conservação**. Rio de Janeiro, Andrea Jakobsson Estúdio Editorial.
- Mooney, H.A.; Bullock, S.H. & Medina, E. 1995. Introduction. Pp. 1-8. In: Bullock, S.H.; Mooney, H.A. & Medina, E. (eds.). **Seasonally Dry Tropical Forests**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Pennington, R.T.; Prado, D.E. & Pendry, C.A. 2000. Neotropical Seasonally Dry Forests and Quaternary Vegetation Changes. **Journal of Biogeography** **27**: 261-273.
- Prado, D.E. 2003. As Caatingas da América do Sul. Pp. 3-74. In: Leal, I.R.; Tabarelli, M. & Silva, J.M.C. (eds.). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Recife, Editora Universitária da UFPE.
- Queiroz, L.P. 2009. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- Queiroz, L.P.; Conceição, A.A. & Giulietti, A.M. 2006. Nordeste semiárido: caracterização geral e listadas fanerógamas. Pp. 15-364. In: Giulietti, A.M.; Conceição, A.A. & Queiroz, L.P. (eds.). **Diversidade e caracterização das fanerógamas do semiárido brasileiro**. Vol. 1. Recife, Associação de Plantas do Nordeste.
- Quirino, Z.G.M. 2006. **Fenologia, síndrome de polinização e dispersão e recursos florais de uma comunidade de Caatinga no Cariri paraibano**. Tese de doutorado. Recife, Universidade Federal de Pernambuco.
- Ren, J. & Tao, L. 2003. Effect of hydration-dehydration cycles on germination of seven *Calligonum* species. **Journal of Arid Environments** **55**: 111-122.
- Rito, K.F.; Rocha, E.A.; Leal, I.R. & Meiado, M.V. 2009. As sementes de mandacaru têm memória hídrica? **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas** **6**: 26-31.
- Sampaio, E.V.S.B. 1995. Overview of the Brazilian Caatinga. Pp. 35-63. In: Bullock, S.H.; Mooney, H.A. & Medina, E. (eds.). **Seasonal dry tropical forests**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Siqueira Filho, J.A.; Santos, A.P.B.; Nascimento, M.F.S. & Espírito Santo, F.S. 2009. **Guia de Campo de Árvores da Caatinga**. Vol. I. Petrolina, Gráfica Franciscana.
- Siqueira Filho, J.A.; Meiado, M.V. & Rabhani, A.R.C. 2013. **Guia de Campo de Árvores da Caatinga**. Vol. II. Petrolina, PrintPex.
- Taylor, N.P. & Zappi, D.C. 2004. **Cacti of Eastern Brazil**. Kew, Royal Botanic Gardens.
- Tobe, K.; Zhang, L.; Qiu, G.Y.; Shimizu, H. & Omasa, K. 2001. Characteristics of seed germination in five non-halophytic Chinese desert shrub species.

**Journal of Arid Environments 47:** 191-201.

Wilson, T.B. & Witkowski, E.T.F. 1998. Water requirements for germination and early seedling establishment in four African savana woody plant species. **Journal of Arid Environments 38:** 541-550.



# Extractive management of star-flowers (Eriocaulaceae): Science and traditional knowledge as a basis for assessing its ecological sustainability

Lucio Cadaval Bede<sup>1,4</sup>, Ana Carolina Neves<sup>2</sup> & Rogério Parentoni Martins<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Terra Brasilis, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

<sup>4</sup>Autor para correspondência: lc.bede@gmail.com

## Introduction

Star-flower (Eriocaulaceae) inflorescences are harvested for ornamental purposes and constitute an important seasonal source of income to rural communities along the Espinhaço mountain range, which spans over ca. 1000 km along the states of Minas Gerais and Bahia, in eastern Brazil, and hosts the main centre of diversity of this botanical family (Giulietti *et al.* 2005; Costa *et al.* 2005). Several species of economic importance are targeted for the extractive management of inflorescences and overharvesting is considered one of the main drivers of extinction threat.

In spite of the social, economic and environmental relevance of the extractive activity in the region, there are still important knowledge gaps on the ecology of the target species, particularly on the effects of the extractive management practices upon their populations, thus hindering the establishment of technically sound guidelines towards their sustainable management and governance. For many exploited star-flower species, essential questions related to that aim include: what are the ecological impacts of the extractive management, and what are the mechanisms involved in their production? What management practices can be sought to promote human welfare,

while avoiding/mitigating negative ecological impacts?

In searching for these answers, a valuable path consists in the tapping from the wealth of information acquired by local, traditional knowledge systems, as is the case of the extractive communities of the Espinhaço range, whose day-to-day life is strongly based on the management of a number of plant biodiversity resources (Instituto Terra Brasilis 1999), including star-flowers. As such, these knowledge systems constitute both a formidable source of empirical insight into the applied biodiversity science and an avenue for, alongside with science, addressing sustainable development issues and problems at the local level, such as natural resources management and biodiversity conservation (International Council for Science 2002).

A characterization of the traditional star-flower management practices throughout the central Minas Gerais portion of the Espinhaço range was provided by Instituto Terra Brasilis (1999), in a comprehensive diagnostic study on the exploitation of star-flowers. From interviews with 53 experienced inflorescence collectors from communities whose economy strongly relied on the extraction of plant products throughout



the region, an overwhelming consensus and concern emerged about the decline of star-flower stocks over time, a fact they frequently attributed to the ever increasing competition among harvesters for the dwindling stocks. Despite that, many (42%) rejected the possibility of an eventual extinction of the target species, and the notion that the plants do not die prevailed (66%). Most (93%) related the burning of the fields with an increased inflorescence production and mentioned fire as routinely used in the harvesting sites (87%). The yearly harvest of inflorescences was mostly performed by the same people and at the same sites (94%), the right timing for it being soon after *anthesis*, when the *capitula* are more easily plucked out from spathes, are whiter and attain a higher market price. Some mentioned that, when the plants are not harvested, their subsequent flowering will be less abundant.

The practices of inflorescence collection and burning of the fields are thus central to the traditional star-flower management and are aimed at maximizing inflorescence production and income, through manipulation of the plants' reproductive effort. However, in case these management practices lead to tradeoffs with other essential life history functions, such as growth and survival, it is possible that the fitness of natural populations may be affected, with mid to long term implications regarding their conservation and management sustainability.

Using the star-flower *Comanthera elegantula* Ruhl. as a model, this research aimed to evaluate the prospects for the sustainable exploitation of inflorescences in naturally occurring populations of star-flowers, through an experimental study replicating the traditional extractive management practices. *C. elegantula* is a perennial, herbaceous, polycarpic clonal plant that occurs along most of the Minas Gerais state portion of the Espinhaço range (Parra *et al.* 2010), in association to sandy and rocky soils of the altitudinal rocky grasslands ("campos rupestres") and of transitional areas between these and the Cerrado (Brazilian savanna). *C. elegantula* occupies the same habitat type and is morphologically, phenologically and ecologically similar to the threatened (Ministério do Meio Ambiente 2008) *Comanthera elegans* (Bong.) Ruhland – whose inflorescences are among the most prized items in the national and international star-flower market (Giulietti *et al.*, 1988, 1996). In this article we summarize results obtained along the doctoral research of L.C. Bede (2006, unpublished).

## Methods

Data on the effects of the extractive management upon *C. elegantula* were obtained from a small-scale replication of the traditional management practices, as assessed by Instituto Terra Brasilis (1999). The study was developed in the Rio Preto State Park, at the municipality of São Gonçalo do Rio Preto (18° 00'S e 43° 23'W), at the central Espinhaço range of Minas Gerais State, southeastern Brazil.

Between 1999 and 2001, experimental treatments comprising eight combinations of inflorescence collection and fire episodes over two years were arrayed on 64 lots of 2.5 m<sup>2</sup> placed within eight replicate 40 m<sup>2</sup> plots randomly placed upon a natural population of *C. elegantula*. In total, 2279 plants with basal leaf length > 1cm were randomly picked, marked with aluminum tags and, at each flowering episode, monitored as regards ramet and genet size, number of inflorescences and mortality. The collection of inflorescences was performed in April / early May and fire was set in late September / early October.

Scalar relations among size and growth were obtained from subsets of the marked plants, and those referring to biomass allocations were obtained from non-marked plants outside the experimental plots. Plant growth, both at the ramet (basal leaf length) and genet (number of ramets) levels was assessed through cross sectional data from 405 marked plants, between 1999 and 2000. The ramet growth curve was obtained using the Richards equation (Richards, 1959), and genet growth was assessed through Ford-Walford plots (Walford, 1946). Plant biomass measurements were obtained from 125 plants of different sizes, and allometric relations regarding plant size and the mass of rhizomes, leaves and inflorescences were assessed using reduced major axis regression.

The average reproduction threshold size, or the size at which a plant has a 50% probability of flowering was assessed through binary logistic regression of flowering data as a function of ramet size, taken from 2296 plants in April / May 1999. Monthly seed counts were obtained through dissection of *capitula* from non-tagged plants with 3 to 4 cm basal leaf length. The relation between plant size and the number of inflorescences produced by plants submitted to the distinct experimental treatments was assessed using a zero-inflated negative binomial probabilistic model,

in order to deal with an inflated occurrence of zero flowering counts (e.g. plants that were big enough to flower but failed to, in a particular flowering season), using the software Stata (Statacorp 2003).

Logistic modeling was used for assessing mortality effects resulting from the combined influence of the co-variables plant size (genet and ramet levels) and reproductive effort (number of inflorescences), under the distinct treatments. For the assessment of interaction effects between co-variables and treatments we cross-calculated logit differences between all possible combinations of the model terms, and odd ratios were obtained through power functions built from logit differences.

Records of seedlings (plants with up to 1 cm basal leaf length) non-seedlings (> 1 cm tall) and visual estimates of the herbaceous cover were taken at each lot during the flowering seasons. Average count data values per lot were compared using 2-way ANOVA, having the sampling plots as a random factor.

## Results and Discussion

As perceived by inflorescence collectors, *C. elegantula* is a long-lived plant, attaining an estimated asymptotic ramet size of ca. 6.5 cm at about 14 years of age in the study area. In line with the popular notion of immortality, genet growth is indetermined, and net yearly gains in genet size occur continuously, though rather slowly, with a maximum theoretical size of ca. 11 ramets (largest genet size of the plants used in the calculation).

Although plant growth is slow, the older and bigger, the larger becomes its reproductive output. Flowering can start in early stages of the plant development, in individuals as small as with a basal leaf length of 1 cm (at about 6 months of age), and the average reproduction threshold size is attained at a rosette size of 2.6 cm (at approximately 1.7 year of age). As the basal leaf length increases, so does the number, size and mass of individual inflorescences, and the resulting fertility (mean number of seeds per inflorescence). At the genet level, the resulting reproductive output consists of the sum of outputs from its independent, constituent modules.

Still, the biomass invested in sexual reproduction grows at proportionally smaller rates

as the plant's root mass increases, so that this last measure outweighs the reproductive mass in plants with a basal leaf length > 3.9 cm. Given that rhizomes accumulate starch (Scatena *et al.*, 1997) and may play a role as energy storage reserves, larger ramets / genets may be better able to cope with the burden of physiological costs imposed by reproduction, drought and fire damage, in special for plants associated to low fertility, water stressed, fire prone habitats such as *C. elegantula*.

As regards the management effects on the production of inflorescences, the results corroborated the notion manifested by collectors that both management practices enhance production. After the second year of experimental management, treatments involving fire boosted inflorescence production in at least 109%, with the best performance resulting from the consecutive incidence of fire and harvest events over two years (304% increase). In contrast, the poorest performances resulted from treatments where fire was restricted to the first year or absent, being the lowest values attained by plants submitted exclusively to inflorescence collection over the two year period (65% increase).

By its turn, fire constitutes a strong mortality factor – both directly and from the incurred costs of an augmented reproductive output – and particularly severe to smaller plants (e.g., single ramet, short basal leaf length). All variables kept constant, plants of basal leaf length of 1 – 2 cm submitted to fire treatments had mortality chances increased in up to 710% in relation to plants in control lots. Furthermore, fire significantly affected plant growth along the subsequent wet season, reducing the expected asymptote basal leaf length in as much as 53%.

Inflorescence collection, on the other hand, showed no discernible effect on plant growth, but significantly reduced the mortality of reproductively active individuals, from either burned and unburned lots, evincing the high somatic costs of reproduction incurred by *C. elegantula*. In fact, the harvest takes place between early April and May, at a time when most fruits and seeds form and mature – seed counts per *capitulum* approached maximum values in April ( $64.2 \pm 6.8$ ) and May ( $71.3 \pm 4.4$ ), decreasing sharply afterwards.

The extractive management practices also showed to interfere with the recruitment dynamics of

*C. elegantula*. Fire significantly reduced the herbaceous cover and stimulated seedling recruitment. Control lots, on the other hand, showed a progressive increment of the herbaceous cover with time: from ca. 35 % in 1999 to ca. 48% in 2001, and the number of seedlings was among the lowest in all treatments. A significant increase of established juvenile plants (with basal leaf length > 1 cm) occurred exclusively under the treatment modality where fire was set only in the first year of the experiment, which seems to indicate that an intermittent fire regime may favor seedling establishment and transition of plantlets to subsequent size classes. Conversely, repeated fire episodes seemed to negatively impact the progression of seedling cohorts.

On adult individuals of *C. elegantula*, the empirically established management practices of burning of the fields and subsequent inflorescence harvest seem to combine strong stimulus to sexual reproduction and minimization of tradeoffs between reproduction and survival. At the level of the exploited populations, however, the use of fire significantly increases juvenile mortality, and the timely and efficient harvest of inflorescences may strongly deplete the population's seed pool, reducing subsequent recruitment. Since the initial developmental stages of *C. elegantula* are particularly susceptible to death under the harsh dry season conditions, as reported by Scatena *et al.* (1997) and this study, a depleted recruitment under an intensive and persistent management regime may in fact lead to population senescence and decline in the mid-to-long term.

Since *C. elegantula* is a long-lived plant, with larger individuals / clones showing an increased reproductive output over time and significantly higher chances of withstanding the physiological costs imposed by reproduction, drought and fire damage, the slow population decline of managed populations might not be easily perceived by inflorescence collectors as the cause behind the dwindling star-flower stocks in the region.

Environmental governance systems based on the full and effective participation of the traditional knowledge holders are a necessary condition for the sustainable management of naturally occurring star-flower populations. In this context, there is great potential for collaboration between scientific and traditional knowledge systems in the establishment and promotion of adequate management strategies.

For naturally occurring *Comanthera* populations such strategies should seek to determine and combine the correct timing, frequency and intensity of management actions, namely inflorescence collection (e.g. harvest stand rotation, partial sparing / late collection of inflorescences / stand enrichment through sowing) and use of fire (e.g. rotation management of burned stands), in order to allow adequate levels of recruitment and establishment of seedlings, recovery from fire events and control of competing herbaceous cover.

### Acknowledgements

This study was funded by Brazil's National Council for Science and Technology Development – CNPq, Instituto Terra Brasilis and WWF Brazil. We thank the Ecology, Conservation and Wildlife Management Program at the Federal University of Minas Gerais – UFMG, the Minas Gerais Forestry Institute – IEF/MG and the Rio Preto State Park Director, Mr. Anônio A. Tonhão de Almeida and his staff for all their kind support to the field research. We are also thankful to Prof. Geraldo W. Fernandes for providing laboratory facilities at UFMG and to Prof. Emilio Suyama and Sibebe Queirós of the Department of Statistics at UFMG for their support with the data analysis.

### References

- Costa, F.N.; Trovó, M., & Sano, P.T. Eriocaulaceae na Cadeia do Espinhaço: riqueza, endemismo e ameaças. **Megadiversidade** 4(1-2): 89-97.
- Giulietti N., Giulietti A., Pirani, J.R. & Menezes, N.L. 1988. Estudos em sempre-vivas: importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta bot. Bras.** 1(2):179-193.
- Giulietti A.M., Wanderley M.G.L., Longhiwagner, H.M., Pirani, J.R. & Parra, L.R. 1996. Estudos em "sempre-vivas": taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Bot. Bras.** 10(2): 329-377.
- Giulietti, A. M.; Harley, R. M.; Queiroz, L. P.; Wanderley, M. G. L. & Van den Berg, C. 2005. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade** 1 (1): 52-61.

Instituto Terra Brasilis de Desenvolvimento Socioambiental / Centro Cape / SEBRAE / Mãos de Minas. 1999. **Projeto Sempre-Viva: Perspectivas de seu Uso Sustentado**. Instituto Terra Brasilis, Belo Horizonte.

International Council for Science. 2002. ICSU Series on Science for Sustainable development No. 4: **Science, Traditional Knowledge and Sustainable Development**. 24 pp.

Brasil. 2008. **Ministério do Meio Ambiente (MMA) - Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção**. Available at: <http://www.mma.gov.br/estruturas/179/arquivos/17905122008033615.pdf>. Accessed in: Oct. 13, 2013.

Parra, L.R., Giulietti, A.M., de Andrade, M.J.G., & van den Berg, C. 2010. Reestablishment and new circumscription of *Comanthera* (Eriocaulaceae). **Taxon** 59(4), 1135-1146.

Richards, F.J. 1959. A flexible growth function for empirical use. **Journal of Experimental Botany** 10(29): 290-300.

Scatena V.L., Lima A.A.A. & Lemos Filho, J.P. 1997. Aspectos fenológicos de *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhl. (Eriocaulaceae) da Serra do Cipó – MG, Brasil. **Arq. Biol. Technol.** 40 (1): 153 – 167.

StataCorp. 2003. **Stata Statistical Software: Release 8**. College Station, TX: StataCorp LP.

Walford L.A. 1946. A new graphic method for describing the growth of animals. **Biological Bulletin** 90:141-147.



# Fotossíntese em galhas: aspectos citológicos e fisiológicos da interação

**Denis Coelho de Oliveira**

Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.  
denisoliveira@inbio.ufu.br

Tecidos vegetais podem reagir prontamente a estímulos abióticos e bióticos alterando sua morfogênese. Dentre os fatores bióticos que alteram a morfogênese das plantas destacam-se os insetos galhadores responsáveis pela indução de galhas. As galhas podem ser consideradas como órgãos vegetais neoformados (Shorthouse et al. 2005) cujo desenvolvimento envolve ativa rediferenciação celular na planta hospedeira com a formação de tecidos com características típicas deste novo órgão (Mani 1964, Lev-Yadun 2003, Oliveira & Isaias 2010). Durante o desenvolvimento da galha, o estresse oxidativo aumenta (Oliveira & Isaias 2010, Oliveira et al. 2010; Oliveira et al. 2011, Isaias et al. 2011), sendo responsável por mediar e sinalizar respostas celulares durante a interação. O aumento do estresse representa um aumento na cascata de produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO).

Devido à presença de grande quantidade de oxigênio molecular na atmosfera, todas as células vivas estão sujeitas a ação reativa e tóxica de uma forma reduzida de oxigênio. Estas espécies reativas de oxigênio (ERO), como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o radical hidroxila ( $^*HO$ ) e oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) são produzidas tanto durante o metabolismo fundamental da célula como através de estímulos abióticos e bióticos (Moller et al. 2007, Couée et al. 2006, Rossel et al. 2002, Pham & Desikan 2009). Os cloroplastos, os peroxissomos e as mitocôndrias são os principais produtores de ERO. Os cloroplastos produzem  $^1O_2$  e  $O_2^-$  nos fotossistemas, as mitocôndrias em geral produzem  $O_2^-$ , e os peroxissomos produzem  $H_2O_2$  que pode ser convertido a  $^*HO$  (Möller et al. 2007).

A produção de ERO através do metabolismo fundamental das células pode gerar importantes sinalizadores durante o desenvolvimento vegetal, como por exemplo, ao aumento da elasticidade da parede durante o crescimento celular (Bell et al. 2009). Contudo, as ERO também são capazes de oxidar todos os tipos de componentes celulares, podendo levar a célula a morte (Moller et al. 2007). A morte celular pode ser consequência da produção de uma cascata oxidativa como parte de uma resposta imune da planta durante o início de uma interação entre microorganismos e plantas (Doke 1996, Moller et al. 2007). Contudo, a produção de ERO não está somente relacionada com a defesa contra a ação de outro organismo, mas também a regulação gênica que pode conduzir a uma resposta de hipersensitividade, a morte celular programada localizada e a sinalização para desenvolvimento celular local (Pham & Desikan 2009, Couée et al. 2006, Moller 2007, del Rio et al. 2009, Doke 1996). A ação de insetos galhadores provoca aumento na produção de ERO nos tecidos vegetais (Oliveira & Isaias 2010, Oliveira et al. 2010), sendo este aumento diretamente relacionado a formação do gradiente citológico e histoquímico nas galhas.

Muito embora Bronner (1992) tenha citado a formação de um gradiente citológico apenas em galhas induzidas por Cynipidae, análises anatômicas e citológicas de galhas induzidas por Hemiptera e Diptera nos neotrópicos, mostram diferenças significativas entre as camadas celulares proximais e distais à câmara larval (Souza et al. 2000, Kraus et al. 2002, Arduin et al. 2005, Oliveira et al. 2006, Moura et al. 2008, Moura et al. 2009, Oliveira & Isaias 2009, Oliveira & Isaias 2010). Sendo assim, os tecidos do córtex interno, próximos à câmara larval, estão sujeitos a maior estresse oxidativo

e como resultado da rediferenciação celular, as galhas, independentemente do taxa indutor, possuem um gradiente histológico e citológico. A diferença nos níveis de ERO do córtex interno para o externo seria a principal força geradora da forma final do corpo da galha a qual advém de mudanças nos padrões de alongamento celular (Oliveira & Isaias 2010, Oliveira et al. 2010).

Os níveis de ERO em tecidos vegetais podem atuar como sinalizadores e agir diretamente no crescimento e desenvolvimento, em respostas ao estresse e em interações bióticas (Couée et al. 2006, Ryter & Tyrrel 1998, Mittler et al. 2004, Oliveira et al. 2010, Oliveira & Isaias 2010). Em galhas, a produção de ERO nos tecidos próximos a câmara larval ocorre principalmente devido à alta atividade respiratória nas mitocôndrias. A grande quantidade de proteínas nestas camadas celulares e a alta atividade enzimática denotam o intenso metabolismo já detectado em diversos sistemas galhador-planta hospedeira (Bronner 1992, Schonrogge et al. 2000, Oliveira & Isaias 2010, Oliveira et al. 2010). Uma vez que a produção de ERO em excesso pode levar a morte celular (Moller et al. 2007), mecanismos que busquem a eliminação destes radicais são essenciais para os tecidos vegetais. Desta forma, a atividade de enzimas tais como a invertase pode desempenhar um papel importante na eliminação de ROS em galhas através da produção de açúcares solúveis nas camadas celulares mais internas, sítios de alto estresse oxidativo.

Os açúcares solúveis podem desempenhar um papel importante tanto nos mecanismos de eliminação de ERO quanto na sua produção (Couée et al. 2006). O metabolismo de açúcares e de esqueletos de carbono é essencial para a síntese de compostos envolvidos na proteção anti-oxidante. Dentre os açúcares solúveis, a glicose atua como precursor inicial para síntese de carotenóides e de ascobarto entre outros aminoácidos, incluindo Cys, Glu e Gly, compostos envolvidos em mecanismos de defesa e eliminação de ERO (Couée et al. 2006, Pallet & Young 1993, Foyer 1993, Smirnoff et al. 2001). Assim, é plausível relacionar o acúmulo de açúcares solúveis em tecidos vegetais com mecanismos de defesa contra a ação prejudicial de ERO (Couée et al. 2006). Tendo em vista que o acúmulo de açúcares é fato já descrito para diversas galhas (e.g. Bronner 1992) e devido ao envolvimento destes açúcares em mecanismos de eliminação de ERO, pode-se supor que, independente do modo de indução e de desenvolvimento, a armazenagem de

açúcares nas células proximais à câmara larval seja uma resposta local a produção de ERO nas galhas. Ao contrário do córtex interno que é via de regra incolor, no córtex externo da galha, o estresse luminoso nos cloroplastos pode ser a principal fonte de ERO (Asada 1999, Moller et al. 2007, Oliveira et al. 2011).

De modo geral as galhas apresentam tecido clorofiliano disperso ou concentrado nas camadas mais externas da estrutura. Nas galhas intralaminares (Isaias et al. 2013) este tecido clorofiliano é pouco alterado quando comparado àquele do órgão não galhado e desta forma, a galha teria capacidade similar de realizar fotossíntese. A produção de ERO é intrínseca ao metabolismo fotossintético (Moller et al. 2007) e a indução de galhas aumenta ainda mais a cascata desta produção (Oliveira et al. 2011), podendo levar a inibição do aparato fotossintético. Dois sistemas com galhas intralaminares, *Aspidosperma australe-Pseudophacopteron* sp. e *A. spruceanum*-Diptera, encontrados nos Neotropicos, apresentam tecido clorofiliano no córtex externo com intensa produção de  $H_2O_2$ , entretanto, a atividade fotossintética avaliada a partir da fluorescência da clorofila *a* não apresentou diferenças significativas quando comparadas ao tecido não galhado. Mesmo com o alto estresse gerado pelas ERO nas galhas, a manutenção da atividade fotossintética foi creditada a formação de plastoglóbulos nos tilacóides dos cloroplastos (Oliveira et al. 2011). Estes podem ser considerados como um mecanismo para driblar os danos provocados pelas ERO nos cloroplastos (Austin et al. 2007). Plastoglóbulos são corpos de natureza mista produzidos por plastídios que podem conter tanto lipídios quanto proteínas e cuja função está associada à reserva de componentes moleculares e à recuperação do sistema de membranas dos tilacóides (Lichtenthaler 1968, Kessler et al. 1999, Vivi et al. 2006, Ytterberg et al. 2006, Hopkins et al. 2007). Seu envolvimento com a síntese e armazenamento de plastoglobulinas e moléculas como tocoferol tem sido relacionado à propriedades antioxidantes que protegem as membranas de foto-oxidação e o PSII de fotoinativação (Bréhelin et al. 2007, Havaux et al. 2005).

Nas galhas intralaminares que apresentam tecido clorofiliano, a atividade fotossintética avaliada a partir da fluorescência da clorofila *a* indica capacidade do tecido em fixar  $CO_2$  atmosférico. Desta forma, a produção de açúcares na galha poderia auxiliar na manutenção da maquinaria celular deste tecido

neoformado ou até ser usado para a alimentação do inseto galhador (Oliveira et al 2011, Castro et al 2012). Entretanto esta capacidade de assimilação de CO<sub>2</sub> não exclui a atividade de dreno da galha. Nas galhas extralaminares, o tecido clorofiliano é mais impactado, geralmente disperso e com teores baixos de clorofila. Na galha extralaminar em chifre induzidas por espécies não identificadas de Diptera em *Copaifera langsdorffii*, a atividade fotossintética avaliada pela fluorescência da clorofila *a* apresenta níveis muito baixos quando comparada aquela dos tecidos não galhados (Castro et al 2012). Neste sistema, praticamente todo o açúcar consumido na galha é drenado de partes adjacentes à estrutura. Além disso, o tecido parenquimático encontra-se bastante compactado, com poucos espaços intercelulares dificultando a aeração. Desta forma, a atividade do PSII mesmo que basal pode ser um mecanismo eficiente para evitar a hipóxia nas células do tecido da galha (Castro et al 2012).

A atividade fotossintética avaliada através da fluorescência da clorofila *a* nos tecidos da galha é um indicativo de que pode estar ocorrendo assimilação de CO<sub>2</sub>. Entretanto para que a assimilação ocorra é necessária a entrada de CO<sub>2</sub> atmosférico via estômatos. Durante o desenvolvimento das galhas, pode ocorrer a formação de estômatos anômalos, com apenas uma célula-guarda, sem o poro estomático ou sem câmara sub-estomática. Nos casos de má formação estomática, a entrada de CO<sub>2</sub> pode ocorrer por difusão lateral de gases do tecido adjacente a galha. Galhas que apresentam muitos espaços intercelulares têm esta difusão de gases facilitada, como ocorre em galhas intralaminares de *Aspidosperma spruceanum* (Oliveira et al 2011). Entretanto em galhas com espaços intercelulares muito reduzidos a disponibilização de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese pode ser gerada através da ciclagem de CO<sub>2</sub> da respiração celular no tecido da galha.

De fato, o aumento da cascata oxidativa durante o desenvolvimento da galha pode ser a força geradora dos gradientes funcionais nas galhas e conseqüentemente da forma da galha. Além disso, a atividade fotossintética na galha não necessariamente supre toda a demanda energética da estrutura mas pode ser uma forma de evitar a hipóxia em galhas com poucos espaços intercelulares e com a ciclagem de CO<sub>2</sub> proveniente da respiração celular.

## Referências bibliográficas

- Abrahamson, W. G. & Weiss, A. E. 1997. Evolutionary Ecology Across Three Trophic Levels: Goldenrods, Gallmakers and Natural Enemies. Monographs in Population Biology .29. Princeton University Press.
- Álvarez, R.; Encina, A. & Pérez Hidalgo, N. 2009. Histological aspects of three *Pistacia terebinthus* galls induced by three different aphids: *Paracletus cimiciformis*, *Forda marginata* and *Forda formicaria*. **Plant Science** **176**: 133-144.
- Arduin, M.; Fernandes, G.W. & Kraus, J.E. 2005. Morphogenesis of gall induced by *Baccharopelma dracunculifoliae* (Hemiptera: Psyllidae) on *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) leaves. **Brazilian Journal of Biology** **65**(4): 559-571.
- Asada, K. 1999. The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** **50**: 601-639.
- Asano, T.; Kunieda, N.; Omura, Y.; Ibe, H.; Kawasaki, T.; Takano, M.; Sato, M.; Furuhashi, H.; Mujin, T.; Takaiwa, F.; Wu, C.; Tada, Y.; Satozawa, T.; Sakamoto, M. & Shimada, H. 2002. Rice SPK, a calmodulin-like domain protein kinase, is required for storage product storage during seed developmental: phosphorylation of sucrose synthase is a possible factor. **Plant Cell** **14**: 619-628.
- Austin, J. T.; Frost, E.; Vidi, P. A.; Kessler, F. & Staehlin, A. 2006. Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and biosynthetic enzymes. **The Plant Cell** **18**:1693-1703
- Barceló, A. R. & Laura, A. G. R. 2009 **Reactive oxygen species in plant cell walls**. Pp. 73-93. In: Reactive oxygen species in plant signalling (del Río LA, Puppo A eds). Springer.
- Bell, E.; Takeda, S. & Dolan, L. 2009. Reactive oxygen species in growth and development. Pp 43-53. In: Reactive oxygen species in plant signalling (del Río LA, Puppo A eds). Springer
- Bréhélin, C.; Kessler, F. & van Wijk, K. J. 2007. Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids. **Trends in Plant Science** **12**(6) : 260-266.

- Bronner, R. 1992. **The role of nutritive cells in the nutrition of cynipids and cecidomyiids**. Pp. 118-140. In: Shorthouse, J.D., Rohfritsch, O. (Eds), *Biology of insect induced galls*, Oxford University, Oxford
- Couée, I.; Sulmon, C.; Gouesbet, G. & El Amrani, A. 2006. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and response to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany** **57**: 449-459.
- Crespi, B. J. & Worobey, M. 1998. Comparative analysis of gall morphology in Australian gall thrips: the evolution of extended phenotypes. **International Journal of Organic Evolution** **52**: 1686-1696.
- Danks, H. V. 2000. Modification of adverse conditions by insects. **Oikos** **99**: 10-24.
- Del Río, L. A. & Puppo, A. 2009. Reactive oxygen species in plant signaling. Springer
- Doke, M.; Miura, Y.; Sanchez, L. M.; Park, H.J.; Noritake, T.; Yoshioka, H. & Kawakita, K. 1996. The oxidative burst protects plants against pathogen attack: mechanism and role as an emergency signal for plant bio-defense – a review. **Gene** **179**: 45-51.
- Fahn, A. 1990. *Plant Anatomy*. Pergamon Press, Oxford
- Fernandes, G. W. & Price, P. W. 1992. The adaptive significance of insect gall distribution: survivorship of species in xeric and mesic habitats. **Oecologia** **90**: 14-20.
- Gutschick, V. P. 1999. Research reviews: biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. **New Phytologist** **14**:3-18
- Harris, M. O.; Freeman, T. P.; Rohfritsch, O.; Anderson, K. G. & Payne, S. A. 2006. Virulent Hessian Fly (Diptera: Cecidomyiidae) larvae induced a nutritive tissue during compatible interaction with wheat. **Annals of the Entomological Society of America** **99**: 305-316.
- Havaux, M.; Eymery, F.; Porfirova, S.; Rey, P. & Dörmann, P. 2005. Vitamin E protects against photoinhibition and photooxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* **17**: 3451-3469.
- Higton, R. N. & Mabblerly, D. J. 1994. A willow gall from the galler's point of view. Pp. 301-312. In: *Plant Galls - Organisms, Interaction, Populations* (Willian, MAJ, ed), Clarendon Press
- Hopkins, M.; McNamara, L.; Taylor, C.; Wang, T. & Thompson, J. 2007. Membrane dynamics and regulation of subcellular changes during senescence. In: *Senescence processes in plant*. Gan S. (ed), *Annual Plant Reviews*, Blackwell Publishing Ltd.
- Kessler, F.; Schnell, D. & Blobel, G. 1999. Identification of proteins associated with plastoglobules isolated from pea (*Pisum sativum* L.) chloroplasts. **Planta** **208**: 107-113.
- Koch, K. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** **47**: 509-540.
- Koch, K. 2004. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Current Opinion in Plant Biology** **7**: 235-246.
- Koch, K. E. & Zeng, Y. 2002. Molecular approaches to altered C partitioning: gene for sucrose metabolism. **Journal of American Society of Horticultural Science** **127**: 474-483.
- Kraus, J. E. 2009. Galhas: morfogênese, relações ecológicas e importância econômica. Pp. 109-140. In: Tissot-Squalli ML (Ed), *Interações Ecológicas & Biodiversidade*, Editora Injuí
- Kraus, J. E.; Arduin, M. & Venturelli, M. 2002. Anatomy and ontogenesis of hymenopteran leaf galls on *Struthantus vulgaris* Mart. (Loranthaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **25**: 449-458.
- Lev-Yadun, S. 2003. Stem cells plants are differentiated too. **Current Topics in Plant Biology** **4**:93-100.
- Lichtenthaler, H.K. 1968. Plastoglobuli and fine structure of plastids. **Endeavour** **27**: 82-88.
- Mani, M. S. 1964. *Ecology of plant galls*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague
- Meyer, J. & Maresquelle, H.J. 1983. *Anatomie des galles*. Gebrüder Borntraeger
- Mittler, R.; Vanderauwera, S.; Gollery, M. & Van Breusegen, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science** **9**: 419-424.
- Moller, I. M.; Jensen, P. E. & Hanson, A. 2007. Oxidative



- modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology** **58**:459-481.
- Moura, M. Z. D., Soares, G. L. G & Isaias, R. M. S. 2008. Species-specific changes in tissue morphogenesis induced by two arthropod leaf gallers in *Lantana camara* L. (Verbenaceae). **Australian Journal of Botany** **53**:153-160.
- Moura, M. Z. D., Soares, G. L. G & Isaias, R. M. S. 2009. Ontogênese das folhas e das galhas induzidas por *Aceria lantanae* Cook (Acarinae: Eriophyidae) em *Lantana camara* L. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **32**: 271-282.
- Nyman, T. 2000. Phylogeny and ecological evolution of gall-inducing sawflies (Hymenoptera: Tenthredinidae). University of Joensuu, PhD Dissertation in Biology v. 6
- Obroucheva, N. V. 2008. Cell Elongation as an inseparable component of growth in terrestrial plants. **Russian Journal of Developmental Biology** **39**,13-24.
- Oliveira D.C. & Isaias R.M.S. 2010a. Redifferentiation of leaflet tissues during gall midrib gall development in *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae). **South African Journal of Botany** **76**: 239-248.
- Oliveira D.C. & Isaias R.M.S. 2010b Cytological and histochemical gradients induced by a sucking insect in galls of *Aspidosperma australe* Arg. Muell (Apocynaceae), **Plant Science** **178**:350-358.
- Oliveira D.C. & Isaias R.M.S. 2009. Influence of leaflet age in anatomy and possible adaptive values of the gall of *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae: Caesalpinioideae). **Revista de Biologia Tropical** **57**:293-302.
- Oliveira, D. C.; Christiano, J. C. S.; Soares, G. L. G. & Isaias, R. M. S. 2006. Reações de defesas químicas e estruturais de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) à ação do galhador *Euphalerus ostreoides* Crawford. (Hemiptera: Psyllidae). **Revista Brasileira de Botânica** **29**:657-667.
- Oliveira, D. C.; Magalhães, T. A.; Carneiro, R. G. S.; Alvim, M. N. & Isaias, R. M. S. 2010. Do Cecidomyiidae galls of *Aspidosperma spruceanum* (Apocynaceae) fit the pre-established cytological and histochemical patterns? **Protoplasma** **242**: 81-93
- Pham, J. & Desikan, R. 2009. ROS signalling in stomata. In Reactive oxygen species in plant signalling (del Río LA, Puppo A eds). Springer.
- Press, M. C. 1999. The functional significance of leaf structure: a search for generalizations. **New Phytologist** **143**:213-230
- Price, P. W. 1987. General concepts on the evolutionary biology of parasites. **Evolution** **31**:405-420.
- Raman, A. 2007. Insect-induced plant galls of India: unresolved questions. **Current Science** **92**:748-757
- Rohfritsch, O. 1992. Patterns in gall development. Pp. 60-86. In: Shorthouse, J.D., Rohfritsch, O. (Eds), Biology of insect induced galls, Oxford University.
- Rossel, J. B.; Wilson, I. W. & Pogson, B. J. 2002. Global change in gene expression in response to high light in *Arabidopsis*. **Plant Physiology** **130**: 1109-1120.
- Ryter, S. W. & Tyrrell, R. M. 1988. Singlet molecular oxygen: a possible effector of eukaryotic gene expression. **Free Radical Biology and Medicine** **24**: 1520-1534.
- Sack, L. & Holbrook, N. M. 2006. Leaf Hydraulics. **Annual Review of Plant Biology** **57**: 361-381.
- Salnikov, V. V.; Grimson, M. J.; Seagull, R. W. & Haigler, C. H. 2003. Localization of sucrose synthase and callose in freeze substituted secondary wall stage cotton fibers. **Protoplasma** **221**: 175-184.
- Schönrogge, K.; Harper, L. J. & Lichtenstein, C. P. 2000. The protein content of tissue in cynipid galls (Hymenoptera: Cynipidae): Similarities between cynipid galls and seeds. **Plant, Cell and Environment** **23**: 215-222.
- Shorthouse, J. & Rohfritsch, O. 1992. Biology of Insect-induced galls, Oxford University Press.
- Smirnov, N.; Conklin, P. L. & Loewus, F. A. 2001. Biosynthesis of ascorbic acid in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** **52**: 437-467.
- Souza, S. C. P. M.; Kraus, J. E.; Isaias, R. M. S. & Neves, L. J. 2000. Anatomical and ultrastructural aspects of leaf galls in *Ficus microcarpa* L.F. (Moraceae) induced by *Gynaikothrips ficorum* Marchal (Thysanoptera). **Acta Botanica Brasílica** **14**:57-69
- Stone, G. N. & Schönrogge, K. 2003. The adaptive



significance of insect gall morphology. **Trends in Ecology and Evolution** **18**:512-522

Subbaiah, C. C. & Sachs, M. M. 2001. Altered patterns of sucrose synthase phosphorylation and localization precede callose induction and root tip death in anoxic maize seedlings. **Plant Physiology** **125**: 585-594.

Vidi, P. A.; Kanwischer, M.; Baginsky, S.; Austin, J. R.; Csucs, G.; Dormann, P.; Kessler, F. & Brehelin, C. 2006. Tocopherol cyclase (VTE1) localization and vitamin E accumulation in chloroplast plastoglobule lipoprotein particles. **Journal of Biological Chemistry** **281**: 11225-11234.

Wachter, R.; Langhans, M.; Aloni, R.; Gotz, S.; Weilmunters, A.; Koops, A.; Temguia, L.; Mistrík, I.; Pavlovkin, J. & Rascher, U. 2003. Vascularization, high-volume solution flow, and localized roles for enzymes of sucrose metabolism during tumorigenesis by *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Physiology** **133**: 1024-1037.

Whitham, T. G. 1992. Ecology of *Pemphigus* gall aphids. Pp. 225-227. In: Shorthouse, J.D., Rohfritsch, O. (Eds), *Biology of insect induced galls*, Oxford University, Oxford

Woodman, R. L. & Fernandes, G. W. 1991. Differential mechanical defense: herbivory, evapotranspiration, and leaf-hairs. **Oikos** **60**:11-19

Ytterberg, A.J.; Peltier, J.B. & Van Wijk, K.J. 2006. Protein profiling of plastoglobules in chloroplasts and chromoplasts. A surprising site for differential accumulation of metabolic enzymes. **Plant Physiology** **140**: 984-997.

# Fungal diversity in lignocellulosic woody plant residues from a neotropical rainforest fragment: A metagenomics approach

**Fernanda Badotti<sup>1,2</sup>, Aline Vaz<sup>1,2</sup>, Paula Fonseca<sup>2</sup>, Laura Leite<sup>2</sup>, Flávio Araújo<sup>1</sup>, Anna Salim<sup>1</sup>, Sara Cuadros<sup>2</sup>, Guilherme Oliveira<sup>2</sup> & Aristóteles Góes-Neto<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA, Brasil.

<sup>3</sup> Autor para correspondência: arigoesneto@gmail.com

## Introduction

Plant litter in terrestrial forest ecosystems consists of dead plant parts including both non-woody and woody plant residues, the last one comprising twigs, stems, branches and trunks, which are collectively named coarse woody debris (Cannon & Sutton 2004). Woody debris, generally called lignocelluloses, are composed of three natural polymers: cellulose, hemicellulose and lignin. Cellulose, the main constituent of all plant material and the most abundant organic material on the Earth, is a linear biopolymer of anhydroglucopyranose molecules connected by  $\beta$ -1,4-glycosidic bonds (Percival Zhang *et al.* 2006). Hemicelluloses are heterogeneous polymers of pentoses, hexoses and sugar acids, of variable composition in nature depending on the plant source (Saha 2003). Lignin is generally formed by aromatic alcohols and is closely associated with cellulose and hemicelluloses. This recalcitrant component makes lignocellulosic material resistant to microbial degradation (Sanchez 2009).

Fungi contribute significantly to the biotic decay of dead lignified plant residues by producing many different enzymes, which are released in the environment and act in a synergistic manner (Zhou & Ingram 2000). Basidiomycota and Ascomycota fungi

are widely known by their ability to degrade wood. To get access to the cellulose the fungi need to bypass the lignin fractions and the filamentous growth enables them to penetrate the cell lumina and degrade the wood from inside (Schwarze & Mattheck 2000). There are three main types of wood decomposition, which are directly correlated to distinct fungal groups: soft-rot, brown-rot and white-rot. Soft-rot is performed by Ascomycota from genera such as *Daldinia*, *Hypoxylon* and *Xylaria* (Xylariales), which are able to degrade lignin (Hatakka & Hammel 2010). Brown- and white-rot are mainly performed by Basidiomycota, especially Agaricomycetes. In brown-rot only the cellulose and hemicelluloses are removed while in white rot, either lignin, cellulose and hemicelluloses are efficiently decomposed (Rayner & Boddy 1988). Fungi ability to exploit carbon compounds vary widely and are associated to the availability and chemical structure of these organic polymers in the different locations. Moreover, abiotic features such as temperature, water availability and humidity determine the success in mycota establishment in a substratum (Cannon & Sutton 2004).

The access to plant polysaccharides represents a central issue for the industrial use of plant biomass and the search for enzymes able to assist in the breakdown of lignocellulosic materials has been the target of many

studies (Hahn *et al.* 2013; Van Dik *et al.* 2013; Couturier *et al.* 2012; Liers *et al.* 2011). The use of metagenomics – a culture-independent approach – permits the complete access to the genetic material of the whole set of organisms from any environment (Handelsman 2004), and is a valuable tool to investigate the diversity and enzymatic potential of fungi involved in wood decay processes. Since the last decade, metagenomic studies have extensively used next-generation sequencing technologies (NGS) (Wooley *et al.* 2010). Regardless of the methodologies used, all NGS platforms enabled a massive parallelization of sequencing, which considerably scaled up the throughput (Margulies *et al.* 2005). Moreover, they eliminated the need for cloning DNA, thus reducing the bias often associated with this step (Gonzalez *et al.* 2012; Pinto *et al.* 2012). NGS technologies offer high speed and low cost sequencing, and have contributed significantly for the increase on number of metagenomic projects and databases containing sequences available. However, most of these data are related to prokaryotic microbial diversity, while the eukaryotic component of the communities, mainly fungal diversity, remains poorly known. Moreover, the wood decay in tropical ecosystems has been much less explored than in temperate forests, and the fungal diversity expected in tropical ecosystems is higher than in temperate ones.

The main objective of this study is to assess the hidden fungal diversity in decaying woody plant residues from a neotropical rainforest fragment using NGS.

## Material and Methods

### Collection of the decomposing wood

The sampling consisted of 20 fragments of lignocellulosic substrates (coarse woody decaying plant parts with more than 2 cm diameter) collected in the State Park of Rio Doce (19°46' S – 42°35'W), located in the Minas Gerais state, southeastern Brazil. The park has 36,113 ha and the main vegetation type is seasonal tropical forest (Bezerra-Neto *et al.*, 2008).

### DNA extraction and amplification

Samples were grinded and frozen in liquid nitrogen. The nucleic acids extraction protocol employed a salt extraction buffer (0.05 M Tris-

HCl (pH 9), 0.005 M EDTA, 0.1 M NaCl, 1% SDS, 3%  $\beta$ -mercaptoethanol; 3% polyvinyl-pyrrolidone – PVP) and Proteinase K (50  $\mu$ g/ml). The DNA was extracted using phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1) and isopropanol/ethanol precipitation. The samples were diluted in TE buffer (0.01 M Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid - EDTA). The internal transcribed spacer (ITS) of rRNA gene were amplified using the primers ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') and ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'), which comprises the selected fungal DNA barcode (Schoch *et al.* 2012).

### NGS using Ion torrent platform

Approximately 1.0  $\mu$ g genomic DNA was used for sequencing using the Ion Sequencing Kit protocol (Life Technologies). The complete sample was loaded on an Ion 316 chip and sequenced on the PGM for 110 cycles.

### Bioinformatics analyses

The dataset generated was analyzed according to the pipeline shown on Figure 1. Short (< 50 bp) and low quality (< 20 Phred) reads were filtered from the original data sets to minimize the inclusion of sequencing artifacts. Internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) and flanking regions (nSSU, 5.8 S and nSLU) sequences were identified using FungalITSExtractor (Nilsson *et al.* 2010). The raw data were analyzed by filtering and clustering ITS1 and ITS2 regions separately. The sequences were then clustered into molecular operational taxonomic units (MOTUs) as a crude approximation of species, using the BLASTCLUST single linkage clustering. For taxonomic annotation, complete or partial ITS sequences were aligned with blastn against the UNITE database (Abarenkov *et al.*, 2010).

### Statistical analysis

The taxonomy richness and abundance of taxa were calculated using the vegan package (Oksanen 2009). Dominance-diversity plots were generated based on the logarithmic species abundance against order of species for each sample using the *radfit* function. The fit of the models was compared using AIC (Akaike information criterion) and the lowest value represented the best fit model (Oksanen 2009; Wilson

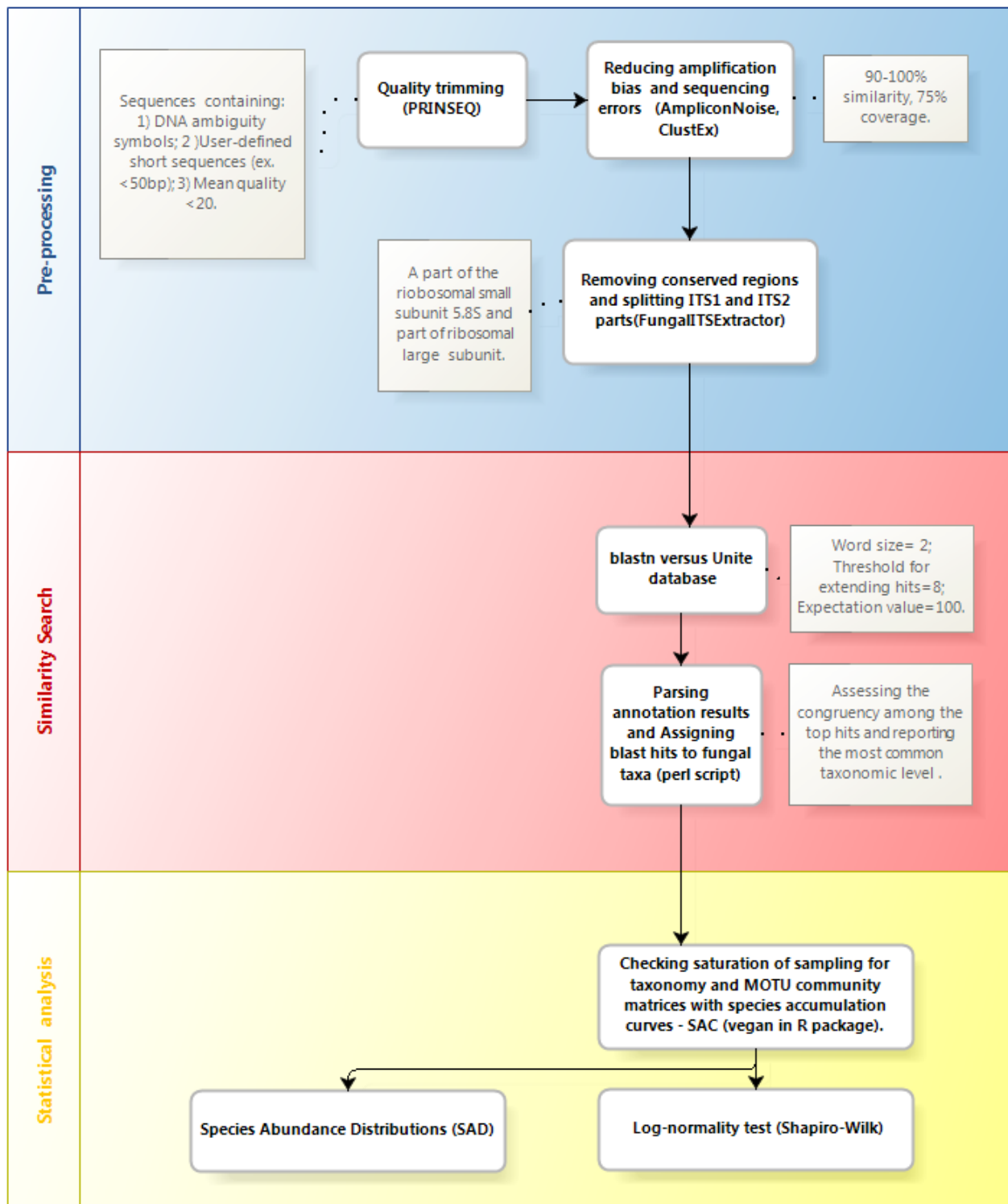
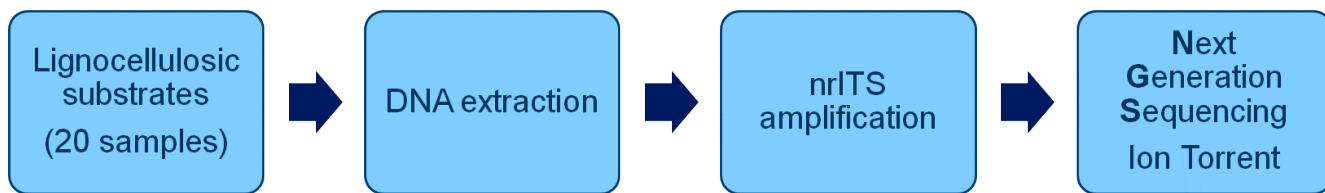


Figure 1. Summary of bioinformatics analyses used to the data processing.

1991). All analyses were done using the R program (R Development Core Team 2005).

## Results and Discussion

The sequencing resulted in a total of 713,616 reads with lengths of  $128 \pm 41$  bp, comprising the complete ITS region (11,132 reads; MOTUs = 4164), ITS1 (87,141 reads; MOTUs = 13,365) and ITS2 (53,384 reads; MOTUs = 9,808). However, most of the reads identified (from 60-62% in the three DNA segments) were singletons. In order to analyze the community structure in a conservative manner, only the MOTUs with 10 or more reads exhibiting the complete ITS region were considered, resulting in 3,778 reads and 132 taxa. A total of 2,163 reads (57.26%) could be confidently identified at genus (44%) and species (56%) levels, encompassing 70 taxa.

The community is composed by Basidiomycota and Ascomycota fungi. Although the richness of Ascomycota (64.3%) exceeded that of Basidiomycota (35.7%), the relative abundances (percentual number of reads) of the taxa for both phyla were very similar: Ascomycota (51.4%) and Basidiomycota (48.6%) (Figure

2). These results were further confirmed by the similar values of equitability ( $J$ ), 0.85 and 0.81, respectively. Therefore, statistically significant distinct Shannon diversity indexes were found for Ascomycota ( $H = 3.25$ ) and Basidiomycota ( $H = 2.61$ ) taxa. The great majority of the taxa were represented by saprobes, typically decomposers of woody plant residues. Furthermore, amongst Ascomycota, different ecological groups were also detected, including endophytes (e.g.: *Glomerella* and *Promopsis*) and woody-plant parasites (e.g.: *Colletotrichum*, *Fusarium* and *Pestalotiopsis*). Furthermore, two yeast genera (*Bullera* and *Dioszegia*) were also identified. The role of yeasts in the wood decay has been yet underexplored and this finding provides an interesting opportunity for the study of this fungal group as well.

The fungal species abundance distribution exhibited a closer fit to Zipf-Mandelbrot model (Figure 3). This pattern corroborates previous works in decaying wood fungal communities, which suggest that early fungal colonizers (primary species) create conditions that will have positive or negative effects (priority effects) on the colonization of late colonizers (secondary species) (Fukami *et al.* 2010).

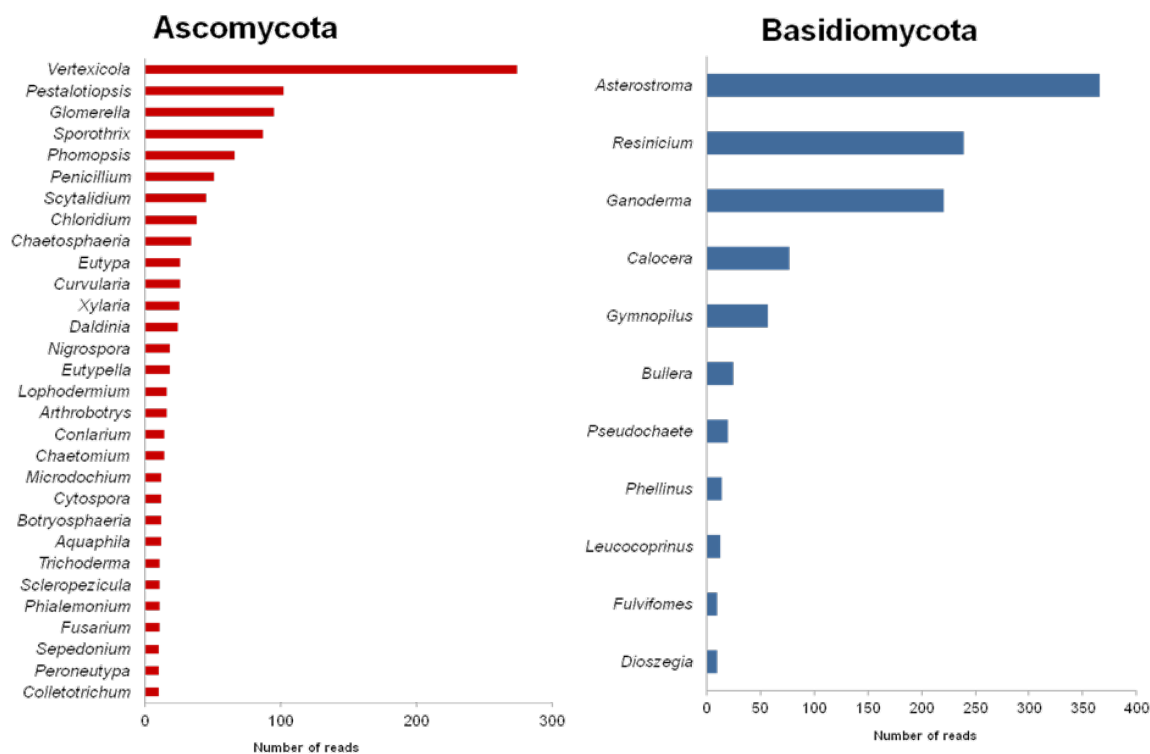


Figure 2. Richness and abundance of the taxa for the phyla Ascomycota and Basidiomycota.



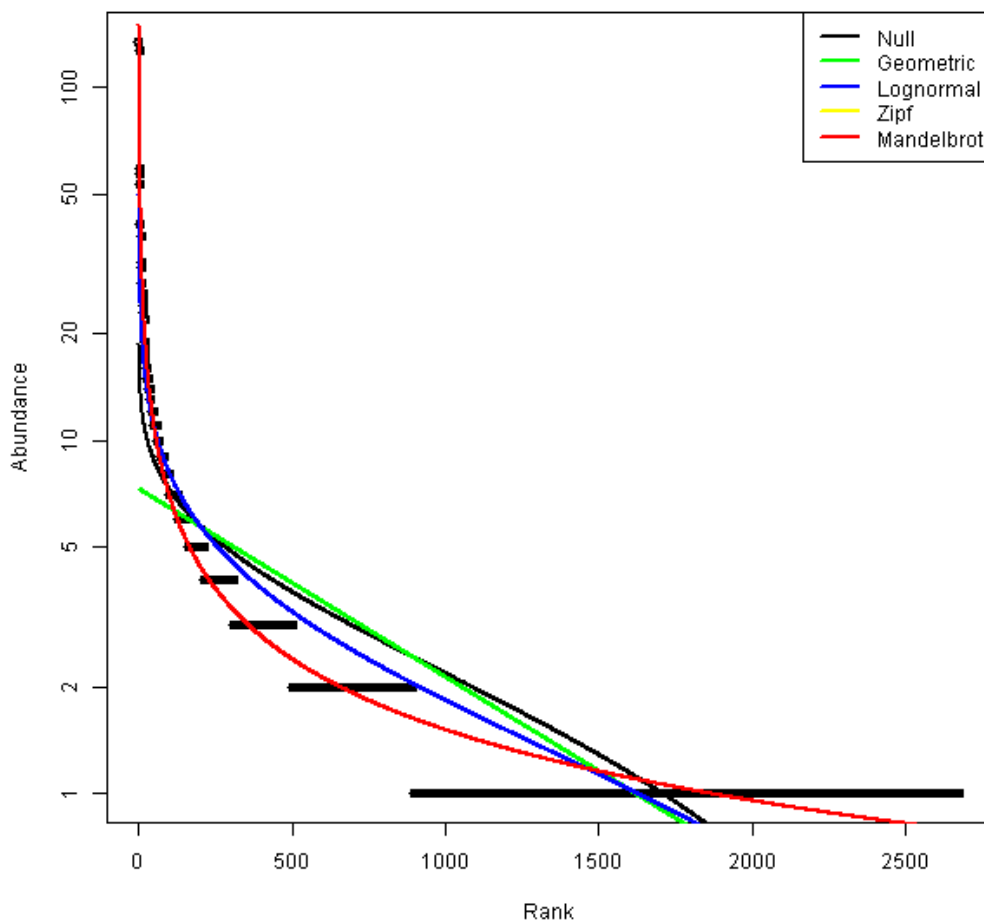


Figure 3. Fungal species abundance distribution for the models Null, Geometric, Lognormal, Zipf and Mandelbrot.

## Conclusions and perspectives

Connecting the fungal diversity with functional traits is a challenge, since functional responses usually vary according to the environmental conditions and ecological interactions with other fungi. In this work we detected a wide range of ecological roles to the taxa identified from a pool of samples from a Brazilian tropical rainforest. Studies focused on field conditions are scarce but are imperative to connect genetic characterization and functional responses. We believe metagenomic approaches based on NGS technology of decaying wood from tropical forests will certainly contribute to our knowledge about this environment and will bring advances for the use of lignocellulosic biomass to energy production.

## References

- Abarenkov, K.; Nilsson R.H., Larsson K., Alexander I.J., Eberhardt U., Erland S., Høiland K., Kjølner R., Larsson E., Pennanen T., Sen R., Taylor A.F.S., Tedersoo L., Ursing BM, Vrålstad T., Liimatainen K, Peintner U. & Kõljalg U. 2010. The UNITE database for molecular identification of fungi - recent updates and future perspectives. **New Phytologist** **186**: 281- 285.
- Bezerra-Neto, J.F. and Pinto-Coelho, R.M. Morphometric study of Lake Dom Helvécio, Parque Estadual do Rio Doce (PERD), Minas Gerais, Brazil: a re-evaluation. **Acta Limnologica Brasiliensia** 20: 117-130. 2008.
- Cannon, P. & Sutton, B. 2004. Microfungi on wood and plant debris. Pp. 217–239. In: G. Mueller, G. Bills, M. Foster (eds.). **Biodiversity of fungi: inventory**

**and monitoring methods.** Burlington, Elsevier Academic Press.

- Couturier, M.; Navarro, D.; Olivé, C.; Chevret, D.; Haon, M.; Favel, A.; Lesage-Meessen, L.; Henrissat, B.; Coutinho, P.M.; & Berrin, J.G. 2012. Post-genomic analyses of fungal lignocellulosic biomass degradation reveal the unexpected potential of the plant pathogen *Ustilago maydis*. **BMC Genomics** **13**:57.
- Fukami, T.; Dickie, I.A.; Wilkie, J.P.; Paulus, B.C.; Park, D.; Roberts, A. *et al.* 2010. Assembly history dictates ecosystem functioning: evidence from wood decomposer communities. **Ecology Letters** **6**: 675–84.
- Gonzalez, J.M.; Portillo, M.C.; Belda-Ferre, P. & Mira A. 2012. Amplification by PCR artificially reduces the proportion of the rare biosphere in microbial communities. **PLoS ONE** **7(1)**: e29973.
- Hahn, F.; Ullrich, R.; Hofrichter, M. & Liers, C. 2013. Experimental approach to follow the spatiotemporal wood degradation in fungal microcosms. **Biotechnology Journal** **8(1)**: 127–132.
- Handelsman, J. 2004. Soils - the metagenomics approach. Pp. 109-119. In: Bull, A.T.(Ed). **Microbial Diversity Bioprospecting**. Washington, DC, American Society for Microbiology Press.
- Hatakka, A. & Hammel, K. E. 2010 The Mycota: a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research. Pp. 319-340. In: Esser, K. & Hofrichter, M. (Eds.). **Industrial applications**. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Liers, C.; Arnstadt, T.; Ullrich, R. & Hofrichter, M. 2011. Patterns of lignin degradation and oxidative enzyme secretion by different wood- and litter-colonizing basidiomycetes and ascomycetes grown on beechwood. **FEMS Microbiology Ecology** **78**: 91–102.
- Margulies, M.; Egholm, M.; Altman, W.E.; Attiya, S.; Bader, J.S. *et al.* 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. **Nature** **437**: 376-380.
- Nilsson, R.H.; Veldre, V.; Hartmann, M.; Unterseher, M.; Amend, A.; Bergsten, J.; Kristiansson, E.; Ryberg, M.; Jumpponen, A. & Abarenkov, K. 2010. An open source software package for automated extraction of ITS1 and ITS2 from fungal ITS sequences for use in high-throughput community assays and molecular ecology. **Fungal Ecology** **3**: 284-287.
- Oksanen, J. 2009. Multivariate Analysis of Ecological Communities in R: Vegan Tutorial.URL: <http://cran.r-project.org>. Percival Zhang, Y.H.; Himmel, M.E. & Mielenz, J.R. 2006.Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. **Biotechnology Advances** **24**:452–481.
- Pinto, A.J. & Raskin, L. 2012. PCR Biases Distort Bacterial and Archaeal Community Structure in Pyrosequencing Datasets. **PLoS ONE** **7(8)**: e43093.
- Rayner & Boddy 1988. Fungal decomposition of wood: Its biology and ecology. John Wiley Press, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.
- Saha, B.C. 2003. Hemicellulose bioconversion. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology** **30**:279–291.
- Sanchez, C. 2009. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances** **27**:185–194.
- Schwarze, J.E. & Mattheck, C. 2000 Fungal strategies of wood decay in trees. Berlin, Heidelberg, Springer.
- Schoch, C.L.; Seifert, K.A.; Huhndorf, S.; Robert, V.; Spouge, J.L.; Levesque, C. A.; Chen, W. & Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** **109**: 6241-6246.
- Van Dyk, J.S.; Gama, R.; Morrison, D.; Swart, S.& Pletschke, B.I. 2013. Food processing waste: Problems, current management and prospects for utilisation of the lignocellulose component through enzyme synergistic degradation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** **26**: 521–531.
- Wilson J.B. 1991. Methods for fitting dominance/diversity curves. *Journal of Vegetation Science* **2**: 35-46. Wooley, J.C.; Godzik, A. & Friedberg, I. 2010. A Primer on Metagenomics. **PLoS Computational Biology** **6(2)**: e1000667.

Zhou, S. & Ingram, L. O. 2000. Synergistic hydrolysis of carboxymethyl cellulose and acid-swollen cellulose by two endoglucanases (CelZ and CelY) from *Erwinia chry-santhemi*. **Journal of Bacteriology****182**: 5676-5682.

# Importância das árvores em espaços urbanizados

## Demóstenes Ferreira da Silva Filho

Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil.  
dfilho@usp.br

### Introdução

A floresta urbana é definida por Moll (1995) como toda cobertura arbórea arbustiva contida dentro do perímetro urbano das cidades e próximas das aglomerações urbanas. Tal definição abrange as árvores e arbustos contidos no tecido urbano, em especial as árvores que acompanham as ruas e avenidas das cidades. A arborização destas vias constitui um dos maiores desafios para silvicultores urbanos e demais gestores da cidade.

As ruas e avenidas possuem características que dificultam o estabelecimento do sistema florestal da cidade. Os técnicos responsáveis pelo estabelecimento da floresta urbana, devem elaborar políticas públicas, normativas e conhecer quantitativamente as características do espaço urbano para poderem desenhar e estabelecer a mais eficiente cobertura arbórea para as cidades.

O espaço viário é por excelência o local de fluxo de pessoas e toda sorte de produtos e serviços associados à comunidade urbana, é a verdadeira cidade viva e geradora de fluxos dentro do ecossistema urbano. Tais fluxos são próprios e diferentes dos padrões naturais. São mais rápidos, veículos motorizados circulam em grande quantidade, mobilizam grande quantidade de energia, insumos e geram uma quantidade enorme de resíduos sólidos, líquidos, gasosos e sonoros.

Outra característica do espaço viário é a intensa impermeabilização do solo constituindo-se em superfícies feitas pelo homem como asfalto, calçadas de diversos tipos de pavimento. Os lotes, oriundos do parcelamento do solo das cidades também são

impermeabilizados em casas uni - familiares, prédios de moradia, galpões de fabricas, mercados e prédios públicos e empresariais.

Além disso, existem áreas abertas para circulação do ar e atividades de lazer interligadas por vias públicas. Estas áreas são muito importantes para a qualidade de vida da comunidade urbana, porém geralmente são escassas, mal distribuídas no tecido urbano e muitas vezes degradadas pela manutenção deficiente das administrações públicas e pouco ocupadas pela população, atraída pelas praças de mercado e lazer fechadas, os “shopping centers”.

O sistema viário é geralmente impermeável e, portanto o solo é compactado, sua função é a circulação de pessoas e demais veículos, porém é o espaço aberto que está presente em toda a cidade, possui distribuição uniforme e por esta razão constitui a melhor oportunidade para estabelecimento de uma eficaz floresta urbana.

Este texto objetiva explicitar métodos para quantificar os espaços potencialmente arborizáveis e planejar a implantação de floresta urbana, a arborização urbana com ênfase na arborização viária.

### Importância das árvores no tecido urbano

Qual o motivo para querer planejar um sistema eficiente de verde urbano? Onde se quer chegar com isso? Qual o custo/benefício desta iniciativa? Como será feito esse planejamento?

Todas essas perguntas devem ser feitas e o planejamento deve responder todas elas.

### Qual o motivo para querer planejar um sistema eficiente de verde urbano?

O motivo para implantar um sistema de verde urbano baseado no estabelecimento de árvores bem distribuídas no tecido urbano está calcado nos benefícios das árvores para o ecossistema urbano e nas necessidades humanas para obter qualidade de vida.

Tal qualidade passa pelo conforto higrotérmico e psicológico, ou seja, o ambiente urbano deve possibilitar o estar, ir e vir das pessoas sem causar prejuízos para o bem estar fisiológico humano.

Os raios solares atingem as superfícies urbanas. Tais superfícies ao receberem esta radiação absorvem, refletem e irradiam esta energia na forma de calor e trocam esse calor com o ar circundante esquentando e reduzindo a umidade do ar adjacente ao solo. Ao longo do dia materiais com diferentes calores específicos vão transmitir calor por convecção em intensidades diferentes e possibilitar distintas temperaturas do ar na cidade com algumas áreas mais quentes do que outras.

Por exemplo, o asfalto possui cor negra e absorve muita radiação, transmitindo radiação em ondas longas para objetos e pessoas próximos, troca calor com o ar por convecção esquentando a camada atmosférica superficial que chega a ter durante o verão temperatura acima de 35°C e a umidade relativa abaixa também causando intenso desconforto para as pessoas que estão passando a pé ou em veículos motorizados.

O próprio asfalto volatiliza seus componentes mais rapidamente e devido a elevada amplitude térmica acaba degradando mais rapidamente. Assim os gastos públicos com saúde da população e manutenção de buracos no asfalto são elevados, a figura 1 mostra o experimento conduzido em Rio Claro com câmera termal que ilustra a temperatura do asfalto ao meio dia.

As copas das árvores são como caixas de água. Além de proporcionarem sombra evitando que o asfalto e demais superfícies “esquentem”, estão, por meio da transpiração, liberando água para o ar e auxiliando na manutenção da umidade relativa e temperatura dentro da zona de conforto humano. Portanto, uma cobertura asfáltica de via pública todo coberto por copas de árvores vai proporcionar maior conforto e diminuir demanda de energia e insumos que poderão ser traduzidos em redução do consumo de água pela população, diminuição da necessidade de instalação e uso de condicionadores de ar e diminuição das rachaduras em pisos e buracos no asfalto.

Além disso, as árvores auxiliam na amenização de danos causados por excessos de chuvas como as enchentes nas cidades. Isso é proporcionado pela interceptação da água de chuva pelas copas das árvores.

Muitas vezes percebemos que quando a chuva começa e o piso das ruas já está todo molhado e escorrendo água, já embaixo das árvores, nas calçadas ainda está seco ou apenas com poucos respingos de água. As superfícies das folhas, frutos, galhos e demais



Figura 1. Imagem fotográfica comum (esquerda) e termal (direita) de via pública ao meio dia na cidade de Rio Claro, SP. A barra de temperatura na direita mostra valores em graus Celsius.



estruturas aéreas das árvores retém parte da água da chuva em quantidades razoáveis que podem chegar até 70% do volume de água que cai sobre a árvore (Xiao e McPherson, 2003), porém as estimativas são em média de 19%. Mesmo assim, reter 19% da água da chuva e principalmente reter um grande volume nos primeiros minutos quando, geralmente, as intensidades de precipitação são maiores, é fundamental para o equilíbrio hidrológico urbano e controle do escoamento superficial nas cidades. Então quanto maior for a cobertura de copa de árvores na cidade e melhor for sua distribuição, menores problemas com enchentes nas cidades as populações urbanas poderão ter. Em cidades bem arborizadas foi estimado que a redução total do escoamento superficial chegou a 6%.

**Eis então, um bom motivo, uma boa explicação para arborizar as cidades. A saúde da população será melhorada, os custos públicos poderão diminuir e, além disso, a cidade vai ficar mais bonita.**

A beleza é um fator psicológico. A beleza desperta a atenção espontânea e segundo pesquisadores a atenção espontânea abaixa a tensão nervosa permitindo recompor a função cerebral mais rapidamente de eventos estressantes. Essa beleza não é só visual é sonora também. As árvores proporcionam abrigo e alimentação para um grande número de seres vivos. Insetos, ácaros, líquens, pássaros e muitos outros seres que habitam as copas das árvores nas cidades enriquecendo o ecossistema urbano e produzindo sons da natureza como o canto dos pássaros. Esses sons também proporcionam a chamada atenção espontânea redutora de pressão arterial em eventos estressantes.

A vegetação nas cidades pode, dependendo da composição e largura do conjunto de árvores e arbustos, reduzir ruídos de trânsito e demais fontes de poluição sonora em até dez decibéis. Isto se deve ao fato de que as folhas, galhos, caules e demais estruturas aéreas absorvem as ondas sonoras e também refratam e diluem sua propagação no ar. Desse modo avenidas com canteiros centrais largos e cercadas por canteiros, arborizados e ajardinados com espécies arbustivas de densa galhada exercem importante função de eliminação de danos à saúde causados pela poluição sonora.

Outra poluição muito comum e sentida nas grandes cidades e em cidades onde ocorre queima de biomassa com a cana-de-açúcar é a poluição do ar. Tal poluição deve ser minimizada pela redução de emissões, porém as árvores podem exercer efeito de filtro de poluentes do ar que atravessa suas copas, pois é na superfície úmida das folhas que as pequenas partículas de poluentes ficam aderidas. Na Alemanha, segundo pesquisas, maciços arbóreos em parques na cidade podem filtrar até 80,25% das poeiras e partículas que são depositadas na cidade.

Desse modo, as vantagens da presença da floresta urbana devem ser objetivos do planejamento.

### **Aonde queremos chegar?**

Queremos chegar à máxima cobertura de copa possível para cada cidade planejada. Assim teremos o máximo de retorno da floresta urbana em proporcionar conforto, economia e equilíbrio para o ecossistema urbano.

### **Custo benefício**

Qual o custo benefício de plantar árvores na cidade?

Publicação do Serviço Florestal Norte Americano indicou que uma única árvore frondosa possui o efeito refrescante equivalente a 4 aparelhos de ar-condicionado ligados durante 20 horas. Outra pesquisa norte-americana obteve dados que possibilitaram estimar uma economia de manutenção viária de aproximadamente R\$ 15,00 por metro quadrado de asfalto em trinta anos.

Portanto os benefícios podem ser quantificados em valores monetários para que se possa comparar com outros serviços públicos. Uma árvore frondosa como uma Sibipiruna (*Caesalpinia pluviosa* Dc) adulta cobre uma superfície de aproximadamente 120 metros quadrados, transfere cerca de 400 litros de água por dia para o ar resfriando seu entorno, influenciando o microclima em aproximadamente o dobro da área de cobertura. O espaço viário abrange aproximadamente 20% do tecido urbano. Quando cobrimos este sistema com copas de árvores estamos levando esse condicionador de ar para toda cidade e

proporcionando conforto e economia para todos em área equivalente a 40% da área da cidade.

Podemos concluir que:

**- Implantar florestas urbanas deveria ser um objetivo estratégico para o Brasil.**

Imaginando uma cidade com 90 km<sup>2</sup> de tecido urbano, equivalente a uma cidade com 300 mil habitantes. Teríamos então, 18 km<sup>2</sup> de viário com aproximadamente 2/3 de asfalto, ou seja, 12 km<sup>2</sup>, o restante seria de calçadas. Multiplicando por quinze reais por metro quadrado de economia com manutenção (em trinta anos) devido a cobertura arbórea tem-se uma economia de R\$ 6.000.000 por ano. Nada mal para uma administração municipal poder economizar até 58% dos gastos com manutenção do asfalto.

Existem outros benefícios que necessitam de mais e mais pesquisas para melhor quantificação, porém pode-se ver que o serviço da floresta urbana é tão importante quanto outros serviços públicos como água, luz, transportes, etc.

**Problemas com infra-estruturas urbanas**

As cidades, ao longo da história foram sendo modificadas para prover mais serviços e conforto para seus habitantes, porém seus espaços ao receberem equipamentos novos foram transformados e muitas vezes reduzidos e o verde urbano acabou também sofrendo com esses avanços. Um exemplo é a fiação elétrica que inundou as cidades de postes e fios e tomou conta do espaço aéreo do sistema viário público e passou a concorrer com a copa das árvores pelo seu uso. Além disso, existem novos sistemas associados a rede aérea como telefonia e redes de cabo de informação e também redes subterrâneas tubos de drenagem e fornecimento de água que estão em conflito com raízes das árvores. Ainda existem equipamentos de controle de trânsito e sinalização como postes de semáforos, placas e radares fotográficos. No Brasil, com a estabilização da moeda, proporcionada pelo plano real, ocorreu um aumento da quantidade de veículos tendo como consequência a necessidade de maiores e largas garagens com guias rebaixadas. Essa prática elimina áreas potencialmente arborizáveis do espaço viário e a impossibilidade do chamado ritmo na arborização, pois existirá uma

descontinuidade nos locais arborizáveis (MILANO e DALCIN, 2000).

Todos esses conflitos criam dificuldades para o estabelecimento de uma efetiva cobertura arbórea e exercem pressões sob as árvores existentes.

**Como resolver essas questões?**

As prefeituras e a população não podem mais negligenciar a arborização de vias públicas e espaços livres de edificação em pró de outros equipamentos urbanos. Isto tem sido feito ao longo das últimas décadas e o resultado são cidades pobres em cobertura arbórea e uma população que geralmente não acredita nas vantagens de ter uma árvore de médio ou grande porte próxima de sua residência, preferindo plantar um arbusto no lugar.

O custo benefício de um arbusto deve ser comparado com o benefício de árvores maiores. A manutenção dos arbustos é mais cara, pois necessita de mais condução no local definitivo, devido a necessidade de liberação de espaço lateral para circulação de pedestres e veículos. Já as árvores não necessitam de tal condução. Com arbustos os benefícios já citados diminuem cerca de 80%. Mesmo que exista diversidade no plantio de arbustos e que ainda sejam espécies bem adaptadas, nativas e com efeito plástico significativo, não devem ser utilizadas para substituir árvores de médio e grande porte. Este pode ser entendido como um serviço negativo do ponto de vista do planejamento urbano, pois não atingirá os objetivos já explicitados aqui.

Ainda assim muitas prefeituras aderem a programas patrocinados por companhias de energia elétrica que doam mudas de arbustos para arborização sob a rede com intuito de reduzir futuros problemas com sua manutenção. Este é um problema atual da arborização urbana brasileira e a solução de “arbustizar” as cidades trouxeram poucos benefícios para a qualidade de vida da população e empobreceu a floresta urbana de seu maior trunfo, a cobertura de copa arbórea.

As administrações municipais podem elaborar normativas para limitar o espaço de guia rebaixada para entrada em garagens em toda a cidade. Além disso, existem os demais equipamentos urbanos como as diversas fiações das redes aéreas e as redes

subterrâneas que podem ser localizadas e serem constituídas com materiais de maneira a possibilitar o uso de espécies de grande e médio porte. Tal medida vai propiciar uma cobertura arbórea máxima para as vias públicas e o estabelecimento do novo sistema urbano, a floresta urbana.

Um exemplo de adaptação de equipamento para diminuir as podas e aumentar a área de cobertura é o rebaixamento da iluminação pública com duas fontes de luz abaixo das copas das árvores e ao longo da linha da calçada. Isso foi feito em toda a cidade de Maringá-PR, na década de 90. Ainda na mesma cidade toda a área urbana teve sua fiação primária (alta tensão) substituída por rede compacta que possibilita o plantio de espécies de grande porte sob a rede e a diminuição das podas drásticas nas árvores adultas. Claro que isso teve um custo, porém foi pago pela diminuição dos custos com manutenção da rede e das árvores que passaram a ter menor necessidade de podas.

Quanto às tubulações, estas podem ser implantadas além de 1,50 m de profundidade. Com essa prática será muito reduzida a chance de raízes atingirem e estragarem os dutos de fornecimento de água e esgotamento sanitário.

Para a gestão da arborização existente de uma cidade é preciso ter bom senso de que transformações estruturais de grande monta, como a mudança de redes subterrâneas podem ser feitas, porém não devem inviabilizar projetos e arborizações de curto e médio prazo. Assim, deve-se conhecer cada local e suas restrições para ter sucesso na arborização.

É necessário educar no sentido da transformação do comportamento da sociedade para que mitos sobre arborização viária possam ser vencidos e a população possa estar mais integrada com os melhores ideais urbanísticos, pois afinal o urbano bem cuidado, sadio e de alta qualidade é o lugar de uma comunidade ambientalmente educada e participativa, a verdadeira cidade.

### **Condicionantes do Planejamento**

Chama-se planejamento o nome dado para a atividade formal de identificar atores sociais e meios em

processos e tempo, necessários ao alcance de objetivos pré-definidos. É a produção de um documento escrito, o plano, contendo respostas a questões como o que?, onde?, quando?, como? e quem?. O planejamento trata de ações futuras, definidas, identificadas e com os atores nomeados no plano (Milano, 1987).

Segundo Milano e Dalcin (2000), existe uma pré-condição fundamental a um planejamento adequado, independentemente do setor a que se esteja aplicando o processo, deve-se ter claramente identificados e definidos os objetivos que se pretendem alcançar, se possível com a identificação de metas qualitativas e quantitativas. Acima de tudo, deve-se ter claro que o plano não se encerra nele próprio, mas que é, apenas e tão somente, o mecanismo utilizado para o alcance de objetivos superiores. Embora pareça óbvia, essa é uma questão relevante, principalmente quando é comum a contratação de serviços técnicos especializados para a elaboração de “planos”. Nesse sentido, ainda, não é supérfluo recomendar que os processos de planejamento sejam conduzidos prioritariamente pelos próprios executores, mesmo que com alguma consultoria externa. Isto se deve ao maior conhecimento estrutural e conjuntural e comprometimento com a questão do planejamento, a arborização do município.

Para os mesmos autores, o processo de planejamento é dinâmico. Isso significa que necessita ser constantemente atualizado para poder incluir as constantes mudanças das áreas urbanas. Portanto, envolve a sistemática avaliação e análise dos resultados para melhoria em relação aos objetivos formalizados. Tais mudanças nos sistemas de transportes, comunicação, segurança e transmissão e distribuição de energia podem destinar um maior ou menor espaço para arborização e novas tecnologias podem aparecer modificando todo o cenário.

É importantíssimo que o planejamento da arborização seja dinâmico para acompanhar esse processo no sentido amplo, ou seja, entre muitos aspectos, em caso de terceirização de serviços, definir e exigir índices de eficiência e eficácia mínimos, assegurar aos terceirizados acesso às informações e capacitação necessárias, assim como atingir o necessário patamar de qualificação para poder monitorar e fiscalizar os processos em curso (MILANO e DALCIN, 2000)

Sem um plano a seguir o processo de

arborização e manejo da floresta urbana seguirá procedimentos pontuais sem levar em consideração a estrutura que se quer atingir. Com a ausência de metas e procedimentos de monitoramento e avaliação não será possível obter os benefícios do conjunto das árvores no ecossistema urbano, a floresta urbana.

### Referências Bibliográficas

Milano, M.S. Planejamento e replanejamento de arborização de ruas. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE ARBORIZAÇÃO URBANA, 2. **Anais**, Maringá, 1987. p. 1-8.

Milano, M.S. Arborização urbana no Brasil: mitos e realidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARBORIZAÇÃO URBANA, 3 . **Anais**, Salvador, 1996. p.1-11

Milano, M.S. & Dalcin, E.C. **Arborização de vias públicas**. Rio de Janeiro, RJ: Light, 2000. 226p.

Moll, G. Urban Forestry: A National Initiative. In: Bradley, G.A., (Ed.) **Urban Forest Landscapes: integrating multidisciplinary perspectives. Seattle and London**: University of Washington Press, 1995. p. 12-16.

Xiao, Q.; McPherson, E.G. Rainfall interception by Santa Monica's municipal urban forest. **Urban Ecosystems**, Davis, v.6, p.291-302, 2003.

# INCT-Herbário Virtual da Flora e dos Fungos: há cinco anos aprimorando o trabalho em rede e incrementando o conhecimento sobre a diversidade brasileira

**Leonor Costa Maia<sup>1,8</sup>, Maria Regina de V. Barbosa<sup>2</sup>, Dora Canhos<sup>3</sup>, Ana Odete Vieira<sup>4</sup>, Mariângela Menezes<sup>5</sup>, Kátia Pôrto<sup>1</sup>, João Renato Stehmann<sup>6</sup> & Ariane Luna Peixoto<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil.

<sup>3</sup> Centro de Referência em Informação Ambiental, Campinas, SP, Brasil.

<sup>4</sup> Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil.

<sup>5</sup> Museu Nacional / Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>6</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>7</sup> Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>8</sup> Autor para correspondência: leonorcmaia@yahoo.com.br

Na tentativa de listar os usos para um herbário, Funk (2004) chegou a mencionar 72, mas advertiu que essa lista pode facilmente alcançar uma centena. Entre as múltiplas utilidades, um herbário mantém, primordialmente, amostras da diversidade de espécies de plantas e fungos de um país constituindo-se em inestimável repositório do patrimônio genético nacional. Entretanto, um herbário só se sustenta e cresce por ação conjunta de pesquisadores e seus alunos e de técnicos que se dedicam a estudar as plantas e os fungos e que acreditam na importância da preservação dos exemplares como documento essencial da biodiversidade do país. No Brasil, país megadiverso, a responsabilidade de documentar a biodiversidade em coleções, estudar as espécies e preservá-las é um dos maiores desafios não apenas para os cientistas e o governo, como para toda a

sociedade (Peixoto *et al.*, 2009).

Ao contrário do que está acontecendo em muitos países, onde a quantidade de taxonomistas está diminuindo (Costello *et al.* 2013), no Brasil estamos vivendo um momento de grande efervescência, com estímulo à formação de taxonomistas, a estudos florísticos e a inventários da biodiversidade, com fomento específico para tais atividades e também para as coleções científicas. Nesse contexto favorável, a comunidade científica tem respondido com extremo interesse, sendo cada vez maior o número de pesquisadores e alunos dedicados à taxonomia e à preservação/ documentação dos exemplares estudados, qualificando cada vez mais as coleções dos herbários brasileiros. Com isso, não só o número de herbários tem aumentado, registrando-se pelo menos



um em cada Estado da federação, como o de espécimes depositados, com diversidade de coleções em cada herbário (xilotecas, carpotecas, dentre outras).

Vislumbrando esse panorama favorável, vários pesquisadores se juntaram para colocar em ação, planos há décadas discutidos pela Sociedade Botânica do Brasil no que diz respeito a: estudos taxonômicos, melhoria das coleções de herbário e capacitação de recursos humanos para a lida com a Flora do Brasil, seguindo de perto as Diretrizes e Estratégias elaboradas pelo Programa de Pesquisa em Biodiversidade do MCTI (Egler & Santos 2006). Como resultado, foi elaborado um projeto audacioso visando reunir e disponibilizar, on-line, os dados contidos nas etiquetas dos espécimes de plantas e fungos do conjunto de herbários do país, que concorreu ao edital do CNPq / MCTI para criação de Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia. E assim foi concebido, há cinco anos, o INCT-Herbário Virtual da Flora e dos Fungos do Brasil (INCT-HVFF). Com sede na Universidade Federal de Pernambuco e tendo como instituições associadas o Instituto de Botânica de São Paulo, o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, o Jardim Botânico do Rio de Janeiro, o Museu Nacional, a Universidade Federal da Paraíba, a Universidade Estadual de Feira de Santana e o Centro de Referência em Informação Ambiental, além de diversas instituições colaboradoras e do apoio de parceiros do exterior, o projeto reunia, no início de 2009, 25 herbários do país. Logo outros se somaram e hoje já participam da rede INCT-HVFF mais de 85 herbários (Fig. 1), incluindo cinco do exterior.

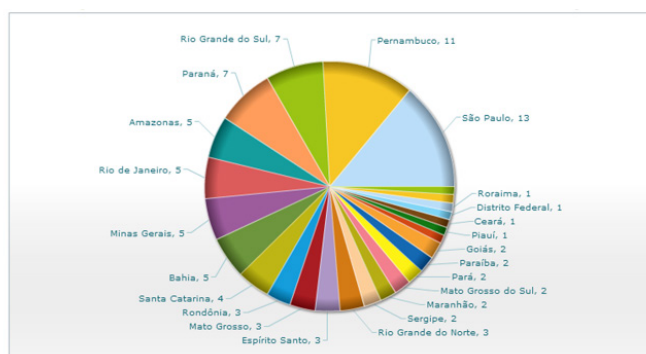


Figura 1. Número de herbários participantes da rede INCT-HVFF, por Estado

O INCT-HVFF apresenta quatro linhas prioritárias de ação: pesquisa; educação e divulgação da ciência; transferência de conhecimento e tecnologia; e formação de recursos humanos. Na Pesquisa estão incluídos: a articulação com os

herbários e a definição de ações coordenadas para o desenvolvimento de infraestrutura eletrônica de dados de acesso livre e aberto; o próprio desenvolvimento do INCT-HVFF; o estudo, a identificação e a revisão de material herborizado como elemento chave para pesquisas em taxonomia e melhoria da qualidade dos dados; o desenvolvimento de ferramentas e aplicativos para monitorar o andamento do projeto e facilitar a recuperação, visualização e uso dos dados on-line. A linha de Educação e Divulgação da Ciência engloba a elaboração de textos para divulgação em diferentes veículos, a elaboração de manuais, a confecção de vídeos, a criação e manutenção do website e a participação em eventos científicos, feiras de ciência, e outros. A Transferência de Conhecimento e Tecnologia compreende o compartilhamento da experiência para integrar as coleções participantes do INCT-HVFF, a estratégia de integração dos dados textuais com imagens das amostras e ferramentas e aplicativos que facilitam o processo de correção de erros de digitação, para a identificação de lacunas de dados e conhecimento e seu uso para modelagem de nicho ecológico das espécies. Na Formação de Recursos Humanos são oferecidos cursos e oficinas em taxonomia e curadoria de coleções, treinamentos específicos em informática para biodiversidade, oferecidos diretamente pelo INCT-HVFF ou em articulação com programas de pós-graduação, e a orientação de alunos de graduação e pós-graduação e de técnicos de herbários pelos diversos pesquisadores participantes da rede.

A gestão do INCT-HVFF é colegiada, com o Comitê Gestor constituído por membros de seis instituições associadas (UFPE, UFPB, JBRJ, MN/UFRJ, UFMG e UEL) e Coordenadores das áreas de Taxonomia de Fanerógamas, Taxonomia de Criptógamas, Formação de Recursos Humanos, Articulação dos Herbários, Pesquisa de Produtos e Sistemas de Informação Online. A base de ação desse comitê e dos coordenadores foi estruturada nas atividades e metas definidas na proposta original quando da criação do INCT. Vários indicadores e aplicativos (quantitativos e qualitativos) foram desenvolvidos para viabilizar o acompanhamento e a avaliação online dos trabalhos realizados. Nesse sentido, destaca-se o foco inovador do projeto, relacionado à disponibilização, on-line, de forma livre e aberta, de dados e imagens dos acervos de mais de 75% dos herbários brasileiros ativos de forma conjunta (<http://inct.splink.org.br>).

Além desse trabalho, o INCT-HVFF, no âmbito

do Reflora, está promovendo o repatriamento de dados e imagens de exemplares coletados no Brasil e depositados em herbários do exterior (F, MNHN, MOBOT, NMNH, NYBG). Estes dados complementam aqueles disponibilizados pelos herbários brasileiros, favorecendo de maneira significativa a elaboração e atualização da Lista de Espécies da Flora do Brasil (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/PrincipalUC.do?lingua=pt>), com dados sobre a distribuição de espécies e imagens de amostras (vouchers) de referência.

Em relação às metas, o INCT-HVFF suplantou a maioria inicialmente estabelecida, e continua promovendo avanços relevantes. Assim, a meta inicial, de aumentar para 50 o número de herbários participantes da rede foi ampliada para 85 herbários brasileiros e de cinco para oito herbários estrangeiros; hoje, quase 90 herbários já participam da rede. A meta de ter 2.800.000 registros disponibilizados online foi redimensionada para 3.600.000 ao final de 2013.

Atualmente essa meta foi suplantada, estando já disponíveis mais de 4.200.000 registros (Fig. 2), superando também a meta de 300 mil novos registros online/ano, e hoje esse número chega quase a 500 mil/ano. Cerca de 82% dos herbários atualizaram os seus dados nos últimos 6 meses; 8% entre 6 meses e um ano; 9,5% há mais de um ano. Isso representa no último ano um índice de atualização maior que 90%.

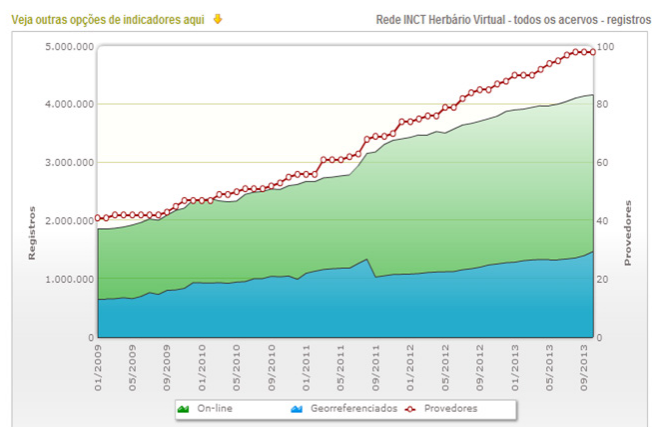


Figura 2. Evolução do número de registros disponíveis, e de provedores, no INCT-HVFF

Em relação ao índice de informatização, 39% das coleções disponibilizam 100% dos dados de seus acervos online e 13% têm mais de 80% dos dados informatizados e disponíveis online. Ou seja, mais da metade das coleções já superou a meta de

80% dos dados informatizados e disponíveis on-line. Considerando-se o total dos acervos, o índice de informatização do INCT-HVFF passa de 67% (<http://splink.cria.org.br/manager>).

Também como elemento inovador, esse conjunto de dados agora disponível vem sendo analisado e utilizado graças ao desenvolvimento de novos aplicativos e serviços, entre os quais se destacam:

**Interface de busca, recuperação e visualização** - permite ao usuário produzir inventários, gráficos e mapas de forma dinâmica e on-line com os dados resultantes de sua busca. Permite também comparar imagens e baixar (*download*) todos os dados de seu interesse de forma livre e aberta.

**Comentários** - ferramenta que faculta o envio de comentários sobre a ficha online do espécime, diretamente do usuário ao responsável pelo acervo. O comentário fica associado à ficha, é visível on-line para outros usuários e tem resultado na melhoria da qualidade dos dados.

**Indicadores** - servindo para acompanhamento e avaliação de cada uma das coleções integrantes do INCT-HVFF e da rede como um todo (<http://splink.cria.org.br/indicators>).

**Datacleaning** - ferramenta que indica inconsistência de informações nos registros de cada herbário, auxiliando na correção e aumento da qualidade dos dados nos bancos dos acervos (<http://splink.cria.org.br/dc>).

**Estatísticas de acesso ao INCT-HVFF** - para acompanhar a evolução do uso do sistema por terceiros (<http://www.splink.org.br/stats>).

**Exsiccatae** - ferramenta para disponibilização de imagens associadas a exemplares registrados nos herbários, trazendo novas possibilidades para inovação em estudos taxonômicos (e-taxonomy ou cybertaxonomy) e a implementação de novas estratégias de identificação de material em herbários brasileiros. Esse serviço é um produto específico do projeto “Ampliação, Integração e Disseminação Digital de Dados Repatriados da Flora Brasileira” no Programa Reflora, coordenado pelo INCT-HVFF, com apoio do CNPq. Com 16 mil imagens, essa ferramenta foi lançada em 12 de agosto de 2011, durante o 62º Congresso Nacional de Botânica, integrado à interface de busca do INCT-HVFF. Hoje, o sistema (Fig. 3) disponibiliza

mais de 220 mil imagens de plantas vivas, exsicatas de plantas e fungos, esporos e grãos de pólen (<http://reflora.cria.org.br/admin>).

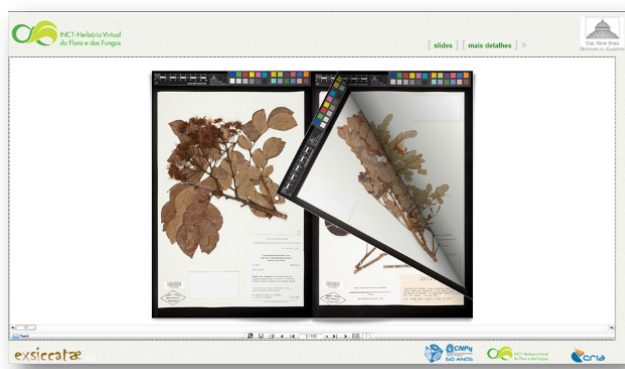


Figura 3. Imagens mostradas no sistema Exsicatae

**Biogeo** - visa expandir o conhecimento sobre a biogeografia de cada espécie da Flora do Brasil por meio de dados de ocorrência disponíveis em exemplares documentados em herbários. Conta com a participação ativa de especialistas, que têm à disposição os dados do INCT-HVFF e algoritmos para modelagem de nicho ecológico das espécies. O sistema abre a perspectiva de construção, pela comunidade botânica, de um banco de dados que no futuro poderá conter pelo menos um modelo de distribuição potencial para cada espécie, partindo-se de uma seleção rigorosa de registros de ocorrência, com o controle de especialistas (<http://biogeo.inct.florabrasil.net>).

**Lacunas** - sistema que permite ao especialista avaliar o status dos dados das espécies de plantas e fungos da flora e da micota do Brasil, indicando lacunas de dados que podem existir, mas não estão online, ou de conhecimento, tais como: espécies pouco estudadas, áreas geográficas pouco ou não visitadas e com poucos exemplares depositados em coleções ou mesmo sem documentação em coleções, ausência de especialista em grupos específicos, dentre outros (Canhos *et al.* Ined.). Também são detectadas as famílias botânicas com mais problemas de identificação, o que é considerado, no conceito do Global Taxonomy Initiative (GTI), um impedimento taxonômico, ou seja, um gargalo na oferta de dados ao público (<http://lacunas.inct.florabrasil.net>).

A identificação de lacunas de conhecimento taxonômico e de coletas levou à ampliação da proposta do INCT-HVFF, pelo projeto Sisbiota, que visa o desenvolvimento de pesquisas taxonômicas em

plantas e fungos e em grupos menos estudados. O desenvolvimento do projeto já permitiu a descoberta de 72 espécies novas para a ciência e de mais de 600 novos registros de ocorrência para regiões ou Estados do país.

A estratégia para ampliar o conhecimento sobre grupos pouco estudados foi iniciada com o desenvolvimento de indicadores para o conjunto dos herbários do INCT-HVFF e com a nova interface de busca, capaz de recuperar campos em branco. Desta forma, foi possível elaborar uma listagem de famílias botânicas, segundo a Lista da Flora do Brasil, com o respectivo número de amostras não identificadas por herbário. Com essa informação, os especialistas podem elencar herbários a serem visitados ou materiais a serem solicitados para estudo. O comitê gestor do INCT é o responsável pelos contatos com os especialistas, que são convidados a participar do programa de visitas para identificação destes espécimes, correção e atualização de nomes. Um segundo passo foi o desenvolvimento do aplicativo que apresenta o status dos dados disponíveis de cada espécie e seus sinônimos no Herbário Virtual e na Lista de Espécies da Flora do Brasil. Através desse aplicativo, especialistas têm acesso à lista das espécies sem qualquer registro ou com poucos registros disponíveis na rede.

As principais estratégias para incrementar estudos taxonômicos de grupos pouco estudados incluem: a formação de taxonomistas em grupos com número reduzido de especialistas; o oferecimento de cursos voltados a esses grupos; a disponibilização na página do INCT-HVFF e o envio de informações do *Lacunus* sobre grupos pouco representados nos herbários para cursos de pós-graduação em Botânica e para taxonomistas que orientam estudantes de graduação e de pós-graduação. Como resultado, participantes da rede orientaram inúmeros trabalhos de conclusão de cursos de graduação e de pós-graduação, estimularam discussões e ministraram cursos durante reuniões científicas. Além disso, vem sendo incentivada, por meio de workshops, a interação entre grupos de pesquisa em taxonomia, a exemplo da reunião realizada em 2011, em Campina Grande, Paraíba, que visou agregar os novos taxonomistas do Nordeste.

As visitas de especialistas para identificação de espécimes dos acervos foram ampliadas para no mínimo 12 por ano. Essas visitas são organizadas



visando trabalhar principalmente nas famílias com maior número de espécimes indeterminados nos acervos dos herbários, mas outras igualmente importantes também têm sido contempladas. Até o momento foram promovidas visitas de 71 especialistas, atendendo mais de 120 coleções, algumas das quais em mais de uma ocasião (Fig. 4-10). Nessas visitas, um volume de cerca de 42.000 espécimes de mais de 120 famílias de plantas e fungos foram examinados.



Figura 4. Dr. Benjamin Oellgaard (Universidade de Aarhus, Dinamarca) e alunos, durante curso e visita (JBRJ e Museu Nacional) promovidos pelo INCT-HVFF.

O INCT-HVFF também tem contribuído para a articulação entre programas de Pós-Graduação, financiando a visita de pesquisadores e oferecendo cursos de taxonomia. No total, já foram oferecidos 44 cursos, atendendo mais de 750 alunos, curadores e técnicos de herbário, melhorando consequentemente a capacitação e a contribuição que essas pessoas dão às coleções.



Figura 5. Profs. Maria Regina Barbosa (UFPB) e Marcus Alves (UFPE) com alunos em curso promovido pelo PPG-Biologia Vegetal/UFPE, com apoio da UFS e do INCT-HVFF.

Uma atividade importante do INCT-HVFF é o apoio dado para melhoria dos herbários participantes em termos de infraestrutura (equipamentos de

informática) e de recursos humanos (bolsistas) para colocar os dados da coleção online. Para resolver problemas mais específicos relativos à informatização e à qualidade dos dados são promovidas visitas técnicas e consultas on-line. No entanto, dificuldades técnicas ainda permanecem principalmente na região Norte, onde a internet continua sendo um gargalo, dificultando o andamento de projetos científicos e, em alguns casos, impedindo o envio de dados on-line para o sistema *speciesLink*.



Figura 6. Participantes do curso para curadores e técnicos de herbário ministrado por Alexandre Marino e Gracialda Ferreira e promovido pelo INCT-HVFF durante o 60º Congresso Nacional de Botânica, em Feira de Santana (2009).

Os avanços alcançados e os aplicativos implementados pelo INCT-HVFF colocaram em prática o uso da tecnologia para a gestão das coleções, auxiliando ao avanço de conhecimento nos estudos botânicos no Brasil. Isso se traduz pela capacitação de recursos humanos em taxonomia e no manejo e curadoria de coleções biológicas e pela promoção de intercâmbio internacional e incremento em pesquisas botânicas e micológicas. Além disso, também propicia o resgate histórico de coleções, o que reflete principalmente na descoberta de novas espécies, no registro de novas ocorrências para muitos táxons e na caracterização muito mais acurada dos táxons, colaborando para aumento do conhecimento da biodiversidade global.



Figura 7. Profs. José Luis Bezerra (Cepiac) e Kevin Hyde (Univ. Mae Fah Luang) com alunos em curso promovido pelo PPG-Biologia de Fungos/UFPE, com apoio do INCT-HVFF.

O INCT-HVFF tem viabilizado e dinamizado o acesso a dados sobre material botânico brasileiro depositado nos diferentes acervos nacionais e estrangeiros de maneira irrefutável. A disponibilização dos dados em rede



Figura 8. Dr. Simon Mayo com a Dra. Cássia Mônica Sakuragui (UFRI) e alunos no JBRJ, onde desenvolveu pesquisas, ministrou um curso e proferiu palestras.



Figura 9. Drs. Leif Ryvardeen (Univ. de Oslo) e Tatiana Gibertoni (UFPE) com alunos em curso de campo promovido pelo INCT-HVFF, com apoio do INPA.



Figura 10. Visita do Dr. Massimo Bovini (JBRJ) a herbários do Paraná. Foto no herbário MBM, com os Drs. Osmar dos Santos Ribas e Gerdt G. Hatschbach.

maximiza o tempo do pesquisador na obtenção de informações sobre grupos taxonômicos a serem estudados, p.ex. localização dos acervos para visitas e intercâmbio, informações sobre as espécies e respectivas distribuições geográficas. Da mesma forma, a disponibilização de imagens oferece agilidade na visualização remota de espécimes vegetais, diminuindo as solicitações de empréstimos de material botânico, otimizando o tempo de estudo do pesquisador e tornando menores os riscos de dano ao material do acervo uma vez que o manuseio das exsicatas e o seu trânsito pelo correio postal é diminuído. São, em média, 10 milhões e 600 mil registros visualizados por mês pelo usuário, que consulta fichas de espécimes, gráficos, mapas, imagens e faz *download* dos dados. A transferência de conhecimento e tecnologia é ampliada uma vez que as ferramentas desenvolvidas no âmbito do INCT-HVFF também são utilizadas pelas coleções de animais e microrganismos integradas através da rede *speciesLink*, multiplicando o impacto do projeto e permitindo a ampliação do conhecimento sobre os diferentes grupos taxonômicos que compõem a biodiversidade brasileira.



Figura 11. Drs. Mariângela Menezes, João Renato Stehmann, Dora Canhos e Ana Maria Giulietti-Harley durante a reunião de avaliação dos INCTs, em Brasília, julho/2013.



No contexto internacional o INCT-HVFF atingiu patamares significativos tanto no reconhecimento e uso pelos taxonomistas de instituições do exterior como de qualidade no avanço da pesquisa em informática para biodiversidade vegetal. Como exemplo, este INCT viabilizou a disponibilização dos dados para testes do workflow para modelagem do nicho ecológico de espécies em nuvem no contexto do EUBrazilopenBio (<http://www.eubrazilopenbio.eu>), projeto colaborativo co-financiado pela Comissão Europeia e pelo MCTI-CNPq. O objetivo do projeto é implementar e-infraestrutura de acesso aberto a dados, visando atender às necessidades da comunidade científica no campo da biodiversidade. No âmbito do mesmo projeto, viabilizou a disponibilização dos dados da Lista de Espécies da Flora do Brasil para testar ferramentas de comparação de diferentes listas, avaliando a sua complementariedade com o Catálogo da Vida (Catalogue of Life). Sistemas integrados, interoperáveis, diferentes combinações de dados acessíveis via Internet, vem reduzindo o tempo e o espaço de compartilhamento e acesso a dados e informações, e estão induzindo novas formas de pesquisa colaborativa e de produção (Uhlir 2003), criando possibilidades antes impensadas e permitindo a ampliação de parcerias científicas entre pesquisadores do Brasil e de diferentes partes do mundo.

A inserção social do INCT-HVFF foi ampliada, pois além da comunidade científica, público leigo e tomadores de decisão podem obter informações que melhoram o entendimento de questões ligadas à preservação da biodiversidade e à manutenção do patrimônio biológico brasileiro representado nas coleções botânicas e micológicas. A quantidade de dados disponível já permite o uso das informações por diferentes segmentos da sociedade, inclusive para a definição de estratégias e políticas públicas. Uma atividade, no campo da inserção social e comunicação científica teve destaque no último ano: Foi estruturada, inaugurada e encontra-se em pleno funcionamento, na UFPE, uma sala para exposição dos serviços prestados pelo INCT-HVFF (Fig. 12-13), voltada a estudantes de ensino fundamental, médio e superior além de pesquisadores e do público em geral. A estruturação da sala de exposição, realizada com recursos do projeto Reflora, não era prevista na concepção inicial do INCT-HVFF, sendo incluída, como uma demanda que surgiu pela necessidade de melhor expor os avanços alcançados.



Figura 12. Entrada da Sala de Exposição Reflora/INCT-Herbário Virtual da Flora e dos Fungos.

Diferentes integrantes deste INCT têm participado de reuniões nacionais e internacionais, para divulgação do trabalho realizado. Além disso, o INCT-HVFF promoveu em setembro de 2012, a Conferência Internacional: o INCT Herbário Virtual da Flora e dos Fungos e e-infraestruturas para Biodiversidade, em Recife, Pernambuco, congregando mais de uma centena de especialistas e cerca de 80% dos curadores de herbários ligados à rede.



Figura 13. Aspecto da Sala de Exposição do Reflora/ INCT-Herbário Virtual da Flora e dos Fungos

Por entendermos que o INCT-HVFF é um projeto de longa duração, nossa meta é integrar os dados dos acervos de todos os herbários ativos no Brasil. Assim, a incorporação de novos acervos e a manutenção do Herbário Virtual é uma atividade contínua e rotineira. Para incrementar os trabalhos realizados, novos indicadores e ferramentas estão em permanente desenvolvimento. Em 2012 foi iniciado o processo de transferência dos sistemas públicos

de informação desenvolvidos e mantidos pelo CRIA ao IDC (Internet Data Center) da RNP, aumentando a segurança e acessibilidade dos dados.

O INCT-HVFF vem disponibilizando on-line, para a comunidade mundial, dados e informações sobre os acervos, permitindo avanços nos estudos da biodiversidade. Um diferencial do Instituto é a capacidade de agregar parceiros de várias dimensões, filiações institucionais e localidades geográficas, valorizando acervos fora dos grandes centros de pesquisa, que constituem hoje uma rede de herbários de ampla abrangência. A construção desse trabalho em rede tem servido como modelo para iniciativas em outros países em termos de valorização e integração de coleções biológicas. Redes similares de coleções botânicas e micológicas, com a mesma amplitude, não existem em outros países, o que torna o INCT-HVFF um projeto pioneiro e de extrema relevância para ampliação do conhecimento sobre a biodiversidade nacional.

#### Agradecimentos

A todos os participantes do INCT-Herbário Virtual, pela grande contribuição. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo financiamento.

#### Referências bibliográficas

- Braga-Neto, R. et al. 2013. **Herbário Virtual cria uma rede poderosa**. O Eco, 27/08/13. URL: <http://www.oeco.org.br/convidados/27519-herbario-virtual-cria-uma-rede-poderosa>
- Canhos, D.A.L.; Sousa-Baena, M.S.; Souza, S.; Garcia, L.C.; De Giovanni, R.; Maia, L.C. & Bonacelli, M.B. (Ined.) Lacunas: a web interface to identify plant knowledge gaps to support informed decision-making. Biodiversity and Conservation (in press).
- Costello, M.J.; Robert, M.M.; Nigel, E.S. 2013. Can we name earth's species before they go extinct? **Science** **339**: 413.
- Egler, I. & Santos, M.M. 2006. **Diretrizes e estratégias para a modernização das coleções biológicas brasileiras e a consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade**. Brasília, Ministério de Ciência e Tecnologia.
- Funk, V. 2004. **100 Uses for an Herbarium. Division of Botany**. New Haven, The Yale University Herbarium (disponível em: <http://www.peabody.yale.edu>)
- Maia, L.C et al. 2013. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Herbário Virtual da Flora e dos Fungos. Pp. 86-87. In: **INCTs Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia**, Brasília, CNPq ([http://estatico.cnpq.br/programas/inct/\\_apresentacao/docs/livro2013.pdf](http://estatico.cnpq.br/programas/inct/_apresentacao/docs/livro2013.pdf)).
- Peixoto, A.L.; Barbosa, M.R.V.; Canhos, D.A.L.; Maia, L.C. 2009. **Coleções Botânicas: Objetos e Dados Para a Ciência**. Pp. 10-22. In: Granato, M. & Rangel, M. (Org.). *Cultura material e patrimônio da Ciência e Tecnologia*. Rio de Janeiro, Museu da Astronomia e Ciências Afins, v. 1.
- Uhlir, P.F.E. 2003. **Discussion Framework. The role of scientific and technological data and information in the public domain**. Washington, DC, National Academies Press.

# Interações planta-animal na restauração florestal

Graziele Hernandes Volpato<sup>1,3</sup>, Sebastião Venâncio Martins<sup>1</sup>  
& Ednaldo Cândido Rocha<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Goiás, Ipameri, GO, Brasil.

<sup>3</sup> Autor para correspondência: gravolpato@yahoo.com.br

## Introdução

A restauração de áreas degradadas representa uma atividade básica na conservação da biodiversidade, estabelecendo corredores entre remanescentes de vegetação original e contribuindo para restabelecer processos inerentes às comunidades animais e vegetais (Reis *et al.* 2003, Martins 2009). A princípio o sucesso de uma restauração florestal era considerado pelo resultado de plantios bem desenvolvidos, com alta produção de madeira, como na silvicultura tradicional. Somente as mudas plantadas eram privilegiadas em detrimento da regeneração natural, não promovendo assim a restituição de toda a complexidade da biodiversidade do ecossistema original (Kageyama & Gandara 2000). Com o aprofundamento no desenvolvimento de estudos ecológicos, os objetivos da restauração de áreas degradadas passaram a incentivar a aceleração da sucessão natural, para que as áreas em restauração passassem a ser auto-sustentáveis (Rodrigues *et al.* 2009). Dentro deste contexto a restauração passa a ser o manejo da sucessão ecológica (Durigan & Engel, 2012).

Nesta nova perspectiva de sucessão ecológica, a fauna passa a ter um importante papel, uma vez que a fauna tem um papel chave na composição e estrutura da vegetação, o que favorece a sucessão ecológica. E quanto maior a interação fauna e flora mais eficiente será a sucessão ecológica, formando comunidades autossustentáveis a longo prazo. Além de ser considerada como um importante elemento

catalisador da sucessão e da regeneração em áreas em processo de restauração.

A sucessão é um processo de mudança que ocorre em etapas e que geralmente se inicia com as primeiras formas vegetais até a formação de uma floresta. Paralelamente, a sucessão também promove uma mudança na fauna nativa, contudo os mecanismos que conduzem as mudanças na comunidade de animais que utilizam a área durante o processo de sucessão ecológica não estão totalmente esclarecidos e ainda são pouco conhecidos.

Neste sentido, o procedimento inicial para estimular a regeneração de áreas degradadas talvez seja manipular e induzir uma maior complexidade de habitats, que pode corresponder ao número de níveis de vegetação que servem como potenciais locais para abrigo de animais, no intuito de atrair principalmente polinizadores e dispersores de sementes (Wunderle 1997, Miriti 1998).

A sucessão ecológica pode ocorrer de diferentes maneiras e para melhor entender o desenvolvimento da comunidade em sucessão, foram propostos alguns modelos, dentre eles o Modelo de Facilitação e Modelo de Inibição de Connell & Slatyer (1977). No modelo de facilitação as espécies pioneiras modificam o ambiente, de forma a torná-lo mais adequado ao desenvolvimento e estabelecimento de espécies tardias (Connell & Slatyer 1977). A fauna é freqüentemente afetada pela sucessão, mas também podem afetá-la (Begon *et al.* 2006). Analisando as definições dos modelos de facilitação e de inibição

proposta por Connell & Slatyer (1977), fica evidente a existência de animais que podem facilitar a sucessão ecológica, enquanto outras podem retardar ou inibir esse processo.

A fauna de forma geral pode influenciar o processo de sucessão ecológica principalmente através da realização de seis processos ecológicos, sendo elas a polinização, a dispersão das sementes, a herbivoria, a predação de sementes, o pisoteio e o revolver do substrato. Nos dois primeiros e no último caso a fauna pode facilitar a sucessão ecológica. O terceiro e o quarto caso são alvos de controvérsias, sendo considerados facilitadores da sucessão por alguns autores e inibidores por outros. Por sua vez, o pisoteio certamente atua como inibidor do processo de sucessão.

### Polinização

A relação polinizadores-flores é chamada de mutualismo, uma vez que beneficia mutuamente os grupos envolvidos. A relação mutualística entre os polinizadores e as flores, garante a reprodução das plantas e o estabelecimento de populações, facilitando o processo de sucessão. Esse processo é tão importante que 94% das angiospermas em comunidades tropicais são polinizadas por animais. Entre os animais polinizadores, os insetos, como abelhas, mariposas e besouros, são os principais responsáveis pela polinização das plantas em florestas tropicais (Bawa *et al.* 1985) (Figura 1).

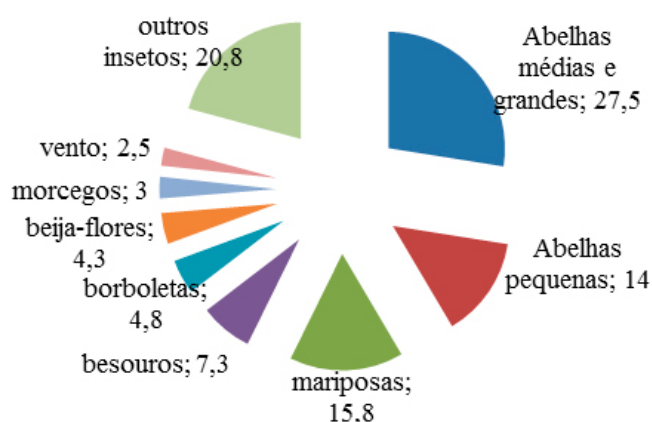


Figura 1. Percentagem de polinizadores em amostras de árvores em uma Floresta Tropical no México (Bawa *et al.* 1985; adaptado a partir de Reis *et al.* 1999).

### Dispersão de Sementes

A dispersão, no caso dos vegetais, é o deslocamento dos propágulos (frutos ou sementes) a partir da planta-mãe (Howe & Smalwood 1982). A dispersão é resultado de um longo processo evolutivo, onde dispersor e dispersado co-evoluem criando uma situação de dependência em variados graus. O papel dos dispersores de propágulos é fundamental tanto para o sucesso individual da planta como para a dinâmica das populações e das comunidades vegetais. Da mesma forma, os dispersores se beneficiam obtendo alimento.

Esse processo também ajuda na prevenção de competição entre as plântulas, facilita a utilização de locais adequados e a ocupação de novos habitats, além de possibilitar que novos genótipos encontrem condições ambientais favoráveis (Fahn e Werker 1972). Assim, a fauna dispersora de sementes é um grande facilitador no desenvolvimento da sucessão ecológica.

Em florestas tropicais bem preservadas, as plantas zoocóricas são dominantes (Howe & Smallwood 1982). Dependendo do grupo dispersor, a zoocoria pode ainda ser dividida em mimercoria (dispersão por fomigas), ictiocoria (dispersão por peixes), saurocoria (dispersão por répteis), mastocoria ou mamalocoria (dispersão por mamíferos), quiropterocoria (dispersão por morcegos) e ornitocoria (dispersão por aves). Dentre os grupos de animais, as aves e os morcegos destacam-se na dispersão de propágulos vegetais zoocóricos (Snow 1981).

A dispersão de sementes é um dos principais mecanismos responsáveis pelo início e desenvolvimento do processo de sucessão vegetal ou mesmo para a formação do banco de sementes. Assim, a falta de atrativos (frutos e sementes) em áreas degradadas ou em processo de recuperação pode ser uma das principais barreiras para a presença da fauna dispersora de sementes. Dessa maneira, projetos de restauração ou revegetação devem facilitar o retorno da fauna em áreas degradadas.

Aspectos como do tamanho do fruto, o tempo de frutificação da planta, a coloração e a facilidade de acesso aos frutos são fatores a serem considerados. Gondim (2001) avaliando a dispersão de sementes de espécies do gênero *Trichilia*, sugeriu que a posição terminal e pedicelos maiores dos frutos das espécies *T. catigua* e *T. clausenii* permitiu sua exploração



por um número maior de espécies de aves, quando comparadas a *T. pallida* que possui as frutescências concentradas no interior da copa e em pedicelo curtos. Outros aspectos como odor dos frutos também podem ser importantes para a atração dos morcegos que diferente das aves tem um olfato bem desenvolvida (Mikich e Bianconi, 2005).

### Aves dispersoras de sementes

Schupp (1993) descreve que o sucesso da dispersão de uma semente depende do número de visitas realizadas por um agente dispersor na planta, do número de sementes dispersas por visita, do comportamento do agente dispersor com a semente (manipulação do fruto e/ou semente) e finalmente da qualidade do habitat ou microhabitat onde a semente será depositada.

Entre as aves que incluem frutos em sua dieta existem aquelas que consomem a polpa do fruto e aqueles que preferem ingerir a semente. A polpa fornece para estas aves poucas calorias e nutrientes, sendo que por isso poucas espécies alimentam-se exclusivamente desta parte do fruto, tornando necessário o complemento da dieta com proteína animal, vinda de insetos, e no caso de aves maiores como os tucanos até de pequenos vertebrados, especialmente ovos e filhotes de outras aves (Sick 1997). Apesar de estas espécies digerirem apenas a polpa, o fruto geralmente é engolido inteiro, sendo as sementes posteriormente regurgitadas ou defecadas, e quando isto ocorre longe da planta-mãe, concretiza a dispersão de seus propágulos. Em um estudo desenvolvido em floresta estacional semidecidual no interior de São Paulo Gondim (2001) observou que o comportamento de saí-azul (*Dacnias cayana* - Thraupidae) de engolir as sementes de espécies de plantas do gênero *Trichilia* (Meliaceae) e defecá-las posteriormente longe da planta-mãe, caracteriza este frugívoro como um dispersor eficiente.

Para muitas espécies de plantas a passagem da semente pelo sistema digestório das aves contribui para a quebra de dormência e aumento de velocidade na germinação. Isto é resultado da co-evolução entre a planta e seu dispersor. Os tucanos estão entre os grandes dispersores de sementes, tanto por regurgitarem, como por defecarem caroços e pelotas com várias sementes ilesas, longe da planta mãe (Sick

1997). Aves como os gaturamos (gêneros *Euphonia* e *Chlorophonia* - Thraupidae) são fortemente associados aos frutos da erva-de-passarinho (Viscaceae), deslocando-se grandes distâncias, geralmente em pequenos bandos, a procura de seus frutos os quais por sua vez são importantes para estas aves. No norte do Paraná foi observado que o gaturamo-rei (*Euphonia cyanocephala*) e o fim-fim (*Euphonia chlorotica*) se beneficiam da abundância dos frutos de erva-de-passarinho durante o inverno, uma época em que relativamente poucas plantas zoocóricas estão frutificando (E. V. Lopes ob. pessoal). Os gaturamos apresentam um tubo digestório modificado, com ausência de estômago muscular e moela, esta característica faz com que as bagas da erva-de-passarinho engolidas inteiras passem rapidamente direto para o intestino delgado e sejam defecadas ainda envoltas em uma substância viscosa, pouco tempo após o consumo do fruto. Esta substância, que envolve a semente faz parte do fruto e sua viscosidade garante a fixação da semente nos galhos e troncos onde são depositadas e posteriormente germinarão (Sick 1997).

Assim, o comportamento das aves que se alimentam de frutos, independente da quantidade e da maneira com que se alimentam, é fundamental para o sucesso da dispersão de um propágulo e o conhecimento desta interação é fundamental para se utilizar as aves com ferramentas na restauração de áreas degradadas. Gondim (2001) observou diferenças no comportamento alimentar de diferentes aves dispersoras de *Trichilia*, refletindo no sucesso ou fracasso reprodutivo da planta: espécies que apresentavam o comportamento de engolir o fruto (“engolidores”), como anambé-branco-de-rabo-preto (*Tityra cayana* - Tityridae), bem-te-vi-rajado (*Myiodynastes maculatus* - Tyrannidae), sabiá-laranjeira (*Turdus rufiventris* - Turdidae), tangará (*Chiroxiphia caudata* - Pipridae), rendeira (*Manacus manacus* - Pipridae) regurgitavam ou defecavam as sementes lisas e ilesas para locais longe da planta-mãe, enquanto que espécies que apresentavam o comportamento de macerar o fruto (“maceradores”), como por exemplo, os traupídeos, sanhaçu-cinzento (*Thraupis sayaca*), pipira-vermelha (*Ramphocelus carbo*), saíra-amarelo (*Tangara cayana*) retiravam o arilo (total ou parcialmente) deixando as sementes caírem próximas da planta mãe, onde geralmente é alta a taxa de predação e relativamente baixa a probabilidade de germinação (Schupp 1993). Ainda assim, mesmo quando a ação é executada pelos



“engolidores” o sucesso da dispersão só será positivo se esta ocorrer em áreas com baixa competição e predação ou condições habitat (fertilidade, umidade, ph, luminosidade) adequadas à germinação (Schupp 1993).

Dentre as plantas que fornecem frutos zoocóricos, muitas são espécies de crescimento rápido, classificadas ecologicamente como pioneiras. Aves consumidoras de frutos frequentando áreas degradadas podem ser as principais responsáveis pela movimentação natural de propágulos de espécies pioneiras, contribuindo para o aumento da cobertura vegetal e o sombreamento do solo, permitindo o estabelecimento de espécies secundárias e tardias. Esse processo de sucessão (sucessão secundária) em áreas degradadas torna o habitat mais atrativo para outros agentes dispersores de sementes o que conseqüentemente aumenta a complexidade do sistema que é um dos objetivos da restauração de áreas degradadas, além de gerar mais refúgios e recursos alimentares para outras diversas espécies da fauna, incluindo outras aves, mais exigentes em termos ambientais (Wunderle 1997, Guevara *et al.* 2004).

O processo natural de revegetação de áreas degradadas proporcionado pela fauna consumidoras de frutos pode ser considerado como uma alternativa de baixo custo. Isto se comparado a programas de cultivo e plantio de mudas, que promovem principalmente o crescimento dos indivíduos plantados pelo homem (Reis *et al.* 1999). Neste contexto, o desenvolvimento de técnicas de restauração de áreas degradadas que potencializem o papel de dispersores de sementes pode reduzir os custos e aumentar o sucesso da restauração florestal.

### Herbivoria, Predação de Sementes e Pisoteio

A herbivoria certamente influencia o curso da sucessão, afetando a dinâmica e a composição de comunidades vegetais, uma vez que os herbívoros podem se alimentar preferencialmente de certas espécies de plantas, reduzindo suas densidades ou mesmo eliminando-as de determinado local. Neste sentido, Cristoffer & Peres (2003), citando Lindroth (1989), comentam que espécies de plantas podem ser localmente extintas devido à alimentação seletiva de populações de mamíferos herbívoros generalistas

e que a população do herbívoro pode não declinar consideravelmente quando a planta preferida estiver escassa. Segundo esses mesmos autores, há evidências consistentes que suportam a hipótese de que a atividade de grandes herbívoros no Paleotrópico tem selecionado árvores de crescimento rápido e mais sensíveis à luminosidade. Desta forma, os herbívoros estariam inibindo a sucessão.

Por outro lado, existem autores que defendem a hipótese de que a herbivoria e a predação de sementes são facilitadores do processo de sucessão ecológica. Rees *et al.* (2001) argumentam que a herbivoria reduz a produção de sementes e, conseqüentemente, diminui a densidade das espécies de plantas, mas apresentam efeito positivo em relação à riqueza de espécies. Pois, os herbívoros tendem a reduzir as espécies de plantas dominantes, facilitando o desenvolvimento da sucessão (Rees *et al.* 2001, Begon *et al.* 2006). Mas, os herbívoros podem ter um impacto considerável na aptidão genética das plantas, na medida em que contribuem para a redução da floração e produção de sementes (Barone & Coley 2002).

Alguns mamíferos podem mastigar e destruir as sementes, sendo também controversa sua função ecológica em termos de facilitação ou inibição do processo de sucessão secundária (Begon *et al.* 2006). Vários fatores influenciam a predação das sementes, incluindo a densidade do fruto ou semente, a dureza e o tamanho das sementes (Stoner *et al.* 2007). Da mesma forma que os vetores de sementes (dispersores) determinam quais chegam às áreas em restauração, os predadores reduzem os tipos que estarão disponíveis para o estabelecimento de árvores, de forma que as preferências dos predadores podem influenciar a sucessão (Nepstad *et al.* 1998). Contudo, Miriti (1998) observou que a predação de sementes e plântulas por insetos e mamíferos não limita o estabelecimento de espécies lenhosas em áreas de pastagem.

Os papagaios, araras, maritacas e periquitos (Psittacidae) são exemplos de aves que frequentemente estão mais interessados nas sementes dos frutos e que podem atuar tanto como dispersores quanto como predadores de sementes. O bico forte destas aves pode quebrar ou triturar cascas bastante duras e até sementes como coquinhos, para acessar a amêndoa do interior da semente, o que acaba por destruir as sementes (por isso o termo predador de sementes). Mas os psitacídeos também podem manipular o fruto com polpa mole para retirar a semente, ou ingerir

frutos contendo sementes pequenas, como é o caso das figueiras (*Ficus* spp. - Moraceae). No entanto seu papel como dispersor é relativamente limitado, sendo considerado por alguns autores mais predador do que dispersor de sementes (Galetti & Rodrigues 1992, Sick 1997). Além disso, não é raro observar psitacídeos se alimentarem de flores de algumas plantas e frutos, incluindo alguns não zoocóricos como ipê amarelo (*Tabebuia* spp. - Bignoniaceae), quando estes estão ainda verdes, diminuindo assim o potencial reprodutivo destas plantas. Este hábito não é exclusivo dos psitacídeos (outro exemplo Manhães 2003) e ocorre principalmente em período de escassez de frutos.

Os grupos de mamíferos que predam as sementes com maior frequência são primatas, roedores e artiodáctilos (Stoner *et al.* 2007). A predação das sementes pode ocorrer antes ou depois de sua dispersão.

### **Pisoteio do solo**

Acompanhando a herbivoria e a predação das sementes, pode ocorrer o pisoteio do local por mamíferos de forma geral, culminando com a destruição de plântulas e compactação do substrato, inibindo o desenvolvimento da sucessão. Embora o efeito do pisoteio realizado por pequenos animais possa ser considerado desprezível, é bastante significativo quando se trata de animais de grande porte. A exclusão experimental de elefantes de uma área de savana permitiu aumento na densidade de árvores em apenas 10 anos (Begon *et al.* 2006).

### **Revolvimento do Solo**

Outro fator que merece atenção é o revolvimento do solo causado por mamíferos fossoriais, como os tatus. Embora ainda não se tenha clareza sobre o quão influencia a sucessão vegetal, as tocas feitas pelos tatus, que em algumas áreas são muito abundantes, podem ajudar a descompactar o substrato, servir de canais para a absorção de água, entrada de nutrientes no solo e desenvolvimento de raízes.

O revolvimento do solo pode atuar também como um estímulo à germinação de sementes

soterradas a maiores profundidades no banco de sementes do solo, sendo este um campo aberto para pesquisas.

Embora ocorra um decréscimo acentuado na densidade de sementes do solo com o aumento da profundidade, havendo maior concentração de sementes nos 2,5 a 5 cm superficiais (Holthuijzen & Boerboom 1982; Roizman 1993, **Degreef *et al.* 2002**), sementes viáveis podem ser encontradas em camadas mais profundas, ainda que em densidades muito baixas. Tais sementes soterradas a grandes profundidades podem germinar e contribuir para a regeneração de clareiras, quando são expostas pelo revolvimento do solo provocado pela queda de árvores com desenraizamento (Putz 1983, Negrelle 1995). Neste contexto, animais fossoriais ao revolverem o solo poderiam também exercer papel semelhante de exposição de sementes e estímulo a germinação.

Portanto, os efeitos cumulativos da descompactação do substrato, aeração do solo, entrada e retenção de água e nutrientes e a exposição de sementes ocasionada pelas tocas dos tatus certamente atuam como facilitadores no processo de sucessão secundária. Mas, ainda não estão devidamente elucidados e precisam de estudos mais detalhados.

Reis & Kageyama (2008) relatam uma complexa interação planta-animal entre *Senna multijuga* Rich. (pau-cigarra), cigarras e tatus, em que estes escavam o solo em busca da grande quantidade de larvas de cigarras presentes nas raízes da leguminosa arbórea. Para os autores, esta espécie arbórea pode ser útil em projetos de restauração ecológica ao manter populações de cigarras, que por sua vez atraem tatus e, conseqüentemente seus predadores.

### **Considerações finais**

As interações entre plantas-animal é um importante processo para a estrutura e dinâmica da comunidade vegetal e conseqüentemente para a restauração de áreas degradadas. Apesar de que a maioria dos esforços para recuperar áreas degradadas envolva o plantio de árvores (Lamb *et al.* 2005; Rodrigues *et al.* 2009), tem sido cada vez mais apontado a fauna local como catalisadora deste processo. Neste contexto, a fauna atua em diversos processos ecológicos que a facilita a sucessão. Em

relação ao diferentes papéis ecológicos que a fauna pode desempenhar como facilitador, a polinização e a dispersão de sementes provavelmente são os principais catalisadores e incentivadores da sucessão ecológica. Dessa maneira, a utilização de espécies arbóreas ou arbustivas que floresçam e produzam frutos por um longo período no ano pode contribuir para manutenção de uma fauna polinizadora e dispersora em áreas em processo de recuperação.

### Referências bibliográficas

- Barone, J.A. & Coley, P.D. 2002. Herbivorismo y las defensas de las plantas. Pp. 465-492. In: M.R. Guariguata. & G.H. Kattan (eds.). **Ecología y conservación de bosques neotropicales**. Cartago, LUR.
- Bawa, K.S.; Perry, D.R. & Beach, J.H. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany** **72**:331-45.
- Begon, M.; Townsend, C.R. & Harper, J.L. 2006. **Ecology: from individuals to ecosystems**. Fourth Edition, Blackwell Publishing.
- Connell, J.H. & Slatyer, R.O. 1977. Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization. **The American Naturalist** **111**(982): 1119-1144.
- Cristoffer, C. & Peres, C.A. 2003. Elephants versus butterflies: the ecological role of large herbivores in the evolutionary history of two tropical worlds. **Journal of Biogeography** **30**: 1357-1380.
- Degreef, J.; Rocha, O.J.; Vanderborght T. & Baudoin, J. 2002. Soil seed bank and seed dormancy in wild populations of lima bean (Fabaceae): considerations for in situ and ex situ conservation. **American Journal of Botany** **89**: 1644-1650.
- Durigan, G. & Engel, V. L. 2012. Restauração de ecossistemas no Brasil: onde estamos e para onde podemos ir? Pp. 41-68. In: S.V. Martins (ed.). **Restauração ecológica de ecossistemas degradados**. Viçosa, Editora UFV.
- Fahn, A. & Werke, E. 1972. Anatomical mechanisms of seed dispersal. Pp. 152-217. In: T.T. Kozlowski (ed.). **Seed biology**. New York, University of Wisconsin.
- Galetti, M. & Rodrigues, M. 1992. Comparative seed predation on pods by parrots in Brazil. **Biotropica** **24**: 222-224.
- Gondim, M.J.C. 2001. Dispersão de sementes de *Trichilia* spp. (Meliaceae) por aves em um fragmento de mata mesófila semidecídua, Rio Claro, SP, Brasil. **Ararajuba** **9** (2): 101-112.
- Guevara, S., Laborde, J. & Sanchez-Rios, G. 2004. Rain forest regeneration beneath the canopy of fig trees isolated in pastures of Los Tuxtlas, Mexico, **Biotropica** **36**: 99-108.
- Holthuijzen, M.A. & Boerboom, J.H.A. Experiments on the *Cecropia* seed bank of the Surinam lowland rain forest. **Biotropica** **14**: 62-68.
- Howe, H.F. & Smallwood, J. 1982. Ecology of seed dispersal. **Annual Review of Ecology and Systematics** **13**: 201-228.
- Kageyama, P. & Gandara, F.B. 2000. Recuperação de áreas ciliares. Pp. 249-269. In: R.R. Rodrigues & H.F. Leitão-Filho (eds.) **Matas Ciliares: Conservação e recuperação**. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo-Fapesp.
- Lamb, D.; Erskine, P.D. & Parrotta, J.A. 2005. Restoration of degraded tropical forest landscapes. **Science** **310**: 1628-1632.
- Manhães, M.A. 2003. Variação sazonal da dieta e do comportamento alimentar de traupíneos (Passeriformes: Emberezidae) em Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Ararajuba** **11** (1): 45-55.
- Martins, S.V. 2009. Soil seed bank as indicator of forest regeneration potential in canopy gaps of a semideciduous forest in Southeastern Brazil. Pp. 113-128. In: M.V. Fournier (ed.) **Forest regeneration: ecology, management and economics**. New York, Nova Science Publishers.
- Mikich, S.B. & Bianconi, G.V. 2005. Potencializando o papel dos morcegos frugívoros na recuperação de áreas degradadas. **Boletim de Pesquisa Florestal** **51**: 155-163.
- Miriti, M.N. 1998. Regeneração florestal em pastagens abandonadas na Amazônia central: competição, predação e dispersão de sementes. Pp. 179-190. In: C. Gascon & P. Moutinho (eds.). **Floresta**

- Amazônica: dinâmica, regeneração e manejo.** Manaus, INPA.
- Negrelle, R.R.B. 1995. Sprouting after uprooting of canopy trees in The Atlantic Rain Forest of Brazil. **Biotropica** **27**: 448-454.
- Nepstad, D.C.; Uhl, C.; Pereira, C.A. & Silva, J.M.C. 1998. Estudo comparativo do estabelecimento de árvores em pastos abandonados e florestas adultas da Amazônia oriental. Pp. 191-218. In: C. Gascon & P. Moutinho (eds.). **Floresta Amazônica: dinâmica, regeneração e manejo.** Manaus, INPA.
- Putz, F.E. 1983. Treefall pits and mounds, buried seeds, and the importance of soil disturbance to pioneer trees on Barro Colorado Island, Panama. **Ecology** **64**: 1069-1074.
- Rees, M.; Condit, R.; Crawley, M.; Pacala, S. & Tilman, D. 2001. Long-term studies of vegetation dynamics. **Science** **293**: 650-655.
- Reis, A. & Kageyama, P.Y. 2008. Restauração de áreas degradadas utilizando interações interespecíficas. Pp. 91-110. In: P.Y. Kageyama; R.E. Oliveira; L.F.D. Moraes; V.L. Engel & F.B. Gandara (orgs.). **Restauração ecológica de ecossistemas naturais.** Botucatu, FEPAF.
- Reis, A.; Zambonim, R.M. & Nakazono, E.M. 1999. Recuperação de áreas florestais degradadas utilizando a sucessão e as interações planta-animal. **Série Cadernos da Biosfera** **14**: 1-42.
- Reis, A.; Bechara, F.C.; Espíndola, M.B.; Vieira, N.K. & Souza, L.L. 2003. Restauração de áreas degradadas: a nucleação como base para incrementar os processos sucessionais. **Natureza e Conservação** **1**(1): 28-36.
- Rodrigues, R.R.; Lima, R.A.F.; Gandolfi, S. & Nave, A.G. 2009. On the restoration of high diversity forests: 30 years of experience in Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation** **142**: 1242-1251.
- Roizman, L. 1993. **Fitossociologia e dinâmica do banco de sementes de populações arbóreas de floresta secundária em São Paulo, SP.** 1993. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Schupp, E.W. 1993. Quantity, quality and the effectiveness of seed dispersal by animals. **Vegetatio** **107/108**: 15-29.
- Sick, H. 1997. **Ornitologia brasileira.** Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 1997.
- Snow, D.W. 1981. Tropical frugivorous birds and their food plants: a world survey. **Biotropica** **13**(1): 1-14.
- Stoner, K.E.; Hernández, P.R.; Vulinec, K. & Lambert, J.E. 2007. The role of mammals in creating and modifying seed shadows in tropical forests and some possible consequences of their elimination. **Biotropica** **39**(3): 316-327.
- Wunderle, J.M. 1997. The role of animal seed dispersal in accelerating native forest regeneration on degraded tropical lands. **Forest Ecology and Management** **99**: 223-235.

# Lacunas e BioGeo: novas ferramentas para o planejamento de coletas

Dora A. L. Canhos<sup>1,3</sup>, Sidnei de Souza<sup>1</sup>, Renato De Giovanni<sup>1</sup>,  
Mariane de Sousa-Baena<sup>1</sup> & Leonor C. Maia<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Referência em Informação Ambiental, Campinas, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup> Autor para correspondência: dora@cria.org.br

## Introdução

O *Herbário Virtual da Flora e dos Fungos (Herbário Virtual)*, desenvolvido no âmbito do programa Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia (INCT), trabalhou na articulação da comunidade científica do país e parceiros do exterior visando o compartilhamento dos dados dos acervos dos herbários através de uma infraestrutura eletrônica comum, de acesso público e aberto. O resultado parcial, até setembro de 2013, é a participação de 90 herbários sendo 5 do exterior que juntos disponibilizam mais de quatro milhões de registros de coletas realizadas no país, com cerca de 250 mil imagens de *vouchers*, cerca de seis mil de material vivo e mil e quinhentos de pólen. Tem-se ainda que dos registros das amostras coletadas no Brasil, mais de 3,1 milhões são de nomes aceitos, 345 mil de sinônimos, cerca de 370 de nomes não encontrados na *Lista do Brasil* (ed. 2012) e 188 mil de material não determinado.

A disponibilidade de dados estruturados e integrados em uma infraestrutura única, viabiliza o desenvolvimento de ferramentas e aplicativos e a produção de relatórios analíticos.

Um dos primeiros conjuntos de ferramentas desenvolvidos foram os *indicadores* ([smlink.cria.org.br/indicators](http://smlink.cria.org.br/indicators)) entre os quais destacamos o das “regiões brasileiras”, que mostra o número de registros por região geográfica do Brasil, apresentando o número de registros por km<sup>2</sup> por região. Tem por objetivo comparar o grau de conhecimento das regiões e oferecer mais um elemento de análise para auxiliar

pesquisadores e tomadores de decisão na definição das regiões prioritárias para a realização de novas coletas. Apenas as regiões Sudeste e Sul apresentam uma densidade de coleta um pouco acima de um registro por km<sup>2</sup>, que, no entanto, indica uma carência de dados em todas as regiões do país. E quando se tem como resultado da análise que tudo é prioritário, o processo de tomada de decisão baseado em dados é prejudicado.

Em 2010, foi lançada a Lista de Espécies da Flora do Brasil (*Lista do Brasil*), que vem sendo atualizada pela comunidade científica. A disponibilização da *Lista do Brasil* com os nomes válidos e respectivos sinônimos de plantas e fungos que ocorrem no Brasil e dos registros de ocorrência de espécies coletadas e depositadas em herbários ao longo da história, integrados por meio do Herbário Virtual permitiram o desenvolvimento de um novo aplicativo para identificar possíveis lacunas de dados e conhecimento para priorizar e orientar a digitação de acervos e a realização de novas coletas. Esse aplicativo foi denominado *Lacunas* ([lacunas.inct.florabrasil.net](http://lacunas.inct.florabrasil.net)) que procura evidenciar o status dos dados para cada espécie da *Lista do Brasil*.

Uma segunda ferramenta foi desenvolvida para que, uma vez identificadas as lacunas de conhecimento, fosse possível realizar coletas com grandes chances de sucesso. Trata-se do *Biogeografia da Flora e Fungos do Brasil - BioGeo* ([biogeo.inct.florabrasil.net](http://biogeo.inct.florabrasil.net)), desenvolvido sob a coordenação do INCT-HVFF no âmbito do Sistema Nacional de Pesquisa em Biodiversidade (SISBIOTA BRASIL).



Esses dois sistemas, *Lacunas* e *BioGeo* são apresentados a seguir.

## Metodologia

No sistema *Lacunas*, os dados da *Lista do Brasil* (edição 2012) são cruzados com os dados de ocorrência de espécies do *Herbário Virtual da Flora e dos Fungos*. Para agregar valor aos dados, são também incluídas informações sobre o estado de conservação das espécies que constam da *Instrução Normativa MMA no. 06* e da *Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção da Fundação Biodiversitas* para produzir relatórios com o status dos dados de diferentes grupos, famílias ou espécies. Os relatórios resultantes indicam o número de espécies que possuem registros suficientes para produzir modelos de distribuição geográfica com uso potencial em processos de tomada de decisão (mais de 20 registros com coordenadas geográficas consistentes e distintas), ou modelos exploratórios (de 6 a 20 pontos) ou preliminares (até 5 pontos), os quais podem auxiliar na orientação de novas coletas. A análise em nível de espécie também indica se a espécie é endêmica do Brasil, sua distribuição por estado, anos de coleta e os herbários provedores dos dados. Indica também se ela faz parte da portaria do MMA (Anexo I – ameaçada de extinção ou Anexo II – deficiente em dados) e da Lista da Biodiversitas indicando o grau de ameaça.

O sistema *BioGeo* apresenta aos especialistas cadastrados o resultado da busca de nomes válidos e sinônimos na *Lista do Brasil* e no sistema *Tropicos*. Com base nos nomes selecionados pelo especialista, o sistema realiza uma busca no *Herbário Virtual*, aplicando em seguida diversos filtros de qualidade. Os registros de ocorrência utilizados na modelagem são selecionados pelo especialista. Os modelos são produzidos pelo aplicativo *openModeller* que, dependendo do número de registros, gera modelos com até 5 algoritmos. São eles: Maxent, GARP Best Subsets, Distância Mahalanobis, ENFA e Máquina Vetores de Suporte de classe única (SVM).

Como variáveis ambientais é utilizado um subconjunto das variáveis bioclimáticas do WorldClim que sabidamente afetam a distribuição de grande parte das espécies vegetais. São elas: variação média da temperatura no dia; temperatura máxima no mês mais quente; temperatura mínima no mês mais frio;

precipitação no trimestre mais úmido; precipitação no trimestre mais seco; precipitação no trimestre mais quente; precipitação no trimestre mais frio; e, altitude (modelo digital de elevação).

O sistema permite que vários modelos sejam gerados ao longo do tempo para a mesma espécie, porém somente o último modelo gerado é exibido como referência.

Cabe ao especialista aprovar e publicar ou descartar o modelo resultante. Caso o publique, a autoria do modelo lhe é atribuída.

## Resultados e Discussão

Uma análise das angiospermas (dados de janeiro/2013; Fig. 1), mostra que 14% não possuem nenhum registro no *Herbário Virtual*, 59% só podem produzir modelos de distribuição preliminares ou exploratórios e apenas cerca de 27% das espécies de angiospermas da *Lista do Brasil* teriam dados suficientes para modelos mais robustos.

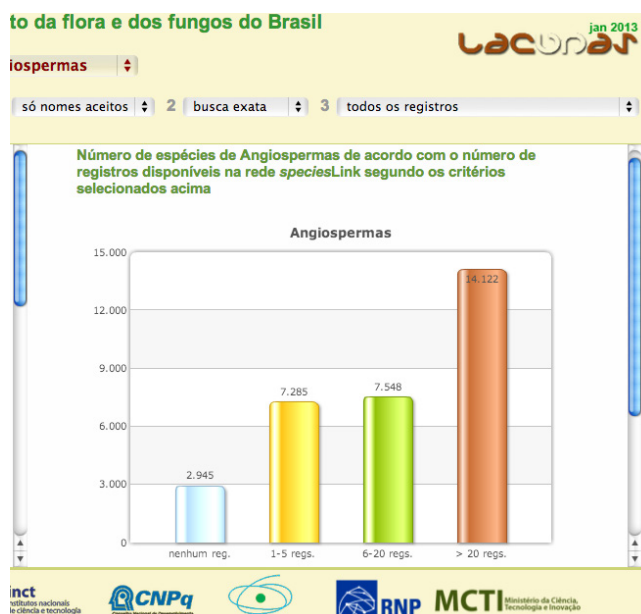


Figura 1. Gráfico mostrando o número de espécies de angiosperma presente em cada categoria de número de registros gerado pelo relatório de Lacunas.

Esses resultados indicam claramente a necessidade de se ter mais dados disponíveis online no *Herbário Virtual*, por meio da integração de novos acervos, da digitação de dados de acervos existentes ou da realização de novas coletas. Essa mesma análise

pode ser feita por família ou gênero, e o sistema apresenta a relação das espécies agrupadas de acordo com o número de registros disponíveis, identificando facilmente aquelas com nenhum ou com poucos registros.

Para orientar novas coletas, outra importante ferramenta são os modelos de distribuição potencial gerados pelo *BioGeo* e disponibilizados *online* com comentários de especialistas. Hoje (06/10/2013) existem 53 especialistas cadastrados que geraram modelos para 670 espécies. Como exemplo, os dados gerados pelo sistema *Lacunas* para *Macrotorus utriculatus* indicam que esta espécie é endêmica do Brasil, está ameaçada de extinção e possui 31 registros georreferenciados distintos; o seu modelo de distribuição potencial está disponível no *BioGeo*, podendo orientar novas coletas (Fig. 2).

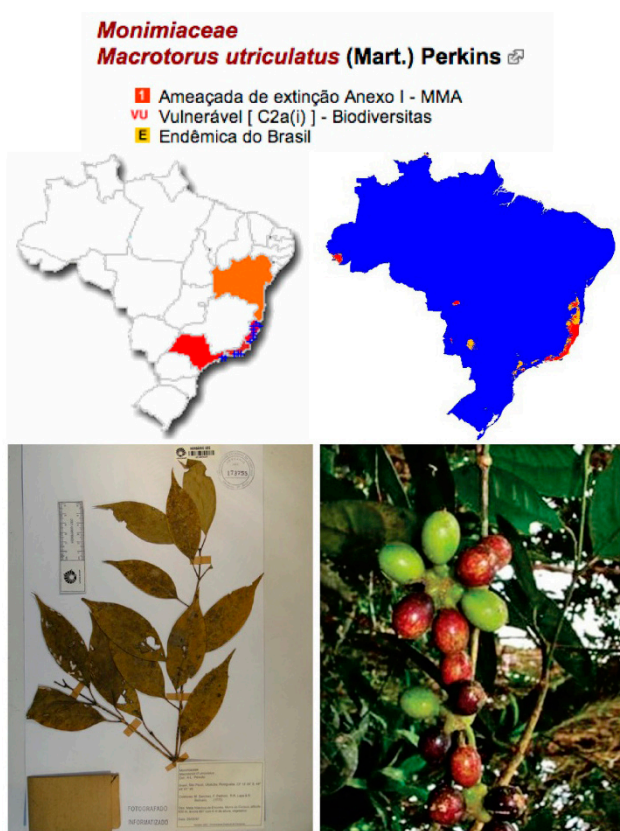


Figura 2. Relatório de Lacunas e modelo de nicho ecológico, gerado na plataforma *BioGeo*, para *Macrotorus utriculatus*. Mapa de distribuição gerado pelo *Lacunas* a esquerda e mapa da distribuição potencial da espécie a direita. Imagens mostrando partes vegetativas (esquerda) e frutos (direita) de *Macrotorus utriculatus*. Fontes: imagem dos frutos retirada de Gomes et al. (2011); imagem da exsicata provida pelo Herbário da Universidade Estadual de Campinas – UEC através da rede *speciesLink* (<http://inct.splink.org.br>).

Num outro exemplo, analisando o relatório de lacunas para *Allagoptera arenaria* (Arecaceae; Fig. 3), cujo nome popular é guriri ou coco-da-praia, várias informações sobre a espécie estão prontamente disponíveis. Segundo o relatório, esta espécie é endêmica do Brasil, Vulnerável (VU) de acordo com a lista de plantas ameaçadas da Fundação Biodiversitas e Deficiente em Dados (Anexo II) de acordo com a Lista Oficial de Espécies Ameaçadas da Flora do Ministério do Meio Ambiente. O mapa de distribuição da espécie mostra tanto os estados onde a planta ocorre (coloridos) segundo especialistas da Lista de Espécies da Flora e dos Fungos do Brasil, quanto pontos de ocorrência obtidos em tempo real (marcados pelo símbolo +) na rede *speciesLink*. Os pontos plotados no mapa, um total de 88 dos 110 encontrados, representam apenas os registros com coordenadas consistentes distintas.



Figura 3. Relatório de Lacunas e modelo de nicho ecológico, gerado na plataforma *BioGeo*, para *Allagoptera arenaria*. Mapa gerado pelo *Lacunas* e imagem ilustrando o hábito da espécie a esquerda; a direita, mapa da distribuição potencial da espécie e imagem mostrando os frutos.

Particularmente em relação ao status de conhecimento da distribuição de *A. arenaria*, observe que a distribuição potencial, baseada em 33 pontos de ocorrência, é bastante similar a distribuição baseada nos pontos encontrados em tempo real, na rede *speciesLink*. Assim, um dos parâmetros mais importantes para definir o status de conservação de espécies, a distribuição geográfica, é bem caracterizada

para *A. arenaria*, indicando que esta espécie talvez devesse ser retirada da lista de espécies Deficientes em Dados (Anexo II) e melhor analisada, para que um novo status fosse designado a ela.

No caso de *Smilax japicanga*, conhecida como salsaparrilha (Fig. 4), também endêmica e Deficiente em Dados, as condições climáticas dos locais onde a espécie foi coletada no Ceará, 9 espécimes de um total de 30, são muito similares às condições da região onde a maioria dos pontos está localizada, i.e. região litorânea ou próxima ao litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo e leste do estado de Minas Gerais. É possível que haja um erro de identificação dos espécimes coletados no Ceará, que devem ser verificados. Porém, o modelo de distribuição potencial de *S. japicanga* mostra que áreas relativamente extensas no litoral do Ceará, assim como na fronteira entre Ceará e Pernambuco, têm características ambientais bastante favoráveis à ocupação da espécie.

Além disso, outras áreas no interior do país, onde a ocorrência da espécie não foi registrada, parecem ter condições ambientais ideais para a sobrevivência de *S. japicanga* e, estes dados gerados pelo Lacunas e BioGeo, poderiam ser utilizados para orientar novos esforços de coleta e averiguar a existência da espécie nas áreas apontadas como potenciais. Desta maneira seria possível verificar se a espécie tem de fato uma distribuição disjunta, como sugerem os pontos de ocorrência, ou praticamente contínua, como sugere o modelo de ocorrência potencial.

Em suma, os dados levantados pelo Lacunas e BioGeo mostram que a ocorrência desta espécie é bem caracterizada, além disso, *S. japicanga* é explorada comercialmente, e utilizada na forma de chá medicinal (Fig. 4) preparado com suas raízes (Melo *et al.*, 2009). Como a planta é herbácea e tem hábito escandente, a extração das raízes pode acarretar na morte do indivíduo, o que obviamente é uma ameaça a conservação da espécie. Assim, o status de conservação desta espécie deveria ser reavaliado, visto que se tem informações sobre sua distribuição e também sobre seus usos e ameaças, outros parâmetros importantes nesse tipo de análise.

## Conclusões

O *Herbário Virtual da Flora e dos Fungos* possui hoje um importante volume de informações que permite avaliar possíveis lacunas de dados e de conhecimento da flora brasileira. Tais análises são possibilitadas pelo desenvolvimento de ferramentas que atuam de maneira integrada, como o *Lacunas* e o *BioGeo*, obtendo dados de várias fontes e gerando conhecimento através da análise de dados biológicos primários.



Figura 4. Relatório de Lacunas e modelo de nicho ecológico, gerado na plataforma BioGeo, para *Smilax japicanga*. Mapa gerado pelo Lacunas a esquerda; a direita, mapa da distribuição potencial da espécie. Abaixo dos mapas, imagens ilustrando o hábito, os frutos da espécies, e uso comercial da espécie.



O sistema Lacunas provê uma ferramenta dinâmica para que especialistas possam analisar o 'status do conhecimento online' sobre espécies da flora brasileira, facilmente identificando as espécies endêmicas, ameaçadas de extinção e suas distribuições geográficas, podendo identificar áreas subamostradas ou acervos que ainda não integraram seus dados online. A partir de uma interface web é possível produzir relatórios integrando registros de ocorrência de espécies de plantas e fungos disponíveis no INCT-Herbário Virtual da Flora e dos Fungos com o conhecimento taxonômico da Lista de Espécies da Flora do Brasil (edição 2012) mais o status de conservação da espécie com base nas listas de espécies ameaçadas de extinção do MMA e da Fundação Biodiversitas.

Já os modelos de distribuição potencial produzidos pelo BioGeo podem orientar novas coletas, indicando áreas de ocorrência potencial de espécies, além disso pode ajudar na compreensão das necessidades ambientais de cada espécie e contribuir de maneira geral para diversas questões envolvendo pesquisa e conservação.

Uma vez que as ferramentas descritas são baseadas em dados primários de biodiversidade compartilhados online, o trabalho dos herbários na documentação e digitação das informações, na avaliação da qualidade dos dados e na sua disponibilização online é de fundamental importância.

## Agradecimentos

O desenvolvimento desse trabalho está sendo possível graças à colaboração de integrantes de mais de 80 herbários e ao apoio do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação e do CNPq.

## Referencias bibliográficas

Gomes, J.A.M.A., Bernacci, L.C. & Joly, C.A. 2011. Diferenças florísticas e estruturais entre duas cotas altitudinais da Floresta Ombrófila Densa Submontana Atlântica, do Parque Estadual da Serra do Mar, município de Ubatuba/SP, Brasil. **Biota Neotropica** **11**(2): 123-137.

Lírio, E.J. 2013. *Macrotorus utriculatus* (v1) in Biogeografia da Flora do

Brasil. INCT Herbário Virtual (<http://biogeo.inct.florabrasil.net/proc/8566>).

Melo, J.G., Amorim, E.L.C. & Albuquerque, U.P. 2009. Native medicinal plants commercialized in Brazil – priorities for conservation. **Environmental Monitoring and Assessment** **156**: 567–580.

# Métodos de amostragem de epífitas: o que temos aprendido nas últimas décadas

**Rodrigo A. Kersten**

Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.  
epífita@outlook.com

A execução de pesquisas no dossel das florestas é acompanhada tanto por grandes oportunidades quanto por grandes dificuldades. As oportunidades provêm de sua importância para a estrutura geral da floresta abrigando grande parte da riqueza, concentrando a maior parte dos fluxos atmosféricos e de seus processos fisiológicos. No entanto, apesar de sua importância, o dossel tem sido até recentemente negligenciado pela ciência.

Apesar do recente incremento no estudo das epífitas vasculares, este grupo de plantas é ainda deferido em relação a outras sinúsias, principalmente quando referimo-nos a estudos quantitativos. No Paraná, por exemplo, estado de abriga o maior número de artigos publicados considerando epífitas, das cerca de 30 publicações registradas até agosto de 2013, aproximadamente um terço levantaram dados quantitativos, destes, três com bromélias. Kersten & Galvão (no prelo), em revisão sobre a Floresta Ombrófila Mista no Brasil, registraram 71 artigos publicados sobre “fitossociologia” sendo 50 sobre arbóreas e apenas sete sobre epífitas.

Regularmente, quando nos referimos a epífitas, pensamos em orquídeas e bromélias. Evidentemente descrições científicas indicam serem estas algumas das principais famílias a recobrirem as árvores. Para além disto, estão elas enraizadas no imaginário popular sendo ilustradas como principais representantes da exuberante vegetação tropical em qualquer pintura, romance ou filme. Mesmo animações infantis, como a clássica “Alô Amigos” de 1944 da Disney na qual o Pato Donald visita o rio e para a qual foi criado Zé Carioca

ilustram nosso país não apenas com Carmen Miranda, Corcovado e a Cachaça, mas também com bananeiras, palmeiras, catleia e bromélias.

Este grupo de plantas é, no entanto, muito mais rico e diverso; boa parte desta diversidade completamente desprezada. Dentre o que se enquadra perfeitamente na categoria de epífita terrestre, plantas que crescem sobre traqueófitas sem serem parasitas ou trepadeiras, inclui-se não apenas espécies vasculares mas igualmente uma infinidade desconhecida de musgos e hepáticas. Estes grupos de plantas podem tanto crescer sobre a casca das árvores, sendo chamadas corticícolas, como diretamente sobre as folhas, chamadas então de folícolas ou epifilas (Figura 1).

Estudos sobre epífitas avasculares são ainda mais raros havendo pouquíssimas publicações no Brasil e no mundo. Esta virtual ausência deve-se não devido a pouca importância do grupo; dados preliminares (Ariati & Kersten, dados não publicados) mostraram que em ambientes altomontanos as “briófitas” são essenciais ao balanço hídrico da floresta. A principal dificuldade é a mesma que por anos retardou o estudo das vasculares, coleta, identificação e reconhecimento de espécies.





Figura 1. Tipos de epífitas: A. epifilas avasculares, B. corticólicas avasculares, C e D. corticólicas vasculares.

Para os táxons ocorrentes como epífitos vasculares, a última década presenciou considerável incremento em estudos taxonômicos, na publicação de chaves e floras e no aumento número de taxonomistas - o que, sem sombra de dúvida, ajudou a impulsionar os estudos florísticos e quantitativos com o grupo. Infelizmente, entre as briófitas este fenômeno não teve amplitude suficiente para dar suporte aos ecólogos e o país ainda é deficiente em informações taxonômicas.

Outra característica destes grupos que também interfere no número de candidatos a “epifitólogos” derivam de problemas no acesso as copas, sendo este o principal obstáculo à estudos no dossel (Nadkarni & Parker 1994).

A coleta das próprias árvores já oferece alguma dificuldade, mesmo com grande número de galhos repletos de flores e folhas, que dirá a coleta de um número indefinido de epífitas, completamente espalhadas pela copa (Figura 2). Se Fidalgo & Bononi (1989) recomendam, para coleta de fanerógamas arbóreas o uso de equipamentos como cinto de segurança, espingarda, espora e estribo, linha e chumbada dentre outros, quiçá o que teriam indicado para os epífitos.

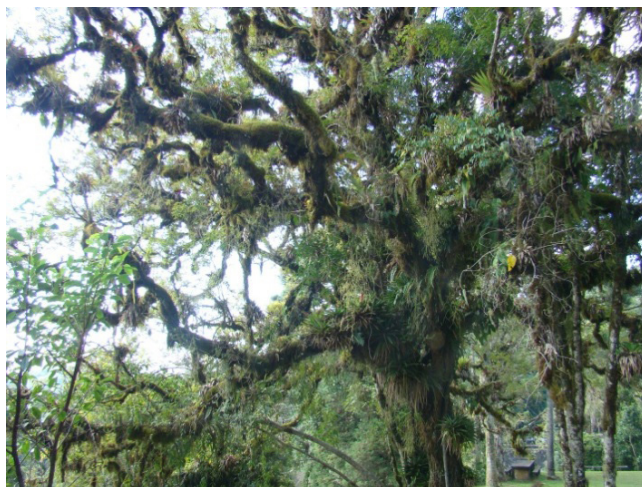


Figura 2. Exemplo de forôfito recoberto por epífitas, Serra do Mar Paranaense.

Engana-se quem considera a coleta de dados florísticos menos trabalhosa. À exceção florestas de anãs, como as altomontanas ou de restingas, a distribuição tridimensional de muitas das espécies é um grande obstáculo. Muitas espécies são pequenas e crípticas, com flores escuras, de curta duração e frequentemente se estabelecem em cima dos troncos. Outras são imensas e se instalam diretamente nos fustes, fazendo com que a simples observação com binóculos leve a grandes desvios de amostragem (Flores-Palacios & Garcia-Franco 2001): nem todas as espécies tem a mesma chance de serem amostradas (Figura 3).

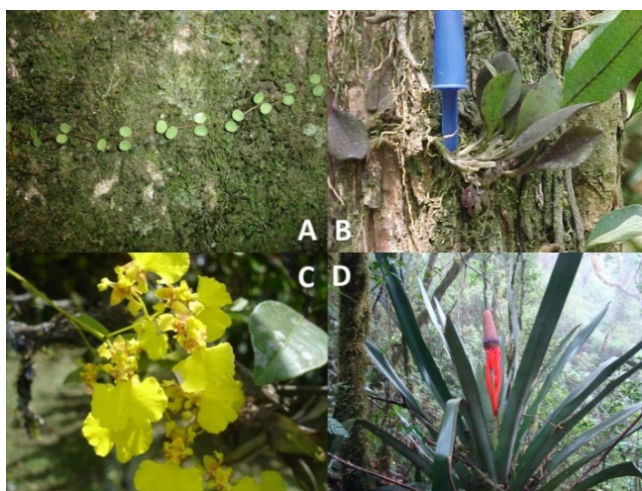


Figura 3. Diferentes espécies de epífitas que apresentam diferentes facilidades de registro. A. *Peperomia delicatula* (Piperaceae), B. *Acianthera langeana*, C. *Coppensia flexuosa* (Orchidaceae), D. *Aechmea ornata* (Bromeliaceae).

Qualquer levantamento que envolva epífitas apresenta assim, séria dificuldade logística sendo necessária a avaliação cautelosa do esforço amostral para cada caso.

Dois principais tipos de levantamentos botânicos são usualmente considerados, os florísticos (*checklist*), que têm como objetivo verificar quantas e quais espécies estão presentes; e os ecológicos ou fitossociológicos, que têm como finalidade avaliar a dinâmica ou estrutura das comunidades vegetais e incluem além da presença ou ausência de espécies, medidas (tamanho, número de indivíduos, etc.) como parâmetros. (Kersten & Galvão 2011)

A riqueza é a maneira mais intuitiva de descrever comunidades servindo de base para diversos modelos, estratégias de conservação e avaliação das taxas de extinção. Já levantamentos ecológicos buscam avaliar as relações entre espécies, dentro da comunidade vegetal, no espaço e no tempo. Referem-se assim, ao estudo quantitativo da composição, estrutura, funcionamento, dinâmica, história, distribuição e relações ambientais da comunidade vegetal (Martins 1989, Kersten & Galvão 2011).

A escalada dos forófitos é essencial em qualquer amostragem de epífitos, sejam vasculares ou avasculares. Além do pequeno tamanho de diversas espécies, regularmente a maior riqueza, diversidade e dominância geralmente estão localizados na copa interna (Kersten & Waechter 2011b), fora do campo de visão dos binóculos. Diversos artigos (ver Kersten & Waechter 2011a) relatam técnicas distintas de escalada que podem ser utilizadas nestas pesquisas.



Figura 4. A escalada dos forófitos é parte importante dos levantamentos.

Muito embora não exista ainda metodologia única para análises sobre a comunidade vegetal, é recomendável que qualquer procedimento adotado procure satisfazer os seguintes requisitos (Lamprecht 1962): 1) representar a florística e a estrutura da comunidade; 2) ser aplicável em qualquer tipo de comunidade; 3) apresentar resultados livres de influências subjetivas e 4) possibilitar a comparação dos resultados de diferentes análises e de diferentes comunidades.

Preeliminarmente ao levantamento é imprescindível a coleta de algumas informações gerais e de fácil determinação sobre o local. Recomenda-se minimamente que sejam descritos o porte da floresta, densidade aproximada de árvores, abertura do dossel, declividade do terreno e presença ou não de emergente além da presença de influência antrópica e do clima. Caso haja, uma descrição das principais espécies arbóreas e do subosque também são importantes. Evidentemente a confiabilidade de qualquer levantamento está diretamente relacionada com o rigor das coletas, herborização e depósito em herbário de todo o material botânico.

Procurando satisfazer estes critérios levantamentos quantitativos baseiam suas análises em três principais parâmetros. Estes tentam não só quantificar as espécies como também avaliar seu padrão de distribuição na comunidade (Figura 5). A **densidade** representa o número de indivíduos de cada espécie ou do conjunto de espécies que integram a comunidade por unidade de área. A **frequência** é um parâmetro relacionado com a uniformidade de distribuição. Expressa o número de ocorrências de uma dada espécie nas unidades amostrais utilizadas. Por sua vez a **dominância** procura representar a influência de cada espécie na comunidade em relação a sua biomassa. Já o termo **abundância** não apresenta definição única sendo empregado ora como sinônimo de densidade ou como o número absoluto de indivíduos, ora como de sinônimo de dominância. Na zoologia, é reconhecido como o número de indivíduos por unidade de tempo.

Nem sempre é possível, ou necessário, realizar um levantamento ecológico que atenda a todos estes requisitos. Cada situação deve ser avaliada individualmente. Por exemplo, se o objetivo do levantamento é estabelecer a diversidade da área é necessário apenas a coleta de dados de frequência (sobre os forófitos para as epífitas).



Para as epífitas a coleta dos três parâmetros nem sempre é exequível. A densidade, a exemplo do que acontece com a vegetação herbácea (Mueller-Dombois & Ellenberg 1974), raramente pode ser empregada. É utilizável apenas em locais onde o epifitismo é baixo e com a contagem de genetes (agrupamentos isolados), não de rametes (ramos individuais). Rametes funcionam apenas para alguns grupos taxonômicos demandam esforço de campo que raramente compensa.

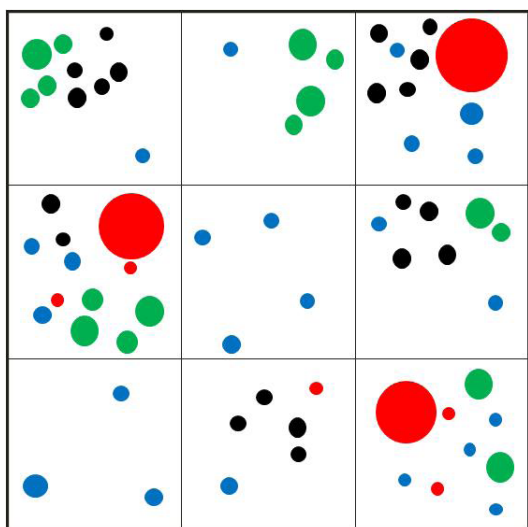


Figura 5. Representação dos principais parâmetros ecológicos no estudo de comunidades, número de indivíduos, número de parcelas em que ocorrem e tamanho dos indivíduos.

A frequência é o parâmetro mais facilmente empregável por requerer apenas a identificação de quais espécies ocorrem em cada U.A., que tanto pode ser uma árvore, como uma subdivisão desta (Figura 6).

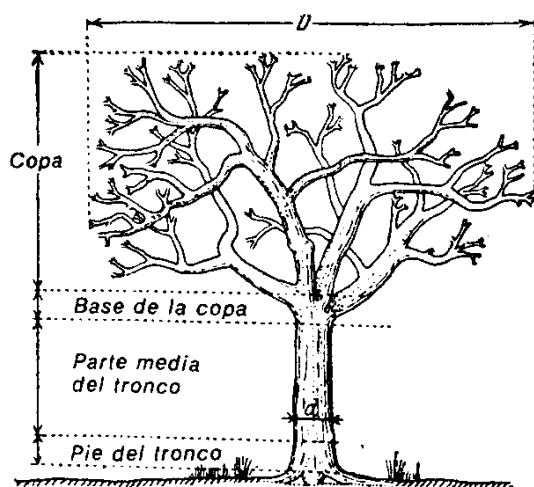


Figura 6. Esquema proposto por Braun-Blanquet (1979) para a divisão de um forófito.

Diversos parâmetros podem ser utilizados para expressar a dominância (Kersten & Silva 2002, Gonçalves & Waechter 2002, Petean 2009, Wolf et al. 2009), desde o peso real das espécies, estimativa visual de cobertura (percentual de ocupação), estimativas visual de biomassa até a contagem de folhas ou rametes.

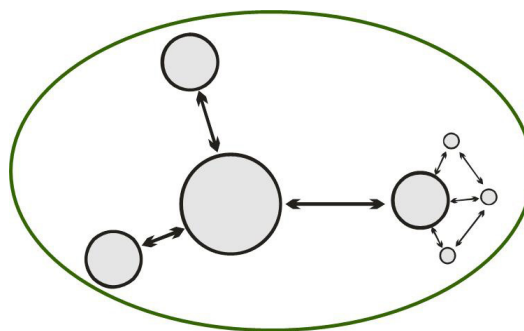


Figura 7. Os padrões de conexão de metapopulações nunca foram estudados para as epífitas.

Além da estrutura da comunidade outros parâmetros podem, e devem, ser considerados. O efeito da fragmentação sobre a vegetação epífita foi muito pouco explorado tendo sido analisado apenas o efeito de borda (Figura 8), como em Bernardi & Budke (2010) e Bataghin *et al.* (2012) por exemplo.

A relação espécie-área, os padrões de conexão, populações/meta-populações (Figura 7) e relações macroecológicas, dentre outras ainda não foram estudadas para as epífitas.

Outro fator ainda pouco avaliado, apesar de ser um dos mais simples e elementares efeitos sobre a vegetação, é a resposta das epífitas aos diferentes estágios sucessionais. Pode ser estudado com a simples repetição de qualquer metodologia em duas ou mais florestas de diferentes idades.

Nestes dois casos, recomenda-se que para cada gradiente (borda-interior ou inicial-avançada) seja realizada mais do que uma repetição para aumentar a confiabilidade dos dados.

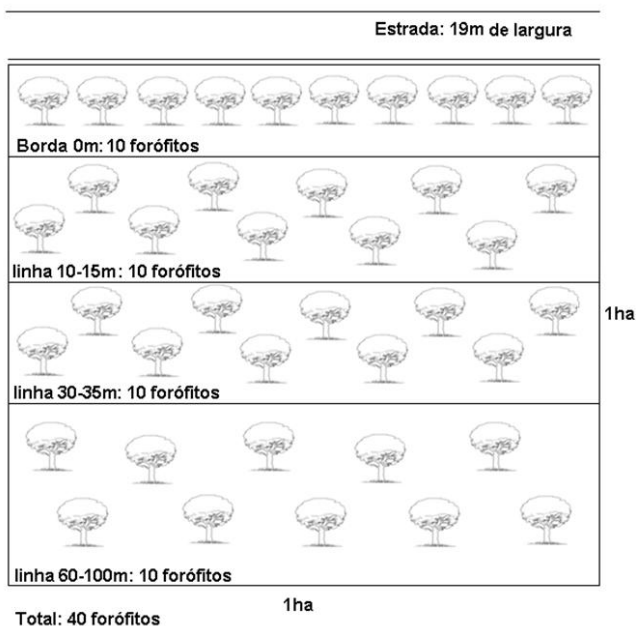


Figura 8. Esquema utilizado por Bianchi & Kersten (no prelo) para o estudo do efeito de borda sobre a vegetação epífita.

Outro parâmetro simples de ser avaliado e que pode ser considerado em qualquer levantamento sobre epífitas é o padrão de abertura do dossel sobre os forófitos (Figura 9) ou a forma das copas destes (Figura 10).

Em todos estes levantamentos podem ser considerados, além da estrutura populacional, dados de ecologia funcional das espécies como classificação quanto ao aporte de recursos (espécie de suprimento contínuo ou de suprimento-em-pulso) ou o balanço hídrico (Poiquiloídricas ou Homeoídricas estas Higrófitas, Mesófitas ou Xerófitas) (Kersten 2010). Podem ainda ser consideradas as síndromes de dispersão/polinização, divisão das folhas, espessura da folha ou da cutícula e porte dos indivíduos, dentre outros.

Talvez a maior lacuna do conhecimento seja a virtual ausência de informações sobre composição das epífitas fora de alguns estados do Sul e Sudeste do Brasil. A grande maior parte do que foi publicado até hoje está localizada no Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo. Mais recentemente, Minas Gerais tem estrada neste circuito. Estados como o Rio de Janeiro e Espírito Santo, que devem ter abrigado as mais ricas e diversas floras de epífitas da face da terra quase não tem publicações. A Amazônia é praticamente desprezada sendo registradas apenas três publicações (Pos & Slegers 2010, Irume *et al.* 2012, Obermuller *et al.* 2012).

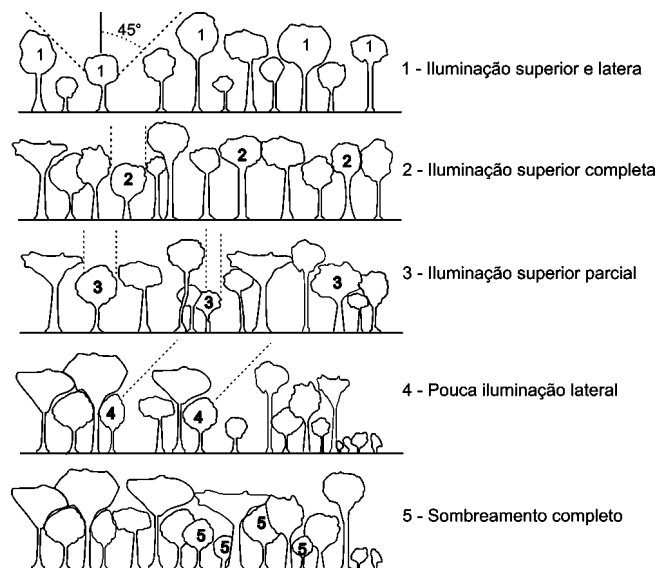


Figura 9. Classificação da posição sociológica das copas (baseado em Dawkins 1963).

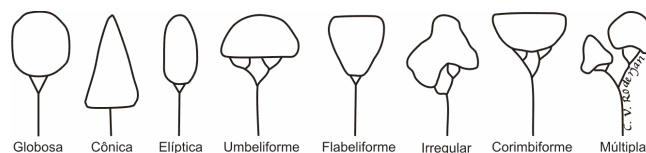


Figura 10. Padrões de formas das copas (Kersten & Waechter 2011a).

Por fim, uma das últimas fronteiras inexploradas do dossel são as interações que as epífitas fazem entre si ou com outros grupos de seres vivos (Figura 10). Os poucos trabalhos que consideraram estes fatores levaram em conta apenas interação com bromélias a exemplo de Mestre *et al.* (2001) Romero & Vasconcelos-Neto (2004), Coelho *et al.* (2005) e Romero *et al.* (2005, 2007). Apesar do grande avanço nos estudos sobre o dossel, resta-nos, felizmente, ainda há muito que aprender e estudar. Como disse um dia Nalini Nadkarni: a última grande fronteira do conhecimento; o 7º continente do planeta.

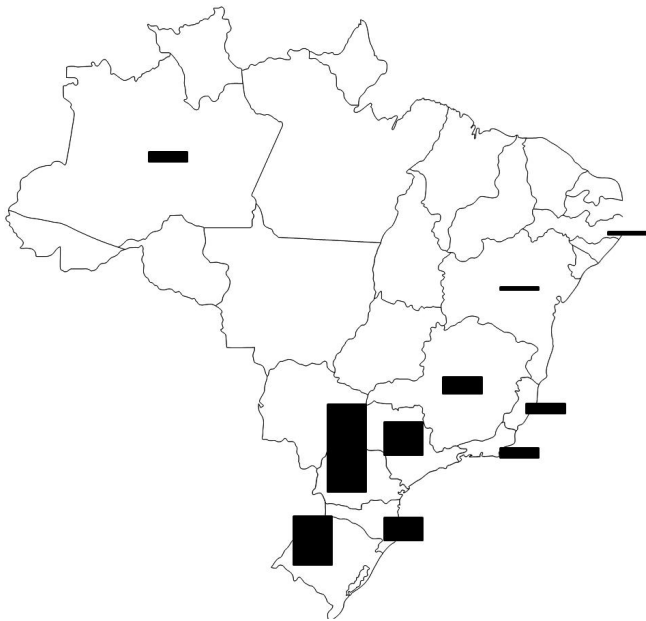


Figura 11. Distribuição das Publicações sobre epífitas vasculares nos estados do Brasil. A altura da barra representa o número de artigos encontrados.



Figura 12. Exemplos de interações da flora epífita A. Plântulas utilizando o fitotelma de uma *Vriesea incurvata*, B. Centenas de *Tillandsia malleontii* sobre *Lagerstroemia indica* em Curitiba, C. Mimercofilia em *Aechmea recurvata*, D. Fitófagos em inflorescência de *Pleurobotryum hatschbachii*.

## Referências Bibliográficas

Bataghin, F.A.; Pires, J.S.R. & Barros, F. 2012. Epifitismo vascular em sítios de borda e interior em Floresta Estacional Semidecidual no Sudeste do Brasil. **Hoehnea** 39(2): 235-245

Bernardi, S. & Budke, J. C. 2010. Estrutura da sinúsia epifítica e efeito de borda em uma área de

transição entre Floresta Estacional Semidecídua e Floresta Ombrófila Mista. **Floresta** 40: 81-92.

Biachi, J.S. & Kersten, R.A. no prelo. Efeito de borda sobre a sinúsia epifítica vascular em um fragmento de mata atlântica no Paraná. **Acta Botanica Brasilica**.

Coelho, M.S.; Santos, R.L.; Almeida, M.G. & Almeida, E. 2005. Macrofauna associada à fitotelmo de *Hohenbergia* sp. (bromeliaceae) em fragmento de mata atlântica da escola agrícola de Jundiá, Macaíba (RN, Brasil). **Anais**, Congresso de Ecologia do Brasil de 20 a 25 de novembro de 2005, Caxambu, MG.

Dawkins, H.C. 1963. Crown diameters: their relationship to bole diameter in tropical trees. **Commonwealth Forest Review** 42: 318-333.

Fidalgo, O & Bononi, V.L.R. 1984. Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. Manual técnico do Instituto de Botânica de São Paulo. nº 4.

Flores-Palacios, A. & Garcia-Franco J.G. 2001. Sampling methods for vascular epiphytes, their effectiveness in recording species richness and frequency. **Selbyana** 22:181-191

Gonçalves, C.N. & Waechter, J.L. 2003. Aspectos florísticos e ecológicos de epífitos vasculares sobre figueiras isoladas no norte da planície costeira do rio grande do sul. **Acta botanica Brasilica** 17: 89-100

Irume, M.V. Morais, L.C.S.; Zartman, C.E. & Amaral, I.L. 2013. Floristic composition and community structure of epiphytic angiosperms in a terra firme forest in central Amazonia. **Acta Botanica Brasilica** 27(2): 378-393. 2013.

Kersten R.A., 2010. Epífitas vasculares – Histórico, participação taxonômica e aspectos relevantes, com ênfase na Mata Atlântica. **Hoehnea** 37(1): 9-38.

Kersten, R.A. & Silva, S. M. 2002. Florística e estrutura do componente epifítico vascular em Floresta Ombrófila Mista Aluvial do rio Barigüi, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. 25(3): 259-267

Kersten. R.A. & Galvão, F. 2011. Suficiência amostral



- em inventários florísticos e fitossociológicos. In: J.M. Felfili, P.V. Eisenlohr, M.M.R.F. Melo, L.A. Andrade & J.A.A. Meira Neto (Eds). **Fitossociologia no Brasil: métodos e estudos de caso**. Editora UFV Viçosa. Pp. 156-173.
- Kersten. R.A. & Waechter, J.L. 2011a. Métodos quantitativos no estudo de comunidades epifíticas. In: J.M. Felfili, P.V. Eisenlohr, M.M.R.F. Melo, L.A. Andrade & J.A.A. Meira Neto (Eds). **Fitossociologia no Brasil: métodos e estudos de caso**. Editora UFV. Viçosa. Pp. 231-254. ISBN 9788572694063
- Kersten. R.A. & Waechter, J.L. 2010b. Florística e Estrutura das epifitas vasculares em zona ecotonal entre as Florestas Ombrófilas Mista e Densa, vertente oeste da Serra do Mar paranaense. In: J.M. Felfili-Fagg, P.V. Eisenlohr, M.M.R.F. Melo, L.A. Andrade & J.A.A. Meira Neto (Eds). **Fitossociologia no Brasil: métodos e estudos de caso**, v.1.
- Lamprecht, H. 1962. Ensayo sobre unos métodos para el análisis estructural de los bosques tropicales. **Acta Científica Venezolana** 13(2): 57-65.
- Martins, F.R. 1989. Fitossociologia de florestas do Brasil: um histórico bibliográfico. **Pesquisas série Botânica** 40:103-164.
- Mestre, L.A.M.; Aranha, J.M.R. & Esper, M.D.P. 2001 Macroinvertebrate fauna associated to the bromeliad *Vriesea infata* of the Atlantic Forest (Parana State, southern Brazil). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 44: 89 - 94.
- Mueller-Dombois, E. & Ellenberg, H. 1974. **Aims and methods of vegetation ecology**. Ed. John Wiley & Sons, Nova York.
- Nadkarni, N.M.; Parker, G. G.; Rinker H. B. & Jarzen, D. M. 2004. The Nature of Forest Canopies. In **Forest Canopies** (ed. M. D. Lowman & H. B. Rinker). Elsevier, Burlington. Pp. 3-23.
- Obermuller, F.A.; Silveira, M.; Salimon, C.I. & Daly, D.C. 2012. Epiphytic (including hemiepiphytes) diversity in three timber species in the southwestern Amazon, Brazil. **Biodivers Conserv** (2012) 21:565–575
- Petean, M. P. 2009. **O componente epifítico vascular em Floresta Ombrófila Densa no litoral paranaense: análise florística, estrutural e de biomassa**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Pos, E.T. & Slegers, A.D.M. 2010. Vertical distribution and ecology of vascular epiphytes in a lowland tropical rain forest of Brazil. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Nat.** 5 (3): 335-344.
- Romero, G.Q. & Vasconcellos-Neto, J. 2004. Spatial distribution patterns of jumping spiders associated with terrestrial bromeliads. **Biotropica** 36: 596-601.
- Romero, G.Q. & Vasconcellos-Neto, J. 2005. Spatial distribution and microhabitat preference of *Psecas chapoda* (Peckham & Peckham) (Araneae, Salticidae). **The Journal of Arachnology** 33:124–134.
- Romero, G.Q.; Santos, A. J.; Wienskowski, E. H. & Vasconcellos-Neto, J. 2007. Association of two new *Coryphasia* species (Araneae, Salticidae) with tank-bromeliads in southeastern Brazil: habitats and patterns of host plant use. **The Journal of Arachnology** 35:181–192.
- Wolf, J.H.D.; Gradstein, R.S. & Nadkarni, N.M. 2009. A protocol for sampling vascular epiphyte richness and abundance. **Journal of Tropical Ecology** 25:107–121

# Morfofisiologia de epífitas: samambaias como estudo de caso

**Bruno Degaspari Minardi, Ana Paula Lorenzi Voytena, Marisa Santos  
& Áurea Maria Randi<sup>1</sup>**

Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

<sup>1</sup> Autor para correspondência: amrandi@ccb.ufsc.br

O Domínio da Mata Atlântica é um ecossistema complexo de grande importância, abrigando uma quantidade significativa da diversidade biológica do Brasil e do mundo (Mittermeier *et al.* 2004). Estima-se que 95% da Floresta Atlântica estão localizados em território brasileiro e o restante dividido entre argentinos e paraguaios (Tabarelli *et al.* 2005). Estudos filogenéticos recentes revelaram uma dicotomia basal dentro do grupo das plantas vasculares, separando-as em duas linhagens evolutivas distintas: Lycophyta (menos de 1% das plantas vasculares existentes) e Euphyllophyta (Smith *et al.* 2006), no qual pertencem as plantas com sementes e as samambaias.

O táxon Polypodiopsida inclui o grupo das samambaias leptosporangiadas, com mais de 11.000 espécies distribuídas em várias famílias e que compreende a maioria das plantas que são vulgarmente chamadas de samambaias ou fetos (Pryer *et al.* 2004; Smith *et al.* 2006). As samambaias constituem um importante grupo de organismos da flora brasileira, muito dependentes das condições climáticas presentes na Floresta Atlântica. Elas apresentam uma gama de adaptações, incluindo plantas terrícolas, epífitas, hemiepífitas, rupícolas, aquáticas, escandentes, variando desde plantas minúsculas com alguns milímetros de comprimento até formas arborescentes atingindo 20 metros. Segundo Madison (1977), epífitas são plantas que não possuem conexões diretas com o solo, utilizam-se de suporte, mas não nutrientes, dos forófitos em que se apoiam. O habitat epifítico é um local onde, mesmo em florestas tropicais úmidas, plantas sem contato direto com o solo estão expostas às secas recorrentes, e características xerófitas estão sendo encontradas e estudadas em diversas epífitas

(Hietz 2010). As epífitas compõem aproximadamente 10% de toda a flora vascular (Kress, 1986). A maioria das angiospermas epífitas é monocotiledônea (65%), destacando-se Orchidaceae e Bromeliaceae, seguida das samambaias (15,4%), com destaque para Polypodiaceae e Dryopteridaceae (Kersten 2010). Enquanto aproximadamente 1/3 das samambaias são classificadas como epífitas, somente uma pequena porção destas podem ser classificadas como xerófitas (Hietz 2010).

Uma das mais importantes adaptações fisiológicas de plantas epífitas, incluindo algumas samambaias epífitas, ao déficit hídrico é a via do metabolismo ácido das Crassuláceas (CAM), que permite a assimilação do CO<sub>2</sub> mesmo em condições de estresse hídrico e alta irradiância (Benzing 1986; Kluge *et al.* 1989). As plantas CAM desenvolveram uma estratégia metabólica em que a absorção noturna de CO<sub>2</sub> ocorre com o aumento da umidade relativa do ar, quando os estômatos estão abertos durante o período noturno. Desta forma, as plantas CAM, apresentam um tipo muito específico de concentração do CO<sub>2</sub> atmosférico, permitindo o aumento da eficiência no uso da água (Taiz & Zeiger, 2010). Dentre a grande variedade de samambaias epífitas da Mata Atlântica, podemos citar as espécies *Elaphoglossum luridum* (Fée) H. Christ. (Dryopteridaceae), *Vittaria lineata* (L.) Smith (Pteridaceae) e a espécie tolerante à dessecação *Pleopeltis pleopeltifolia* (Raddi) Alston (Polypodiopsida, Polypodiaceae) estudadas neste trabalho.

Segundo Hietz (2010), a tolerância à dessecação se refere à habilidade para sobreviver a uma perda quase total de água nos tecidos: cerca de 90% do conteúdo de água de uma folha. Neste teor

de água, o tecido da planta pode estar em equilíbrio com o ar ambiente, então não há mais perda de água a menos que o ar fique mais seco ou mais quente. Esta enorme redução no conteúdo de água resulta em mudanças na forma da célula, na concentração de solutos e nos estados de hidratação da membrana e de macromoléculas. Poucas plantas são capazes de sobreviver a estas mudanças, levando a um grande estresse ao nível celular. Plantas que sobrevivem a esta extrema perda de água são tolerantes à dessecação, que é, portanto, uma importante estratégia de sobrevivência para muitas samambaias xerófitas (Hietz 2010). O aminoácido prolina é de considerável interesse biológico em situações de resistência ao estresse hídrico em plantas, sendo demonstrado seu acúmulo nessas situações e o decaimento rápido de seus níveis após reidratação (Schobert & Tscheche 1978). Este aminoácido, em solução aquosa, apresenta diversas características não usuais para substâncias com baixo peso molecular, sendo sua solubilidade, densidade e viscosidade características de coloides hidrofílicos (Schobert & Tscheche 1978). Os açúcares podem proteger as células durante períodos de dessecação severa através da vitrificação, sendo que através deles um líquido supersaturado é produzido com as propriedades de um sólido (Ingram & Bartels 1996).

Considerando-se o número reduzido de informações sobre a anatomia e a fisiologia de samambaias epífitas, foram analisadas caracterizações anatômicas e aspectos da fisiologia com o objetivo de observar caracteres importantes para a sobrevivência destas espécies em ambientes sujeitos ao estresse hídrico. Os materiais botânicos foram coletados na Unidade de Conservação Desterro – UFSC (UCAD), Florianópolis, SC, sendo cultivados na casa de vegetação do Depto de Botânica.

Medições do teor de água baseadas em massa fresca e seca de um tecido têm sido substituídas, por equações que incluem medidas com base na quantidade máxima de água que um tecido é capaz de reter, denominada massa túrgida (Barrs 1968). Essas medidas são referidas como conteúdo relativo de água e podem ser expressas por CRA (%) =  $[(MF - MS) / (MT - MS)] * 100$ , onde MF, MS e MT são, respectivamente, massa fresca, seca e túrgida do tecido (Barrs 1968). Os fluorímetros de amplitude modulada, comumente chamados de PAM, fornecem um modo para realizar medições rápidas e precisas de diversos parâmetros fotossintéticos associados à fluorescência da clorofila

a (Genty *et al.* 1989; Krause & Weis 1991; Bilger *et al.* 1995; Gloag *et al.* 2007). Segundo Ritchie (2008), a utilização de curvas rápidas de luz (RLC), fotossíntese (P) versus irradiância (E) é mais simples para análise de fotossíntese quando comparada às análises utilizando-se eletrodo de oxigênio, fixação do <sup>14</sup>C ou o analisador de gás infravermelho (IRGA). A aplicação de ácido abscísico (ABA) exógeno é bastante utilizada em estudos de fisiologia do estresse sob diferentes aspectos: indução do metabolismo CAM em plantas CAM facultativas, substituindo o estresse hídrico e salino (Chu *et al.* 1990), na análise dos efeitos do ABA sobre a estabilidade das membranas, conteúdo de pigmentos fotossintéticos e no conteúdo relativo de água (Gadallah 1995), entre outros. De acordo com Horton (1971), aplicação de ABA induz fechamento estomático em folhas epidérmicas de angiospermas. Em contraste, Brodribb e McAdam (2011) e McAdam e Brodribb (2012) mostraram que estômatos de licófitas e samambaias não respondem ao ABA. Um dos métodos mais utilizados para a detecção do metabolismo CAM é o método enzimático para a detecção de malato, que é simples, rápido, confiável e vem sendo muito utilizado em trabalhos científicos buscando a determinação do metabolismo fotossintético de plantas (Pierce *et al.* 2002; Rut *et al.* 2008).

As espécies estudadas apresentam características anatômicas relacionadas às condições de estresse hídrico, tais como: frondes coriáceas a cartáceas, que apresentam suculência, cutícula espessa, células epidérmicas com paredes periclinais espessas e estômatos, restritos a face abaxial. A espécie *V. lineata* apresentou aerênquima que deve estar envolvido com acúmulo de CO<sub>2</sub> proveniente da respiração mitocondrial noturna, já que essas plantas apresentam restrição no número e localização de estômatos, restritos a dois sulcos presentes na superfície abaxial da folha. Nos sulcos, encontram-se também paráfises, esporângios e tricomas glandulares. Em *E. luridum*, no mesofilo encontram-se células com grandes vacúolos, cuja função é a armazenagem de água. Já *P. pleopeltifolia* é uma espécie tolerante à dessecação que sofre desidratação durante os períodos de estiagem das chuvas, mas que se reidrata poucas horas após receber água. Essa espécie não apresentou nenhum tecido específico para a reserva de água, porém as células do clorênquima, bem como as epidérmicas podem conter vacúolos com reserva hídrica, contudo, como não são especializadas nesta função, facilmente perdem água, advindo

disto a murcha, mas também podem facilmente reidratar-se. As células epidérmicas apresentam formas variadas, tendendo ao alongamento e paredes celulares anticlinais sinuosas. Segundo Krauss (1949), as sinuosidades representam adaptações mecânicas, evitando o colapso celular durante os movimentos de expansão e contração da folha pela entrada e saída de água. Em ambas as faces da fronde de *P. pleopeltifolia* ocorrem tricomas do tipo escamas. Tem sido demonstrada a contribuição de tricomas foliares na absorção de água, principalmente em espécies com alta resistência cuticular, mesmo que a sua estrutura não seja tão desenvolvida como a dos tricomas das bromélias (Hietz & Briones 1998). As análises fisiológicas demonstraram uma grande capacidade de manutenção hídrica em *E. luridum* e *V. lineata*, pois, mesmo em condições de estresse hídrico e aplicação de ABA exógeno, as espécies não apresentaram alterações significativas no CRA, mantendo altos níveis. Nas análises da concentração de pigmentos fotossintéticos, as plantas submetidas aos tratamentos de estresse demonstraram quedas significativas nos níveis de clorofila *a* e *b*; todavia as concentrações de carotenoides mantiveram-se estáveis. Os parâmetros fotossintéticos ( $\alpha$ , Eoptimum e ETRmax), obtidos através das curvas rápidas de luz (RLC's), apresentaram quedas significativas após os tratamentos de estresse hídrico e aplicação de ABA. Em *E. luridum*, não foram encontradas evidências do metabolismo ácido das crassuláceas (CAM). Em *V. lineata*, plantas submetidas ao estresse hídrico por sete dias e à aplicação exógena de ABA, apresentaram aumentos significativos nas concentrações de  $\Delta$ Malato, demonstrando uma acidificação noturna e revelando uma regulação positiva do metabolismo CAM. Assim, a espécie *V. lineata* pode alterar o modo de fixação de carbono da via C3 para CAM, em resposta ao déficit hídrico e aplicação exógena de ABA. No presente trabalho foi evidenciada pela primeira vez a presença do metabolismo CAM facultativo na espécie *V. lineata*, sendo a primeira espécie CAM facultativa do grupo das samambaias. Plantas de *P. pleopeltifolia* foram submetidas a diferentes tratamentos de desidratação (0, 5, 10 e 15 dias) e reidratação (1 dia). Partindo de um CRA inicial médio de 85,83%, os esporófitos apresentaram um declínio notável no conteúdo de água, quando mantidos sem irrigação, além do evidente murchamento e enrolamento foliar. Em apenas cinco dias, ocorreu uma redução de 83,1% no conteúdo de água, passando para um CRA médio de 14,5%. Após este período inicial, as

plantas passaram para um estado estável de seca sendo mantida uma média de 12,9% de CRA aos dez dias de desidratação e 9,6% aos quinze dias. Durante o tratamento de reidratação, as plantas reidrataram totalmente, ocorrendo um aumento de 87,8% no conteúdo de água, sendo que as frondes recuperaram sua morfologia original, como a observada em frondes hidratadas. Durante os cinco dias iniciais dos tratamentos de desidratação, ocorreram decréscimos tanto nos conteúdos de clorofila *a* e clorofila *b*, bem como, no conteúdo de clorofilas totais. O conteúdo de carotenoides também diminuiu durante a dessecação. Na reidratação, ocorreu uma recuperação parcial no conteúdo de clorofilas e carotenoides. As plantas submetidas aos dez e quinze dias de desidratação tiveram reduções, tanto nos valores de Pmax bem como no  $\alpha$ , atingindo zero em todos estes parâmetros nos quinze dias de desidratação. A Eoptimum foi diferente apenas nas plantas submetidas aos quinze dias de desidratação, atingindo valor nulo. A partir dos dez dias de desidratação, decaimentos notáveis na inclinação ( $\alpha$ ) das curvas rápidas de luz, bem como na amplitude das mesmas foram perceptíveis, sendo que não foi possível a detecção da fluorescência da clorofila *a* nos indivíduos submetidos aos quinze dias de desidratação, gerando uma taxa de transporte de elétrons (ETR) nula. O conteúdo de prolina em frondes não foi alterado durante a desidratação, sugerindo que este aminoácido não atua como soluto compatível na espécie em tratamentos de estresse hídrico. Contudo, um incremento na concentração de açúcares é perceptível nos dez primeiros dias de tratamento de seca, sendo que em apenas cinco dias de desidratação ocorreu um aumento de 204% neste conteúdo, em relação às plantas hidratadas. Na reidratação, ocorreu um decréscimo no nível de açúcares, voltando aos valores próximos aos encontrados em folhas hidratadas. Os dados obtidos sugerem a atuação dos açúcares como solutos compatíveis, podendo favorecer um possível ajustamento osmótico para a espécie em situações de dessecação, além da possibilidade de vitrificação.

Neste estudo foram encontradas relevantes adaptações morfo-fisiológicas ao stress hídrico para três espécies de samambaias epífitas analisadas.



## Agradecimentos

Ao projeto “Rede de Epífitas” (PNADB-CAPES) pelas bolsas de mestrado concedidas a Ana P. L.Voytena e Bruno D. Minardi. Ao CNPq pelas bolsas PQ2 concedidas á Dra Áurea M. Randi e á Dra. Marisa Santos.

## Referências bibliográficas

- Barrs, H.D. & Weatherley, P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. – **Australian Journal of Biological Sciences** **15**:413-428.
- Benzing, D. H. 1986. The vegetative basis of vascular epiphytism. **Selbyana** **9**: 23-43.
- Bilger, W.; Schreiber, U. & Bock, M. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia** **102**(4): 425-432.
- Brodribb, T.J. & McAdam, S.A.M. 2011. Passive origins of stomata control in vascular plants. **Science** **331**: 582-585,
- Chu, C., Dai, Z., Ku, M. S. B. & Edwards, G. E. 1990. Induction of Crassulacean acid metabolism in the facultative halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* by abscisic acid. **Plant Physiology** **93**: 1253–1260.
- Gadallah, M. A. A. 1995. Effect of water stress, abscisic acid and proline on cotton plants. *Journal of Arid Environments* **30**: 315-325.
- Genty, B.; Briantais, J. M. & Baker, N. R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* **900**: 87-92.
- Gloag, R. S.; Ritchie, R. J.; Chen, M.; Larkum, A. W. D. & Quinnell, R. G. 2007. Chromatic photoacclimation, photosynthetic electron transport and oxygen evolution in the chlorophyll d-containing oxyphotobacterium *Acaryochloris marina*. **Biochimica et Biophysica Acta** **1767**(2): 127-35.
- Hietz, P. 2010. Fern adaptations to xeric environments. *In*: Mehltreter, K.; Walker, L. R.; Sharpe, J. M. **Fern Ecology**. New York: Cambridge University Press. p. 140–170.
- Horton, R. F. 1971. Stomatal opening: the role of abscisic acid. **Canadian Journal of Botany** **49**: 583-85.
- Ingram, J. & Bartels, D. 1996. The Molecular Basis of Dehydration Tolerance in Plants. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology** **47**: 377-403.
- Kersten, R. de A. 2010. Epífitas vasculares – Histórico, participação taxonômica e aspectos relevantes, com ênfase na Mata Atlântica. **Hoehnea** **37**,(1) 9-38.
- Kluge, M., Avadhani, P. N. & Goh, C. J. 1989. Gas Exchange and water relations in epiphytic tropical ferns. *In*: U. Lüttge (ed.). *Vascular Plants as Epiphytes*. Ecological Studies 76. Springer-Verlag, Berlin. p. 87-109.
- Krause, G. H. & Weis, E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics. **Annual Review of Plant Physiology** **42**: 313-349.
- Krauss, B. H. 1949. Anatomy of the vegetative organs of Pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr II – The leaf. **Botanical Gazette** **110**: 333-404.
- Kress, W. J. 1986. A symposium: the biology of tropical epiphytes. **Selbyana**. **9**: 1-22.
- Lamourex, J.; Fonseca, G. A. B. 2004. **Hotspots revisited**. Cemex, Mexico City, 392p.
- Madison, M. 1977. Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. **Selbyana** **2**:1-13.
- McAdam, S. A M. & Brodribb, T. J. 2012. Stomatal innovation and the rise of seed plants. – *Ecol letters*. **15**: 1–8,
- Mittermeier, R. A.; Gil, P. R.; Hoffmann, M.; Pilgrim, J.; Brooks, T.; Mittermeier, C. G.; Lamourex, J. & Fonseca, G. A. B. 2004. **Hotspots revisited**. Mexico City, Cemex.
- Pierce, S.; Winter, K. & Griffiths, H. 2002. The role of CAM in high rainfall cloud forests: an *in situ* comparison of photosynthetic pathways in Bromeliaceae. **Plant, cell and the environment** **25**: 1187-1189.
- Pryer, K. M.; Schuettpelz, E.; Wolf, P. G.; Schneider, H.;

- Smith, A. R. & Cranfill, R. 2004. Phylogeny and evolution of ferns (Monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. **American Journal of Botany** **91**, 1582-1598.
- Ritchie, R. J. 2008. Fitting light saturation curves measured using modulated fluorometry. **Photosynthetic Research** **96**(3): 201-15.
- Rut, G.; Krupa, J. & Rzepka, A. 2002. Effects of simulated osmotic drought on intensity of gaseous exchange in gametophytes of the fern *Platyserium bifurcatum*. In: **Ecophysiology of Plant Stress**. Proceedings of the 5th International Conference. 75-78.
- Smith, A. R.; Pryer, K. M.; Schuettpelz, E.; Korall, P.; Schneider, H. & Wolf, P. G. 2006. A classification for extant ferns. **Taxon** **55**(3): 705-731.
- Schobert, B. & Tschesche, H. 1978. Unusual solutions properties of prolina and its interaction with proteins. **Biochimica et Biophysica Acta** **541**: 270-277.
- Tabarelli, M.; Pinto, L. P.; Silva, J. M. C. & Hirota, M. M. 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade** **1**(1): 132-138.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2010. **Plant Physiology**. 5.ed. Massachusetts, Sinauer Associates.

# Morfogênese vegetal em resposta ao estresse biótico da indução de galhas

**Anete Teixeira Formiga**

Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.  
aneteformiga@gmail.com

Dentre as relações ecológicas entre plantas e animais, aquelas estabelecidas entre insetos galhadores e plantas hospedeiras são notavelmente especializadas, determinando a morfogênese de estruturas anômalas ao crescimento vegetal padrão. Os insetos galhadores induzem alterações morfológicas específicas em suas plantas hospedeiras que são cruciais para sua sobrevivência (Mani 1964, 1992), pois os tecidos da galha nutrem e abrigam esses insetos durante seu desenvolvimento endofítico.

A maioria das plantas hospedeiras abriga um único inseto indutor, porém as super-hospedeiras merecem especial atenção por abrigarem uma comunidade de insetos galhadores, respondendo diferentemente aos estímulos promovidos por cada *taxa* de inseto. Neste caso, as galhas são entendidas como o fenótipo estendido dos seus indutores, dadas as características conservativas de sua morfogênese. As super-hospedeiras constituem modelos interessantes de estudo, devido à possibilidade de se comparar as modificações específicas induzidas por cada indutor no mesmo potencial genético de uma única espécie de planta hospedeira. Essas modificações são produzidas por uma série de reações celulares que ocorrem em resposta ao estímulo contínuo produzido pelo galhador (Mani 1964, Oliveira *et al.* 2010, Formiga *et al.* 2011, Isaias *et al.* 2011, Oliveira *et al.* 2011, Formiga *et al.* 2012).

O padrão de expansão e divisão celular nos diferentes tecidos vegetais tem papel preponderante na determinação do formato final dos órgãos vegetais. Sendo as galhas consideradas órgãos neoformados, o estudo de sua ontogênese permite definir quais são as células do órgão hospedeiro que mais se modificam e como a alteração de seus destinos leva à variedade de formas observadas na natureza (Moura *et al.* 2009, Oliveira & Isaias 2009, Isaias *et al.* 2011), ou seja os morfotipos de galhas (Isaias *et al.* 2013). Estas formas são determinadas por meio de diferentes graus de complexidade, sendo consideradas galhas mais simples aquelas que mais se assemelham ao órgão hospedeiro na condição não-galhada (Formiga *et al.* 2013). Além das alterações estruturais específicas de cada galha, a análise comparativa entre morfotipos induzidos em um mesmo hospedeiro permite traçar padrões de similaridade estrutural entre as galhas, dependentes de suas plantas hospedeiras e dos *taxa* de indutores (Rohfritsch 1992).

Apesar de as galhas serem consideradas como fenótipos estendidos dos galhadores (Dawkins 1982, Stern 1995, Crespi *et al.* 1997, Stone & Cook 1998, Stone & Schonrogge 2003, Raman 2011), as plantas hospedeiras também são determinantes para a estrutura final da galha, uma vez que estas são formadas exclusivamente por células vegetais e se desenvolvem dentro de limites morfogênicos restritivos destas plantas (Isaias & Oliveira 2011, Isaias & Oliveira 2012,

Formiga *et al.* 2013). Os diferentes insetos galhadores associados às super-hospedeiras atuam dentro de limites morfogênicos impostos por elas, induzindo, contudo, o desenvolvimento de diferentes morfotipos de galhas. Isto indica que os indutores têm capacidades distintas de estimular o *pool* gênico de suas hospedeiras, mas são incapazes de expressar caracteres que não estejam previamente determinados pelo genoma vegetal, o que determina o aparecimento de padrões conservativos. Um dos gêneros com muitas hospedeiras de galhas é *Baccharis*, cujas espécies têm sido objeto de estudos ecológicos (Burkhardt *et al.* 2004; Fagundes *et al.* 2005; Carneiro *et al.* 2006; Fernandes *et al.* 2007), morfológicos (Arduin & Kraus 2001; Arduin *et al.* 2005) e anatômicos (Oliveira & Bastos 1998; Arduin & Kraus 2001; Pegorini *et al.* 2008). *Baccharis reticularia* DC. (Asteraceae) é uma super-hospedeira de insetos galhadores, com três morfotipos de galhas foliares induzidos por diferentes insetos (Figura 1 A-C).

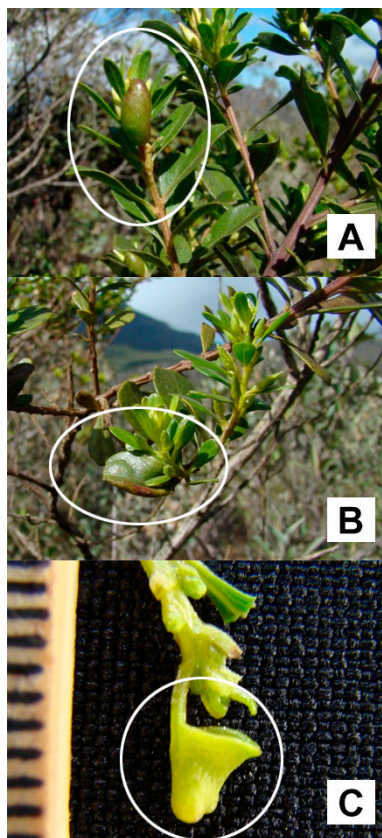


Figura 1. A-C - Aspectos gerais das galhas foliares em *Baccharis reticularia*. A – Galha reniforme. B – Galha de enrolamento. C – Galha em bolso. Galhas destacadas pelos círculos pontilhados.

Diagnoses morfológicas sobre as galhas na região neotropical tiveram seu início com os trabalhos de Tavares publicados entre 1906 e 1925) que apresentavam desenhos esquemáticos das galhas, identificação da planta hospedeira, muitas vezes em nível de família ou gênero, e o galhador comumente não identificado. Desde estes primeiros esforços, os trabalhos sobre galhas neotropicais avançaram para abordagens ecológicas (Lara *et al.* 2008; Carneiro *et al.* 2009; Coelho *et al.* 2009; Maia *et al.* 2009), morfológicas e anatômicas (Kraus *et al.* 1993; Arduin *et al.* 1994; Kraus *et al.* 1996; Kraus *et al.* 1998; Kraus & Tanoue 1999; Souza *et al.* 2000) durante o século XX. No século XXI, o interesse no desenvolvimento anatômico (Formiga *et al.* 2009, Oliveira & Isaias 2009, Sá *et al.* 2009), aliado a investigações bioquímicas e fisiológicas ajudaram na compreensão do metabolismo das galhas (Oliveira & Isaias 2009, Campos *et al.* 2010, Oliveira & Isaias 2010, Oliveira *et al.* 2011).

Os tecidos vegetais são alterados nos três sistemas de tecidos, sendo que a epiderme mantém-se, via-de-regra unisseriada, o sistema vascular é pouco alterado, enquanto o sistema fundamental apresenta o maior grau de adaptabilidade. Do mesofilo em galhas, foliares e do córtex ou medula em galhas caulinares, são originados tecidos altamente especializados nas galhas. Células parenquimáticas são rediferenciadas em tecido nutritivo, tecido mecânico e tecido de reserva, conferindo adaptabilidade nutricional ou de proteção contra inimigos naturais ao galhador. Tais alterações teciduais diretamente ligadas ao morfotipo da galha são repetitivas e constantes na natureza, permitindo que as galhas sejam utilizadas como modelos elegantes para estudos de desenvolvimento e metabolismo vegetal, e de ciclos celulares.

O estudo de alterações estruturais e metabólicas decorrentes da indução de galhas avança também, neste século, pela análise de variações da composição e orientação dos componentes da parede celular (*sensu* Baskin 2005). Estudos recentes têm demonstrado que a imunolocalização de compostos das paredes celulares permite uma nova abordagem para a



compreensão dos padrões de desenvolvimento de tecidos vegetais, utilizando galhas de insetos como modelo (Formiga *et al.* 2013). A parede celular é uma estrutura complexa, formada por uma matriz de microfibrilas de celulose e hemiceluloses, polissacarídeos pectícos e glicoproteínas. Alterações pectícas podem ocorrer durante o processo de diferenciação celular e desenvolvimento da planta (Knox *et al.* 1990, Albersheim *et al.* 2010) e mesmo quando as celuloses e hemiceluloses estão ausentes, as pectinas podem manter a integridade das paredes celulares (Dolan *et al.* 1997, Albersheim *et al.* 2010).

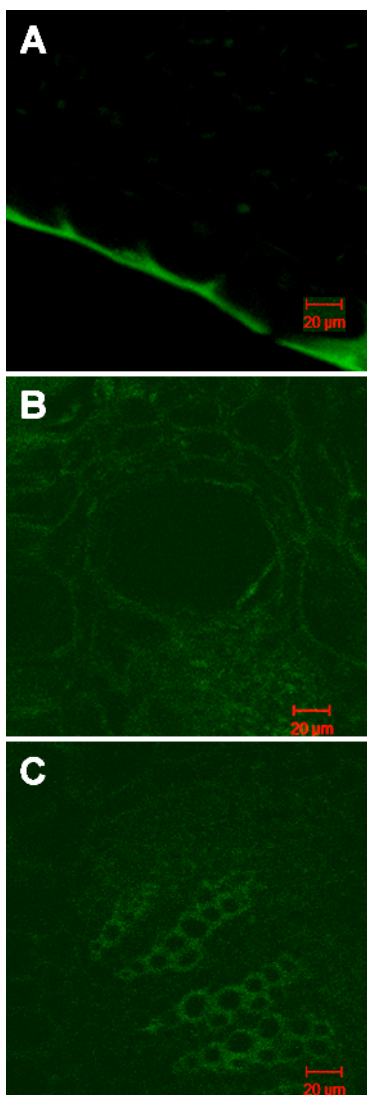


Figura 2. A-C - Imunofluorescência para localização de componentes pectícos da parede celular das galhas foliares de *Baccharis reticularia*. A – anticorpo monoclonal LM6, epiderme da galha reniforme. B – anticorpo monoclonal JIM5, ducto da galha de enrolamento. C – anticorpo monoclonal JIM5, feixe vascular da galha em bolso.

Tais alterações podem determinar mudanças estruturais e/ou funcionais na parede possivelmente ligadas ao estresse sofrido pela planta no momento da indução da galha. Sendo assim, a composição das paredes celulares vegetais é fator determinante do formato e das novas funções dos tecidos das galhas (Formiga *et al.* 2013). As marcações feitas pelos anticorpos monoclonais LM2, LM5, LM6, JIM5 e JIM7 em galhas foliares (Figura 2) e folhas não galhadas de *Baccharis reticularia* indicaram modificações na composição das paredes celulares dos morfotipos de galhas foliares quando comparadas às folhas não galhadas e demonstraram a ocorrência de padrões de alongamento celular nas paredes celulares das galhas, garantindo o formato final de cada morfotipo (Formiga *et al.* 2013), apesar de cada um representar uma diferente resposta morfológica à indução do inseto galhador em uma mesma espécie hospedeira.

## Referências bibliográficas

- Arduin, M.; Kraus, J.E. & Montenegro, G. 1994. Morfologia e fenologia de galhas foliares de *Piptadenia gonoacantha* (Fabales, Mimosaceae). **Revista Brasileira de Entomologia** **38**: 79-89.
- Arduin, M. & Kraus, J.E. 2001. Anatomia de galhas de ambrosia em folhas de *Baccharis concinna* e *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica** **24**(1): 63-72 .
- Arduin, M.; Fernandes, G.W. & Kraus, J.E. 2005 . Morphogenesis of galls induced by *Baccharopelma dracunculifoliae* (Hemiptera: Psyllidae) on *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) leaves. **Brazilian Journal of Biology** **65**(4): 559-571.
- Burckhardt, D.; Espírito-Santo, M.M.; Fernandes, G.W. & Malenovsk, I. 2004. Gall-inducing jumping plant-lice of the Neotropical genus *Baccharopelma* (Hemiptera, Psylloidea) associated with *Baccharis* (Asteraceae). **Journal of Natural History** **38**: 2051-2071.
- Camos, P.T.; Costa, M.C.D.; Isaias, R.M.S.; Moreira, A.S.F.P.; Oliveira, D.C. & Lemos-Filho, J.P. 2010. Phenological relationships between two insect

- galls and their host plants: *Aspidosperma australe* and *A. spruceanum* (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasileira** **24**: 727-733.
- Carneiro, M.A.A.; Fernandes, G.W.; Souza, O.F.F. & Souza, W.V.M. 2006. Sex-mediated herbivory by galling insects on *Baccharis concinna*. **Revista Brasileira de Entomologia** **50**: 394-398.
- Carneiro, M.A.C.; Branco, C.S.A.; Braga, C.E.D.; Almada, E.D.; Costa, M.B.M.; Maia, V.C. & Fernandes, G.W. 2009. Are gall midge species (Diptera: Cecidomyiidae) host-plant specialists? **Revista Brasileira de Entomologia** **53**: 365-378.
- Coelho, M.S.; Almada, E.D.; Fernandes, G.W. Carneiro, M.A.C.; Santos, R.M.; Quintino, A.V. & Sanchez-Azofeifa A. 2009. Gall inducing arthropods from a seasonally dry tropical forest in Serra do Cipó, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** **53**: 404-414.
- Fagundes, M.; Neves, F.S. & Fernandes, G.W. 2005. Direct and indirect interactions involving ants, insect herbivores, parasitoids and the host plant *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Ecological Entomology** **30**: 28-35.
- Fernandes G.W.; Price P.W. 1992. The adaptive significance of insects gall distribution: survivorship of species in xeric and mesic habitats. **Oecology** **90**: 14-20.
- Fernandes, G.W.; Rodarte, L.H.O.; Negreiros, D. & Franco, A.C. 2007. Aspectos nutricionais em *Baccharis concinna* (Asteraceae), espécie endêmica e ameaçada da Serra do Espinhaço, Brasil. **Lundiana** **8**: 83-88.
- Formiga, A.T.; Gonçalves, S.J.M.R.; Soares, G.L.G. & Isaias, R.M.S. 2009. Relações entre o teor de fenólicos e o ciclo das galhas de Cecidomyiidae em *Aspidosperma spruceanum* Müell Arg. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasileira** **23**: 93-99.
- Formiga, A.T.; Isaias, R.M.S. & Soares, G.L.G. 2011. Responses of the Host Plant Tissues to Gall Induction in *Aspidosperma spruceanum* Muell. Arg. (Apocynaceae). **American Journal of Plant Sciences** **2**: 823-834.
- Formiga, A.T.; Oliveira, D.C.; Ferreira, B.G.; Magalhães, T.A.; Castro, A.C.; Fernandes, G.W. & Isaias, R.M.S. 2012. The role of pectic composition of cell walls in the determination of the new shape-functional design in galls of *Baccharis reticularia* (Asteraceae). **Protoplasma** **250**(4): 899-908.
- Isaias, R.M.S.; Oliveira, D.C. & Carneiro, R. G. S. 2011. Role of *Euphalerus ostreoides* (Hemiptera: Psylloidea) in manipulating leaflet ontogenesis of *Lonchocarpus muehlbergianus* (Fabaceae). **Botany** **89**: 581-592.
- Isaias, R.M.S. & Oliveira, D.C. 2012. Gall Phenotypes – Product of plant cells defensive response to the inducers attack. In: **Plant Defense: Biological Control**. Eds. Jean Michel Mérillon & Krishan Gopal Ramawat. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Isaias, R.M.S.; Carneiro, R.G.S. & Santos, J.C. 2013. Illustrated and Annotated Checklist of Brazilian Gall Morphotypes. **Neotropical Entomology** **42**(3): 230-239.
- Kraus, J.E.; Montenegro, G. & Kim, A.J. 1993. Morphological studies on entomogenous stem galls of *Microgramma squamulosa* (Kauf.) Sota (Polypodiaceae). **American Fern Journal** **83**(4): 120-128.
- Kraus, J.E.; Sigiura, H.C. & Cutrupi, S. 1996. Morfologia e ontogenia em galhas entomógenas de *Guarea macrophylla* subsp. Tuberculata (Meliaceae). **Tropical Plant Pathology** **21**: 349-356.
- Kraus, J.E.; Solorzano-Filho, J.A.; Arduin, M. & Isaias, R.M.S. 1998. Respostas morfogênicas de plantas brasileiras a insetos galhadores. **Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden** **68**: 345-354.
- Kraus, J.E. & Tanoue, M. 1999. Morpho-ontogenetic aspects of entomogenous galls in roots of *Cattleya guttata* (Orchidaceae). **Lindleyana** **14**: 204-213.
- Lara, D.P.; Oliveira, L.A.; Azevedo, I.F.P.; Xavier, M.F.; Silveira, F.A.O.; Carneiro, M.A.A. & Fernandes, G.W. 2008. Relationship between host plant architecture and gall abundance and survival. **Revista Brasileira de Entomologia** **52**(1): 78-81.
- Maia, C.D.; Fernandes, G.W. & Negreiros, D. 2009. A new genus and species of gall midge (Diptera: Cecidomyiidae) associated with *Myrcia retorta* (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Entomologia** **53**: 38-40.

- Moura, M.Z.D.; Soareas, G.L.G. & Isaias, R.M.S. 2009. Ontogênese da folha e das galhas induzidas por *Aceria lantanae* Cook (Acarina: Eriophyidae) em folhas de *Lantana camara* L. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **32**: 271-282.
- Oliveira, D.C. & Isaias, R.M.S. 2009. Influence of leaflet age in anatomy and possible adaptive values of the midrib gall of *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae: Caesalpinioideae). **Revista de Biologia Tropical** **57**: 293-302.
- Oliveira, D.C.; Magalhães, T.A.; Carneiro, R.G.S.; Alvim, M.N. & Isaias, R.M.S. 2010. Do Cecidomyiidae galls of *Aspidosperma spruceanum* (Apocynaceae) fit the pre-established cytological and histochemical patterns? **Protoplasma** **242**: 81-93.
- Oliveira, D.C.; Carneiro, R.G.S.; Magalhães, T.A. & Isaias, R.M.S. 2011. Cytological and histochemical gradients on two *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae) Cecidomyiidae gall systems. **Protoplasma** **248**: 829-837.
- Oliveira, V.C. & Bastos, E.M.A.F. 1998. Aspectos morfo-anatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) visando a identificação da origem botânica da própolis. **Acta Botanica Brasílica** **12**(3): 431-439.
- Pegorini, F.; Maranhão, L.T. & Rocha, L.D. 2008. Organização estrutural das folhas de *Baccharis dracunculifolia* DC. Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmácia** **89**(3): 272-275.
- Sa, C.E.M.; Silveira, F.A.O.; Santos, J.C.; Isaias, R.M.S. & Fernandes, G.W. 2009. Anatomical and developmental aspects of leaf galls induced by *Schizomyia macrocapillata* Maia (Diptera:Cecidomyiidae) on *Bauhinia brevipes* Vogel (Fabaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **32**: 319-327.
- Sinclair JB, Cerkauskas RF. 1996. Latent infection vs. endophytic colonization by fungi. **Syst, Ecol Evol** **216**: 3-29.
- Souza, S.C.P.M.; Kraus, J.E.; Isaias, R.M.S. & Neves, L.J. 2000. Anatomical and ultrastructural aspects of leaf galls in *Ficus microcarpa* L. f. (Moraceae) induced by *Gynaikothrips ficorum* Marchal (Thysanoptera). **Acta Botanica Brasílica** **14**: 57-69.
- Tavares, J.S. 1906. Descrição de uma Cecidomyia nova do Brasil, Pertencente a um Gênero Novo. **Brotéria Série Zoológica** **5**: 81-84.
- Tavares, J.S. 1915. As Cecidias das Plantas do Gênero *Styrax* no Brasil. **Brotéria Série Zoológica** **13**: 155-159.
- Tavares, J.S. 1917a. As Cecidias do Brasil que se Criam nas Plantas da Família das Melastomataceae. **Brotéria Série Zoológica** **15**: 19-49.
- Tavares, J.S. 1917b. Cecídias Brasileiras que se Criam em Plantas das Famílias Compositae, Rubiaceae, Tiliaceae, Lythraceae e Artocarpaceae. **Brotéria Série Zoológica** **15**: 113-181.
- Tavares, J.S. 1918. Cecidologia Brasileira - Cecidias que se Criam nas Plantas das Famílias das Verbenaceae, Euphorbiaceae, Malvaceae, Anacardiaceae, Labiateae, Rosaceae, Anonaceae, Amperidaceae, Bignoniaceae, Aristolochiaceae e Solanaceae. **Brotéria Série Zoológica** **16**: 21-84.
- Tavares, J.S. 1920. Cecidologia Brasileira - Cecídias que se Criam em Plantas das Famílias das Leguminosae, Sapotaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Punicaceae, Aurantiaceae, Malpighiaceae, Sapindaceae, Umbeliferae, Loranthaceae, Apocynaceae, Urticaceae, Salicaceae e Gramineae. **Brotéria Série Zoológica** **18**: 82-125.
- Tavares, J.S. 1921. Cecidologia Brasileira - Cecídias que se Criam em Plantas das Famílias das Leguminosae, Sapotaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Punicaceae, Aurantiaceae, Malpighiaceae, Sapindaceae, Umbeliferae, Loranthaceae, Apocynaceae, Urticaceae, Salicaceae e Gramineae. **Brotéria Série Zoológica** **19**: 76-112.
- Tavares, J.S. 1922. Cecidologia Brasileira - As Restantes Famílias. **Brotéria Série Zoológica** **20**: 5-48.
- Tavares, J.S. 1925. Nova Contribuição Para o Conhecimento da Cecidologia Brasileira. **Brotéria Série Zoológica** **22**: 5-55.
- Wilson D. 1993. Fungal endophytes: out of sight but should not be out of mind. **Oikos** **68**: 379-384.
- Wilson D. 1995. Fungal endophytes which invade insect galls: insect pathogens, benign saprophytes, or fungal inquiline? **Oecology** **103**: 255-260.

# Ontogenia da estrutura Kranz e seu papel ecológico

Shirley Martins<sup>1,4</sup>, Marccus Alves<sup>2</sup> & Vera Lucia Scatena<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil.

<sup>4</sup> Autor para correspondência: shirley\_botany@yahoo.com.br

A anatomia Kranz constitui um conjunto de modificações estruturais relacionadas ao metabolismo fotossintético  $C_4$ , caracterizada pela disposição radiada das células do parênquima clorofiliano em torno da bainha do feixe vascular com grandes cloroplastos (Sage 2004). Pela ocorrência em grupos filogeneticamente não relacionados, a anatomia Kranz é considerada exemplo de convergência adaptativa (Sage 2004).

Nos grupos com anatomia Kranz ocorrem variações, utilizadas para definição dos tipos anatômicos, principalmente relacionadas ao número de bainhas vasculares, a origem dessas bainhas e a localização dos cloroplastos. Essas variações são importantes para interpretações taxonômica, ecológicas e evolutivas (Muhaidat *et al.* 2007).

Entre as famílias com espécies Kranz, Cyperaceae é a segunda maior, atrás apenas de Poaceae (Bruhl & Wilson 2007). Na família foram propostos quatro tipos de anatomia Kranz (clorociperoide, eleocaróide, fimbristiloide e rincosporoide), definidos principalmente pelo número e continuidade das bainhas vasculares e pela localização dos cloroplastos (Soros & Dengler 2001; Martins & Scatena 2011) (Fig. 1A-E).

As espécies Kranz de Cyperaceae são geralmente tropicais e ocorrem em ambientes diversos, podendo ser xerófitas, mesófitas, hidrófitas e até mesmo hidrófitas. São restritas a quatro tribos da subfamília Cyperoideae: Abildgaardieae, Cypereae, Eleocharideae e Rhynchosporeae. Dentro das tribos pode ocorrer variação do tipo de anatomia Kranz.

Na tribo Abildgaardieae todos os seis gêneros apresentam anatomia Kranz (*Abildgaardia*, *Bulbostylis*, *Crosslandia*, *Fimbristylis*, *Nelmesia* e *Nemum*) e apenas *Abildgaardia hygrophila* e *Fimbristylis variegata* foram descritas como não Kranz ( $C_3$ ). Nesta tribo ocorre o tipo fimbristiloide, caracterizado por feixes vasculares envolvidos por uma camada de células do parênquima clorofiliano radiado e por três bainhas vasculares. Apenas a bainha interna é descontínua nos feixes de maior calibre, sendo interrompida pelos elementos do metaxilema. A bainha externa e a interna apresentam células de paredes delgadas com cloroplastos e a mediana, células de paredes espessadas, sem cloroplastos. A externa tem origem do meristema fundamental (endoderme), assim como o parênquima radiado, e a bainha mediana e a interna origem procambial (periciclo) (Martins & Scatena 2011) (Fig. 1B).

O tipo fimbristiloide foi considerado o mais antigo na família (Martins & Scatena 2011) com base em dados de marcadores moleculares (Besnard *et al.* 2009). Possivelmente a anatomia Kranz ( $C_4$ ) nas espécies da tribo favoreceu a ocorrência em ambientes xéricos, pois a maioria das espécies da tribo cresce em campos abertos e afloramentos rochosos.

Para a tribo Cypereae, apenas em 10 dos 19 gêneros foram descritas espécies Kranz, sendo nove exclusivamente Kranz ( $C_4$ ) (*Alinula*, *Ascolepis*, *Kyllinga*, *Lipocarpa*, *Pycreus*, *Queenslandiella*, *Remirea*, *Sphaerocyperus* e *Volkiella*) e em *Cyperus*, restrito à *Cyperus* subg. *Cyperus*. Na tribo, só foi descrito o tipo



clorociperoide (Takeda *et al.* 1985; Martins & Alves 2009), caracterizado por feixes vasculares envolvidos por uma a duas camadas de células do parênquima radiado e duas bainhas vasculares: a externa contínua com células de paredes espessadas e sem cloroplastos e a interna descontínua com células de paredes delgadas e com cloroplastos. Ambas as bainhas, portanto, vasculares tem origem procambial, constituem o periciclo (Martins & Scatena 2011) (Fig. 1C - superior). variação em relação à ocorrência do metabolismo  $C_4$  e ao tipo de anatomia Kranz (Ueno 2004; Murphy *et al.* 2009). No gênero, além de espécies Kranz ( $C_4$ ) e não Kranz ( $C_3$ ), ocorrem espécies facultativas  $C_3/C_4$  e

O tipo clorociperoide possivelmente foi o segundo a surgir na família (Besnard *et al.* 2009; Martins & Scatena 2011), e, diferente das espécies de Abildgaardieae, a maioria das espécies Kranz ( $C_4$ ) de Cyperaceae ocorre em ambientes méxicos, com poucos em locais xéricos. Assim, possivelmente a anatomia Kranz surgiu inicialmente em espécies mesófitas da tribo (a partir de ancestrais  $C_3$  mesófitos) e posteriormente nas xerófitas (a partir de ancestrais  $C_4$  mesófitos), como também postulado para algumas espécies  $C_4$  de Poaceae (Osborne & Freckleton 2009). A ocorrência do metabolismo  $C_4$  em ambientes com maior disponibilidade hídrica é relacionada à alta densidade das plantas, altas temperaturas e luminosidade, condições que reduzem a absorção de

CO<sub>2</sub> e produção de carboidratos (Bowes *et al.* 2002; Sage 2004).

A tribo Eleocharideae possui apenas um gênero, *Eleocharis*, e nele ocorre a maior intermediária  $C_3-C_4$ . As espécies facultativas  $C_3/C_4$ , podem modificar seu metabolismo fotossintético em resposta à disponibilidade hídrica, sendo  $C_3$  quando em condições submersas e  $C_4$  quando emersas. Para *Eleocharis* foram descritos os tipos Kranz eleocaróide e fimbristiloide, podendo ocorrer variação quanto ao tipo entre indivíduos da mesma espécie (Ueno 1996).

O tipo eleocaróide é caracterizado por feixes vasculares envolvidos por duas camadas de células do parênquima radiado e por duas bainhas vasculares. Ambas as bainhas tem origem procambial (periciclo) (Martins & Scatena, 2011), semelhante ao tipo clorociperoide, no entanto, a bainha interna nos feixes de maior calibre é contínua (Fig. 1D). O tipo fimbristiloide em *Eleocharis* é semelhante ao descrito anteriormente para Abildgaardieae.

As espécies de *Eleocharis* são aquáticas anfíbias ou submersas, com folhas reduzidas à bainha e escapo fotossintetizante (Hinchliff *et al.* 2010). A via  $C_4$  no gênero é considerada intermediária à recente quando comparada as demais espécies da família (Besnard *et al.* 2009) e possivelmente, o hábito

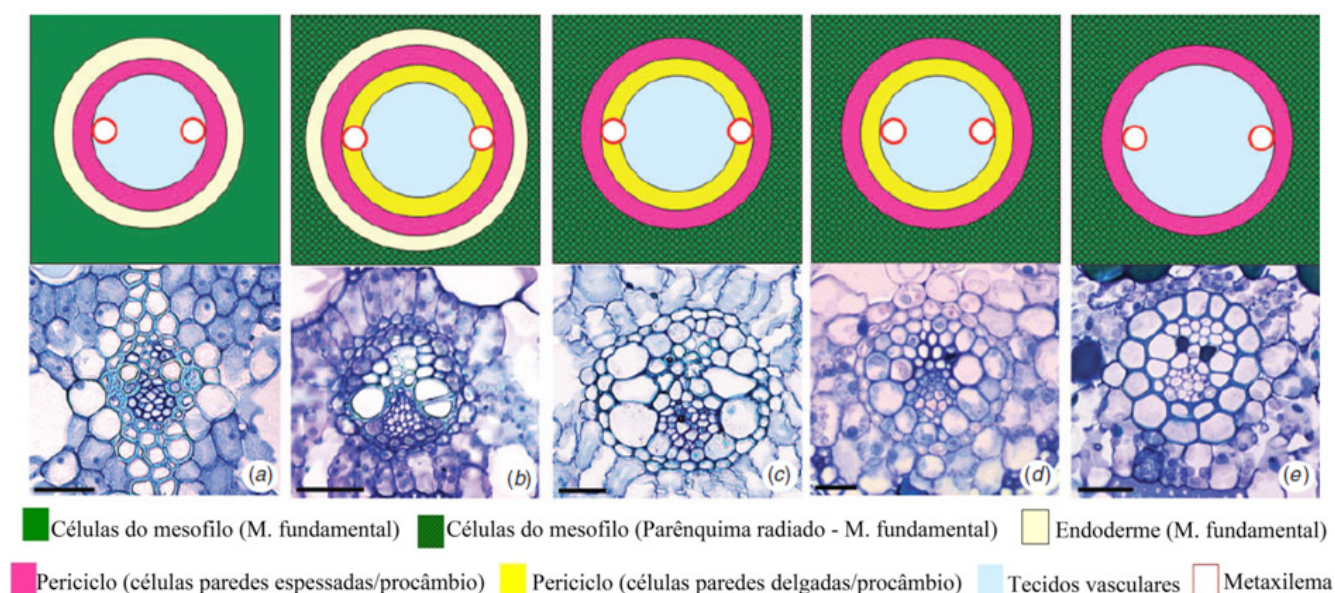


Figura 1. Diagramas (superior) e seções transversais dos feixes vasculares de maior calibre (inferior) de espécies não-Kranz e Kranz de diferentes tipos em Cyperaceae. (a) *Carex sororia*. (b) *Fimbristylis dichotoma*. (c) *Rhynchospora barbata*. (d) *Eleocharis minima*. (e). *Rhynchospora globosa*. Barras = 20  $\mu$ m. Extraído de Martins & Scatena (2011) com permissão.

anfíbio promova a plasticidade observada quanto ao metabolismo fotossintético e ao tipo de anatomia Kranz. Em grupos com tal plasticidade foi indicado que a mudança do metabolismo  $C_3$  para o  $C_4$  requer um baixo número de modificações genéticas (Christin *et al.* 2007). Estruturalmente a diferença entre o tipo eleocaróide e o fimbristiloide é o formato das células da camada interna do parênquima radiado, levemente alongada no primeiro e arredondada no segundo, além da continuidade da bainha interna nos feixes de maior calibre apenas no primeiro.

A tribo Rhynchosporeae possui dois gêneros, *Pleurostachys* e *Rhynchospora*, com espécies Kranz ( $C_4$ ) apenas em *Rhynchospora*, restritas às seções *Pauciflorae* (Pau) e *Pluriflorea* (Plu) do grupo Capitatae (Ueno & Koyama 1987; Ueno 2013). No gênero ocorrem os tipos clorociperoide e rincosporoide, sendo o clorociperoide semelhante ao descrito para as espécies de Cyperaceae, com duas bainhas em torno dos feixes vasculares, ambas com origem procambial (Martins & Scatena, 2011) (Fig. 1C). O tipo rincosporoide apresenta feixes vasculares envolvidos por uma camada de células do parênquima clorofiliano e apenas uma bainha vascular que possui células de paredes espessadas, contínua, com cloroplastos e origem procambial (Martins & Scatena 2011) (Fig. 1E).

Marcadores genéticos indicam que a via  $C_4$  é recente em *Rhynchospora* quando comparada com os demais membros da família (Besnard *et al.* 2009), sendo datado apenas para *Rhynchospora rubra* que apresenta o tipo rincosporoide. As espécies Kranz de *Rhynchospora*, com ambos os tipos anatômicos, são pantropicais, ocorrendo em ambientes xéricos, como áreas campestres e savanícolas (Ueno & Koyama 1987), simpatricamente com espécies não Kranz ( $C_3$ ) do gênero. Dessa forma, possivelmente ambos os tipos de anatomia Kranz tenham surgido como adaptação às condições de estresse hídrico, altas temperaturas e luminosidade a partir de ancestrais xéricos não Kranz ( $C_3$ ).

Os diferentes tipos de anatomia Kranz ocorrentes na família refletem essencialmente diferenças morfológicas e não de origem. As células originadas pelo meristema fundamental podem ter formato alongado (parênquima radiado) ou arredondado (endoderme), porém são homólogas. Nos tipos clorociperoide, eleocaróide e fimbristiloide o procâmbio origina duas bainhas, com cloroplastos apenas na interna. Já no tipo rincosporoide só uma

bainha tem origem procambial, a com cloroplastos, sendo homóloga a bainha externa nos demais tipos que não apresenta cloroplastos (Fig. 1B-E).

Os diferentes dados obtidos mostram que a anatomia Kranz em Cyperaceae surgiu diversas vezes na família, sendo convergência adaptativa, pois não reflete proximidade filogenética. E que os tipos de anatomia Kranz na família não estão associados a condições ambientes específicas, pois espécies Kranz de Abildgaardieae, *Rhynchospora* e algumas de Cyperaceae ocorrem em ambientes xéricos e apresentam distintos tipos de anatomia. Assim como em representantes *Eleocharis* que podem variar quanto à ocorrência e ao tipo de anatomia Kranz até em indivíduos da mesma espécie.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pela bolsa de doutorado (2008/09380-2) à S. Martins e suporte financeiro (2011/18275-0) à V.L. Scatena e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo suporte financeiro (301692/2010-6) e (471837/2011-3) à V.L. Scatena.

#### Referências Bibliográficas

- Besnard, G.; Muasya, A.M.; Russier, F.; Roalson, N.S. & Christin, P.A. 2009. Phylogenomics of  $C_4$  photosynthesis in sedges (Cyperaceae): Multiple appearances and genetic convergence. **Molecular Biology and Evolution** 26: 1909-1919.
- Bruhl, J.J. & Wilson, K.L. 2007. Towards a comprehensive survey of  $C_3$  and  $C_4$  photosynthetic pathways in Cyperaceae. Pp. 99-148. In: Columbus, J.T.; Friar, E.A.; Hamilton, C.W.; Porter, J.M.; Prince, L.M. & Simpson, M.G. (Eds.) **Monocots: comparative biology and evolution**. Rancho Santa Ana Botanic Garden: Claremont.
- Hinchliff, C.E.; Lliully, A.E.; Carey, T. & Roalson, E.H. 2010. The origins of *Eleocharis* (Cyperaceae) and the status of *Websteria*, *Egleris*, and *Chillania*. **Taxon** 59: 709-719.
- Murphy, L.R.; Barroca, J.; Franceschi, V.R.; Lee, R.; Roalson, E.H.; Edwards, G.E. & Ku, M.S.B. 2007.

- Diversity and plasticity of C<sub>4</sub> photosynthesis in *Eleocharis* (Cyperaceae). **Functional Plant Biology** **34**: 571-580.
- Martins, S. & Scatena, V.L. 2011. Bundle sheath ontogeny in Kranz and non-Kranz species of Cyperaceae (Poales). **Australian Journal of Botany** **59**: 554-562.
- Sage, R.F. 2004. The evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis. **New Phytologist** **161**: 341-370.
- Soros, C.L. & Dengler, N.G. 2001. Ontogenetic derivation and cell differentiation in photosynthetic tissues of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> Cyperaceae. **American Journal of Botany** **88**: 992-1005.
- Trevisan, R. & Boldrini, I.I. 2008. O gênero *Eleocharis* R. Br. (Cyperaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências** **6**: 7-67.
- Uchino, A.; Sentoku, N.; Nemoto, K.; Ishii, R.; Samejima, M. & Matsuoka, M. 1998. C<sub>4</sub>-type gene expression is not directly dependent on Kranz anatomy in an amphibious sedge *Eleocharis vivipara* Link. **The Plant Journal** **14**: 565-572.
- Ueno, O. 2004. Environmental regulation of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> differentiation in the amphibious sedge, *Eleocharis baldwinii* and comparisons with related species. **Plant, Cell and Environment** **27**: 627-639.
- Ueno, O. 2013. Ultrastructure and carbon isotope ratios of leaves in C<sub>4</sub> species of *Rhynchospora* (Cyperaceae) that differ in the location of Kranz cells. **International Journal of Plant Sciences** **174**: 702-709.
- Ueno, O. & Koyama, T. 1987. Distribution and evolution of C<sub>4</sub> syndrome in *Rhynchospora* (Rhynchosporae-Cyperaceae). **The Botanical Magazine Tokyo** **100**: 63-85.

# O problema das cianobactérias/ cianotoxinas e outros metabólitos no tratamento da água

**Fernando Antônio Jardim**

Companhia de Saneamento de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.  
fernando.jardim@copasa.com.br

A presente palestra objetiva apresentar historicamente a partir de 1980 uma série de ocorrências de florações de cianobactérias tóxicas e não tóxicas em ecossistemas aquáticos lênticos e lóticos principalmente nos pontos de captação de água da Companhia de Saneamento de Minas Gerais. Os dados para a elaboração das palestras foram retirados principalmente dos arquivos de resultados das análises hidrobiológicas do laboratório central da COPASA e trabalhos já publicados. Verificou-se com essa seleção que os problemas relativos à produção das cianotoxinas nem sempre foram muito impactantes à água produzida e distribuída, mostrando assim a eficiência dos processos de remoção, principalmente quando se utiliza carvão ativado no tratamento da água. Já os problemas advindos da geração de outros metabólitos secundários não tóxicos como os terpenos geosmina e 2 metil isoborneol alteraram o odor e o gosto da água, causando assim um certo repúdio da população quanto à aceitação da água para o consumo.

Os dados para a elaboração da série histórica das ocorrências de florações de cianobactérias tóxicas e não tóxicas foram retirados do banco de dados do laboratório central da COPASA a partir de 1980. Esses dados foram computados enfatizando principalmente o local da ocorrência, a espécie de cianobactéria predominante na floração, a cianotoxina ou outros metabólitos secundários liberados, o tratamento aplicado para cada caso e finalmente a comunicação feita junto à população.

O primeiro caso relatado de acordo

com COPASA (1980) referiu à uma floração de *Dolichospermum planctonicum* (*Anabaena planctonica*) ocorrida em Setembro de 1980, na água da represa da Pampulha em Belo Horizonte. Nessa época, não foi possível se detectar se a espécie em questão era tóxica ou não, pois ainda não eram disponíveis as metodologias para a detecção das cianotoxinas, no entanto, as reclamações dos usuários foram relativas a um odor de BHC (1,2,3,4,5,6 hexacloro-ciclohexano). Dez anos, mais tarde com as amostras que foram congeladas, verificou-se que o composto que causava o forte odor era a geosmina. Nessa época, a empresa fez a opção de buscar outra fonte de abastecimento para a região norte da área metropolitana de Belo Horizonte. Nessa mesma represa de acordo com Jardim *et al* (2010), trinta anos após a floração de *Dolichospermum planctonicum*, ocorreram outras sucessivas florações cujo predomínio era de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, produzindo a hepatotoxina microcistina e as neurotoxinas saxitoxinas. Como a água da represa já não era mais utilizada para fins de abastecimento público, a prefeitura colocou avisos de advertência para os usuários locais e pescadores informando sobre o risco em se utilizar aquela água e alertando também sobre a possibilidade de intoxicação na carne dos peixes.

No Brasil, o primeiro caso que, embora não tenha sido comprovado cientificamente, sobre a morte de seres humanos por cianotoxinas, ocorreu devido supostamente à uma floração de *Anabaena* e *Microcystis* na água da barragem de Itaparica, na



Bahia, mais precisamente na cidade de Paulo Afonso. De acordo com Teixeira *et al* (1993) foram 88 óbitos e 2000 casos de gastroenterite.

De acordo com Jardim (1999) em 1990, na captação de água que abastece 70% da população da região metropolitana de Belo Horizonte, ocorreu uma floração de *Dolichospermum planctonicum* na água do Rio das Velhas. Essa floração embora não fosse tóxica, liberou geosmina na água que somente foi removida com a dosagem de carvão ativado em pó.

Em 1992, na água da represa de Furnas, no ponto de captação de água da cidade de Alfenas verificou-se também uma floração de *Microcystis* que colmatou os filtros da estação de tratamento de água. Esse relato com as providências operacionais que foram tomadas a partir de então, estão bem descritas por Jardim (2010) inclusive com a necessidade de se adotar um sistema de flotação na estação de tratamento em substituição ao sistema de decantação.

Em 1996, na cidade de Caruaru em Pernambuco, ficou comprovada que a causa da morte em 75 pacientes renais crônicos foi devido a presença de microcistinas na água que abastecia a clínica de hemodiálise. Esse caso relatado por Azevedo *et al* (2002) ficou conhecido como a síndrome de Caruaru.

Em 1997, na água da represa de Três Marias foi identificada uma floração não tóxica de *Microcystis wesenbergii*, mas que, mesmo assim causou sérios danos aos filtros da estação de tratamento de água, onde todo o leito filtrante teve que ser substituído (Jardim, 1999). Esse mesmo autor relatou também uma floração de *Radiocystis fernandoi* tóxica, produzindo microcistina na água da represa de Vargem das Flores, na região metropolitana de Belo Horizonte. Nessa época, além da dosagem de carvão ativado a construção de flotadores foram decisões operacionais importantes para se evitar que essa cianotoxina passasse para a água tratada.

No período estival de 2007, na água do Rio das Velhas, ocorreu uma floração mista de *Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Planktothrix isothrix* e *Sphaerocavum brasiliense*. Sendo que as duas primeiras produziam respectivamente a hepatotoxina microcistina e as neurotoxinas saxitoxinas. De acordo com Jardim *et al* (2008) foi realizado todo um trabalho conjunto com a defesa civil estadual para se evitar a contaminação dos moradores ribeirinhos pelo consumo de água *in*

*natura* e o consumo do pescado que chegou a ficar contaminado com a microcistina. Por meio da Figura 1 é possível verificar como ficou a qualidade cênica da água do Rio das Velhas com a presença da floração de cianobactérias tóxicas.



Figura 1: Floração de cianobactérias tóxicas na água do Rio das Velhas em Setembro de 2007, na região de Várzea da Palma – MG. Foto de Fernando Jardim.

Essa foi uma das primeiras experiências dos técnicos da empresa sobre a floração de cianobactérias em água de rios e que, de certa forma, serviu para que os mesmos se preparassem para outro episódio de floração. No período estival dos anos de 2010, 2011 e 2012, ocorreram florações de *Dolichospermum planctonicum* na água do Rio Doce, onde a empresa detém a concessão em cinco cidades. Essa floração embora não fosse tóxica, liberou 2 metil isoborneol na água que somente foi removido com a dosagem de carvão ativado em pó. De acordo com Jardim *et al* (*in press*) os fatores que mais se correlacionaram com as florações em um estudo de dados das análises em coletas realizadas por 15 anos com uma frequência trimestral foram a extensão do período de seca, caracterizado por uma redução na turbidez da água e também pela elevação da concentração de nitratos. Os outros fatores foram relativos à própria atividade fotossintética, como a elevação da concentração de oxigênio dissolvido. Por meio da Figura 2 é possível verificar a característica da água que chegava aos flotadores na estação de tratamento de água como ficou a água



Figura 2: Floculador da estação de tratamento de água da cidade de Pedra Corrida – MG, em Setembro de 2012. Foto de Josinei.

*raciborskii* (Cianobactéria) isolada da água de uma represa urbana. In: X SIMPÓSIO ÍTALO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2010, Maceió. X SIMPÓSIO ÍTALO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. Rio de Janeiro: ABES-ANDIS.

Jardim, F. A., Jardim, B. F. M., Von Sperling, E. & De Brito Almeida, K. C. (*in press*) Fatores determinantes das florações de cianobactérias na água do Rio Doce – Minas Gerais - Brasil: **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**

Teixeira, M. G. L. C., Costa, M. C. N., Carvalho, V. L. P., Pereira, M. S. & Hage, E. 1993. Epidemia de gastroenterite na área da barragem de Itaparica, Bahia. **Bol. Sanit. Panam.** 114(6): 502-511.

## Referências bibliográficas

Azevedo, S. M. F. O., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R. & Eaglesham, G. K.. 2002 Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru – Brazil. **Toxicology** 1-7.

Jardim, F. A. 1999. Implantação e realização de análises de cianotoxinas com avaliação do potencial tóxico em estações de tratamento da COPASA MG. Belo Horizonte. **Dissertação de Mestrado** - Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - Escola de Engenharia - Universidade Federal de Minas Gerais.

Jardim, F. A.; Resende, R. M. S.; Ladeia, M. M.; Giani, A.; Cerqueira, D. A. & Jardim, B. F. M. 2008. Cyanobacteria blooms in waters of river intake areas in Minas Gerais – Brazil, during the dry season of 2007 – Contingency Plants. In: Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 9., 2008, Florença (Itália). [*Anais eletrônico...*]. ANDIS, 2008. 1 CD-ROM.

Jardim, F.A. 2010. O monitoramento das cianobactérias e o controle de qualidade da água potável.: **Revista Ação Ambiental** 43:27:30. ISSN: 115190552.

Jardim, F.A.; Couto, P. G. P. & De Carvalho, L. S. 2010. Toxicidade e ecologia de *Cylindrospermopsis*

# O que as moléculas têm a nos contar sobre as subtribos e gêneros de Eupatorieae: um breve histórico sobre a classificação

**Eric K. O. Hattori<sup>1,9</sup>, Silvana C. Ferreira<sup>2</sup>, Ana Claudia Fernandes<sup>3</sup>, Caetano T. Oliveira<sup>4</sup>, Vanessa Rivera<sup>5</sup>, Nádia Roque<sup>6</sup>, João A. N. Batista<sup>3</sup>, José R. Pirani<sup>4</sup>, Jose L. Panero<sup>5</sup>, Jimi N. Nakajima<sup>7</sup> & Cássio van den Berg<sup>8</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, MG, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

<sup>4</sup> Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>5</sup> University of Texas at Austin, Austin, TX, Estados Unidos.

<sup>6</sup> Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

<sup>7</sup> Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

<sup>8</sup> Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA, Brasil.

<sup>9</sup> Autor para correspondência: erichattori@gmail.com

A tribo Eupatorieae é uma das principais tribos da família Asteraceae com cerca de 180 gêneros e entre 2.000-2.400 espécies, de distribuição principalmente neotropical (Funk *et al.* 2005, Anderberg *et al.* 2007). Caracteriza-se pelas folhas opostas, os capítulos homogamos, discóides, as flores tubulosas, nunca amarelas (alva, lilás ou rósea), os ramos do estilete lineares ou clavados, com apêndices estéreis longos e fruto do tipo cipsela, com uma camada de células enegrecidas (King & Robinson 1987). A seguir é descrito um panorama sobre o passado (século XIX e início do século XX), passado recente e presente da classificação de Eupatorieae (século XX), bem como perspectivas futuras (com base nos estudos filogenéticos moleculares com a tribo).

## Passado

A classificação de Eupatorieae teve início com o trabalho de Cassini (1818-1923), considerado o pai da sinanterologia e também da classificação tribal das Asteraceae. Cassini foi o primeiro a propor uma subdivisão de Eupatorieae, sendo os grupos classificados de acordo com o tipo de pápus e o número de costas na cipsela: Seção Agerateae, com pápus reduzido e cipsela 5-costada; Seção Archetypae, com pápus cerdoso e cipsela 5-costada, no qual incluía o gênero *Arnoglossum* Raf., atualmente na tribo Senecioneae; e Seção Liatrideae, com pápus cerdoso ou plumoso e cipsela 10-costada.

Poucos anos depois, Lessing (1831) propôs uma subdivisão diferente para os gêneros de Eupatorieae, com subtribos formais: Alomieae, com

capítulos homógamos e cipsela glabra; Agerateae, com capítulos homógamos e pápus aristado ou coroniforme; Eupatorieae, com capítulos homógamos e pápus cerdoso; e Tussilaginae, com capítulos heterógamos e pápus cerdoso. Essa última subtribo pertence, atualmente, a Senecioneae. Além disso, incluía o gênero *Adenocaulon* Hook., agora pertencente à Mutisieae *sensu stricto*.

DeCandolle (1836), por sua vez, considerou apenas duas subtribos propostas por Lessing: Eupatorieae, com capítulos homógamos e Tussilaginae, com capítulos heterógamos. Dentro de Eupatorieae, propôs as seguintes divisões: Alomieae, de pápus ausente, Agerateae, de pápus paleáceo ou escamoso, e Adenostyleae, de pápus cerdoso ou plumoso. E em Tussilaginae: Petasiteae, de flores femininas tubulosas, e Eutussilaginae, de flores femininas liguladas. Esta última, incluindo o gênero *Celmisia* Cass., que está, atualmente, incluído em Astereae.

Já no final do século XIX, Bentham (1873) transferiu a subtribo Tussilaginae para Senecioneae. E em Eupatorieae considerou apenas: Piquerieae, com o ápice das anteras truncado, sem apêndice e a cipsela 5-costada; Agerateae, com anteras com apêndice apical e cipsela 5-costada; e Adenostyleae, com anteras com apêndice apical e cipsela 8-10-costada. Esta classificação de Bentham foi amplamente aceita por aproximadamente 100 anos, sendo seguida por Baker (1876) no tratamento das Eupatorieae da Flora brasiliensis e por Hoffmann (1890-1894), com adição de poucos gêneros.

No século XX, Robinson (1913) resumiu os conceitos genéricos para a tribo, e indicou também sobre uma possível segregação de gêneros com grande número de espécies, e principalmente das espécies sulamericanas. Após os estudos de Robinson até a década de 70, cerca de 20 gêneros foram descritos por diversos autores, sendo a maioria deles para o Brasil. Até então eram reconhecidas cerca de 60 gêneros para a tribo.

### Passado Recente e Presente

A partir da década de 70, no entanto, iniciou-se uma série de estudos por King e Robinson, que culminou em sua monografia "The Genera of the Eupatorieae", com uma nova proposta de classificação subtribal e genérica (King & Robinson 1987). Ao

longo de quase 20 anos de estudos, baseados em características micromorfológicas e anatômicas, estes dois autores propuseram 18 subtribos e 180 gêneros. Essa inflação no número de gêneros ocorreu após a separação do gênero *Eupatorium* L. em cerca de 100 gêneros novos, além do restabelecimento de outros 20 gêneros que anteriormente foram postos como sinônimos de *Eupatorium*. Como resultado desse novo arranjo das espécies, *Eupatorium*, que abrigava cerca de 1.000 espécies, passou a abrigar apenas 45 espécies de distribuição artico-terciária (King & Robinson 1987).

Bremer *et al.* (1994), com um estudo cladístico de caracteres morfológicos, testou a validade das subtribos e gêneros propostos por King e Robinson. Nesse trabalho, Bremer *et al.* evidenciaram que *Eupatorium sensu lato* era parafilético e defenderam que alguns gêneros propostos por King e Robinson teriam que ser segregados. Por outro lado, argumentaram que gêneros monotípicos ou com pouquíssimas espécies seriam grupos irmãos de gêneros maiores e que a segregação destes tornaria os gêneros maiores parafiléticos. Na análise realizada nesse trabalho, Bremer *et al.* demonstraram que as subtribos mais basais são monofiléticas, como, por exemplo, Mikaniinae, Oxylobinae e Hofmeisteriinae (esta última incluindo Oaxacaniinae). Porém, apontou o parafiletismo de algumas subtribos propostas por King e Robinson, como Critoniinae e Gyptidinae, além de não evidenciar sinapomorfias para outras subtribos, como Ayapaninae, Disynaphiinae e Eupatoriinae.

No início do século XXI, começaram a ser realizados estudos filogenéticos moleculares para Eupatorieae. No princípio, entretanto, foram amostrados apenas gêneros de distribuição norteamericana ou mexicana. Ito *et al.* (2000a,b) e Schmidt & Schilling (2000), com tais dados, revelaram o monofiletismo de *Eupatorium sensu King e Robinson* e da subtribo Liatrinae. Além disso, argumentaram que a disjunção entre as espécies de *Eupatorium sensu King & Robinson* não é explicada pela hipótese artico-terciária. Ito *et al.* (2000b) mostraram, ainda, que a origem poliplóide da tribo gerou uma grande diversificação das espécies por redução posterior no número cromossômico, o que se contrapõe aos trabalhos de King e Robinson, que sugeriam que as subtribos com números cromossômicos baixos seriam as mais antigas.

Recentemente, as espécies sulamericanas começaram a ser estudadas em um contexto



filogenético. Tais estudos iniciaram-se com a subtribo Gyptidinae (Ferreira *et al.* in prep.) e as principais conclusões deste trabalho são:

- A delimitação da subtribo Gyptidinae, como proposta por King & Robinson (1987), não foi corroborada pela análise filogenética molecular, sendo a subtribo polifilética;

- Os grupos informais propostos por Hind (1999, 2000) e Hind & Robinson (2007) também não foram corroborados pelos resultados obtidos. Os gêneros circunscritos ao grupo *Gyptis* apresentam-se mais relacionados as espécies grupo *Lithotamnus* e representantes das subtribos Ageratinae, Alomiinae, Eupatoriinae, Aypaninae, Disynaphinae e Critoniinae do que entre si;

- O grupo *Agrianthus* também não foi confirmado pelos dados moleculares, pois *Catolesia* D.J.N. Hind e *Bahianthus* R.M. King & H. Rob. não são diretamente relacionados a *Agrianthus* Mart. ex DC., *Arrojadocharis* Mattf., *Bishopiella* R.M. King & H. Rob., *Lasiolaena* R.M. King & H. Rob., *Semiria* D.J.N. Hind e *Stylotrichium* Mattf.

- Por fim, o grupo *Lithotamnus*, formado por *Morithamnus* e *Lithotamnus* R.M. King & H. Rob. também não foi corroborado pelos resultados da filogenia molecular estando *Morithamnus* R.M. King, H. Rob. & G. Barroso mais relacionado aos gêneros *Catolesia* e *Bahianthus*;

- *Gyptis* (Cass.) Cass. o gênero tipo da subtribo apresenta nas topologias posição incerta, permanecendo sua relação com os demais gêneros de Eupatorieae incerta;

Apesar da baixa resolução entre os clados, pode se fazer as seguintes inferências:

- *Stomatatthes oblongifolius* (Spreng.) H. Rob. forma junto com *Gyptis pinnatifita* Cass. e *G. crassipes* (Hieron.) R.M. King & H. Rob. um clado com alto suporte, indicando que é necessária uma maior amostragem de ambos os gêneros com objetivo de se entender melhor a relação entre suas espécies.

- Os gêneros *Trichogoniopsis* R.M. King & H. Rob., *Trichogonia* (DC.) Gardner e *Platypodanthera* R.M. King & H. Rob., formaram um clado que pode ser caracterizado pela presença de pápus plumoso ou sub-plumoso. As espécies de *Trichogonia* incluídas na análise formaram um clado com alto suporte, e a possível sinapomorfia do grupo e a presença de densa pilosidade nos lobos

da corola;

- Os gêneros *Dasycondylus*, *Bejoranoa* R.M. King & H. Rob., *Conocliniopsis* R.M. King & H. Rob. e *Prolobus* R.M. King & H. Rob. formam um clado na análise molecular e estes podem ser caracterizados por serem os únicos que possuem folhas membranáceas, pápus sempre presente, conspícuo e cerdoso;

- *Vittetia* R.M. King & H. Rob. e *Barrosoa* R.M. King & H. Rob. formaram um clado com alto suporte, porém nenhuma característica diagnóstica pode ser indicada;

- As espécies de *Campuloclinium* incluídas na análise formam um clado com alto suporte e apresenta como sinapomorfia o receptáculo notavelmente cônico e dotado de protuberâncias que ficam encaixadas no recesso formado pela aréola de inserção do carpópódio;

- *Bahianthus*, *Catolesia*, *Morithamnus* e dois novos táxons formam um clado que pode ser caracterizado por suas espécies apresentarem folhas crassas e carpópódio decorrente nas costelas;

- Os gêneros *Agrianthus*, *Arrojadocharis*, *Bishopiella*, *Lasiolaena*, *Semiria* e *Stylotrichium* já eram indicados por King & Robinson, Hind (1999) e Hind & Robinson (2007) como relacionados morfologicamente e os resultados da filogenia molecular confirmam essa relação.

Disynaphiinae, outra subtribo de distribuição exclusivamente sulamericana, foi o foco do estudo filogenético com dados moleculares de Hattori *et al.* (in prep.) e as seguintes considerações podem ser feitas:

- A subtribo é polifilética, com uma espécie mais próxima de *Bahianthus* (de Gyptidinae), enquanto se tem gêneros da subtribo Critoniinae (*Austrocronia* R.M. King & H. Rob. e *Neocabreria* R.M. King & H. Rob.) incluídos no clado formado pelas demais espécies de Disynaphiinae. A inclusão destes gêneros de Critoniinae, ademais da presença no clado de *Symphyopappus decemflorus* H. Rob., com 10 flores, demonstram que a presença de cinco flores por capítulo não deve caracterizar a subtribo, como salientado por King e Robinson (1987);

- O gênero *Symphyopappus* Turcz. também se mostrou polifilético, com espécies proximamente relacionadas a *Austrocronia* R.M. King & H. Rob., *Grazielia* R.M. King & H. Rob. e *Raulinoreitzia* R.M. King & H. Rob.;

- O gênero *Grazielia* apresentou-se parafilético com a inclusão de duas espécies de *Symphyopappus*, com alto suporte. Esse gênero é caracterizado pelas brácteas involucrais externas subuladas e escuras destacando-se das demais brácteas. No entanto, algumas espécies de *Symphyopappus* também apresentam essa característica, o que indica que essa característica não pode ser usada para caracterizar o gênero. No entanto, a combinação de várias características como a presença de tricomas tectores na bráctea involucral, nas folhas e nos ramos, nervura central sulcada permitem a diferença entre *Grazielia* e *Symphyopappus*;

- *Disynaphia* R.M. King & H. Rob. apresentou-se parafilético e em uma politomia no clado que inclui também os gêneros *Campovassouria* R.M. King & H. Rob. e *Raulinoreitzia* R.M. King & H. Rob.;

- Os gêneros *Campovassouria* e *Raulinoreitzia* são monofiléticos com alto suporte, porém, a relação entre esses gêneros ainda permanece incerta, bem como a relação com o gênero *Disynaphia* R.M. King & H. Rob.;

- *Acanthostyles* R.M. King & H. Rob. fica em uma linhagem basal no clado que inclui *Neocabreria*, *Symphyopappus* e *Grazielia*, com baixo suporte, o que indica que ainda está com a posição incerta. Esse gênero é caracterizado por apresentar ramos do estilete com espinhos esparsos, sendo essa característica única na tribo;

- Em termos de amostragem, a subtribo está bem representada neste estudo. Porém, a dificuldade é encontrar uma característica sinapomórfica da subtribo, com inclusão dos gêneros de Critoniinae. Além disso, a baixa amostragem de Critoniinae impede sua redelimitação, uma vez que gêneros de Critoniinae próximos a *Austrocritonia* ou *Neocabreria* também podem ser inclusos em Disynaphiinae.

Ayapaninae também vem sendo objeto de estudo filogenético, com o foco na delimitação de *Heterocondylus* R.M. King & H. Rob., seu principal representante no Brasil (Fernandes et al. in prep.).

- *Heterocondylus* demonstrou ser parafilético. Suas espécies se distribuem em dois grupos: um com a maioria das espécies, e o outro, com três espécies, mais relacionado com os gêneros *Alomiella* e *Monogereion*, também de Ayapaninae.

- As espécies de *Ayapana* Spach e *Parapiqueria* R.M. King & H. Rob., também de Ayapaninae, estão distantes na filogenia, o que indica que a subtribo é polifilética.

- Mais caracteres moleculares e morfológicos devem ser inclusos na análise, para uma melhor compreensão das relações filogenéticas em *Heterocondylus* e Ayapaninae.

Mikaniinae, uma subtribo claramente monofilética, por apresentar espécies consistentemente com quatro flores e quatro brácteas involucrais, vem sendo objeto de estudo com o objetivo de uma revisão seccional do gênero *Mikania* Willd. (Oliveira et al. in prep.)

- *Mikania* sect. *Corymbosae* B.L. Rob., se mostrou monofilética. Essa seção abrange as espécies que possuem a distribuição dos capítulos (capitulescência ou inflorescência de segunda ordem) em forma de corimbos e na qual está localizada a espécie-tipo do gênero, *Mikania scandens* (L.f.) Willd.

O estudo filogenético com enfoque na irradiação das Eupatorieae brasileiras corroboram os resultados demonstrados anteriormente, de que as subtribos Ageratinae, Alomiinae, Critoniinae, Gyptidinae, Ayapaniinae, Disynaphiinae e Eupatoriinae não são monofiléticos. Por outro lado demonstra que Mikaniinae, Hebeclyniinae, Praxelinae, Fleischmaniinae e Adenostemmatinae são monofiléticos (Rivera et al. in prep.). Nesse estudo é evidenciado de que houveram várias introduções de espécies no Brasil, e que o possível refúgio tenha sido os Andes.

Todos esses estudos foram realizados utilizando o espaçador nuclear ribossômico ITS e com exceção do estudo de Mikaniinae, os outros também incluíram o espaçador *trnL-F*. No entanto, a adição desse marcador não alterou a topologia das árvores obtidas somente com o ITS, mas por outro lado, melhorou a resolução dos cladogramas principais das análises. O estudo de Rivera et al. (in prep.) também está sendo feito com ETS, *ndhI* (gene e *ndhI-ndhG* IGS) e *ndhF*.

## Futuro

Com base nos estudos filogenéticos que vem sendo realizados com as espécies sulamericanas de

Eupatorieae, algumas perspectivas já podem ser traçadas:

- Recircunscrição das subtribos: no momento, não é possível propor uma nova classificação subtribal, uma vez que diversos gêneros, principalmente dos Andes Norte e América Central, ainda não foram amostrados. Grande parte destes gêneros são das subtribos Ageratinae, Alomiinae, Critoniinae e Oxylobinae.

- Quanto à delimitação dos gêneros, gêneros grandes como *Mikania* e *Stevia*, que possuem uma unidade morfológica bem consolidada, se mostraram monofiléticos. Já *Chromolaena*, que possui ampla diversidade morfológica, se mostrou parafilético.

- Com relação aos gêneros que estão em politomias, a adição de mais marcadores moleculares e morfológicos pode ajudar a resolver a relação entre estes gêneros;

- No entanto, para gêneros que se revelaram polifiléticos e se agrupam com espécies de outros gêneros, a hipótese de que hajam híbridos intergenéricos não pode ser descartada. Com isso, a criação de novos gêneros mostra-se prematura na atual fase do conhecimento das relações filogenéticas na tribo.

## Agradecimentos

O primeiro autor agradece à Comissão Organizadora do 64º Congresso Nacional de Botânica e aos demais autores pela oportunidade de apresentar este trabalho; ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio ao projeto de pesquisa vinculado à tese de doutorado e pela bolsa de doutorado; Ana Claudia Fernandes agradece a CAPES e a FAPEMIG pelas bolsas de doutorado.

## Referências Bibliográficas

Anderberg, A.A.; Baldwin, B.G.; Bayer, R.G.; Breitwieser, J.; Jeffrey, C.; Dillon, M.O.; Eldenäs, P.; Funk, V.; Garcia-Jacas, N.; Hind, D.J.N.; Karis, P.O.; Lack, H.W.; Nesom, G.L.; Nordenstam, B.; Oberprieler, C.; Panero, J.L.; Puttock, C.; Robinson, H.; Stuessy, T.F.; Susanna, A.; Urtubey, E.; Vogt, R.; Ward, J.

& Watson, L.E. 2007. Compositae. Pp. 61-588. In K. Kubitzki, J.W. Kadereit & C. Jeffrey (eds.). **The families and genera of Vascular Plants, vol. 8: Flowering Plants, Eudicots: Asterales**. Springer – Verlag Berlin Heidelberg.

Baker, J.G. 1876. Compositae II. Eupatoriaceae. Pp. 181-374. In C.F.P. von Martius (ed.). **Flora Brasiliensis 6**.

Bentham, G. 1873. Notes on the classification, history, and geographical distribution of Compositae. **Journal of the Linnean Society, Botany 13**: 335-577.

Bremer, K.; Anderberg, A.A.; Karis, P.O. & Lundberg, J. 1994. Tribe Eupatorieae. Pp. 625-680 In K. Bremer (ed.). **Asteraceae: Cladistics and Classification**. Timber Press, Portland, Oregon.

Cassini, H. 1818a. Cinquieme memoire, sur la famille des Synantherees, contenant les fondemens de la Synantherographie. **Journal de Physique, de Chimie, d’Histoire Naturelle et des Arts 86**: 120-129, 173-189.

Cassini, H. 1818b. *Coleosanthus*. Pp. 36-37. In F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 10**. Strasbourg.

Cassini, H. 1818c. Composees. Pp. 131-159. In F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 10**. Strasbourg.

Cassini, H. 1818d. Aperru des genres nouveaux formes par M. Henri Cassini Bans la famille des Synantherees, neuviime fascicule. **Bulletin de la Société Philomatique de Paris 1818**: 139-142.

Cassini, H. 1819a. Sixieme memoire sur la famille des Synantherees, contenant les caracteres des tribus. **Journal de Physique, de Chimie, d’Histoire Naturelle et des Arts 88**: 150-169, 189-204.

Cassini, H. 1819b. *Critonia*. Pp. 1-2. In F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 12**. Strasbourg.

Cassini, H. 1820a. Eupatoire. Pp. 2-4. In F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 16**. Strasbourg.

Cassini, H. 1820b. Eupatorees. Pp. 5-8. In F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 16**. Strasbourg.

- Cassini, H. 1820c. Eupatoriees. Pp. 9-10. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 16**. Strasbourg.
- Cassini. 1821a. Gyptide. Pp. 177-179. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 20**. Strasbourg.
- Cassini, H. 1822a. Isocarphe. Pp. 18-20. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 24**. Strasbourg.
- Cassini, H. 1822b. Kuhnle. Pp. 515-520. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 24**. Strasbourg.
- Cassini, H. 1822c. Lavenie. Pp. 360-365. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 25**. Strasbourg.
- Cassini, H. 1823a. Le catalogue des plantes du Jardin medical de Paris (comments). Pp. 223-235. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 26**. Strasbourg.
- Cassini, H. 1823b. *Liatris*. Pp. 235-239. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 26**. Strasbourg.
- Cassini. 1826a. Piquerie. Pp. 115-119. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 41**. Strasbourg.
- Cassini, H. 1826b. Praxelide. Pp. 261.262. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 43**. Strasbourg.
- Cassini, H. 1828. Trilise. Pp. 310-311. *In* F.G. Levrault (ed.). **G.L.C.F.D. Cuvier Dictionnaire des Sciences Naturelles 55**. Strasbourg.
- DeCandolle, A.P. 1836. Eupatoriaceae. Pp. 103-211. *In* A.P. DeCandolle (ed.). **Prodromus 5**. Treuttel & Würtz, Paris.
- Funk, V.A.; Bayer, R.J.; Keeley, S.; Chan, R.; Watson, L.; Gemeiholzer, B.; Schilling, E.; Panero, J.L.; Baldwin, B.G.; Garcia-Jacas, N.; Susanna, A. & Jansen, R.K. 2005. Everywhere but Antarctica: Using a supertree to understand the diversity of the Compositae. **Biologiske Skrifter 55**: 343-374.
- Hind, D.J.N. 1999. A new genus, *Semiria* (Compositae: Eupatorieae: Gyptidinae), and a discussion of its affinities within the Gyptidinae of Bahia, Brazil. **Kew Bulletin 54**: 425-432.
- Hind, D.J.N. 2000. A new genus, *Catolesia* (Compositae: Eupatorieae), and a discussion of its affinities within the subtribe Gyptidinae of Bahia, Brazil. **Kew Bulletin 55**: 941-948.
- Hind, D.J.N. & Robinson, H. 2007. Eupatorieae. Pp. 510-574. *In* J. W. Kadeiret & C. Jeffrey (eds). **The Families and Genera of Vascular Plants, Vol. 8: Flowering Plants, Eudicots, Asterales**. Springer-Verlag, Berlin.
- Hoffmann, O. 1890-1894. Compositae. Pp. 87-387. *In* A. Engler & K. Prantl (eds.). **Die Natürlichen Pflanzenfamilien 4**. Leipzig.
- Ito, M.; Watanabe, K.; Kita, Y.; Kawahara, T.; Crawford, D.J. & Yahara, T. 2000a. Phylogeny and Phytogeography of *Eupatorium* (Eupatorieae, Asteraceae): Insights from Sequence Data of the nrDNA ITS Regions and cpDNA RFLP. **Journal of Plant Research 113**: 79-89.
- Ito, M.; Yahara, T.; King, R.M.; Watanabe, K.; Oshita, S.; Yokoyama, J. & Crawford, D.J. 2000b. Molecular phylogeny of Eupatorieae (Asteraceae) estimated from cp-DNA RFLP and its implication for the polyploidy origin hypothesis of the tribe. **Journal of Plant Research 113**: 91-96.
- Lessing, C.F. 1832. **Synopsis Generum Compositarum**. Berlin.
- King, R.M. & Robinson, H. 1987. **The genera of Eupatorieae (Asteraceae)**. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 22.
- Robinson, B.L. 1913. A key to the genera of the Compositae-Eupatorieae. **Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences 49**: 429-437.
- Schmidt, G.J. & Schilling, E.E. 2000. Phylogeny and biogeography of *Eupatorium* (Asteraceae: Eupatorieae) based on nuclear ITS sequence data. **American Journal of Botany 87**: 716-726.



# O sequenciamento de nova geração: potencialidades para estudos filogenéticos em Asteraceae. Exemplos com os gêneros *Aldama* (Heliantheae) e *chresta* (Vernonieae)

**Benoît Francis Patrice Loeuille<sup>1</sup> & Carolina Moriani Siniscalchi**

Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>1</sup> Autor para correspondência: benoit.loeuille@gmail.com

## Introdução

Nos últimos 25 anos, o desenvolvimento de métodos de sequenciamento, de amplificação do DNA e de automatização desses processos revolucionou a biologia como um todo, permitindo um aprofundamento de diversos tipos de estudos que se beneficiaram dessa nova visão, agora molecular, da biodiversidade (Delseny *et al.* 2010). Para a botânica, o uso desses métodos foi essencial para chegar ao entendimento da biodiversidade vegetal como temos hoje em dia, uma vez que a reconstrução das relações de parentesco de muitos grupos de plantas só foi alcançada com sucesso após a inclusão de dados moleculares às matrizes de caracteres (Straub *et al.* 2012).

Com a popularização e o barateamento das tecnologias, passou a ser mais fácil gerar dados para organismos não-modelo, e a inclusão de um ou mais marcadores moleculares, plastidiais ou nucleares, passou a ser praticamente obrigatória em estudos filogenéticos. No entanto, a técnica de sequenciamento disponível para a maioria dos estudos, o sequenciamento de Sanger, ainda impunha uma série de dificuldades para a realização de estudos de grande porte, que envolvessem sequenciamento de grandes partes do genoma (Straub *et al.* 2012).

O método desenvolvido por Sanger em 1977 é baseado na replicação de DNA in-vitro, com a incorporação seletiva de dideoxynucleotídeos. A técnica se tornou mais poderosa uma vez que a reação em cadeia da polimerase, ou PCR, surgiu em 1983 e foi incorporada na preparação de amostras para sequenciamento. Outro fator que contribuiu para a ampla utilização do sequenciamento de Sanger foi a automatização da reação de sequenciamento (Delseny *et al.* 2010).

Esse é o panorama encontrado nos estudos de sistemática até o presente. No entanto, novas tecnologias tem sido desenvolvidas e aos poucos estão sendo incorporadas em estudos filogenéticos, prometendo uma nova revolução em estudos com dados moleculares (Egan *et al.* 2012). Esse conjunto de técnicas tem sido chamado de Sequenciamento de Nova Geração (Next Generation Sequencing – NGS) e tem como principal característica o sequenciamento de grande parte do genoma de um organismo em uma única corrida, gerando uma quantidade imensa de dados em prazo curto (Delseny *et al.* 2010).

Esse grupo de métodos, também chamados de plataformas, possui algumas características em comum: a fragmentação do DNA é necessária para o sequenciamento, a etapa de amplificação de DNA

ocorre no próprio sequenciador, a reação é feita em *multiplexing* com várias amostras sendo sequenciadas ao mesmo tempo, não é necessário usar *primers* para o sequenciamento de regiões específicas, na maioria dos casos não é possível selecionar quais regiões serão sequenciadas e o resultado final é um conjunto de seqüências muito curtas (de 30 a 450 pares de bases), que depois exigem tratamento bioinformático intenso. Ainda assim o tipo de reação de sequenciamento, o meio onde elas ocorrem e o tipo de enzima usado varia dependendo da plataforma utilizada. As principais plataformas utilizadas nos estudos de sistemática são Roche 454, Illumina e Solid (Delseny *et al.* 2010; Egan *et al.* 2012).

O uso de dados moleculares para inferir a filogenia das Asteraceae começou no fim dos anos 1980 com a análise de sítios de restrição do cloroplasto (Jansen & Palmer 1987, 1988; Jansen *et al.* 1991a, 1991b; Jansen & Kim 1996), que teve como principais resultados a posição derivada da tribo Heliantheae e parte da tribo Mutisieae como uma das primeiras linhagens de Asteraceae. As primeiras regiões sequenciadas para reconstrução filogenética da família foram *rbcl* (Kim *et al.* 1992) e *ndhF* (Kim & Jansen 1995), dois marcadores plastidiais, que apresentaram uma variação adequada para estabelecer as relações de parentesco entre as subfamílias e tribos, porém insuficiente para inferência de relações infra-tribais. Tendo como base estudos que mostravam um maior taxa de substituição (e.g. Kim & Mabry 1991) do espaçador interno transcrito entre os genes 18S e 28S do DNA nuclear ribossômico (ITS), este foi sequenciado (Baldwin 1992), mostrando um potencial interessante para inferir filogenias em nível específico (Baldwin 1993). Alguns anos depois o espaçador externo da mesma região (ETS) provou ser um marcador ainda mais variável do que o ITS (Baldwin & Markos 1998). Durante os últimos 20 anos, as filogenias feitas em Asteraceae foram baseadas em marcadores plastidiais (principalmente: *ndhF*, *matK*, *trnLF*, *rpl32-trnL*, *psbA-trnH*) (veja Timme *et al.* 2007a), associadas ou não a marcadores nucleares (quase exclusivamente ITS e ETS). Esses resultados foram sintetizados na forma de um meta-árvore (Funk *et al.* 2005, 2009).

No entanto, as regiões plastidiais em Asteraceae constantemente apresentaram uma variação muito baixa, impedindo o esclarecimento de relações em nível genérico e específico (Funk *et al.* 2009; Funk 2010), além do fato de ser herdado uniparentalmente (McCauley *et al.* 2007) implicar um

viés importante em filogenias baseadas em dados plastidiais na ocorrência de eventos de introgressão e poliploidia (Harris & Ingram 1991; Zimmer & Wen 2012), os quais são frequentes em Asteraceae (Vallès *et al.* 2013). Ainda, clados recuperados com dados moleculares plastidiais são frequentemente diferentes daqueles encontrados com ITS e ETS (Funk 2010).

Contudo, o uso de ITS e ETS para inferir filogenias é altamente problemático: a homogeneização das diferentes cópias presentes no genoma é frequentemente incompleta (Álvarez & Wendel 2003) e as topologias obtidas não necessariamente representam as relações filogenéticas entre as espécies, especialmente quando há hibridização e poliploidia, fenômenos comuns entre as Asteraceae (Jupe & Zimmer 1993; Renny-Byfield *et al.* 2011; Schmidt-Lebuhn 2013). Além disso, foi identificado outro problema, os iniciadores (*primers*) do ITS amplificam facilmente pseudogenes e ITS de origem fúngica (Suh *et al.* 1993; Zhang *et al.* 1997).

Confrontado com tais limitações dos marcadores plastidiais e ribossômicos, genes nucleares de baixa ou única cópia foram desenvolvidos para tribos específicas (Senecioneae, Álvarez *et al.* 2008) ou para toda a família (Krak *et al.* 2012). No entanto, a amplificação e sequenciamento Sanger dessas regiões é tecnicamente mais complexa, envolvendo quase sempre etapas de clonagem e desenvolvimento de iniciadores específicos para o grupo de interesse.

Com o atual acesso mais fácil às plataformas de NGS e com a diminuição do custo dessas novas tecnologias, o NGS apresenta um caminho muito promissor para a rápida obtenção de várias regiões nucleares de baixa cópia com taxa de variação adequada para a reconstrução filogenética (Zimmer & Wen 2012) em qualquer nível hierárquico nas Asteraceae.

### Grupo de estudo

O gênero *Chresta* está incluído na subtribo Chrestinae, de Vernonieae, tribo que vem passando por diversas reestruturações em relação a suas subtribos há certo tempo. Chrestinae já foi alvo de estudos filogenéticos anteriores (Loeuille 2011), onde foi demonstrado que é monofilética, porém com pouca resolução em seus nós internos. Por tratar-se

de um grupo com número mediano de espécies (cerca de 15, divididas em 2 gêneros), praticamente endêmico do Brasil, com diversificação restrita ao Cerrado e a Caatinga, foi considerado que este era um grupo apropriado para o desenvolvimento de um método para análise de organismos não-modelo utilizando sequenciamento de nova geração.

*Aldama* (Heliantheae: Helianthinae) teve sua circunscrição recentemente alterada, com a transferência de quase todas as espécies de *Viguiera* para ele (Schilling & Panero 2011). *Viguiera* foi alvo de vários estudos filogenéticos usando dados moleculares nos últimos anos, tendo sido demonstrado que este não constitui um grupo monofilético na circunscrição atual. Baseando-se nessas filogenias, os clados bem sustentados foram elevados ao nível genérico (Schilling & Panero 2002, 2011). No entanto, a transferência das espécies sul-americanas de *Viguiera* para *Aldama* continua controversa, uma vez que poucas espécies sul-americanas foram amostradas em filogenias e o gênero não é bem definido morfológicamente. Esse gênero de Asteraceae representa o caso comum na família onde nenhum marcador plastidial testado apresenta variação suficiente (Schilling pers. com.) e o ITS tem variação muito baixa em nível específico (Schilling *et al.* 2000). Apesar dos dados sobre hibridização e poliploidia em *Aldama* serem escassos, esses fenômenos parecem muito frequentes (Magenta pers. com.). A situação provavelmente é semelhante àquela encontrada no gênero proximoamente relacionado *Helianthus* (Timme *et al.* 2007b e referências citadas nesse trabalho), um dos modelos para estudo de hibridização em plantas (Rieseberg 1991; Rieseberg *et al.* 2003; Moody & Rieseberg 2012). Assim, filogenias baseadas em ITS e ETS (Schilling & Panero 2002, 2011) podem não estar representando de maneira acurada a história evolutiva das Helianthinae. O desenvolvimento de marcadores nucleares de baixa cópia revela-se extremamente importante para entender as relações evolutivas em *Aldama* e nas Helianthinae.

## Objetivos

O objetivo principal desse trabalho foi investigar a aplicabilidade de um método de sequenciamento de nova geração para a obtenção de caracteres moleculares informativos para estudos filogenéticos na família Asteraceae. Essa motivação parte de estudos já publicados (Straub *et al.* 2011,

Steele *et al.* 2012) que foram bem sucedidos em resolver problemas filogenéticos usando diferentes métodos de sequenciamento de nova geração, especialmente para níveis mais internos da filogenia e em clados de diversificação recente. Devido aos problemas identificados com o uso de marcadores plastidiais em filogenias de Asteraceae, e aos problemas de hibridização e poliploidia em marcadores nucleares, optou-se por duas abordagens diferentes, uma envolvendo o sequenciamento com cobertura reduzida de quatro espécies de *Chresta*, para obtenção de sequências completas de todo o cloroplasto, para verificação da quantidade de variação encontrada entre as espécies e a outra envolvendo sequenciamento de ampla cobertura de duas espécies de *Aldama*, para identificação de genes ortólogos nucleares.

## Metodologia

Para *Chresta*, foram selecionadas quatro espécies que representam a diversidade do gênero e que abrangem os dois clados já encontrados em filogenia anterior (Loeuille 2011): *Chresta curumbensis*, *C. harleyi*, *C. pycnocephala* e *C. scapigera*

Para esse estudo, foram selecionadas duas espécies de *Aldama* que, a priori, não apresentam problema de poliploidia (Magenta pers. com.): *A. kunthiana* e *A. linearifolia*.

ONGS foi realizado na plataforma Illumina iScan Sequencing Module, no Laboratório Multiusuários Centralizado (ESALQ, Piracicaba – SP). Amostras de 20 µL de DNA a 2,5 ng/µL foram quantificadas via Qubit, e a biblioteca foi preparada com o kit Nextera, que fragmenta o DNA e liga tais fragmentos aos adaptadores necessários para a realização da leitura pela máquina. Após a preparação da biblioteca, o material foi purificado e o produto passou por uma reação de PCR utilizando *primers* próprios ao método escolhido para amplificação dos fragmentos; posteriormente, a concentração do produto amplificado foi determinada utilizando Nanodrop 1000 (Mardis 2008; Delseny *et al.* 2010; Straub *et al.* 2011). O produto limpo e diluído foi então submetido ao sequenciamento, de acordo com o protocolo padrão da instituição.

As sequências obtidas foram então tratadas computacionalmente, em plataforma UNIX® (The Open Group 1995). A avaliação da qualidade das sequências

foi feita usando FastQC (Babraham Bioinformatics) e a limpeza (“trimming”) de sequências de baixa qualidade e remoção dos adaptadores usando SeqyClean (Zhbannikov *et al.* 2013). Para mais detalhes, veja a Figura 1.

### Montagem do cloroplasto de *Chresta*

As amostras de *Chresta* tiveram seus *reads* mapeados contra o genoma plastidial de *Lactuca sativa*, obtido no GenBank (AP007232), utilizando Bowtie2 (Langmead & Salzberg 2012) e então foi obtida uma sequência consenso de todos os *reads* mapeados, utilizando Samtools (Li *et al.* 2009). A cobertura de sequenciamento de cada posição na sequência foi verificada com BEDtools (Quinlan & Hall 2010). As sequências-consenso de cada amostra foram então alinhadas entre si, utilizando MAFFT (Katoh & Toh 2010). A matriz de caracteres resultantes do alinhamento das sequências foi então analisada nos programas Mesquite (Maddison & Maddison 2011) e NONA (Goloboff 1999), para identificação dos caracteres variáveis e informativos. A posição de cada um desses caracteres variáveis ou informativos na sequência foi então comparada a anotação de cada sequência-consenso para cada espécie obtida através do *blast* na plataforma DOGMA (Wyman *et al.* 2004) para avaliação das regiões gênicas que apresentam caracteres variáveis. Os resultados obtidos com o *blast* foram então colocados na plataforma *online* GenomeVx (Conant & Wolfe 2007), para obtenção do mapa do genoma plastidial (Figura 2).

### Montagem do genoma de *Aldama* e busca de genes ortólogos

Para o *assembling de novo* dos fragmentos e montagem do genoma foi usado Velvet (Zerbino & Birney 2008) e para a montagem contra um genoma de referência (*Helianthus annuus*) foi utilizado Mira (Chevreux *et al.* 2004). Devido ao grande poder computacional exigido para o *assembling* das sequências, essa etapa foi realizada no *cluster* do Laboratório Multiusuários Centralizado (ESALQ, Piracicaba). Então, foram selecionados os *contigs* que apresentaram grande cobertura durante o sequenciamento (pelo menos cinco vezes). O conjunto dos *contigs* das duas montagens passou então por um

BLAST (*tblastn*) contra um banco de dados contendo as sequências proteicas de 2869 genes ortólogos de baixa cópia de *Helianthus annuus*, selecionados por Wu *et al.* (2006), contendo potenciais marcadores para estudos filogenéticos. Os *contigs* que apresentaram similaridade com esses genes foram selecionados e triados para verificação de variabilidade interespecífica, para uso em estudo filogenético. Nessa etapa foi usado o programa CD-HIT (Li & Godzick 2006) para agrupar (“clustering”) as sequências altamente semelhantes entre as três espécies; um teste de ortologia foi efetuado com o programa OrthoMCL (Li *et al.* 2003) e OMA (Dessimoz *et al.* 2005), sobre as sequências alinhadas. O potencial filogenético foi avaliado com o programa PhyDesign (López-Giráldez & Townsend 2011).

## Resultados e Discussão

### *Chresta*

O sequenciamento de quatro amostras de *Chresta* gerou aproximadamente 12 milhões de *reads* (ca. 1 bilhão de nucleotídeos) para cada espécie. De 3 a 5% dos *reads* de cada espécie foram mapeados contra o genoma plastidial de referência, o restante dos *reads* de cada amostra correspondendo a DNA mitocondrial e nuclear. Foi possível fazer a reconstrução completa do cloroplasto de todas as espécies, com tamanho aproximado de 153 mil pares de base. A cobertura de sequenciamento para cada posição foi testada e variou de 20x a mais 1000x. Dos 153 mil caracteres, apenas 810 foram variáveis entre as quatro espécies, e desses 810, apenas 116 foram informativos (o mesmo caráter variava em mais de duas espécies), ou seja, apenas 0,07% das sequências obtidas poderiam ser utilizadas como caracteres para um estudo filogenético.



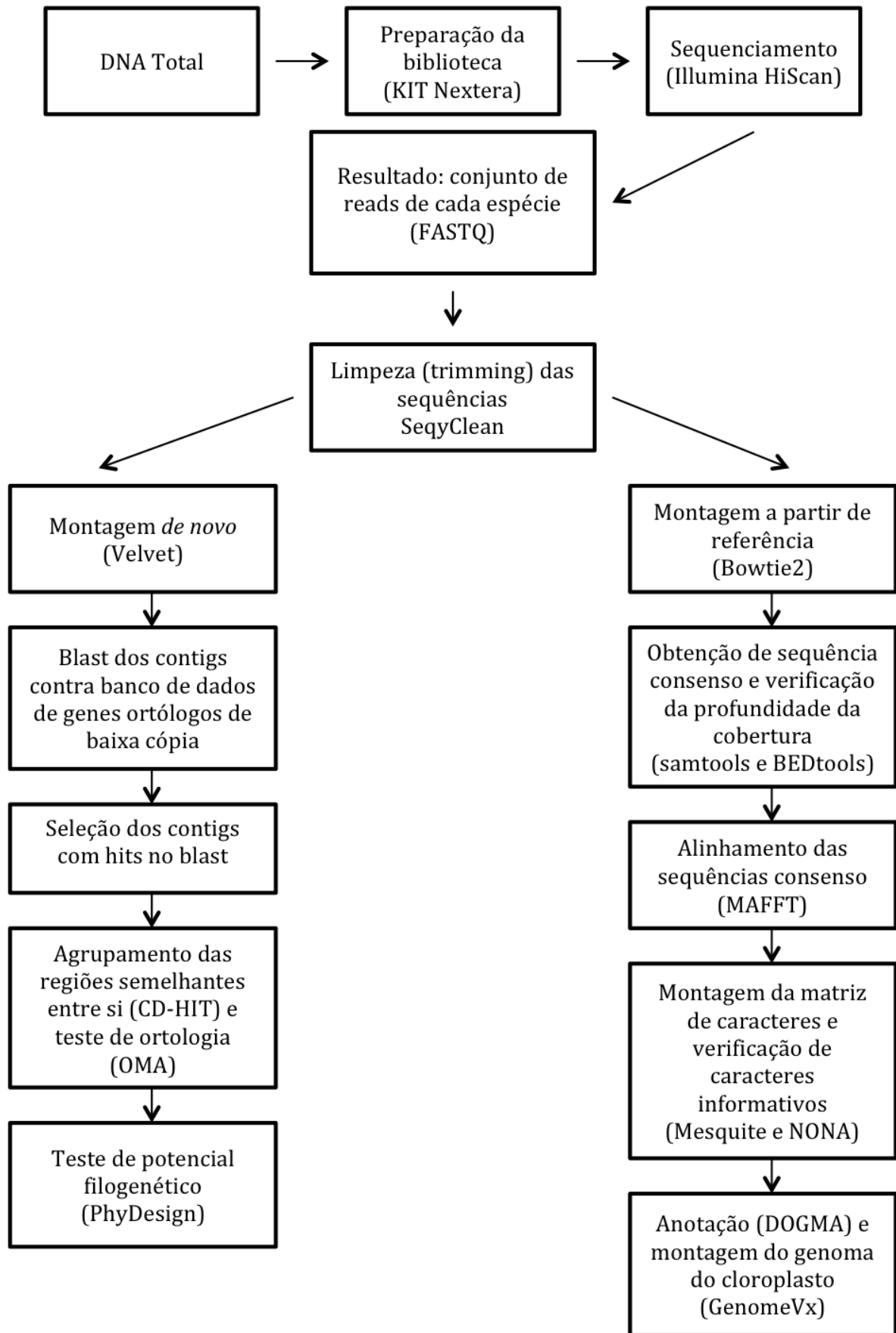


Figura 1. Fluxograma mostrando as etapas de preparação das amostras, do DNA total à sequência final.

A distância  $p$  (razão entre o número de loci variável sobre o tamanho total da região genômica onde ocorrem) foi calculada, para normalizar a comparação entre as diferentes regiões informativas (Timme *et al.* 2007), e essas variaram de 0,0009 a 0,02, o que evidencia ainda mais a pouca variabilidade do genoma plastidial. Resultados semelhantes já haviam sido encontrados por Timme *et al.* (2007), num trabalho de comparação entre *Helianthus annuus* e *Lactuca sativa*, que pertencem a subfamílias diferentes. Ainda assim, entre essas espécies filogeneticamente distantes a distância  $p$  variou de 0,03 a 0,2, mostrando que marcadores plastidiais podem ser informativos dependendo do nível hierárquico.

De forma geral, a maior parte dos caracteres informativos estava localizada nas regiões intergênicas, o que é esperado, já que regiões codificantes são mais preservadas, porém alguns genes também apresentam variações, tais como *trnP-UGG*, *rps8* e *rps11*. No entanto, é interessante ressaltar que os marcadores plastidiais tradicionalmente usados em estudos filogenéticos, como *matK*, *rbcL*, *ndhF*, *trnL-trnF* e *psbA-trnH*, além de outras 21 regiões amostradas em um estudo comparativo (Shaw *et al.* 2005), não apresentam sítios informativos no caso das sequências amostradas de *Chresta*.

Ainda, comparações feitas entre estudos em diferentes famílias mostraram que apesar de existirem tendências gerais de algumas regiões serem mais variáveis do que outras, é mais provável que famílias ou linhagens tenham um conjunto de regiões variáveis único e que a quantidade de variação seja diferente entre grupos (Shaw *et al.* 2005). Um exemplo é o estudo de Steele *et al.* (2012), onde uma análise filogenética de 79 genes do plastoma de 50 espécies de Asparagales e Poaceae foi suficiente para recuperar as relações filogenéticas, mesmo em níveis mais internos.

A proporção de caracteres informativos é com certeza levemente subestimada devido a comparação entre somente quatro genomas, entretanto é possível que essa não seja tão maior, uma vez que as amostras correspondem às quatro principais linhagens dentro de Chrestinae.

## Aldama

O sequenciamento de *Aldama kunthiana* gerou aproximadamente 53 milhões de *reads* (5,3 bilhões de nucleotídeos) e o de *A. linearifolia*, 86,5 milhões de *reads* (8,6 bilhões de nucleotídeos). A montagem *de novo* que gerou o maior número de *contigs* (com cobertura superior a 5x) foi com um  $k$ -mer = 61. Foram obtidos 11049 *contigs* para *A. kunthiana* e 22971 para *A. linearifolia*. O *tblastn* resultou em 91 hits contra os genes ortólogos de Wu *et al.* (2006). A próxima etapa na análise do dados de sequenciamento dessas duas espécies de *Aldama* será comparar os resultados da montagem *de novo* com a montagem feita com um genoma de referência, para então realizar a fase de agrupamento e teste de ortologia.

## Conclusões

O uso de NGS para inferir filogenias baseadas no genoma plastidial em Asteraceae é uma estratégia condenada ao fracasso e uma perda de tempo, além subutilizar o potencial dessa nova tecnologia para a inferência filogenética.

Descobrir novos genes nucleares ortólogos de baixa cópia constitui então o caminho para gerar filogenias bem resolvidas em nível genérico e específico. Entretanto, uma cobertura maior de sequenciamento do genoma é necessária para alcançar esse objetivo. Essa estratégia é complicada também pela falta de dados sobre o tamanho do genoma da maioria das espécies de Asteraceae (Vallès *et al.* 2013) e sobre a ocorrência de poliploidia (Kelly *et al.* 2012).

## Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP (Processo 2010/51454-3), CAPES, ao Prof. Dr. José Rubens Pirani, a Profa. Dra. Maria Magdalena Rossi, a Dra. Sônia Andrade e a Dra. Paula Elbl.

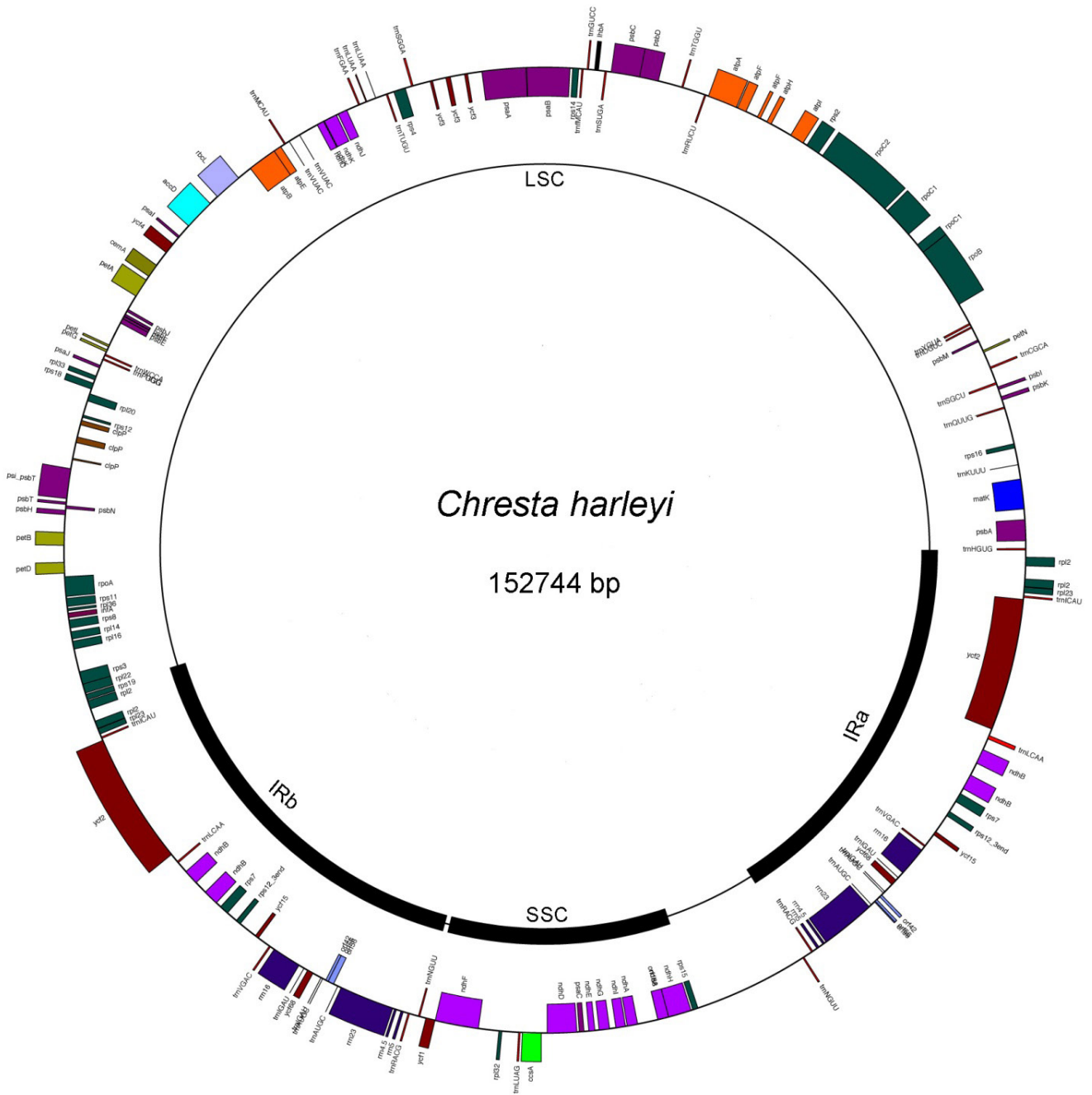


Figura 2. Mapa do genoma plastidial de *Chresta harleyi*. Genes no exterior do mapa são transcritos no sentido horário e aqueles no interior são transcritos no sentido anti-horário. LSC: região de cópia única longa, SSC : região de cópia única curta, IRA e IRb : regiões repetidas invertidas A e B.

## Referências bibliográficas

- Álvarez, I. & Wendel, J.F. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **29**: 417-434.
- Álvarez, I.; Costa, A. & Feliner, G.N. 2008. Selecting single-copy nuclear genes for plant phylogenetics: a preliminary analysis for the Senecioneae. **Journal of Molecular Evolution** **66**: 276-291.
- Baldwin, B.G. 1992. Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the Compositae. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **1**: 3-16.
- Baldwin, B.G. 1993. Molecular phylogenetics of *Calycadenia* (Compositae) based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA: chromosomal and morphological evolution reexamined. **American Journal of Botany** **80**: 222-238.
- Baldwin, B.G. & Markos, S. 1998. Phylogenetic utility of the external transcribed spacer (ETS) of 18S-26S rDNA: congruence of ETS and ITS trees of *Calycadenia* (Compositae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **10**: 449-463.
- Chevreur, B.; Pfisterer, T. Drescher, B.; Driesel, A.J.; Müller, W.E.G.; Wetter, T. & Suhai, S. 2004. Using the miraEST assembler for reliable and automated mRNA transcript assembly and SNP detection in sequenced ESTs. **Genome Research** **14**: 1147-1159.
- Conant, G.C. & Wolfe, K.H. 2007. GenomeVx: Simple web-based creation of editable circular chromosome maps. **Bioinformatics** **24**: 861-862.
- Delseny, M.; Han, B. & Hsing, Y.I. 2010. High throughput DNA sequencing: the new sequencing revolution. **Plant Science** **179**: 407-422.
- Dessimoz, C.; Cannarozzi, G.; Gil, M.; Margadant, D.; Roth, A.; Schneider, A. & Gonnet, G.H. 2005. OMA, a Comprehensive, Automated Project for the Identification of Orthologs from Complete Genome Data: Introduction and First Achievements. pp. 61-72. In: A. McLysaght *et al.* (Eds): **RECOMB 2005 Workshop on Comparative Genomics**, LNBI 3687.
- Egan, A.N.; Schlueter, J. & Spooner, D. 2012. Applications of next-generation sequencing in plant biology. **American Journal of Botany** **99**: 175-185.
- Funk, V.A. 2010. Ten things I learned on the way to the Mother Tree (i.e., Mother Ship). **Compositae Newsletter** **48**: 6-21.
- Funk, V.A.; Bayer, R.J.; Keeley, S.; Chan, R.; Watson, L.; Gemeinholzer, B.; Schilling, E.; Panero, J.L.; Baldwin, B.G.; Garcia-Jacas, N.T.; Susanna, A. & Jansen, R.K. Jansen. 2005. Everywhere but Antarctica: Using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. In: I. Friis, I. & Balslev, H. (eds.) Plant diversity and complexity patterns – local, regional and global dimensions. Proceedings of an International Symposium. **Biol. Skr.** **55**: 343-373.
- Funk, V.A.; Susanna, A.; Stuessy, T.F. & Bayer, R.J. 2009. **Systematics, evolution and biogeography of Compositae**. Vienna, Austria: International Association for Plant Taxonomy (IAPT).
- Goloboff, P. 1999. **NONA (NO NAME) ver. 2**. Published by the author, Tucumán, Argentina.
- Harris, S.A. & Ingram, R.. 1991. Chloroplast DNA and biosystematics: the effect of intraspecific diversity and plastid transmission. **Taxon** **40**: 393-412.
- Jansen, R.K. & Kim, K.-J. 1996. Implications of chloroplast DNA for the classification and phylogeny of the Asteraceae. Pp. 317-339. In: Hind, D.J.N. & Beentje, H.J. (eds.), **Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference, Kew, 1994**. Vol 1. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Jansen, R.K. & Palmer, J.D. 1987. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** **84**: 5818-5822.
- Jansen, R.K. & Palmer, J.D. 1988. Phylogenetic implications of chloroplast DNA restriction site variation in the Mutisieae (Asteraceae). **American Journal of Botany** **75**: 753-766.
- Jansen, R.K.; Michaels, H.J. & Palmer, J.D. 1991a. Phylogeny and character evolution in Asteraceae based on chloroplast DAN restriction site mapping. **Systematic Botany** **16**: 98-115.
- Jansen, R.K.; Michaels, H.J.; Wallace, R.; Kim, K.-J.; Keeley, S.; Watson L. & Palmer, J.D. 1991b. Chloroplast DNA variation in the Asteraceae: phylogenetic and evolutionary implications. Pp.



- 252-279. In: Soltis, D., Soltis, P. & Doyle, J. (eds.), **Molecular Systematics of Plants**. Chapman Hall, New York.
- Jupe, E.; & Zimmer, E.A. 1993. DNaseI-sensitive and undermethylated rDNA is preferentially expressed in a maize hybrid. **Plant Molecular Biology** **21**: 805–821.
- Katoh, K. & Toh, H. 2010. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. **Bioinformatics** **26**: 1899-1900.
- Kelly, L.J.; Leitch, A.R.; Fay, M.F.; Renny-Byfield, S.; Pellicer, J.; Macas, J. & Leitch, I.J. 2012. Why size really matters when sequencing plant genomes. **Plant Ecology and Diversity** **5**: 415-425.
- Kim, K.-J. & Jansen, R.K. 1995. *ndhF* sequence evolution and the major clades in the sunflower family. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** **92**: 10379-10383.
- Kim, K.-J. & Mabry, T.J. 1991. Phylogenetic and evolutionary implications of nuclear ribosomal DNA variation in dwarf dandelions (*Krigia*, Lactuceae, Asteraceae). **Plant Systematics and Evolution** **177**: 53-69.
- Kim, K.-J.; Jansen, R.K.; Wallace, R.S.; Michaels, H.J. & Palmer, J.D. 1992. Phylogenetic implications of *rbcL* sequence variation in the Asteraceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **79**: 428-445.
- Krak, K.; Álvarez, I.; Caklova, P.; Costa, A.; Chrték, J. & Fehrer, J. 2012. Development of novel low-copy nuclear markers for Hieraciinae (Asteraceae) and their perspective for other tribes. **American Journal of Botany** **99**: e74-e77.
- Langmead, B. & Salzberg, S. 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. **Nature Methods** **9**: 357-359.
- Li, H.; Handsaker, B.; Wysoker, A.; Fennell, T.; Ruan, J.; Homer, N.; Marth, G.; Abecasis, G.; Durbin, R. & 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. 2009. The Sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. **Bioinformatics** **25**: 2078-2079.
- Li, L.; Stoeckert, C.J. & Ross, D.S. 2003. OrthoMCL: Identification of ortholog groups of Eukaryotic genomes. **Genome Research** **13**: 2178-2189.
- Li, W. & Godzick, A. 2006. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. **Bioinformatics Applications Note** **22**: 1658-1659.
- Loeuille, B. 2011. **Towards a phylogenetic classification of Lychnophorinae (Asteraceae: Vernoniaeae)**. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- López-Giráldez, F. & Townsend, J.P. 2011. PhyDesign: an online application for profiling phylogenetic informativeness. **BMC Evolutionary Biology** **11**: 152.
- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis.
- Mardis, E.R. 2008. Next-generation DNA sequencing methods. **Annual Review of Genomics and Human Genetics** **9**: 387-402.
- McCauley, D.E.; Sunby, A.K.; Bailey, M.F. & Welch, M.E. 2007. Inheritance of chloroplast DNA is not strictly maternal in *Silene vulgaris* (Caryophyllaceae): evidence from experimental crosses and natural populations. **American Journal of Botany** **94**: 1333–1337.
- Moody, M.L. & Rieseberg, L.H. 2012. Sorting through the chaff, nDNA gene trees for phylogenetic inference and hybrid identification of annual sunflowers (*Helianthus* sect. *Helianthus*). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **64**: 145-155.
- Quinlan, A.R. & Hall, I.M. 2010. BEDTools: A flexible framework for comparing genomic features. **Bioinformatics** **26**: 6.
- Renny-Byfield, S.; Chester, M.; Kovarik, A.; LeComber, S.C.; Grandbastien, M.-A.; Deloger, M.; Nichols, R.; Macas, J.; Novak, P.; Chase, M.W. & Leitch, A.R. 2011. Next generation sequencing reveals genome downsizing in allotetraploid *Nicotiana tabacum*, predominantly through the elimination of paternally derived repetitive DNAs. **Molecular Biology and Evolution** **10**: 2843-2854.
- Rieseberg, L. 1991. Homoploid reticulate evolution in *Helianthus* (Asteraceae): evidence from ribosomal genes. **American Journal of Botany** **78**: 1218-1237.
- Rieseberg, L.H.; Raymond, O.; Rosenthal, D.M.; Lai, Z.; Livingstone, K.; Nakazato, T.; Durphy, J.L.; Schwarzbach, A.E.; Donovan, L.A. & Lexer, C. 2003. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. **Science** **301**: 1211-1216.

- Schilling, E.E. & Panero, J.L. 2002. A revised classification of subtribe Helianthinae (Asteraceae: Heliantheae) I. Basal lineages. **Botanical Journal of the Linnean Society** **140**: 65-76.
- Schilling, E.E. & Panero, J.L. 2011. A revised classification of subtribe Helianthinae (Asteraceae: Heliantheae) II. Derived lineages. **Botanical Journal of the Linnean Society** **167**: 311-331.
- Schilling, E.E.; Costa, F.B. da; Lopes, N.P. & Heise, P.J. 2000. Brazilian species of *Viguiera* (Asteraceae) exhibit low levels of ITS sequence variation. **Edinburgh Journal of Botany** **57**: 323-332.
- Schmidt-Lebuhn, A. 2013. Reciprocal monophyly of *Craspedia* and *Pycnosorus* (Asteraceae, Gnaphalieae) and the problems of using ribosomal DNA at the lowest taxonomic levels. **Australian Systematic Botany** (no prelo).
- Steele, P.R.; Hertweck, K.L.; Mayfield, D.; McKain, M.R.; Leebens-Mack, J. & Pires, J.C. 2012. Quality and quantity of data recovered from massively parallel sequencing: examples in Asparagales and Poaceae. **American Journal of Botany** **99**: 330-348.
- Straub, S.C.K.; Fishbein, M.; Livshultz, T.; Foster, Z.; Parks, M.; Weitemier, K.; Cronn, R.C. & Liston, A. 2011. Building a model: developing genomic resources for common milkweed (*Asclepias syriaca*) with low coverage genome sequencing. **BMC Genomics** **12**: 211.
- Straub, S.C.K.; Parks, S.; Weitemier, K.; Fishbein, M.; Cronn, R.C. & Liston, A. 2012. Navigating the tip of the genomic iceberg: next-generation sequencing for plant systematics. **American Journal of Botany** **99**: 349-364.
- Suh, Y.; Thien, L.; Reeve, H.; Zimmer, E.A. 1993. Molecular evolution and phylogenetic implications of internal transcribed spacer sequences of ribosomal DNA in Winteraceae. **American Journal of Botany** **80**: 1042-1055.
- The Open Group. 1995. (continuously updated). The UNIX® System. <http://www.unix.org/unix/>.
- Timme, R.E.; Kuehl, J.V.; Boore, J.L. & Jansen, R.K. 2007a. A comparative analysis of the *Lactuca* and *Helianthus* (Asteraceae) plastid genomes: identification of divergent regions and categorization of shared repeats. **American Journal of Botany** **94**: 302-312.
- Timme, R.E.; Simpson, B.B. & Linder, C.R. 2007b. High-resolution phylogeny for *Helianthus* (Asteraceae) using the 18S-26S ribosomal DNA external transcribed spacer. **American Journal of Botany** **94**: 1837-1852.
- Vallès, J.; Canela, M.A.; Garcia, S.; Hidalgo, O.; Pellicer, J.; Sánchez-Jiménez, I.; Siljak-Yakovlev, S.; Vitales, D. & Garnatje, T. 2013. Genome size variation and evolution in the family Asteraceae. **Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics** (no prelo).
- Wu, F.; Mueller, L.A.; Crouzillat, D.; Pétiard, V. & Tanksley, S.D. 2006. Combining bioinformatics and phylogenetics to identify large sets of single-copy orthologous genes (COSII) for comparative, evolutionary and systematic studies: a test in the Euasterid plant clade. **Genetics** **174**: 1407-1420.
- Wyman, S.K.; Jansen, R.K. & Boore, J.L. 2004. Automatic annotation of organellar genomes with DOGMA. **Bioinformatics Applications Note** **20**: 3252-3255.
- Zerbino, D.R. & Birney, E. 2008. Velvet: algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs. **Genome Research** **18**: 821-829.
- Zhang, W.; Wendel, J. & Clark, L. 1997. Bamboozled again! Inadvertent isolation of fungal rDNA sequences from bamboos (Poaceae: Bambusoideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **8**: 205-217.
- Zhbannikov, I.Y.; Hunter, S.S. & Settles, M.L. 2012. Seqclean User Manual.
- Zimmer, E.A. & Wen, J. 2012. Using nuclear gene data for plant phylogenetics: progress and prospects. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **65**: 774-785.

# Perspectivas dos estudos com apomixia e poliembrionia em Melastomataceae neotropicais

Clesnan Mendes-Rodrigues<sup>1</sup> & Paulo Eugênio Oliveira

Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

<sup>1</sup> Autor para correspondência: clesnan@hotmail.com

Embora ambientes neotropicais tenham sido vinculados a predominância de reprodução sexuada (ex. Oliveira & Gibbs 2000), muitos estudos têm encontrado altas taxas de apomixia, ou reprodução assexuada via semente, para alguns grupos Neotropicais como Poaceae (Savidan 1985), Melastomataceae (Renner 1989, Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg & Varassin 2001), Asteraceae (Werpachowski *et al.* 2004), Malvaceae (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005) e Bignoniaceae (Sampaio 2010, Sampaio *et al.* 2013, Mendes-Rodrigues *et al.* 2012). A apomixia é a formação de embriões viáveis sem a necessidade de fecundação, embora para alguns tipos ocorra à necessidade da formação do endosperma para a viabilidade da semente, ou seja, pseudogamia (Koltunow 1993); e a poliembrionia é caracterizada pela formação de mais de um embrião por semente (Strasburger 1878). A apomixia também tem sido associada com a presença de poliembrionia para o Bioma Cerrado (Salomão & Allem 2001, Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012, Mendes-Rodrigues dados não publicados).

Dentre estes grupos, Melastomataceae tem se destacado como importante grupo agâmico com detecção de alta frequência de espécies com apomixia tanto no Cerrado (Goldenberg & Shepherd 1998), na Mata Atlântica (Goldenberg & Varassin 2001) e na Gran Sabana, Venezuela (Hokche & Ramírez 2008). Além da detecção de apomixia, recentemente tem sido

detectada elevada taxa de espécies com poliembrionia em Melastomataceae no Cerrado (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012), em muitos casos associada à apomixia (Mendes-Rodrigues *et al.* 2012).

Apesar da presença de apomixia no grupo, o mesmo é conhecido como predominantemente autocompatível (Santos *et al.* 2012). Um levantamento de 150 espécies de Melastomataceae tem demonstrado que a maioria das espécies é autocompatível seguido de apomíticas com 34,00%; sendo que cerca de 7,33% das espécies apresentam populações com sistema reprodutivo distinto (Figura 1). A presença dessa variação no sistema reprodutivo de espécies de Melastomataceae pode ser importante na persistência ou adaptação destas espécies a diferentes localidades (ex. Maia 2013). Esse comportamento, de variação entre populações, tem sido amplamente observado em espécies apomíticas de clima temperado (Asker & Jerling 1992); e recentemente observada em outros grupos Neotropicais como Bignoniaceae (Sampaio 2010) e Malvaceae (Mendes-Rodrigues *et al.* 2011).

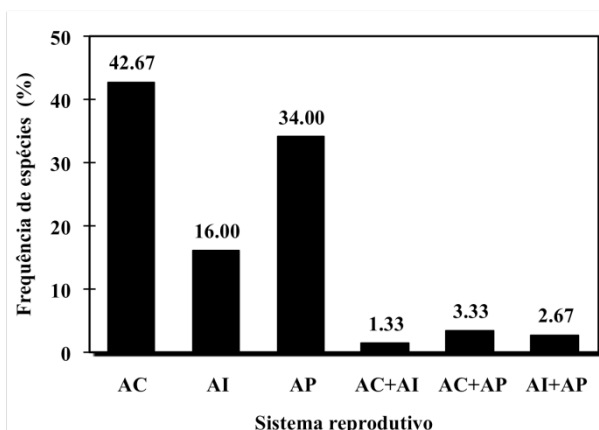


Figura 1. Frequência relativa do número de espécies de Melastomataceae (n=150) com diferentes sistemas reprodutivos. Legenda: AC: autocompatível, AI: auto-incompatível, AP: apomítica, AC+AI: autocompatível e auto-incompatível, AC+AP: autocompatível e apomítica e AI+AP: auto-incompatível e apomítica.

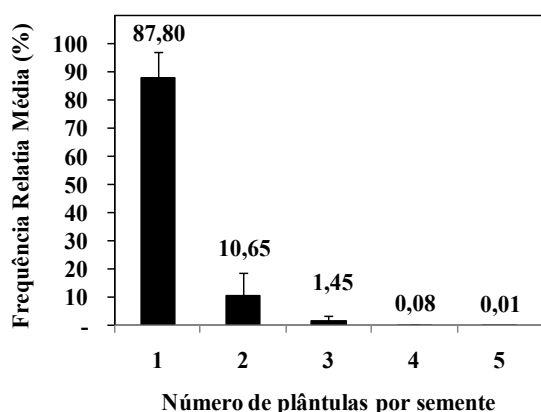


Figura 2. Frequência relativa média do número de plântulas por semente, encontrada em 29 populações poliembriônicas de Melastomataceae no Bioma Cerrado. A barra de erro representa o desvio padrão.

Foram detectadas 18 espécies, de Melastomataceae, no Cerrado, com poliembria (33,96% das 53 espécies avaliadas, Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012; Tabela 1), valor próximo a frequência de espécies com apomixia na família como um todo e a frequência encontrada para espécies arbóreas com poliembria na região (Salomão & Allem 2001, Mendes-Rodrigues 2010). A poliembria foi descrita para as tribos Microliceae e Miconeae, com registro para seis gêneros (*Chaetostoma*, *Clidemia*, *Leandra*, *Miconia*, *Microlicia* e *Ossaea*) e a porcentagem de sementes poliembriônicas variou de 0,18% para *Leandra erostrata* (DC.) Cogn. a 28,13% em *Miconia ibaguensis* (Bonpl.) Triana e o número médio de embriões por semente

de 1,002 para *Leandra erostrata* a 1,346 em *Miconia cuspidata* Mart. ex Naudin. Foram encontrados até cinco plântulas por semente com grande variação morfológica entre as plântulas da mesma semente, com predomínio de sementes com uma plântula por semente (Figura 2). Não foram encontrados espécies poliembriônicas em Melastomae, mas este sistema foi muito comum em Miconeae, sendo que as espécies poliembriônicas foram associadas a espécies apomíticas, com ampla distribuição geográfica, e com espécies poliplóides de *Miconia* (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012). Foram observadas tanto variações populacionais no número de plântulas por semente como variações entre diferentes anos amostrados para determinada população (Tabela 1, Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012). Ocorrem ainda registros de poliembria para outras espécies do grupo como *Osbeckia hispidissima* Wight, *Sonerila wallichii* Benn. e *Melastoma malabathricum* L. (Subramanyam 1942, 1944, 1948).

**Tabela 1.** Espécies poliembriônicas de Melastomataceae, com a amplitude no número médio de plântulas por semente observada entre populações ou anos por Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012.

Espécie	Número médio de plântulas por semente
<i>Chaetostoma armatum</i> Cogn.	1,044
<i>Clidemia biserrata</i> DC.	1,179
<i>Clidemia capitellata</i> (Bonpl.) D. Don	1,088
<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don.	1,039-1,264
<i>Leandra aurea</i> (Cham.) Cogn.	1,000-1,016
<i>Leandra erostrata</i> (DC.) Cogn.	1,000-1,002
<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	1,015-1,028
<i>Miconia cuspidata</i> Mart. ex Naudin	1,346
<i>Miconia elegans</i> Cogn.	1,059-1,222
<i>Miconia fallax</i> DC.	1,035-1,267
<i>Miconia ferruginata</i> DC.	1,117-1,320
<i>Miconia ibaguensis</i> (Bonpl.) Triana	1,311
<i>Miconia ligustroides</i> (DC.) Naudin	1,208
<i>Miconia rubiginosa</i> (Bonpl.) DC.	1,228-1,274
<i>Miconia sellowiana</i> Naudin	1,007
<i>Miconia stenostachya</i> DC.	1,115-1,198
<i>Microlicia helvola</i> (Spreng.) Triana	1,065
<i>Ossaea congestiflora</i> (Naudin) Cogn.	1,009



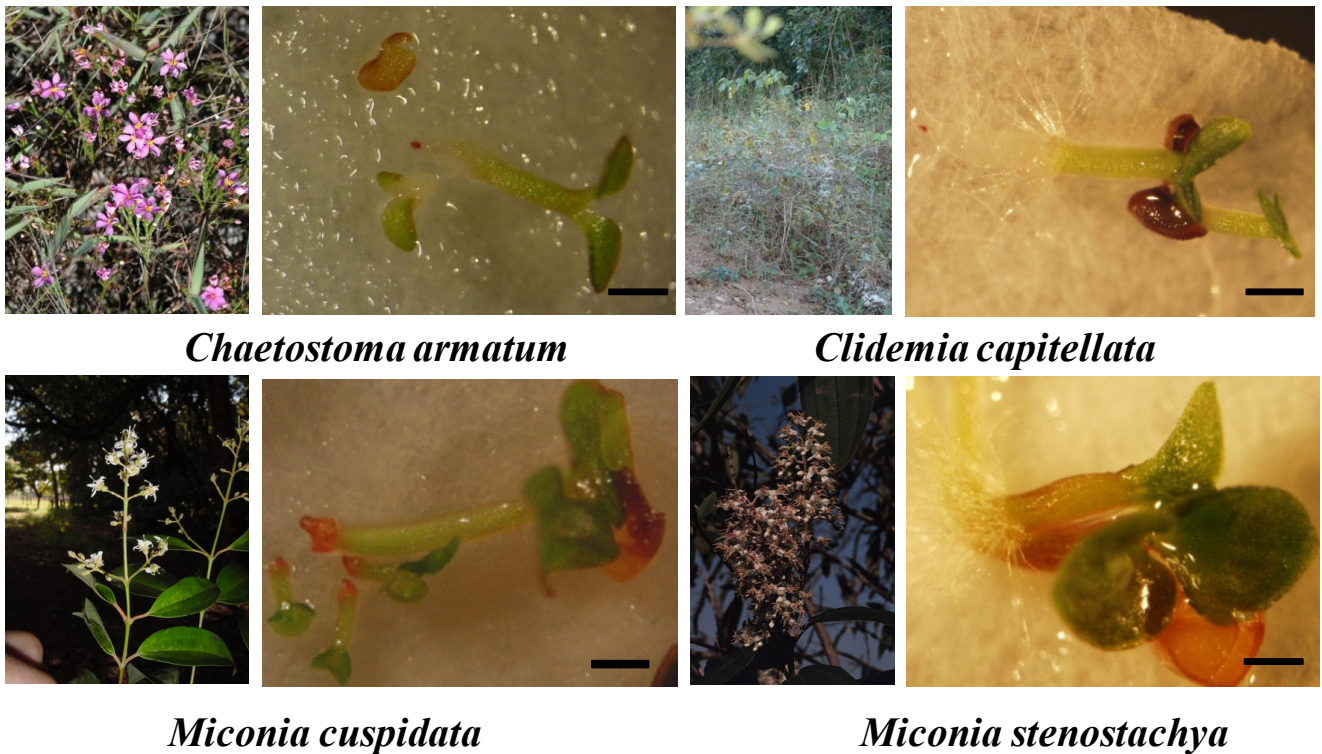


Figura 3. Exemplos de padrões de plântulas gemelares encontradas em espécies poliembriônicas de Melastomataceae do Bioma Cerrado. Uma plântula normal e outra reduzida: *Chaetostoma armatum*, barra = 0,47 mm; Uma plântula normal e outra com redução média: *Clidemia capitellata*, barra = 0,42 mm; Uma plântula grande e várias outras reduzidas: *Miconia cuspidata*, barra = 0,58 mm; e duas plântulas do mesmo tamanho: *Miconia stenostachya*, barra = 1,70 mm

Em média 87,80% das sementes de Melastomataceae, em populações poliembriônicas, apresentam somente um embrião por semente, com apenas 12,80% apresentando outras frequências (Figura 2). Este padrão é muito distinto de espécies com apomixia esporofítica onde a maioria das sementes apresenta poliembrião, em alguns casos acima de 80% (ex. Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, *et al.* 2012, Sales *et al.* 2013). Já alterações morfológicas são comuns como a redução do tamanho dos embriões e a assimetria entre o tamanho dos embriões/plântulas da mesma semente como observado em outros grupos (Mendes-Rodrigues *et al.* 2005, *et al.* 2012). Em Melastomataceae tanto se pode encontrar assimetria entre as plântulas, como a presença de plântulas com tamanhos similares, mostrando grande variação nos padrões encontrados (Figura 3). Pouco se sabe dos efeitos da poliembrião e do sistema reprodutivo sobre a germinação das sementes e sobre o desenvolvimento das plântulas na família. Alguns estudos têm demonstrado o efeito do pólen sobre a qualidade das sementes como em *Miconia*

*angelana*, com melhor qualidade das sementes originadas de polinização cruzada (Santos *et al.* 2010) e *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. com polinização cruzada produzindo mais frutos, mas sem diferenças na capacidade germinativa comparada a autopolinização (Fracasso & Sazima 2004). Os estudos, em outros grupos, com comparações entre espécies/indivíduos poliembriônicos e monoembriônicos têm demonstrado diminuição da germinabilidade, aumento no tempo médio de germinação e aumento da assincronia na germinação (Mendes-Rodrigues *et al.* 2007, *et al.* 2008, *et al.* 2011). Enquanto a presença de poliembrião tende a aumentar a mortalidade individual das plântulas e a aumentar as chances da semente deixar pelo menos um descendente (Mendes-Rodrigues *et al.* 2012). Estudos nesse sentido, com Melastomataceae, ainda são preliminares sendo que muitas desses comportamentos são presentes no grupo (Mendes Rodrigues *et al.*, dados não publicados).

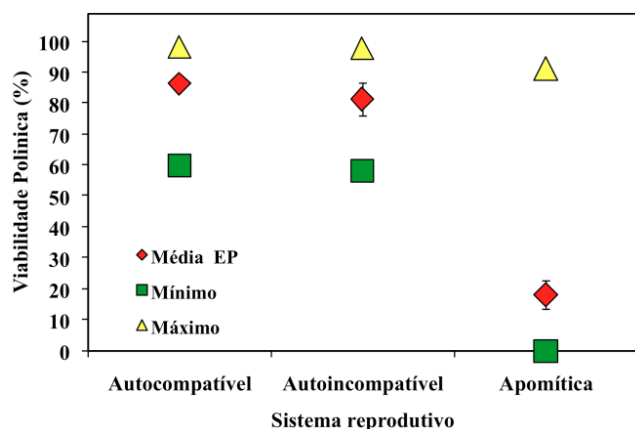


Figura 4. Viabilidade polínica média (%), valores máximo e mínimo em função do sistema reprodutivo de Melastomataceae (n=63 populações). A barra de erro representa o erro padrão. Os valores apresentados são estimados em função das figuras originais dos trabalhos.

Somente foram encontradas populações monoembriônicas e poliembriônicas para *Leandra aurea* (Cham.) Cogn. e *Leandra erostrata* (DC.) Cogn. apesar do número de sementes avaliado ser pequeno e a baixa porcentagem de sementes poliembriônicas nas duas espécies (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012). Ainda são necessários estudos populacionais com maior número de espécies, populações e sementes para confirmar esses dados para a família, mesmo com o conhecimento de variação no sistema reprodutivo para a família. A presença de populações monoembriônicas e poliembriônicas tem sido bem descrito para espécies de Cerrado (Sampaio 2010, Mendes-Rodrigues *et al.* 2011), com impacto tanto na biologia reprodutiva como na ecologia das sementes desses grupos (Mendes-Rodrigues *et al.* 2011, *et al.* 2012).

Na tentativa de facilitar levantamentos de apomixia no grupo, marcadores indiretos para apomixia tem sido analisados no grupo. Embora não sejam 100% preditivos, alguns indicadores têm apresentado resultados positivos para Melastomataceae. Além da poliembria, estudos têm demonstrado que a inviabilidade e ou baixa viabilidade polínica está mais presente em espécies apomíticas embora exceções possam existir (Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg & Varassin 2001, Maia 2013).

A partir de dados de 63 populações de Melastomataceae (Figura 4), observa-se que as

espécies autocompatíveis e auto-incompatíveis não apresentam diferença no valor médio da viabilidade polínica (cerca de 83,77%, variando de 58,00 a 98,17%); enquanto que as espécies apomíticas apresentam um valor médio bem inferior (cerca 18,05%). Espécies apomíticas têm apresentado viabilidade polínica variando de 0 a 92% (ex. Maia 2013), superior ao encontrado para as espécies sexuadas (Figura 4). Esse comportamento tem sido amplamente discutido para o grupo (Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg & Varassin 2001, Caetano *et al.* 2013b). As causas da inviabilidade ou ausência de pólen têm sido relacionadas a problemas na meiose e a degeneração de seus produtos (Caetano *et al.* 2013a, b)

A ausência de pólen e ou a baixa viabilidade polínica implica que a apomixia e a poliembria em várias espécies de Melastomataceae ocorre de maneira autônoma, ao contrário de outros grupos de espécies apomíticas de Cerrado onde a apomixia depende de pseudogamia. A maior parte das espécies de angiospermas com poliembria tem os embriões extranumerários originados por embria adventícia e a poliembria é comumente correlacionada com a apomixia esporofítica (Carman 1997, Naumova 1992). A poliembria originada a partir de mecanismos sexuados é extremamente rara (Naumova 1992). Mas esta ligação não parece ser tão clara nas Melastomataceae onde a apomixia nas espécies já estudadas parece ser gametofítica e diplospórica (Caetano *et al.* 2013a), não necessariamente originando embriões extranumerários. Ainda são necessários estudos da presença de apomixia vinculada a pseudogamia em Melastomataceae. A maior parte dos estudos tem testado somente a emasculação (retirada das anteras), para detectar apomixia no grupo já que a apomixia não pseudogâmica parece ser mais comum no grupo (ex. Goldenberg & Sheperd 1998, Santos *et al.* 2012). Os testes para outras formas de apomixia são mais trabalhosos como estudos embriológicos e ou análises moleculares de progênies. O fato da ausência dos testes de emasculação em alguns estudos também pode estar subestimando a presença de apomixia no grupo, já que a maioria das espécies apomíticas também é autocompatível (Asker & Jerling 1992).

A origem da apomixia nas Melastomataceae tem sido descrita para muitas espécies, mas os resultados são ainda inconclusivos para uma tendência geral. Estudos têm indicado que a apomixia seja originada por aposporia ou por diplosporia. Um

estudo com *Miconia albicans* demonstrou a origem da apomixia por diplosporia obrigatória sem a necessidade de pseudogamia (Caetano *et al.* 2013a). Este estudo não detecta a presença de poliembria e sua origem, talvez pela baixa porcentagem de sementes poliembriônicas na espécie, que variou de 1,51 a 2,77% entre populações (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012). Diplosporia também tem sido proposta para *Leandra australis* (Cham.) Cogn. Enquanto que em *Miconia discolor* DC. tem sido proposto aposporia. Já a origem dos embriões extranumerários foi observada na vizinhança da célula mãe de megasporo, sem definição do tipo para *Miconia discolor*; e a formação a partir do nucelo para *Leandra australis* (Borges 1991), *Osbeckia hispidissima* Wight, *Sonerila wallichii* Benn. e *Melastoma malabathricum* L. (Subramanyam 1942, 1944, 1948). Aparentemente em Melastomataceae ocorre tanto apomixia gametofítica (aposporia e diplosporia) como esporofítica (embria adventícia).

Fortes correlações entre altas porcentagens de sementes poliembriônicas e a presença de apomixia esporofítica tem sido encontradas para diferentes espécies do Cerrado (Mendes-Rodrigues 2010, Sampaio 2010) e para algumas Dipterocarpaceae (Kaur *et al.* 1978). Como as Melastomataceae apresentam baixas porcentagens de sementes poliembriônicas, a família deve ter associação maior com apomixia gametofítica, mas essa associação tem que ser testada e compreendida melhor.

Um importante questionamento que surge com os estudos atuais é a relação de apomixia com o Bioma Cerrado, é o questionamento se as taxas de espécies apomíticas e poliembriônicas seriam as mesmas em outras formações Neotropicais? Ou se realmente a maior frequência de espécies com apomixia esta ligada a algum fator inerente ao Cerrado, embora ainda não conhecido. Alguns estudos têm relatado a maior frequência de reprodução assexuada em ambientes com maior heterogeneidade (Asker & Jerling 1992). Apesar da apomixia também estar presente em outras formações como a Mata Atlântica (Goldenberg & Varassin 2001), fica o questionamento se a frequência de apomixia e poliembria em outros biomas é a mesma entre os biomas e quais são seus fatores determinantes.

Baseado na grande representatividade na flora tropical, o grupo se mostra como potencial modelo para estudos da ecologia de espécies principalmente envolvendo aspectos da reprodução assexuada *versus*

sexuada. Muitas das espécies apomíticas devem apresentar baixa variabilidade genética, conforme predito por alguns autores (ex. Asker & Jerling 1992, Hörandl *et al.* 2001, Hörandl & Greilhuber 2002).

No entanto, estudos com distribuição de sistemas de reprodução e ou comparações dessa natureza ainda são insuficientes. Santos *et al.* (2012) demonstraram que em algumas fitofisionomias como os campos rupestres há predomínio de espécies autocompatíveis e baixa frequência de apomixia, enquanto que espécies no novo mundo tendem a apresentar alta frequência de apomixia (43 apomíticas *versus* 77 espécies sexuadas) e estas espécies estão relacionadas com maior distribuição geográfica. Espécies poliembriônicas do grupo também tendem a apresentar uma maior distribuição geográfica (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012)

A alta capacidade de distribuição parece estar diretamente relacionada ao sistema reprodutivo. A alta capacidade de invasão de algumas espécies como *Clidemia hirta* (L.) D. Don (DeWalt *et al.* 2004) também poderiam estar relacionadas ao sistema reprodutivo e a biologia de suas sementes. A espécie é apomítica (Melo *et al.* 1999), poliembriônica e suas sementes possuem dormência (Mendes-Rodrigues *et al.* 2008, Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012). Outras espécies do grupo também parecem ter sua capacidade de invasão de novos habitats relacionada ao sistema reprodutivo como *Miconia calvescens* DC (Medeiros & Loope 1997). O estudo do sistema reprodutivo e da biologia das sementes para estas espécies invasoras poderia colaborar com os programas de controle, em ambientes onde gerem algum prejuízo a comunidade.

Outra espécie com potencial para modelo de estudos é *Miconia albicans* (Sw.) Triana também apresenta apomixia (Goldengerg & Shepherd 1998) a partir de diplosporia obrigatória (Caetano *et al.* 2013a) e poliembria (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012), além de apresentar ampla distribuição no cerrado e nas suas fitofisionomias. A espécie tem sido amplamente utilizada em estudos de interação ecológica, germinação e variabilidade (Bedetti *et al.* 2011, Sales *et al.* 2013, Silveira & Oliveira 2013, Silveira *et al.* 2013, Viana *et al.* 2013). Outras espécies apomíticas também têm sido utilizadas para estudos de biologia das sementes (ex. Mendes-Rodrigues *et al.* 2010), em função do sistema reprodutivo.

Além do conhecimento incipiente sobre



o sistema reprodutivo frente ao elevado número de espécies, pouco se sabe sobre a biologia das sementes das espécies da família. Além das dúvidas sobre a embriologia, dados sobre a germinação das sementes (ex. Silveira *et al.* 2012) e a capacidade de estabelecimento no campo ou em condições experimentais serão importantes para entender a distribuição das espécies e a importância da apomixia e poliembrião neste processo. Além de facilitar projetos de restauração utilizando espécies de Melastomataceae, devido ao seu papel chave nesses processos (Silveira *et al.* 2013)

Também se fazem necessários estudos de variabilidade genética entre espécies apomíticas e sexuadas dentro da família. Os poucos estudos com estrutura genética em Melastomataceae não fazem menção ao sistema reprodutivo e a presença de poliembrião. Em *Miconia sellowiana* Naudin, espécie apomítica (Saraiva *et al.* 1995) e poliembriônica (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012), uma análise de quatro populações e 37 indivíduos, mostrou forte diferenciação entre as populações e diferenças entre os indivíduos, sem relato de clones (Pil *et al.* 2012). É possível que tais resultados sejam devidos ao fato da espécie também apresentar populações não apomíticas com autocompatibilidade (Maia 2013). Existem registros de pelo menos 11 espécies de Melastomataceae com variação no sistema reprodutivo entre diferentes populações (Figura 1). Outros estudos com Melastomataceae também não tem feito a relação com a presença dessas características reprodutivas, como em *Miconia cinnamomifolia* (D.C.) (Pereira 2002, Barreira *et al.* 2005), ou examinam somente o sistema reprodutivo, como na espécie autocompatível *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo, (Montoro & Silva 2007, Telles *et al.* 2010, Collevatti *et al.* 2012). Outra espécie, *Miconia calvescens*, para a qual não há conhecimento do sistema reprodutivo, tem mostrado baixa variabilidade genética entre populações, com alta capacidade de invasão (Le Roux *et al.* 2008, Hardesty *et al.* 2012), reforçando a necessidade do conhecimento do sistema reprodutivo de espécies como um todo e em especial as invasoras. Resultados de comparações da diversidade genética entre espécies apomíticas e sexuadas ainda são incipientes tanto para Melastomataceae (Dias *et al.*, dados não publicados) quanto para outros grupos tropicais. Teoricamente os grupos assexuados deveriam apresentar tanto clones (ex. Martins & Oliveira 2003) como menor diversidade genética quando comparados a espécies sexuadas

(ex. Hörandl *et al.* 2001, Hörandl & Greilhuber 2002). Mas a variabilidade genética tem sido surpreendente e similar a resultados registrados na literatura para espécies apomíticas (Asker & Jerling 1992, Kashin *et al.* 2005). Se faz necessário para estes estudos a determinação do sistema reprodutivo da população estudada visto os recentes registros de variação no sistema reprodutivo entre populações (ex. Maia 2013).

Melastomataceae tem se confirmado como um importante grupo agâmico e com potencial para o estudo das variações envolvendo tanto a presença de espécies/populações sexuadas e assexuadas em ambientes Neotropicais, como sua caracterização e seu impacto na biologia das espécies.

#### Referências bibliográficas

- Asker, S.E. & Jerling, L. 1992. **Apomixis in plants**. 1 ed. CRC Press, Boca Raton.
- Barreira, S.; Defavari, G.R.; Sobierajski, G.; Moreno, M.A.; Ferraz, K.M.E.M. & Kageyama, P.Y. 2005. **Efeito do manejo na diversidade e estrutura genética de *Miconia cinnamomifolia* (DC.) Naudin (Jacatirão)**. In: VII Congresso de Ecologia do Brasil (Ed.), Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil, 2005. Caxambu.
- Bedetti, C.S.; Aguiar, D.B.; Januzzi, M.C.; Moura, M.Z.d. & Silveira, F.A.O. 2011. Abiotic factors modulate phenotypic plasticity in an apomictic shrub [*Miconia albicans* (SW.) Triana] along a soil fertility gradient in a Neotropical savanna. **Australian Journal of Botany** 59(3): 274-282.
- Borges, H.B.N. 1991. **Biologia reprodutiva de quatro espécies de Melastomataceae**. Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Caetano, A.P.S.; Simão, D.G.; Carmo-Oliveira, R. & Oliveira, P.E. 2013a. Diplospory and obligate apomixis in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological comparison with its sexual congener *M. chamissois*. **Plant Systematics and Evolution** 299(7): 1253–1262.
- Caetano, A.P.S.; Teixeira, S.P.; Forni-Martins, E.R. & Carmello-Guerreiro, S.M. 2013b. Pollen insights into apomictic and sexual *Miconia* (Miconieae,



- Melastomataceae). **International Journal of Plant Sciences** **174**(5): 760-768.
- Carman, J.G. 1997. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society** **61**(1): 51-94.
- Colevatti, R.G.; Castro, T.G.; Lima, J.S. & Telles, M.P.C. 2012. Phylogeography of *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae), an endangered tree species from rocky savannas, suggests bidirectional expansion due to climate cooling in the Pleistocene. **Ecology and Evolution** **2**(5): 1024-1035.
- DeWalt, S.J.; Denslow, J.S. & Hamrick, J.L. 2004. Biomass allocation, growth, and photosynthesis of genotypes from native and introduced ranges of the tropical shrub *Clidemia hirta*. **Oecologia** **138**(4): 521-531.
- Fracasso, C.M. & Sazima, M. 2004. Pollination of *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): reproductive success versus bee diversity, behavior and frequency of visits. **Revista Brasileira de Botânica** **27**(4): 797-804.
- Goldenberg, R. & Shepherd, G.J. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. **Plant Systematics and Evolution** **211**(1-2): 13-29.
- Goldenberg, R. & Varassin, I.G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **24**(3): 283-288.
- Hardesty, B.D.; Le Roux, J.J.; Rocha, O.J.; Meyer, J.Y., Westcott, D. & Wieczorek, A.M. 2012. Getting here from there: testing the genetic paradigm underpinning introduction histories and invasion success. **Diversity and Distributions** **18**: 147-157.
- Hokche, O.D. & Ramírez, N. 2008. Sistemas reproductivos en especies de Melastomataceae en la Gran Sabana (Estado Bolívar, Venezuela). **Acta Botánica Venezuelica** **31**(2): 387-408.
- Hörandl, E. & Greilhuber, J. 2002. Diploid and autotetraploid sexuals and their relationships to apomicts in the *Ranunculus cassubicus* group: insights from DNA content and isozyme variation. **Plant Systematics and Evolution** **234** (1-4): 85-100.
- Hörandl, E.; Jakubowsky, G. & Dobeš, C. 2001. Isozyme and morphological diversity within apomictic and sexual taxa of the *Ranunculus auricomus* complex. **Plant Systematics and Evolution** **226**(3-4): 165-185.
- Kashin, A.S.; Anfalov, V.E. & Demochko, Y.A. 2005. Allozyme variation in sexual and apomictic *Taraxacum* and *Pilosella* (Asteraceae) populations. **Genetika** **41**(2): 203-215.
- Kaur, A.; Ha, C.O.; Jong, K.; Sands, V.E.; Chan, H.T.; Soepadmo, E. & Ashton, P.S. 1978. Apomixis may be widespread among trees of climax rain forest. **Nature** **271**(5644): 440-442.
- Koltunow, A.M. 1993. Apomixis: embryo sac and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell** **5**: 1425-1437.
- Le Roux, J.J.; Wieczorek, A.M. & Meyer, J.Y. 2008. Genetic diversity and structure of the invasive tree *Miconia calvescens* in Pacific islands. **Diversity and Distributions** **14**: 935-948.
- Maia, F.R. 2013. **Sistemas reprodutivos e visitantes florais em Melastomataceae dos campos rupestres no limite do sul do Cerrado, Tibagi, Paraná**, Pós-graduação em Botânica, Setor de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Martins, R.L. & Oliveira, P.E. 2003. RAPD evidence for apomixis and clonal populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). **Plant Biology** **5**(3): 338-340.
- Medeiros, A.C. & Loope, L.L. 1997. Status, ecology, and management of the invasive plant, *Miconia calvescens* DC (Melastomataceae) in the Hawaiian Islands. **Bishop Museum Occasional Papers** **48**: 23-36.
- Melo, G.F.; Machado, I.C. & Luceño, M. 1999. Reprodución de tres especies de *Clidemia* (Melastomataceae) en Brasil. **Revista de Biología Tropical** **47**(3): 359-363.
- Mendes-Rodrigues, C. 2010. **Ecologia de espécies poliembriônicas com ênfase no Bioma Cerrado**, Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Universidade

- Federal de Uberlândia, Uberlândia, p. 228.
- Mendes-Rodrigues, C.; Araújo, F.P.; Barbosa-Souza, C.; Barbosa-Souza, V.; Ranal, M.A.; Santana, D.G. & Oliveira, P.E. 2010. Multiple dormancy and maternal effect on *Miconia ferruginata* (Melastomataceae) seed germination, Serra de Caldas Novas, Goiás, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** **33**(1): 93-105.
- Mendes-Rodrigues, C.; Carmo-Oliveira, R.; Talavera, S.; Arista, M.; Ortiz, P.L. & Oliveira, P.E. 2005. Polyembryony and apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae). **Plant Biology** **7**(5): 533-540.
- Mendes-Rodrigues, C.; Ferreira, W.R.; Lima, J.A.; Dornelles, M.C.; Ranal, M. & Santana, D.G. 2007. Germinação de embriões de duas espécies de *Inga* (Mimosaceae). **Revista Brasileira de Biociências** **5**(2): 561-563.
- Mendes-Rodrigues, C. & Oliveira, P.E. 2012. Polyembryony in Melastomataceae from Brazilian Cerrado: multiple embryos in a small world. **Plant Biology** **14**: 845-853.
- Mendes-Rodrigues, C.; Oliveira, P.E. & Ranal, M.A. 2011. Seed germination and seedling growth of two *Pseudobombax* species (Malvaceae) with contrasting habitats from Brazilian Cerrado. **Revista de Biología Tropical** **59**(4): 1915-1925.
- Mendes-Rodrigues, C.; Ranal, M. & Oliveira, P.E. 2008. **Could seed dormancy and polyembryony explain the success of *Clidemia hirta* (L.) D. Don. (Melastomataceae)?** In: Faleiro, F.G. & Farias Neto, A.L. (Eds.), IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.
- Mendes-Rodrigues, C.; Ranal, M. & Santana, D.G. 2008. **Seedling emergence and polyembryony in two species of *Inga* (Mimosaceae).** In: Faleiro, F.G. & Farias Neto, A.L. (Eds.), IX Simpósio Nacional Cerrado, II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Embrapa Cerrados, Brasília.
- Mendes-Rodrigues, C.; Ranal, M.A. & Oliveira, P.E. 2011. Does polyembryony reduce seed germination and seedling development in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae - Bombacoideae)? **American Journal of Botany** **98**(10): 1613-1622.
- Mendes-Rodrigues, C.; Sampaio, D.S.; Costa, M.E.; Caetano, A.P.S.; Ranal, M.A.; Bittencourt Júnior, N.S. & Oliveira, P.E. 2012. Polyembryony increases embryo and seedling mortality but also enhances seed individual survival in *Handroanthus* species (Bignoniaceae). **Flora** **207**(4): 264-274.
- Montoro, G.R. & Santos, M.L. 2007. Fenologia e biologia reprodutiva de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo no Parque Estadual da Serra dos Pirineus. Pirenópolis, Goiás. **Revista de Biologia Neotropical** **4**(1): 21-29.
- Naumova, T.N. 1992. **Apomixis in Angiosperms: Nucellar and Integumentary Embryony.** 1 ed. CRC Press, Boca Raton.
- Oliveira, P.E. & Gibbs, P.E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. **Flora** **195**(4): 311-329.
- Pereira, V.A.A., 2002. **Diversidade genética de *Miconia cinnamomifolia* em áreas sob interferência antrópica na Mata Atlântica.** Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Pil, M.W.; Boeger, M.R.T.; Pie, M.; Goldenberg, R.; Ostrensky, A. & Boeger, W.A. 2012. Testing hypotheses for morphological differences among populations of *Miconia sellowiana* (Melastomataceae) in southern Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences** **34**(1): 85-90.
- Renner, S.S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **76**(2): 496-518.
- Sales, N.M.; Pérez-García, F. & Silveira, F.A.O. 2013. Consistent variation in seed germination across an environmental gradient in a Neotropical savanna. **South African Journal of Botany** **87**: 129-133.
- Salomão, A.N.; Allem, A.C. 2001. Polyembryony in angiospermous trees of the Brazilian Cerrado and Caatinga vegetation. **Acta Botanica Brasilica** **15**(3): 369-378.
- Sampaio, D.S. 2010. **Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no Cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade.**, Instituto de Biologia. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, p. 239.

- Sampaio, D.S.; Bittencourt Júnior, N.S. & Oliveira, P.E. 2013. Sporophytic apomixis in polyploid *Anemopaegma* species (Bignoniaceae) from Central Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society** **173**(1): 77-91.
- Santos, A.P.M.; Fracasso, C.M.; Santos, M.L.; Romero, R.; Sazima, M. & Oliveira, P.E. 2012. Reproductive biology and species geographical distribution in the Melastomataceae: a survey based on New World taxa. **Annals of Botany** **110**(2): 667-679.
- Santos, A.P.M.; Romero, R. & Oliveira, P.E.A.M. 2010. Biologia reprodutiva de *Miconia angelana* (Melastomataceae), endêmica da Serra da Canastra, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica** **33**(2): 333-341.
- Saraiva, L.C.; Cesar, O. & Monteiro, R. 1996. Breeding systems of shrubs and trees of a Brazilian Savanna. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **39**(4): 751-763.
- Savidan, Y.H. 1985. **Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia.**, in: Aguiar-Perecin, M.L.R.; Martins, P.S. & Brandel, G. (Eds.), I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas. Sociedade Brasileira de Genética, Piracicaba, pp. 37-50.
- Silveira, F.A.O.; Ribeiro, R.C.; Oliveira, D.M.T.; Fernandes, G.W. & Lemos-Filho, J.P. 2012. Evolution of physiological dormancy multiple times in Melastomataceae from Neotropical montane vegetation. **Seed Science Research** **22**(1): 37-44.
- Silveira, F.A.O. & Oliveira, E.G. 2013. Does plant architectural complexity increases with increasing habitat complexity? A test with a pioneer shrub in the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Biology** **73**(2): 271-277.
- Silveira, F.A.O.; Fernandes, G.W. & Lemos-Filho, J.P. 2013. Seed and Seedling Ecophysiology of Neotropical Melastomataceae: Implications for Conservation and Restoration of Savannas and Rainforests. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **99**(1): 82-99.
- Souza-Silva, S.C.S. 2000. **Biologia reprodutiva e polinização em Melastomataceae no Parque do Sabiá, Uberlândia, MG.**, Instituto de Biologia. Universidade de Brasília, Brasília.
- Strasburger, E. 1878. Über Polyembryonie. **Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft** **12**: 647-667.
- Subramanyam, K. 1942. Gametogenesis and embryogeny in a few members of the Melastomataceae. **Journal of Indian Botanical Society** **21**: 69-85.
- Subramanyam, K. 1944. A contribution to the life-history of *Sonerila wallachii* Benn. **Journal of Indian Botanical Society** **19**: 115-120.
- Subramanyam, K. 1948. An embryological study of *Melastoma malabathricum* L. **Journal of Indian Botanical Society** **27**: 11-19.
- Telles, M.P.C.; Silva, S.P.; Ramos, J.R.; Soares, T.N.; Melo, D.B.; Resende, L.V.; Batista, E.C. & Vasconcellos, B.F. 2010. Estrutura genética em populações naturais de *Tibouchina papyrus* (pau-papel) em áreas de campo rupestre no cerrado. **Revista Brasileira de Botânica** **33**(2): 291-300.
- Viana, L.R.; Silveira, F.A.O.; Santos, J.C.; Rosa, L.H.; Cares, J.E.; Café-Filho, A.C. & Fernandes, G.W. 2013. Nematode-induced galls in *Miconia albicans*: effect of host plant density and correlations with performance. **Plant Species Biology** **28**(1): 63-69.
- Werpachowski, J.S.; Varassin, I.G. & Goldenberg, R. 2004. The occurrence of apomixis and parthenocarpy in some subtropical Asteraceae. **Revista Brasileira de Botânica** **27**(6): 607-613.

# Questionamentos e soluções usando a morfologia interna de Eriocaulaceae

**Vera L. Scatena**

Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil.  
vscatena@rc.unesp.br

A morfologia interna (anatomia vegetal) sempre se mostrou uma ciência reveladora da biologia das plantas e não podia ser diferente com as Eriocaulaceae. Nos últimos 25 anos, tempo em que tenho me dedicado ao entendimento das estruturas internas em seus representantes, várias questões foram levantadas buscando respostas que deram luz a estudos taxonômicos, filogenéticos e ecológicos.

Vários foram os questionamentos e a procura de soluções com hipóteses que explicassem os diferentes mecanismos, usando a estrutura anatômica dessas plantas. Pretendo apresentar aqui apenas alguns, como caráter ilustrativo, que envolvem órgãos vegetativos e reprodutivos.

Desde o início dos estudos anatômicos, observou-se que as espécies de Eriocaulaceae apresentam dois tipos básicos de raízes: aquelas que apresentam aerênquima no córtex e aquelas que não o apresentam (Tomlinson 1969; Scatena et al. 2005a). Esses dois tipos representam a adaptação dessas plantas à quantidade de água do solo. Nas espécies aquáticas e naquelas que crescem em solos encharcados ou alagados ocorre a formação de espaços de ar e nas espécies que crescem em solos secos não ocorre.

Com isso, surgiram algumas questões: Como esses espaços são formados? Por que ocorrem em determinados táxons e em outros não? No início do desenvolvimento dessas raízes, e na diferenciação dos tecidos, observa-se no córtex células braciiformes que apresentam as paredes levemente espessadas. Entre essas células braciiformes ocorrem outras células maiores, de paredes finas, cujas paredes tangenciais se rompem durante o crescimento da raiz. Nas raízes

adultas, em secção transversal, observam-se as células braciiformes e restos das paredes tangenciais das células maiores rompidas, formando assim espaços que reservam ar. Essa organização vista em secção longitudinal das raízes, mostra que as paredes radiais dessas células maiores mantêm-se aderidas às paredes das células braciiformes em toda sua extensão, formando verdadeiras lamelas quando desaparecem as paredes tangenciais (Scatena & Menezes 1996a). A presença de espaços de ar está diretamente ligada à quantidade excessiva de água no solo, que diminui a concentração de O<sub>2</sub>, levando ao aumento de giberilina. Esta induz a produção de celulase, que quebra as paredes tangenciais das células maiores (Scatena & Menezes 1996a). Nas raízes de Eriocaulaceae que crescem em solos úmidos e encharcados, o aerênquima é constituído por diafragmas, formados por células estreladas, cuja função é facilitar a troca gasosa, mantendo os espaços de ar íntegros (Stützel 1988). Além de facilitar as trocas gasosas, o aerênquima também auxilia na flutuação das espécies aquáticas (Coan et al. 2002).

Assim, explica-se a ocorrência de espaços de ar no córtex das raízes de determinados grupos taxonômicos da família, como *Eriocaulon*, *Mesanthemum*, *Rondonanthus* e em alguns representantes de *Leiothrix* (Stützel 1988; Hensold 1999). Em *Syngonanthus* subgênero *Syngonanthus* as células braciiformes são homólogas às células estreladas (Scatena & Menezes 1996a).

Ainda em relação às raízes de Eriocaulaceae, inicialmente pensou-se que poderia haver deposição de sílica nas paredes de suas células para formar uma estrutura rígida no parênquima cortical. A pergunta



foi: Há depósito de sílica nas paredes dessas células? Essa hipótese, no entanto, foi descartada depois de aplicado o teste que deu resultado negativo para sílica, confirmando o que a literatura trazia para Eriocaulaceae (Commelinales sensu Dahlgren et al. 1985). Ressalta-se que a presença de sílica é importante no contexto das monocotiledôneas, porque diferencia grupos. Tal característica é observada em outras famílias de Poales como Rapateaceae e Cyperaceae e têm valor taxonômico.

Em Eriocaulaceae, observou-se apenas a presença de cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas em caules jovens (Scatena 1990). Sua presença foi interpretada como uma defesa dessa região (meristemática) da planta contra o ataque de herbívoros.

Representantes de Eriocaulaceae estabelecem várias interações e, dentre elas, aquelas com fungos, principalmente nas raízes e folhas. Durante os estudos anatômicos das raízes de Eriocaulaceae, observou-se nas espécies do gênero *Actinocephalus*, que apresentam córtex sem aerênquima, a presença de projeções das paredes das células epidérmicas, corticais e do cilindro vascular (Scatena et al. 2005b). Diante disto, surgiram algumas questões: O que são essas projeções? Como se formam? Qual o significado de sua presença? Através de estudos anatômicos com microscopia de luz e microscopia eletrônica, essas projeções foram denominadas de papilas intracelulares. Elas se formam pelo depósito de diferentes substâncias entre a parede celular e a membrana plasmática como resposta à tentativa de penetração por fungos, o que só pôde ser observado através de microscopia eletrônica de varredura (Oriani & Scatena 2007). Além de impedir a entrada dos fungos nas células, a função dessas papilas provavelmente está relacionada ao aumento da área de absorção das raízes, uma vez que os representantes desse gênero apresentam sistema radicular pequeno em relação ao tamanho da planta e também em relação às demais espécies de Eriocaulaceae estudadas (Scatena et al. 2005b; Oriani & Scatena 2007).

No limbo foliar de representantes de *Syngonanthus* e *Comanthera* subg. *Syngonanthus* foram encontrados fungos saprófitos da família Capinodiaceae, que crescem junto com os tricomas localizados nos ápices, dando a esses uma coloração escura (Scatena 1990). Dentre as questões levantadas estão: Qual o papel desses fungos? Como eles chegam até as folhas e se dispersam? Como os fungos

saprófitos que se desenvolvem nas folhas das plantas nutrem-se de substâncias lixiviadas pelas águas das chuvas, da neblina, do orvalho e talvez, também por condensação (Hughes 1976), nos campos rupestres, onde essas plantas crescem, os ventos constantes devem participar da disseminação desses fungos, além de transportarem poeira e outros constituintes para os tricomas. A neblina exerce papel importante na manutenção da umidade que esses fungos necessitam para seu desenvolvimento. Mesmo não tendo conhecimento de que o fungo possa estar participando de algum processo vital da planta, pode-se pensar que esteja ocorrendo absorção de água através dos tricomas para o interior da folha, e admitir que esses fungos estejam atuando na permeabilidade das células.

Outra questão anatômica levantada para as Eriocaulaceae é se as folhas apresentam epiderme múltipla ou hipoderme. Procurando solucionar essa questão foi estudado o desenvolvimento foliar de espécies de *Syngonanthus* subg. *Syngonanthus* e de *Comanthera* subg. *Comanthera* (Scatena & Menezes 1996b). Com o estudo ontogenético observou-se que as camadas subepidérmicas originam-se do meristema fundamental e, portanto, correspondem a uma hipoderme e não a uma epiderme múltipla, a qual se origina da protoderme.

Durante os trabalhos de campo verificou-se que vários representantes de Eriocaulaceae, principalmente aqueles que sofrem estresse hídrico, como por exemplo, *Comanthera cipoensis* (= *Syngonanthus rufipes*), apresentam algumas folhas que se enrolam, principalmente aquelas da periferia das rosetas. Esse mecanismo é uma resposta à falta de água no solo, durante os meses de seca (Scatena 1990). Até ai, nenhuma novidade, pois este mecanismo é comum também em representantes de Cyperaceae e Poaceae, que ocorrem simpatricamente nos campos rupestres. Só que nestas últimas, as folhas se enrolam sobre a face abaxial, protegendo os estômatos e em Eriocaulaceae, as folhas se enrolam sobre a face adaxial, expondo os estômatos que estão localizados na face abaxial. Como explicar isso?

A anatomia revelou que essas plantas apresentam folhas com células epidérmicas de paredes espessadas, que possuem numerosas pontoações entre as células vizinhas e entre aquelas da hipoderme. A quantidade de pontoações existentes está relacionada com a resposta das plantas ao estresse hídrico. Essas pontoações são mais numerosas na epiderme da

face adaxial da folha, superfície que fica interna após o enrolamento. Os estômatos, que ficam expostos, apresentam câmaras subestomáticas especializadas que garantem seu funcionamento (Scatena & Menezes 1993; Scatena & Menezes 1996b). Acredita-se que a folha funciona como um compartimento do conjunto da planta e, em situações de estresse hídrico, toda a água que estava disponível no parênquima aquífero e nas próprias células da epiderme é transportada para os tecidos vasculares de maneira mais eficiente através das pontuações, e destes, para a parte da planta que está em maior atividade metabólica (Scatena & Menezes 1993).

Nas folhas e escapos dos representantes de Eriocaulaceae que crescem em habitats secos, os estômatos apresentam câmaras subestomáticas especializadas. Como essa estrutura não havia sido descrita em nenhuma outra planta, surgiram algumas questões como: Por que certas espécies de Eriocaulaceae apresentam câmaras subestomáticas com constituições peculiares? A morfologia interna revela que nessa região as células são grandes em relação às demais do mesófilo, não apresentam conteúdo aparente, e se organizam como trabéculas nos representantes de *Syngonanthus* subg. *Syngonanthus*. Em seção transversal da folha, essas células apresentam formas variadas, com paredes espessadas e muitas pontuações formando um compartimento. Em seção paradémica da folha, observa-se que essas células constituem verdadeiras estruturas de sustentação abaixo dos estômatos. Em seção longitudinal da folha, observa-se que as trabéculas tem aspecto arredondado (Scatena & Menezes 1993; Scatena & Menezes 1996b). As células das câmaras subestomáticas especializadas possuem paredes espessadas e com muitas pontuações. Estão em contato com as células do parênquima aquífero e também com as células do parênquima clorofiliano e formam pontes nos espaços subestomáticos entre um estômato e outro. Assim, devem estar relacionadas com a manutenção da câmara subestomática, para garantir a eficiência das trocas gasosas, evitando o colapso dessa região (Scatena & Menezes 1993; Scatena & Menezes 1996b).

Com relação às flores de Eriocaulaceae, algumas questões foram levantadas através das observações de campo, como a presença de pequenos insetos visitando as flores. Daí surgiu perguntas como: Por que pequenos insetos visitam as flores? Existe alguma recompensa, como estruturas que

produzem néctar nessas flores tão pequenas? Estudos sobre anatomia floral se revelaram importantes para entender a biologia reprodutiva de algumas espécies. Foi demonstrado que as ramificações dos estiletos das flores pistiladas de Paepalanthoideae são nectaríferos, assim como os pistilódios presentes nas flores estaminadas desse grupo. Essas estruturas são vascularizadas e apresentam células epidérmicas com aspecto secretor, tendo sido detectada a presença de néctar (Rosa & Scatena 2003; 2007). Com isso, demonstrou-se que essas pequenas flores fornecem recursos alimentares para pequenos insetos visitantes e polinizadores (Oriani et al. 2009).

Como era de se esperar, muitas outras questões foram levantadas, como: A anatomia floral de Eriocaulaceae contribui com a taxonomia e a filogenia do grupo? Sim, através dela que se trouxe à luz do conhecimento a presença de estaminódios escamiformes nas flores estaminadas de Paepalanthoideae, que só podem ser observados sob as lentes dos microscópios (Rosa & Scatena 2003; 2007). Essas estruturas certamente correspondem ao verticilo externo de estames reduzidos, representando uma sinapomorfia para a subfamília e para o conhecimento da evolução dos caracteres florais em Eriocaulaceae.

Ainda se debruçando sobre a morfologia interna de Eriocaulaceae, surgiu um aspecto interessante da sua embriologia. Por que Eriocaulaceae forma cisto antipodal no saco embrionário? Essa estrutura foi descrita pela primeira vez por Ramaswamy & Arekal (1981) e confirmada por Scatena & Bouman (2001), por Coan & Scatena (2004) e Coan et al. (2010) como estrutura exclusiva da família dentre as angiospermas. Sabe-se da sua presença, mas se desconhece sua função. Acredita-se que tenha um papel nutritivo importante para o embrião (Coan et al. 2010). A formação de hipóstase no óvulo das espécies de Eriocaulaceae é outro caráter que associado ao cisto antipodal pode ter função de translocação de nutrientes a partir da região calazal (Coan et al. 2010).

Como perspectivas futuras várias questões podem ser levantadas buscando soluções através da morfologia interna de órgãos vegetativos e reprodutivos de táxons que ainda necessitam de estudos anatômicos como *Rondonanthus* e *Mesanthemum*. Também com representantes de *Paepalanthus*, que abrange o maior número de espécies da família e é o gênero que apresenta problemas de circunscrição taxonômica e posição filogenética.

## Agradecimentos

A autora agradece à FAPESP pelo Auxílio à Pesquisa (Processo: 2011/18275-0). Agradece também ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (Processo: 301692/2010-6) e pelo Auxílio à Pesquisa (Processo: 471837/2011-3).

## Referências bibliográficas

- Coan, A.I.; Scatena, V.L. & Giulietti, A.M. 2002. Anatomia de algumas espécies aquáticas de Eriocaulaceae brasileiras. **Acta Botanica Brasilica** **16**: 371-384.
- Coan, A.I. & Scatena, V.L. 2004. Embryology and seed development of *Blastocaulon scirpeum* and *Paepalanthus scleranthus* (Eriocaulaceae). **Flora** **199**: 47-57.
- Coan, A.I.; Stützel, T. & Scatena, V.L. 2010. Comparative embryology and taxonomic considerations in Eriocaulaceae (Poales). **Feddes Repertorium** **121**: 268-284.
- Dahlgren, R.M.T.; Clifford, H.T. & Yeo, P.F. 1985. **The families of the monocotyledons**. Springer-Verlag, Berlin.
- Hensold, N. 1999. Eriocaulaceae. Pp. 1-58. In: P.E. Berry; K. Yatskievych & B.K. Holst (eds). **Flora of the Venezuelan Guayana, Vol 5**. St Louis, Missouri Botanical Garden Press.
- Hughes, S.J. 1976. Sooty moulds. **Mycologia** **68**: 693-820.
- Oriani, A. & Scatena, V.L. 2007. Intracellular papillae of *Actinocephalus* (Eriocaulaceae-Poales) roots and their interaction with fungi: A light and transmission electron microscopy study. **Micron** **38**: 611-617.
- Oriani, A.; Sano, P.T. & Scatena, V.L. 2009. Pollination biology of *Syngonanthus elegans* (Eriocaulaceae-Poales). **Australian Journal of Botany** **57**: 94-105.
- Ramaswamy, S.N. & Arekal, G.D. 1981. On the behaviour of antipodals in Eriocaulaceae. **Caryologia** **34**: 187-196.
- Rosa, M.M. & Scatena, V.L. 2003. Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae). **Flora** **198**: 188-199.
- Rosa, M.M. & Scatena, V.L. 2007. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. **Annals of Botany** **99**: 131-139.
- Scatena, V.L. 1990. **Morfoanatomia de espécies de Syngonanthus Ruhl. (Eriocaulaceae) dos campos rupestres do Brasil**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo. Brasil.
- Scatena, V.L. & Menezes, N.L. 1993. Considerações sobre a natureza da câmara subestomática e das células epidérmicas das folhas de *Syngonanthus Ruhl.*, seção *Thysanocephalus* Koern. (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **16**: 159-165.
- Scatena, V.L. & Menezes, N.L. 1996a. Anatomia de raízes de *Syngonanthus Ruhl.* (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Biologia** **56**: 333-343.
- Scatena, V.L. & Menezes, N.L. 1996b. Anatomia de escapos e folhas de *Syngonanthus Ruhl.* (Eriocaulaceae) de campos rupestres. **Revista Brasileira de Biologia** **56**: 317-332.
- Scatena, V.L. & Bouman, F. 2001. Embryology and seed development of *Paepalanthus* sect. *Actinocephalus* (Koern.) Ruhland (Eriocaulaceae). **Plant Biology** **3**: 341-350.
- Scatena, V.L.; Giulietti, A.M.; Borba, E.L. & Van der Berg, C. 2005a. Anatomy of Brazilian Eriocaulaceae: correlation with taxonomy and habitat using multivariate analyses. **Plant Systematics and Evolution** **253**: 1-22.
- Scatena, V.L.; Oriani, A. & Sano, P.T. 2005b. Anatomia de raízes de *Actinocephalus* (Koern.) Sano (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica** **19**: 835-841.
- Stützel, T. 1988. Root anatomy in Eriocaulaceae. **Flora** **180**: 223-239.
- Tomlinson, P.B. 1969. Commelinales - Zingiberales. In: C.R. Metcalfe (ed). **Anatomy of the Monocotyledons III**. Oxford, Clarendon Press.

# Reconciling the role of morphology and genomics in macroevolutionary and taxonomic studies on land plants

**Harald Schneider**

Natural History Museum, London, Reino Unido.  
h.schneider@nhm.ac.uk

## Abstract

Increasing access to genomic evidence has challenged the role of morphology as the main source of information to delimitate species and reconstruct their relationships. The process does not only decrease the importance of morphology but also raises questions concerning the assumption of a correlation between the assembly of species diversity and morphological disparity. In this study, the relationship of the two parameters is explored by reviewing the evidence for the occurrence of cryptic species and by empirical studies of the correlation of the assembly of species diversity and morphological disparity in selected groups of ferns and liverworts. In summary, these studies recover a much more complex pattern than assumed traditionally. Thus, the current practice to base species delimitation mainly on morphological evidence is likely to fail to provide reliable assessments of species diversity. In turn, studies exploring the assembly of morphological diversity through time will provide crucial insights into evolutionary processes and mechanisms.

## Introduction

For centuries, morphology was the main resource for information about relationships and delimitation of species despite other kinds of information about taxa were incorporated such as anatomy, cytology, geographic distribution, and

ecology (de Queiroz 2007). None of these additional evidence challenged the supremacy of morphology as the main source of taxonomic information despite occasional conflicts between morphology-based delimitation of species and other evidence such as ploidy levels and reproductive biology. However, this dominance has now been increasingly challenged and/ or already overtaken by information provided by DNA sequences and other sources providing direct information about differences among genotypes. The move from phenotypic information, such as morphology and anatomy, to genotypic information, such as DNA sequences and genome structure data, continues to improve not only our understanding of the phylogeny and evolutionary processes but also provides new perspectives to delimitate species and species identification. The later is usually addressed as part of the ongoing efforts of DNA barcoding (e.g., Hollingsworth *et al.* 2009) and/or metabarcoding (Taberlet *et al.* 2012), whereas DNA based species delimitation is either considered as replacement of the traditional morphology-dominated approach such as in DNA taxonomy (Tautz *et al.* 2003) or proposed to be integrated with various kind of evidence such as in integrative taxonomy (Will *et al.* 2005; Padial *et al.* 2010). Both DNA taxonomy and integrative taxonomy challenge the current praxis of plant taxonomy which delimitates species mainly by diagnostic morphological characters. These approaches promises not only a only an increase accuracy of species delimitation but also hold the aspiration to provide identification tools that make identification independent from expert knowledge.



To some degree, the situation reminds on the rise of phylogenetics about twenty years ago. Improvements in molecular biology made DNA sequences increasingly accessible and thus studies inferring relationships using morphology declined rapidly. Arguments about the importance of morphology and the integration of morphology and molecules were put forward especially in the context of the total evidence approach (de Queiroz *et al.* 1995; Wiens 2004) but had rather limited impact on the popularity and success of phylogenetic analyses based on molecular data alone. Interestingly, most reported cases of conflicting evidence obtained with DNA approaches and morphology have been either dismissed or are now widely ignored (e.g. Schneider *et al.* 2009). Homoplasy have been recognized as common and a major challenge to the interpretation of relationships based on morphology in many plant groups (e.g., Sanderson & Donoghue, 1989; Ranker *et al.* 2004; Yu *et al.* 2013). However, relative little research was applied to understand the origin of frequent homoplasy (Wake 1991; Wake *et al.* 2011). The two main factors, limited design options caused by developmental programs and/ or selection are considered as the main factors but this hypothesis was studied for a rather limited number of case studies.

To elucidate the potential roles of morphology in taxonomy and macroevolutionary studies, we may require to improve our understanding of the relationships of the assembly of species diversity (SD) and morphological disparity (MD). A positive correlation of species richness and morphological disparity is one of the key assumption in morphology based taxonomy. Studies inferring evidence for the assumed correlation between SD and MD did recover a rather complex pattern between the two parameters and thus refuting a close correlation of SD and MD (e.g. Foote 1997; Adams *et al.* 2009; Rabosky and Adams 2012). These observations are consistent with the observation of independent rates of morphological and molecular evolution (Bromham *et al.* 2002) but these results may be caused by biased character sampling (Seligmann 2010). The putative bias in sampled morphological characters may be of lesser concern if morphology is discussed in the context of taxonomy which carries its own bias by selecting characters based on diagnostic power. In general, existing observation take into the question some of the main principles in current plant taxonomy especially the assumed correlation between the assembly of

species diversity and morphological disparity. Thus, the current trend to infer macroevolutionary patterns using preliminary genomic evidence may reflect the lack of information on species diversity dynamics provided by morphological diversity.

In the following, this issue is addressed by exploring two kinds of evidence. Firstly, cryptic species--species without morphological characteristics allowing them to be delimited as morphological-typological defined species (MTS)--are a core challenge to the assumption of a correlation of SD and MD. The study provides the first summary of the occurrence of cryptic species throughout the green branch of the tree of life. Secondly, the correlation of SD and MD is studied using examples of derived ferns and liverworts. These studies aim to uncover putative rules that allow predictions about the relationships of the two parameters in lineages that have not yet been studied.

### **Assembly of species diversity without morphological disparity**

In recent years, evidence accumulated for the occurrence of cryptic species--meaning species without diagnostic morphological features (see also Bickford *et al.* 2007)--in all lineages of land plants including angiosperms (in at least 12 genera), conifers (in 2 genera), ferns (in six genera), hornworts (1 genus), liverworts (at least 13 genera), and mosses (at least 11 genera). Cryptic species occur throughout all groups of land plants with cryptic species reported for genera belonging monocots such as *Allium* subg. *Melanocrommyum* (Gurushidze *et al.* 2008), eudicot trees such as *Spiraethemum* (Pillon *et al.* 2009), conifers such as *Taxus* (Liu *et al.* 2011), primitive ferns such as *Botrychium* (Hauk and Haufler 1999) as well as derived fern genera such as *Adiantum* (Paris *et al.* 1989) and *Asplenium* (Yatabe *et al.* 2009; Chang *et al.* 2013), thallose liverworts such as *Aneura* (Wachowiak *et al.* 2007) and derived leafy liverwort genera such as *Marchensinia* (Heinrichs *et al.* 2009). Thus, cryptic lineages occur in all major groups of land plants and are not restricted to plant lineages growing preferably in extreme habitats or show limited morphological complexities. However, the documented cases of cryptic species are rather scattered throughout land plants and the quite low number may indicate many overlooked cases of cryptic

species. Future studies need to apply rigorous statistical analyses to test the hypothesis that cryptic species are more frequent in particular groups with or without the preference to grow in extreme habitats or limited morphological disparity (see Bickford *et al.* 2007). In turn, the frequency of reports documenting cryptic species appears to be correlated with the sensitivity of the taxonomic community to their occurrence. It is notable that the first comprehensive review of cryptic speciation in land plants was carried out with focus on ferns (Paris *et al.* 1989) but so far we lack any review of cryptic species in all land plants. A further exception is found in the bryophytes with a discussion of cryptic species in the context of biogeography (Shaw 2001). In general, the number of reported cases of cryptic species have rapidly increased in all lineages except ferns. This fact may be mainly caused by the now frequent application of DNA based approaches to explore species delimitation.

### Species diversity and morphology disparity

Very little attention has been given to the assembly of morphological disparity in land plants especially in the context of species diversity. Several ongoing studies on the assembly of MD in derived fern clades recovered evidence for time dependence of the MD but suggested independence of rate of molecular and morphological rates. These studies integrate diversification time estimates based on relaxed molecular clocks, estimates of molecular and morphological transformation rates, and projections of the morphospace exploited through time. So far, these studies found evidence for a rather complex relationship of MD and SD and did not find evidence supporting the hypothesis of a linear relationship of MD and SD. These results are consistent with reports suggesting a rather complex relationship of the two parameters. The new results on these parameters also support the need to take into account other factors besides SD and MD because they have a strong influence on the dynamics of the assembly of SD and MD, such as niche conservatism and biogeographic patterns. Frequent homoplasy was found to coincide with limitations of the occupied morphospace in derived fern clades and liverworts (Ranker *et al.* 2004; Yu *et al.* 2013). These limitations are likely caused by different factors such as developmental biology defining the potentially occupied morphospace (= fundamental morphospace) and factors, such as competition and

selection, defining the actually defined morphospace (= realized morphospace) (see also Foote 1997; Erwin 2007; Wake *et al.* 2011). For example, biogeographic separation allows the diversification of species within the same morphospace despite close relationships. Thus, biogeographic segregation may result in decoupling of species diversity and morphological disparity.

### Conclusions

Both the study on the occurrence of cryptic species and the assembly of morphological disparity suggest that the current practice of plant taxonomy is challenged by the observed facts. Current taxonomy is still dominantly based on the application of morphological-typological species concept (MTS) despite superior alternatives have been advocated for more than 20 years (de Queiros 2007). The application of species concepts taking advantage of genotype information hold the promise to overcome the shortcomings of the current MTS dominated taxonomy (de Queiros 2007). Their application will not only result in more adequate estimates of species occurring on earth but also to provide rapid identification tools that are not dependent on taxonomic experts. In turn, the role of morphological observations require to be reconsidered because the morphotype based observation will continue to be highly important. Firstly, morphological information is essential to integrate fossil evidence (see Schneider *et al.* 2009 for discussion). In this case, we need to consider both “natural fossils” originated from natural processes and “collection fossils” originated from human collecting activities. Despite some collections held in herbaria may contain sufficiently preserved DNA, many specimens are lost to genotype based research. Thus, morphological observations are crucial to link these specimens, including probably the vast majority of types, with the species delimited using genotypic evidence. Secondly, access to both genotypic and phenotypic evidence will allow us to improve our understanding of the evolution of biodiversity especially by untangling the complex relationship of MD and SD in the diversification of lineages. This research may be ultimately linked with studies investigating the evolution of developmental pathways on one hand and studies on macro-evolutionary/ ecological aspects of form and function.

## Acknowledgements

I am grateful to Alexandre Salino who invited me to participate in the 64 Congresso nacional de Botanica.

## References

- Adams, D.C.; Berns, C.M., Kozak, K.H. & Wiens, J.J. 2009. Are rates of species diversification correlated with rates of morphological evolution? **Proceedings Royal Society London B** **276**(1668): 2729-2738.
- Bickford, D.; Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K. & Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology and Evolution** **22**(3): 148-155.
- Bromham, L.; Woolfit, M., Lee, M.S.Y. & Ramabut, A. 2002. Testing the relationship between morphological and molecular rates along phylogenies. **Evolution** **56**(10): 1921-1930.
- Chang, Y.-F.; Li, J., Lu, S.-G. & Schneider, H. 2013. Species diversity and reticulate evolution in the *Asplenium normale* complex (Aspleniaceae) in China and adjacent areas. **Taxon** **62**(4): 38-45.
- de Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. **Systematic Biology** **56**(6): 879-886.
- de Queiroz, K.; Donoghue, M.J. & Kim, J.-H. 1995. Separate versus combined analysis of phylogenetic evidence. **Annual Reviews of Ecology and Systematics** **26**: 657-681.
- Erwin, D.H. 2007. Disparity: morphological pattern and developmental context. **Palaeontology** **50**(1): 57-73.
- Foot, M. 1997. The evolution of morphological diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics** **28**: 129-152.
- Gurushidze, M.; Fritsch, R.M. & Blattner, F.R. 2008. Phylogenetic analysis of *Allium* subgenus *Melanocrommyum* infers cryptic species and demands on a new sectional classification. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **49**(3): 997-1007
- Hauk, W.D. & Haufler, C.H. 1999. Isozyme variability among cryptic species of *Botrychium* subgenus *Botrychium* (Ophioglossaceae). **American Journal of Botany** **86**(5): 614-633.
- Jiu, J.; Moeller, M., Gao, L.-M., Zhang, D.-Q. & Li, D.-Z. 2011. DNA barcoding for the discrimination of Eurasian yews (*Taxus* L., Taxaceae) and the discovery of cryptic species. **Molecular Ecology Resources** **11**(1): 89-100.
- Heinrichs, J.; Klugman, F., Hentschel, J. & Schneider, H. 2009. DNA taxonomy, cryptic speciation and diversification of the Neotropical liverwort, *Marchesinia brachiata* (Lejeuneaceae, Porellales). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **53**(1): 113-121.
- Hollingsworth, P.M.; Forrest, L., Spouge, J.L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., van der Bank M., Chase, M.W., Cowan, R.S., Erickson, D.L., Fazekas, A.J., Graham, S.W., James, K.E., Kim, K.-J., Kress, W.J., Schneider, H., vanAlphenStahl, J., Barrett, S.C.H., van den Berg, C., Bogarin, D., Burgess, K.S., Cameron, K.M., Carine, M., Chacon, J., Clark, A., Clarkson, J.J., Conrad, F., Devey, D.S., Ford, C.S., Hedderson, T.A.J., Hollingsworth, M.L., Husbang, B.C., Kelly, L.J., Kesanakurti, P.R., Kim, J.S., Kim, Y.-D., Lahaye, R., Lee, H.L., Long, D.G., Madrinan, S., Maurin, O., Meusnier, I., Newmaster, S.G., Park, C.-W., Percy, D.M., Petersen, G., Richardson, J.E., Salazar, G.A., Savolainen, V., Seberg, O., Wilkinson, M.J., Yi, D.-K. & Little, D.P. 2009. A DNA barcode for land plants. **Proceedings National Academy of Sciences USA** **106**(31): 12794-12797.
- Padial, J.M.; Miralles, A.; de la Riva, I., & Vences, M. 2010. The integrative future of taxonomy. **Frontiers in Zoology** **7**: 16.
- Paris, C.A.; Wagner, F.S. & Wagner, W.H. 1989. Cryptic species, species delimitation, and taxonomic practice in the homosporous ferns. **American Fern Journal** **79**(2): 46-54.
- Pillon, Y.; Hopkins, H.C.F., Munzinger, J., Amir, H., Chase, M.W. 2009. Cryptic species, gene recombination and hybridization in the genus *Spiraenthemum* (Cunoniaceae) from New Caledonia. **Botanical Journal of the Linnean Society** **161**(2): 137-152.
- Rabosky, D.L. & Adams, D.C. 2012. Rates of morphological evolution are correlated with species richness in salamanders. **Evolution** **66**(6): 1807-1818.

- Ranker, T.A.; Smith, A.R., Parris, B.S., Geiger, J.M.O., Haufler, C.H., Straub, S.C.K. & Schneider, H. 2004. Phylogeny and evolution of grammitid ferns (Grammitidaceae): a case of rampant morphological homoplasy. **Taxon** **53**(2): 415-427.
- Sanderson, M.J. & Donoghue, M.J. 1989. Patterns of variation in levels of homoplasy. **Evolution** **43**(8): 1781-1795.
- Seligmann, H. 2010. Positive correlations between molecular and morphological rates of evolution. **Journal of Theoretical Biology** **264**(3): 799-807.
- Shaw, J. 2001. Biogeographic patterns and cryptic speciation in bryophytes. **Journal of Biogeography** **28**(2): 253-261.
- Taberlet, P.; Coissac, E., Pompanon F., Brochmann, C. & Willerslev, E. 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. **Molecular Ecology** **21**(6): 2045-2050.
- Tautz, D.; Arctander, P. Minelli, A. Thomas, R.H. & Vogler, A.P. 2003. A plea for DNA taxonomy. **Trends in Ecology and Evolution** **18**(2): 70-74.
- Wachowiak, W.; Baczkiewicz, A., Chudzinska, E. & Buczkowska, K. 2007. Cryptic speciation in liverworts - a case study in the *Aneura pinguis* complex. **Botanical Journal of the Linnean Society** **155**(2): 273-282.
- Wake, D.B. 1991. Homoplasy: the result of natural selection, or evidence of design limitations? **The American Naturalist** **138**(3): 543-567.
- Wake, D.B., Wake, M.H. & Specht, C.D. 2011. Homoplasy: from detecting pattern to determining process and mechanism of evolution. **Science** **331**(6020): 1032-1035.
- Wiens, J.J. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. **Systematic Biology** **53**(4): 653-661.
- Will, K.W.; Mishler, B.D. & Wheeler, Q.D. 2005. The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. **Systematic Biology** **54**(5): 844-851.
- Yatabe, Y.; Shnohara, W., Matsumoto, S. & Murakami, N. 2009. Patterns of hybrid formation among cryptic species of bird-nest fern, *Asplenim nidus* complex (Aspleniaceae) in West Malesia. **Botanical Journal of the Linnean Society** **160**(1): 42-63.
- Yu, Y.; Pocs, T., Schaefer-Verwimp, A., Heinrichs, J., Zhu, R.-L. & Schneider, H. 2013. Evidence for rampant homoplasy in the phylogeny of the epiphyllous liverwort genus *Cololejeunea* (Lejeuneaceae). **Systematic Botany** **38**(3): 553-563.



# Relevance of microorganisms in the bioremediation of heavy metals contaminated soils

**Rosario Azcón**

Estación Experimental del Zaidín, CSIC, Granada, Espanha.  
rosario.azcon@eez.csic.es

Plant growth is seriously limited in heavy metals contaminated soils. Heavy metals (HM) have caused serious environmental problems and may enter in the ecosystem through mining, atmosphere deposition and agrochemicals as pesticides, fertilizer and anthropogenic activities (Liu *et al.*, 1997). Soil contamination by heavy metals is an important problem in industrialized areas and they can cause detrimental effects on ecosystems. High concentrations of metals such as zinc, nickel, mercury, cadmium, or copper cause environmental pollution because they have a strong persistence.

Contaminated soils are generally characterised by poor soil structure, low water-holding capacity, lack of organic matter and nutrient deficiency. The symbiosis with AM fungi has been proposed as one of the mechanisms of plant heavy metal tolerance (Hildebrandt *et al.*, 2007). Nonetheless, in contaminated soils the mycorrhizal component may disappear or, at least, be severely depleted, so it may be necessary to reinforce or replace it by appropriate inoculation.

Microbial inoculants can help plants to cope with adverse conditions and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi have an extraordinary importance since they increase nutrient acquisition by the plant as well as resistance to abiotic stresses (Barea *et al.*, 2002). Mycorrhiza represent key ecological factors governing the cycles of major plant nutrients and have significant influence on plant health and productivity (Jeffries *et al.*, 2003).

Bioremediation has been defined as the use of microorganisms for the treatment of soil pollution (Leyval *et al.*, 2002) and can be applied in association with different strategies of phytoremediation. Nevertheless, for phytoremediation purpose we need a better understanding of the interactions between plant and soil microorganisms, particularly beneficial microbes as arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) (Whitfield *et al.*, 2004a; 2004b; Vivas *et al.*, 2003c; 2003d; 2003e).

AM fungi association contributes to the establishment and growth of plants, particularly under adverse conditions such as in sites highly polluted by metals. These fungi have developed several strategies to cope with these adverse conditions and to confer resistance to plants against metals (Gohre & Paszkowski, 2006; Hildebrandt *et al.*, 2007). Thus, the application of AM fungi for remediation purposes is of great biotechnological interest (Janousková *et al.*, 2005; Hildebrandt *et al.*, 2007). On the other hand, heavy metal-resistant bacteria (from metal-polluted soil) are able to improve plant growth as they may reduce metal availability in the medium and many of them are PGPR.

Mechanisms by which AM fungi and/or heavy metal-resistant bacteria may reduce heavy metal availability in the plants are several: immobilization by chelating substances secreted to soil; and binding of metals to biopolymers in the cell wall, such as chitin and glomalin; superficial immobilization in the plasmatic membrane once it crosses the cell wall;

membrane transporter that mobilizes metals from the soil to the cytosol; intracellular chelation through metallothioneins (González-Guerrero *et al.*, 2006), organic acids and amino acids (Clemens, 2001); export of metals from the cytosol by membrane transporters; and confinement of metals into the vacuoles. The storage of metals in spores has also been described in monoxenic cultura (Ferrol *et al.*, 2009). Vivas *et al.* (2003a) showed an important ability of *Brevibacillus* sp. for Pb biosorption (26% of the biomass weight) that may have contributed to Pb removal from soil and to alleviate Pb toxicity.

Soil microorganisms are also affected by metals, however, continuous exposure to high concentrations of metals can induce tolerance, and promote the development of some specialized microbial populations.

Genetic adaptation have been observed in autochthonous AM fungi populations from polluted soils which shown a higher metals tolerance than those isolated from non-polluted soils (Gildon & Tinker, 1983). The outer surface of mycelium has a larger capacity for sorbing metals than root cells. Presence of negatively charged hydroxyl, carboxyl, and other functional groups capable of binding metallic ions, such as  $\text{Cu}_2^+$  and  $\text{Zn}^+$  has been reported in AM mycelium (Joner *et al.*, 2000; Zhou, 1999). The metal-binding capacity of glomalin, a protein produced by AM fungi, varies with soil type and some physicochemical parameters, such as pH and redox potential Cornejo *et al.* (2008) observed a high correlation between the glomalin concentration and the content of Cu and Zn in some Cu-polluted soils ( $r = 0.89$  and  $0.76$  for Cu and Zn, respectively,  $P < 0.001$ ).

Copper is an essential element controlling diverse biochemical and regulatory events for plant and fungal metabolism, but it can be toxic to plant and AM fungi at high concentration by interfering respiratory processes and protein synthesis. The extraradical mycelium of AM colonized plants may operate binding processes and to have an important role in plant tolerance to Cu. The extraradical mycorrhizal mycelium may selective exclude toxic elements by intracellular precipitation y extracellular glycoprotein or chitin-containing cell walls (Zhou, 1999).

Metal tolerant plant species (metalophytes) can grow on metal polluted soils (Whiting *et al.*, 2002) and microorganism as AMF resistant to copper

would form the dominant populations (Ferrol *et al.*, 2009). The alleviating effect of the inoculation of an autochthonous Cu-adapted arbuscular mycorrhizal inoculum was evaluated in a metallophyte plant (Meier *et al.*, 2011). In this study, Cu translocated from root to shoot under the highest Cu level was highly reduced in mycorrhizal colonized plants (by 2.7 times) versus control. In addition, colonized plants accumulated less Cu (80% in shoot and 29% in roots) than non-AM plants. Concomitantly, as index of Cu tolerance, the plant antioxidant activity was measured. The lowest values of glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and calatase (CAT) were found in mycorrhizal colonized plants. Mycorrhizal plants with a higher adaptation to the stress conditions did not require the antioxidant protection against the stress. These results suggest that to successfully remediated Cu polluted sites it is essential to colonize metallophyte plants with efficient autochthonous adapted AM fungi.

There is distinct efficiency of AM fungi for maintaining metal homeostasis and buffering metal stress in plant and itself through evolution of various physiological and molecular mechanisms. In fact, chelation of toxic metals with exudates, intracellular peptides (glutathiones, metallothioneins, HSPs) and other non-proteinaceous compounds (polyphosphate granules), production of antioxidant enzymes to reduced oxidative stress and transport proteins for metal influx and efflux, may be mechanisms involved.

Diversity of AM fungi and bacteria in metal-polluted were examined in order to identify the suitable species that are more effective in remediation processes. One of the main mechanisms involved in the bacterial adaptation to heavy metals is the adsorption of metals to the cell wall surface (biosorption). The negative charge of the wall cell by compounds as free amino acids together with hydroxylic, carboxylic, and other functional groups allows microorganisms to bind and to accumulate metal cations from the environment (Haferburg & Kothe, 2007).

Autochthonous *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae* isolated from Cd-polluted soil achieved further plant growth and nutrition and less Cd concentration (decreasing by 2.8 folds percentage of Cd) at the highest Cd level when they were co-inoculated in the system. Much Cd was retained in the mycorrhizal roots and thus the translocation to the shoots was inhibited (Weissenhorn & Leyval, 1995).

Cd biosorption by *B. brevis* seems also to contribute to the effects (Vivas *et al.*, 2003b).

Different strategies might be involved in preventing plant toxicity damage. Changes in metal uptake and/or internal transportation storage can confer metal tolerance to the host plant (Scheloske *et al.*, 2004). The microbial inocula used (AM fungus and/or *B. brevis*) seem also to confer tolerance to Ni by affecting metals availability and uptake showing low amount of Ni absorbed per unit of root mass (Vivas *et al.*, 2006).

Zinc is a component in a number of enzymes and DNA-binding proteins, for example zinc-finger proteins, which exist in bacteria. As this metal only occurs as the divalent cation Zn<sup>2+</sup>, it does not undergo redox changes under biological conditions. AM fungi colonized plants accumulate Zn in the roots such as observed (Chen *et al.*, 2003).

*G. mosseae* isolated from polluted sites required the bacterial influence to achieve greater development. Spores of *G. mosseae* demonstrated increased mycelial growth by 56% (without Zn) and by 133% (with 200 mg Zn ml<sup>-1</sup>), when inoculated with the bacterium as compared with uninoculated spores (Vivas *et al.*, 2005). Metal-adapted *Brevibacillus* strains have demonstrated metal biosorption ability, plant-growth- and mycorrhizae-helper activities. Thus, dual inoculation of plants with native *Brevibacillus* strains and AM fungi seems to be a strategy which can be recommended for promoting plant growth in heavy metal-polluted soils.

In polluted zones, decrease in the characteristic biodiversity of such area and the degradation of the natural ecosystem. Such unfavourable conditions for plant growth require applying methods for improving nutrient balance, microbial activity and soil quality (García *et al.*, 1999). In polluted multicontaminated areas, plants are more dependent on microbial activity (Moreno-Ortego *et al.*, 1999) since plant establishment and further development is seriously limited in these areas (Puppi *et al.*, 1994; Baker *et al.*, 1995).

Enzymatic activities are considered as major factors contributing to overall soil microbial activity and soil quality (Nannipieri, 1994). The increase of enzymatic activities in soils is involved in an increase in the availability of nutrients to plants, which in turn have a positive influence on soil fertility (García *et al.*, 1997).

Bacterial biodiversity (estimated by denaturing gradient gel electrophoresis of amplified 16S rDNA sequences) was stimulated in a multicontaminated soil by the presence of the AM fungus (Azcón *et al.*, 2009). In fact, soil quality is related to the rhizosphere microbial groups and biodiversity but few studies have considered the effect of the mycorrhizal fungi and bacterial colonization on the structure of the bacterial communities and diversity (Maliszewska-Kordybach & Smreczak, 2003; Zhang *et al.*, 2006).

Application of genetic engineering could prove an asset for efficiency increment and better adaptability of fungal symbionts and bacteria through alterations in molecular pathways leading to high metal tolerance and/or detoxification. Besides, to incorporate the promising genes responsible for over production of metal chelating agents for enhanced metal binding at target sites may be important strategies for phytoremediation purposes.

Therefore, it is of great importance to inoculate the metal hyper-accumulator plants with efficient and effective mycorrhizal fungal strains and bacteria good adapted to a particular set of conditions and/or host plant to expedite the process of metal remediation. It can be regarded as a successful biotechnology for the restoration of contaminated ecosystems.

## References

- Azcón, R.; Perálvarez, M.C.; Biró, B.; Roldán, A. & Ruíz-Lozano, J.M. 2009. Antioxidant activities and metal acquisition in mycorrhizal plants growing in a heavy-metal multicontaminated soil amended with treated lignocellulosic agrowaste. **Applied Soil Ecology** **41**: 168-177.
- Baker, A.; Sprent, J.I. & Wilson, J. 1995. Effects of sodium chloride and mycorrhizal infection on the growth and nitrogen fixation of *Prosopis juliflora*. **Symbiosis** **19**: 39-51.
- Barea, J.M.; Azcón, R. & Azcón-Aguilar, C. 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology** **81**: 343-351.
- Clemens, S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. **Planta** **212**:

- 475-486.
- Cornejo, P.; Meiera, S.; Borie, G.; Rillig, M. & Borie, F. 2008. Glomalin-related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration. **Science of the Total Environment** **406**: 154-160.
- Chen, B.D.; Li, X.L.; Tao, H.Q.; Christie, P. & Wong, M.H. 2003. The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. **Chemosphere** **50**: 839-846.
- Ferrol, N.; González-Guerrero, M.; Valderas, A.; Benabdellah, K. & Azcón-Aguilar, C. 2009. Survival strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. **Phytochemistry Reviews** **8**: 551-559.
- García, C.; Hernández, M.T. & Costa, F. 1997. Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. **Communication in Soil Science and Plant Nutrition** **28**: 123-134.
- García, C.; Hernández, M.T.; Pascual, J.A.; Moreno-Ortego, J.L. & Ross, M. 1999. Soil microbial activity as biomarker of degradation and rehabilitation processes. Pp. 124. In: **Enzymes in the Environment: Activity Ecology & Applications**, Dick, R.P. (Ed.) Granada, Spain, July 12-15.
- Gildon, A. & Tinker, P.B. 1983. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. 1. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. **New Phytologist** **95**: 247-261.
- Gohre, V. & Paszkowski, U. 2006. Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. **Planta** **223**: 1115-1122.
- González-Guerrero, M.; Azcón-Aguilar, C. & Ferrol, N. 2006. GintABC1 and GintMT1 are involved in Cu and Cd homeostasis in *Glomus intraradices*. Pp. 391. In: **5th International Conference on Mycorrhiza. "Mycorrhiza for science and society"**. Granada, Spain, 27 July.
- Haferburg, G. & Kothe, E. 2007. Microbes and metals: interactions in the environment. **Journal of Basic Microbiology** **47**: 453-467.
- Hildebrandt, U.; Regvar, M. & Bothe, H. 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. **Phytochemistry** **68**: 139-146.
- Janousková, M.; Pavlíková, D.; Macek, T. & Vosátka, M. 2005. Arbuscular mycorrhiza decreases cadmium phytoextraction by transgenic tobacco with inserted metallothionein. **Plant and Soil** **272**: 29-40.
- Jeffries, P.; Gianinazzi, S.; Perotto, S.; Turnau, K. & Barea, J.M. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. **Biology and Fertility of Soils** **37**: 1-16.
- Joner, E.J.; Briones, R. & Leyval, C. 2000. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. **Plant and Soil** **226**: 227-234.
- Leyval, C.; Joner, E.J.; del Val, C. & Haselwandter, K. 2002. Potential of arbuscular mycorrhizal fungi for bioremediation. Pp. 175-186. In: Gianinazzi, S., Schüepp, H., Barea, J.M. & Haselwandter, K. (Eds.), **Mycorrhizal Technology in Agriculture**. Basel, Switzerland, Birkhäuser Verlag.
- Liu, W.T.; Marsh, T.L.; Cheng, H. & Forney, L.J. 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology** **63**: 4516-4522.
- Maliszewska-Kordybach, B. & Smreczak, B. 2003. Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination. **Environment International** **28**: 719-728.
- Meier, S.; Azcón, R.; Cartes, P.; Borie, F. & Cornejo, P. 2011. Alleviation of Cu toxicity in *Oenothera picensis* by copper-adapted arbuscular mycorrhizal fungi and treated agrowaste residue. **Applied Soil Ecology** **48**: 117-124.
- Moreno-Ortego, J.L.; Falchini, L.; Renella, G.; Landi, L. & Nannipieri, P. 1999. Use of the ecological dose (ED50) to assess to toxicity of Cd on soil microbial and biochemical parameters. Pp. 129. In: Dick, R.P. (Ed.) **Enzymes in the Environment: Activity Ecology & Applications**. Granada, Spain,
- Puppi, G.; Azcón, R. & Hoflich, G. 1994. Management



- of positive interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with essential groups of soil-microorganisms. Pp. 201-215. In: Gianinazzi, S. & Schüepp, H. (Eds.), **Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems**. Basel, Switzerland, ALS, Birkhäuser Verlag.
- Scheloske, S.; Maetz, M.; Schneider, T.; Hildebrandt, U.; Bothe, H. & Povh, B. 2004. Element distribution in mycorrhizal and nonmycorrhizal roots of the halophyte *Aster tripolium* determined by proton induced X-ray emission. **Protoplasma** **223**: 183-189.
- Vivas, A.; Azcón, R.; Biró, B.; Barea, J.M. & Ruíz-Lozano, J.M. 2003a. Influence of bacterial strains isolated from lead-polluted soil and their interactions with arbuscular mycorrhizae on the growth of *Trifolium pratense* L. under lead toxicity. **Canadian Journal of Microbiology** **49**: 577-588.
- Vivas, A.; Barea, J.M. & Azcon, R. 2005. Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. **Environmental Pollution** **134**: 257-266.
- Vivas, A.; Barea, J.M.; Biró, B. & Azcon, R. 2006. Effectiveness of autochthonous bacterium and mycorrhizal fungus on *Trifolium* growth, symbiotic development and soil enzymatic activities in Zn contaminated soil. **Journal of Applied Microbiology** **100**: 587-598.
- Vivas, A.; Biró, B.; Campos, E.; Barea, J.M. & Azcón, R. 2003b. Symbiotic efficiency of autochthonous arbuscular mycorrhizal fungus (*G. mosseae*) and *Brevibacillus* sp isolated from cadmium polluted soil under increasing cadmium levels. **Environmental Pollution** **126**: 179-189.
- Vivas, A.; Marulanda, A.; Gómez, M.; Barea, J.M. & Azcón, R. 2003c. Physiological characteristics (SDH and ALP activities) of arbuscular mycorrhizal colonization as affected by *Bacillus thuringiensis* inoculation under two phosphorus levels. **Soil Biology & Biochemistry** **35**: 987-996.
- Vivas, A.; Marulanda, A.; Ruíz-Lozano, J.M.; Barea, J.M. & Azcón, R. 2003d. Influence of a *Bacillus* sp on physiological activities of two arbuscular mycorrhizal fungi and on plant responses to PEG-induced drought stress. **Mycorrhiza** **13**: 249-256.
- Vivas, A.; Vörös, A.; Biró, B.; Barea, J.M.; Ruíz-Lozano, J.M. & Azcón, R. 2003e. Beneficial effects of indigenous Cd-tolerant and Cd-sensitive *Glomus mosseae* associated with a Cd-adapted strain of *Brevibacillus* sp. in improving plant tolerance to Cd contamination. **Applied Soil Ecology** **24**: 177-186.
- Weissenhorn, I. & Leyval, C. 1995. Root colonization of maize by a Cd sensitive and a Cd-tolerant *Glomus mosseae* and cadmium uptake in sand culture. **Plant and Soil** **175**: 233-238.
- Whitfield, L.; Richards, A.J. & Rimmer, D.L. 2004a. Effects of mycorrhizal colonisation on *Thymus polytrichus* from heavy-metal-contaminated sites in northern England. **Mycorrhiza** **14**: 47-54.
- Whitfield, L.; Richards, A.J. & Rimmer, D.L. 2004b. Relationships between soil heavy metal concentration and mycorrhizal colonisation in *Thymus polytrichus* in northern England. **Mycorrhiza** **14**: 55-62.
- Whiting, S.N.; Reeves, R.D. & Baker, A.J.M. 2002. Conserving biodiversity. Mining, metallophytes and reclamation. **Mining Environmental Management** **10**: 11-16.
- Zhang, J.H.; Jia, W.S.; Yang, J.C. & Ismail, A.M. 2006. Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. **Field Crops Research** **97**: 111-119.
- Zhou, J.L. 1999. Zn biosorption by *Rhizopus arrhizus* and other fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology** **51**: 686-693.

# Técnicas de nucleação e bioindicadores de avaliação da restauração florestal

**Sebastião Venâncio Martins**

Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.  
venancio@ufv.br

## Introdução

Em termos ambientais, as duas últimas décadas foram caracterizadas pelo aumento da pressão da opinião pública nacional e internacional sobre a necessidade de conservação dos recursos naturais e recuperação das áreas já degradadas, frente aos fenômenos ambientais de grande escala como o efeito estufa e as mudanças climáticas, que direta ou indiretamente tem sido induzidos ou agravados pelas atividades humanas. Este cenário, se por um lado tem sido desfavorável ambientalmente pelo progressivo aumento mundial dos impactos resultantes do desenvolvimento de países em franca expansão econômica como o Brasil, por outro lado tem levado ao crescimento da discussão sobre a problemática ambiental e a sustentabilidade das atividades produtivas.

A sustentabilidade das atividades dos mais variados setores produtivos tem sido a palavra de ordem nos últimos anos, já que a comercialização internacional de matérias-primas e produtos cada vez mais tem exigido compromissos das empresas e governos para com a conservação dos ecossistemas naturais, através de mecanismos como a certificação florestal.

Para atender este crescente desafio de conciliar atividades de mineração, produção de celulose e papel, de carvão vegetal, de energia, entre outras, com a conservação e uso racional dos recursos naturais, as empresas destes setores tem buscado alternativas para implantação de projetos que atendam a legislação ambiental vigente, que sejam sustentáveis ao longo do tempo e que tenham custos reduzidos.

Assim, as parcerias do setor privado com universidades e centros de pesquisas tem sido fundamental para o desenvolvimento de novas tecnologias de restauração ecológica.

Neste contexto, este capítulo aborda alguns aspectos importantes que devem ser considerados na elaboração de projetos de restauração florestal, como a questão da contextualização em nível de paisagem de uma determinada área a ser restaurada e as principais técnicas de nucleação que o LARF – Laboratório de Restauração Florestal da Universidade Federal de Viçosa ([www.larf.ufv.br](http://www.larf.ufv.br)) vem desenvolvendo ou adaptando para as mais variadas situações de degradação ambiental de diferentes regiões do País.

## O processo de nucleação

A nucleação é o processo ecológico em que uma ou mais espécies, ao se estabelecerem naturalmente ou através de introdução antrópica numa área perturbada, melhoram as condições do ambiente favorecendo o estabelecimento de espécies mais exigentes. Neste processo um ou poucos indivíduos considerados como núcleos de uma comunidade pioneira em expansão colonizam uma área (Yarranton & Morrison, 1974). Estes primeiros indivíduos colonizadores atuam como espécies facilitadoras, seja melhorando o solo através da deposição de serapilheira e ciclagem de nutrientes, seja servindo de poleiros para aves frugívoras e morcegos, e, ou através do fornecimento de sombra para espécies ciófitas.

A nucleação é particularmente mais fácil de evidenciar em áreas que estão passando por sucessão

primária, como ilhas de vegetação em afloramentos rochosos, ilhas de bromélias e *Clusia* em dunas, entre outras situações, embora uma única árvore numa pastagem abandonada possa também desencadear um processo de nucleação. Desta forma, a aplicação de técnicas de nucleação busca exatamente estimular o modelo de facilitação da sucessão *sensu* Connell & Slatyer (1977) numa área ou ecossistema cuja resiliência foi comprometida.

Uma ampla gama de técnicas de nucleação foi desenvolvida nos últimos anos, e vem sendo adaptadas de acordo com o tipo de ecossistema e de situação de degradação encontrada. Entre as técnicas mais empregadas pela equipe do LARF-UFV e por outros grupos de pesquisadores do Brasil e de outros países podem ser citadas a transposição da camada superficial de solo - *top soil* - contendo o banco de sementes, transposição de galhadas e outros restos vegetais, transposição da chuva de sementes, instalação de poleiros naturais ou artificiais, semeadura direta e plantio de mudas em grupos de Anderson (Reis *et al.*, 1999; Reis *et al.*, 2003; Zanini & Ganade, 2005; Reis & Kageyama, 2008; Espindola & Reis, 2009; Martins, 2012; Martins *et al.*, 2012).

Estas técnicas de nucleação tem em comum o fato de imitarem a natureza no desenvolvimento dos processos ecológicos. Ao contrário dos reflorestamentos com espécies nativas que adotam técnicas tradicionalmente utilizadas na silvicultura de florestas de produção, na nucleação procura-se aproveitar e estimular o potencial de autorregeneração, isto é a resiliência dos ecossistemas. Cabe destacar que mesmo em projetos de restauração através de reflorestamento em área total, técnicas de nucleação podem e devem ser adotadas no sentido de facilitar o enriquecimento natural da floresta plantada.

### **A resiliência em diferentes escalas e sua importância para a restauração**

Os mecanismos que garantem a resiliência de um ecossistema florestal são a chuva de sementes procedente da vegetação da própria floresta ou de fontes próximas, o banco de sementes presentes na serapilheira e no solo superficial e a rebrota de cepas e de raízes gemíferas.

Através destes mecanismos muitas espécies herbáceas e arbustivo-arbóreas conseguem

permanecer no solo com capacidade de regeneração, mesmo em áreas cultivadas, ou seja mesmo numa matriz de cultura agrícola ou pastagem o potencial florístico inicial representado por tecidos ou sementes em estado dormente no solo pode ser suficiente para desencadear o processo sucessional. Assim, teoricamente mesmo não existindo fontes de propágulos nas proximidades para alimentar a chuva de sementes, a regeneração florestal poderia ocorrer dependendo do estoque de sementes e de tecidos com capacidade de rebrota ainda existentes no solo (Martins *et al.*, 2012).

Embora a resiliência local ou pontual, ou seja, aquela do local diretamente afetado por um distúrbio natural ou antrópico, como uma clareira numa floresta ou um deslizamento de terra numa encosta, seja fundamental para desencadear o processo de nucleação, deve-se considerar também a matriz da paisagem em que uma área ou ecossistema que se pretende restaurar está inserido, isto é a resiliência em nível de paisagem.

Em extensas paisagens ocupadas com pastagens ou cultivos agrícolas, frequentemente os fragmentos florestais são ausentes ou restritos a pequenas Reservas Legais, muito isolados e degradados, submetidos a forte efeito de borda, com dossel descaracterizado, infestação de lianas agressivas e espécies invasoras. Nestas situações a chuva de sementes, um dos principais mecanismos da resiliência dos ecossistemas, tende a contribuir muito pouco para a regeneração florestal numa área que se pretende restaurar (Martins *et al.*, 2012).

### **Aproveitamento e estímulo da resiliência**

Em regiões em que a paisagem ainda possui resiliência para o avanço da regeneração florestal, como em algumas partes da Serra da Mantiqueira e da Zona da Mata em Minas Gerais, em muitos municípios da região amazônica, e até mesmo em partes do Bioma Pampa, no Rio Grande do Sul, o simples isolamento dos principais fatores de degradação como o fogo e o gado pode ser indicado para desencadear o processo de nucleação e o avanço sucessional numa pastagem abandonada, por exemplo.

As Figuras 1 e 2 mostram duas áreas em que o processo de regeneração natural iniciou-se a partir do abandono e isolamento das áreas da ocorrência

de fogo e da entrada de gado bovino. No primeiro caso (Figura 1) um trecho de floresta estacional semidecidual secundária em Viçosa, MG, foi cortado e abandonado e, como o solo não foi degradado e as fontes de sementes estavam no entorno, não foi necessária a aplicação de nenhuma técnica de restauração, pois a resiliência local estava mantida. Já no outro caso (Figura 2) o cercamento de uma faixa de 30 m (APP) ao redor da represa de uma Pequena Central Hidroelétrica na região serrana do estado do Rio de Janeiro tem sido suficiente para garantir a regeneração de espécies arbustivo-arbóreas nativas, uma vez que a paisagem ainda possui resiliência. Contudo, o monitoramento destas áreas é importante para avaliar se o processo de regeneração está seguindo uma trajetória sustentável, com diversidade de espécies e de formas de vida.



Figura 1. Regeneração pós-corte da floresta, Viçosa, MG.



Figura 2. Regeneração natural no entorno de represa em Bom Jardim, RJ, convênio ENERGISA/LARF-UFV

Em determinadas situações, mesmo ainda havendo resiliência local e da paisagem o processo de sucessão natural pode ser muito lento e levar décadas, devendo ser acelerado através da aplicação de técnicas de nucleação. O importante nestes casos é criar condições favoráveis tanto para a chegada de diásporas nas áreas em restauração dispersos das fontes próximas, bem como para sua germinação e estabelecimento neste novo ambiente. Embora nestas situações o enriquecimento normalmente ocorra de forma natural, a chegada de sementes nas áreas em restauração pode ser potencializada através da instalação de poleiros artificiais, plantio de árvores zoocóricas isoladas ou em pequenos núcleos (grupos de Anderson) entre estas e os remanescentes florestais da paisagem.

O enriquecimento através do plantio de núcleos de mudas em áreas de pasto sujo com regeneração arbustivo-arbórea ou de vassourais – vegetação em sucessão com predomínio de espécies arbustivas da família Asteraceae - é uma alternativa de baixo custo e alta viabilidade para acelerar a sucessão florestal nestas áreas. As mudas plantadas em núcleos tendem a ter maiores chances de sobrevivência que mudas individuais, e com os núcleos bem distribuídos na área reduz-se drasticamente o número de mudas por hectare em comparação com o reflorestamento em área total (Figura 3).



Figura 3. Núcleo de mudas arbóreas (grupo de Anderson) implantado para enriquecimento de vassoural em APP no Rio Grande do Sul. Convênio CMPC Celulose Riograndense/LARF-UFV



### Utilização direta da resiliência

Além de aproveitar e estimular o potencial de autorregeneração de um determinado ecossistema é possível também utilizar parte da sua resiliência para a restauração ecológica de outros locais ou outros ecossistemas degradados.

### Resgate de plântulas

Um dos principais entraves na restauração florestal é a obtenção de mudas de espécies nativas com diversidade de espécies e genética. Embora venha ocorrendo um grande avanço na produção de mudas, algumas regiões ainda são carentes em viveiros. A produção de mudas através do resgate de plântulas é indicada quando o licenciamento ambiental para atividades de mineração, represamento de cursos d'água e outros, permite que a vegetação nativa seja suprimida, e outra área, como medida compensatória deve ser restaurada (Martins, 2012).

O resgate também pode ser utilizado para aproveitar plântulas de espécies nativas presentes no sub-bosque de reflorestamentos comerciais, o que é muito comum em plantios de *Eucalyptus* spp. Povoamentos de eucalipto e de outras espécies de rápido crescimento podem ser utilizados como florestas catalisadoras de regeneração de espécies nativas em seu sub-bosque. A viabilidade do resgate de plântulas espécies arbóreas nativas no sub-bosque de talhões de *Eucalyptus* spp. foi demonstrada por Bauchspiess ET AL. (2013) como parte de um convênio entre o LARF-UFV e a empresa CMPC Celulose Riograndense, na região de Guaíba, RS, quando foram resgatadas 2309 mudas pertencentes a 63 espécies, com taxa geral de sobrevivência de 95,93%. Estas mudas foram destinadas a restauração florestal na forma de núcleos de mudas (Figura 3) em áreas de preservação permanente no entorno de nascentes, em propriedades da empresa no Rio Grande do Sul.

As mudas resgatadas podem ser utilizadas na restauração do próprio ecossistema que foi degradado, por exemplo em atividades de mineração rápida, como no caso da mineração de bauxita, ou serem usadas em outro local na mesma região ou bioma.

As principais vantagens do resgate de plântulas são o baixo preço da produção de mudas, uma vez que é dispensada a etapa de produção e beneficiamento

de sementes, e a possibilidade de se obter elevada diversidade de espécies nativas, já que o resgate é realizado em ecossistemas naturais (Martins, 2012).

### Transposição de solo superficial (*Top soil*)

A camada de serapilheira e os primeiros centímetros de profundidade do solo mantêm um estoque de sementes em estado dormente com capacidade de germinação em condições favoráveis de luz e umidade, principalmente. Estudos têm mostrado elevados valores de densidade e de riqueza de espécies arbóreas pioneiras e também de outras formas de vida nos solos da maioria dos ecossistemas florestais do Brasil (Araújo *et al.*, 2001; Costa & Araújo, 2003; Mônaco *et al.*, 2003; Martins, 2009), o que evidencia o potencial da utilização desse banco de sementes do solo na restauração ecológica (Figura 4), contribuindo para o aumento da diversidade e redução dos custos de implantação e manutenção dos projetos de restauração.

Ao se realizar a transposição do banco de sementes do solo de uma floresta para uma área degradada parte-se do princípio de que as sementes das espécies presentes na serapilheira e camada superficial do solo irão germinar e rapidamente colonizar o solo (ou subsolo, em casos de mineração) exposto e desencadear o processo de nucleação.

Embora as sementes sejam o foco principal da transposição de solo, junto com elas são depositados microrganismos como fungos decompositores, bactérias, fauna edáfica, nutrientes e matéria orgânica, na área degradada que se pretende restaurar. No caso de solos degradados em que o horizonte superficial foi removido ou compactado, estes componentes e suas interações presentes no solo retirado de uma floresta são essências para ativar sua ciclagem de nutrientes e melhorar sua fertilidade e estrutura, ou seja criar condições para o que processo de sucessão se inicie e avance (Martins, 2012).



Figura 4. Experimento de transposição de solo, LARF-UFV. A- Canteiros antes (A) e 36 meses (B) após a transposição.

### Transposição de galhadas

Outra forma de induzir a nucleação é a transposição de galhadas ou galharias ou seja, os restos vegetais (galhos, folhas e material reprodutivo) da floresta. Como esses restos vegetais são fontes de sementes de espécies arbustivo-arbóreas e de outras formas de vida como as plantas epífitas, de nutrientes e de matéria orgânica, após a germinação, as plântulas encontrarão condições mais adequadas para o seu estabelecimento.

A transposição de galhadas é particularmente importante em áreas em que o solo foi degradado, seja através da remoção da camada fértil superficial ou da sua compactação. Nestas condições os restos vegetais facilitam a ativação de cadeias alimentares que garantem o funcionamento do ecossistema em restauração e a ciclagem de nutrientes (Figuras 5).



Figura 5. Experimentos de nucleação com transposição de galhadas. Projeto LARF-UFV.

O material vegetal oriundo de áreas em que o licenciamento ambiental autorizou a supressão da vegetação, deve ser depositado em pilhas com área de no mínimo 2 x 2 m e altura de aproximadamente 0,50 m, ou em leiras dentro de grandes áreas degradadas, formando ilhas de restos vegetais. É importante destacar que os restos vegetais da galhada atuam também como refúgio e fonte de alimento para insetos como brocas de madeira e cupins, pequenos roedores, répteis etc., atraindo outros animais predadores e, assim, ativando, com o tempo, cadeias alimentares. Todo esse processo tende a aumentar a biodiversidade nos núcleos de vegetação e, espera-se, que em pouco tempo essas ilhas se expandam restaurando a cobertura florestal em toda a área degradada (Martins, 2012).



## Instalação de poleiros naturais ou artificiais

A utilização de poleiros para atração de aves e morcegos dispersores de sementes tem sido indicada como alternativa viável para nucleação florestal em áreas degradadas. Parte-se do princípio de que cada poleiro funcionará como local de pouso para pássaros que se deslocam entre remanescentes florestais, possibilitando que esses depositem sementes nas proximidades dos poleiros através de suas fezes e material regurgitado (Martins, 2012).

Poleiros naturais ou vivos podem ser obtidos através do plantio de árvores isodadas de espécies de rápido crescimento. São indicadas preferencialmente espécies nativas pioneiras que apresentam crescimento muito rápido como *Trema micrantha*, *Enterolobium contortisiliquum* entre outras, mas espécies exóticas que não regeneram ou regeneram com dificuldade em nossos ecossistemas podem também ser indicadas como as do gênero *Eucalyptus*. Estas espécies por apresentarem crescimento muito rápido podem ser plantadas de forma dispersa numa área degradada onde se está aplicando outras técnicas de nucleação (transposição de solo, galhadas etc.). No caso de espécies exóticas, principalmente *Eucalyptus*, a utilização como poleiros naturais é mais indicada para grandes áreas com reflorestamento com espécies nativas, como seu crescimento tende a ser muito mais rápido que o da maioria das nativas, já no segundo ano do plantio as árvores podem funcionar como poleiros para o deslocamento de aves de remanescentes florestais da paisagem para o interior da área em restauração. Com o avanço da restauração, as árvores exóticas devem ser mortas em pé através do anelamento mecânico da casca ou aplicação de herbicida para, assim, continuarem por um tempo servindo de poleiros.

Poleiros artificiais podem ser confeccionados com varas de bambu gigante ou de eucalipto, nas quais são fixadas varas finas de madeira. A altura do poleiro deve ser suficiente para facilitar o pouso de aves e morcegos, podendo ser indicada uma altura variando de 5 a 10 m. A ligação desses poleiros com cordas ou cabos de aço imitando redes de transmissão de energia pode aumentar sua eficiência na nucleação (Reis *et al.*, 2003).

É importante ressaltar que a aplicação de técnicas de nucleação não pressupõe a eliminação de técnicas tradicionais de restauração como

os reflorestamentos com espécies nativas, em determinadas situações é viável a combinação destas duas frentes de restauração, uma mais ecológica e outra mais silvicultural. Por exemplo, a instalação de poleiros naturais ou artificiais, a transposição na forma de ilhas de serapilheira/top soil e ou galhadas numa área com reflorestamento total tende a facilitar o processo de restauração como um todo, gerando aumento de diversidade e retorno mais rápido dos processos ecológicos.

## Bioindicadores de avaliação de áreas em restauração

Por mais bem planejado que seja, e com maior embasamento ecológico que tenha, a implantação de um projeto de restauração nem sempre garante que a floresta em restauração siga a trajetória pretendida, que via de regra se traduz em efetiva proteção dos solos e dos cursos d'água, manutenção de elevada diversidade de espécies regionais de várias formas de vida, atratividade à fauna etc.

O sucesso de um projeto de restauração florestal deve ser avaliado por meio de bioindicadores de avaliação e monitoramento (Martins & Kunz, 2007, Martins, 2012). Através desses bioindicadores, é possível definir se o projeto necessita sofrer novas interferências ou até mesmo ser redirecionado, visando acelerar o processo de sucessão e de restauração das funções da floresta em restauração, bem como determinar o estágio em que a floresta plantada apresenta sinais de estar se tornando autossustentável, dispensando intervenções de manejo.

É importante sempre considerar que a avaliação da restauração, através de indicadores, é função das metas e dos objetivos pretendidos com ela. Não se pode cobrar uma elevada diversidade biológica em um projeto muito localizado cujo objetivo tenha sido o de proteger o solo e o curso d'água dos efeitos negativos da erosão em uma voçoroca.

Vários estudos têm proposto um conjunto de bioindicadores de avaliação e monitoramento da restauração e da sustentabilidade dos projetos de restauração e, ou, manejo das florestas. Assim, tem sido indicados como bioindicadores de restauração relacionados com o componente fauna, a entomofauna edáfica, avifauna, pequenos mamíferos e até peixes no caso de matas ciliares. Mas sem dúvida os indicadores vegetativos têm sido os mais amplamente utilizados,

com destaque para a chuva de sementes, o banco de sementes do solo e a regeneração natural.

Neste sentido foram desenvolvidos no LARF-UFV protocolos de avaliação de áreas em restauração baseados principalmente em nos bioindicadores: banco de sementes do solo, regeneração natural e serapilheira (produção, acúmulo e decomposição) embora outros indicadores como avifauna e fotografias hemisféricas também estejam sendo utilizados em menor escala. Estes bioindicadores têm sido aplicados pelo LARF em áreas em restauração de empresas do setor de mineração, celulose e papel e energia, nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Rio Grande do Sul e São Paulo, visando monitorar as áreas e corrigir eventuais problemas como mortalidade alta de mudas, ausência ou níveis muito baixos de regeneração natural e invasão de espécies exóticas, de forma a garantir o sucesso da restauração.

Nas Figuras 6 e 7 duas situações de áreas monitoradas pelo LARF-UFV, uma com necessidade de enriquecimento devido a ausência de regeneração natural no sub-bosque e outra considerada já restaurada com abundante regeneração.



Figura 6. Floresta em restauração com ausência de regeneração natural.



Figura 7. Floresta restaurada com elevada regeneração natural no sub-bosque. Reserva Natural Vale, Linhares, ES. Projeto LARF-UFV.

### Considerações finais

A restauração florestal em Áreas de Preservação Permanente (APP), reservas legais e áreas degradadas em geral pode ser realizada através de técnicas que se baseiam nos conceitos e modelos da ecologia vegetal, notavelmente na nucleação. A aplicação destas técnicas de forma isolada ou em conjunto com técnicas tradicionais de reflorestamentos tende a gerar florestas mais semelhantes aos ecossistemas de referência, com retorno mais rápido dos processos ecológicos e dos níveis de biodiversidade originais.

A avaliação e o monitoramento de áreas em restauração através da aplicação de bioindicadores são de extrema importância para a definição da necessidade da adoção de ações de manejo para que a floresta siga a trajetória de restauração pré-definida, bem como o momento em que deixam de ser necessárias novas intervenções, ou seja, quando a área já pode ser considerada restaurada.

### Referências bibliográficas

- Araujo, M.M.; Oliveira, F.A.; Vieira, I.C.G.; Barros, P.L.C. & Lima, C.A.T. 2001. Densidade e composição florística do banco de sementes do solo de florestas sucessionais na região do Baixo Rio Guamá, Amazônia Oriental. **Scientia Forestalis** 59:115-130.



- Bauchspiess, C.; Martins, S.V.; Araújo, E.F.; Rovedder, A.P.; Stumpf, E.O. & Caporal, F.J.M. 2013. Resgate de mudas nativas em sub-bosque de florestas plantadas de *Eucalyptus* spp. no estado do Rio Grande do Sul. In: **Anais do II Reforest – Simpósio nacional sobre Restauração Florestal. Viçosa, 2013**. Viçosa, Sociedade de Investigações Florestais, Universidade Federal de Viçosa. CD-Rom.
- Costa, R.C. & Araujo, F.S. 2003. Densidade, germinação e flora do banco de sementes no solo, no final da estação seca, em uma área de caatinga, Quixadá, CE. **Acta Botanica Brasilica** 17: 259-264.
- Connell, J.H. & Slatyer, R.O. 1977. Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization. **American Naturalist** 111:1119-1144.
- Espindola, M.B. & Reis, A. 2009. A eficiência de poleiros artificiais na restauração ambiental de restinga no Parque Estadual do Rio Vermelho, Florianópolis, SC. Pp.217-226. In: Tres, D.R. & Reis, A. (Coords.) **Perspectivas sistêmicas para a conservação e restauração ambiental: do pontual ao contexto**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues.
- Martins, S.V. 2009. Soil seed bank as indicator of forest regeneration potential in canopy gaps of a semideciduous forest in Southeastern Brazil. Pp. 113-128. In: Fournier, M.V. (Ed.) **Forest regeneration: ecology, management and economics**. New York: Nova Science Publishers.
- Martins, S.V. 2012. **Recuperação de áreas degradadas: ações em Áreas de Preservação Permanente, voçorocas, taludes rodoviários e de mineração**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 270p.
- Martins, S.V. & Kunz, S.H. 2007. Use of evaluation and monitoring indicators in a riparian forest restoration project in Viçosa, Southeastern Brazil. Pp.261-273. In: Rodrigues, R.R.; Martins, S.V., Gandolfi, S. (Eds.) **High diversity forest restoration in degraded areas: methods and projects in Brazil**. New York: Nova Science Publishers Inc.
- Martins, S.V.; Rodrigues, R.R.; Gandolfi, S. & Calegari, L. 2012. **Sucessão ecológica: fundamentos e aplicações na restauração de ecossistemas florestais**: Pp.19-51. In: Martins, S.V. (Ed.). *Ecologia de florestas tropicais do Brasil*. 2ª.Ed. Viçosa, Editora UFV.
- Mônaco, L.M.; Mesquita, R.C.G. & Williamson, G.B. 2003. Banco de sementes de uma floresta secundária amazônica dominada por *Vismia*. **Acta Amazônica** 33: 41-52.
- Reis, A.; Bechara, F.C.; Espíndola, M.B.; Vieira, N.K. & Souza, L.L. 2003. Restauração de áreas degradadas: a nucleação como base para incrementar os processos sucessionais. **Natureza & Conservação** 1(1): p.28-36.
- Reis, A. & Kageyama, P.Y. 2008. Restauração de áreas degradadas utilizando interações interespecíficas. Pp.91-110. In: Kageyama, P.Y., Oliveira, R.E., Moraes, L.F.D., Engel, V.L. & Gandara, F.B. (Orgs.) **Restauração ecológica de ecossistemas naturais**. Botucatu, FEPAF.
- Reis, A.; Zambonin, R.M. & Nakazono, E.M. 1999. **Restauração de áreas degradadas utilizando a sucessão e as interações planta-animal**. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. 42p (Caderno, 14).
- Tres, D.R. & Reis, A. 2009. Nucleação como proposta sistêmica para a restauração da conectividade da paisagem. Pp.89-98. In: Tres, D.R. & Reis, A. (Coords.) **Perspectivas sistêmicas para a conservação e restauração ambiental: do pontual ao contexto**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues.
- Yarranton, G.A. & Morrison, R.G. 1974. Spatial dynamics of a primary succession: nucleation. **Journal of Ecology** 62: 417-428.
- Zanini, L. & Ganade, G. 2005. Restoration of Araucaria Forest: the role of perches, pioneer vegetation and soil fertility. **Restoration Ecology** 13:07-514.

# The evolution of host plant manipulation by gall-forming aphids: mechanisms and function

**Moshe Inbar**

University of Haifa, Haifa, Israel.  
minbar@research.haifa.ac.il

The intimate relationships between gall-forming insects and their host plants attract much attention among botanists, entomologists, ecologists and evolutionary biologists. Numerous insects, more than 13,000 species, can transform normal plant tissues into galls. Gall induction has evolved convergently among and within various insect lineages such as wasps, beetles, flies, thrips and aphids (Shorthouse & Rohfritsch 1992; Raman *et al.* 2005). The mechanism of gall formation by insects is unknown but it seems that the insects control gall formation and development for their own benefit. Therefore, galls are often considered the extended phenotype of the insect's genes. Gall position, morphology, and structural complexity are strikingly variable both across and within insect groups. The multiple, independent origins of gall-formation indicate that this phenomenon is highly adaptive. The galls serve as an "incubator" for the insects in which they may gain better nutrient supply, shelter from harsh abiotic factors and protection from natural enemies such as pathogens, predators and parasitoids (Price *et al.* 1987; Fernandes & Price 1992; Stone & Schönrogge 2003).

Several hundred aphids (Hemiptera: Aphididae) species induce galls (reviewed by Wool 2004). The life cycle of gall-forming aphids is complex and includes migration between distinct host plant species and alternation between sexual and asexual reproductive modes. Galls are only induced on the primary host by a single aphid nymph (fundatrix) hatching from overwintering eggs. Within each gall, 2-3 aphid generations are produced parthenogenetically. A

winged generation of aphids disperse from the mature galls and their offspring develop freely (i.e. without gall formation) on the roots of non-specific plant species (secondary hosts). Another winged morph (sexuparae) migrates back to the primary host and gives birth to males and females that produce the fundatrix. This typical life cycle, which may be completed within one to a few years, has several modifications. All aphids are phloem feeders and their galls act as a strong physiological sink for plant assimilates (Larson & Whitham 1991; Inbar *et al.* 1995) which are delivered by a specially modified vascular system (Wool *et al.* 1999).

In recent years, we have been studying a group of gall-forming aphids (Fordini) that form galls on wild pistachios (*Pistacia* spp) in Central Asia and in the Mediterranean type zones in Europe, North Africa and the Middle East. These aphids induce remarkably different, species-specific galls; gall developmental site, size, shape, structural complexity and color are diverse and complex. Few aphid species may even induce two completely different gall types on the same leaves (Koach & Wool 1977). The galls may be produced on leaves or buds. Some are open and others are completely sealed (Fig. 1). Using the gall-forming aphid arena, in particular the *Pistacia* – Fordini system as a model, the aim of this paper is to briefly address two critical issues in the evolutionary biology of gall traits: 1. Tracing the evolutionary events of galling aphids-plant association, speciation and diversification. 2. Understanding the selective factors that shaped gall traits with special emphasis on gall defenses.

## Open leaflet galls



Pea margin



Bag



## Sealed midrib galls



Spherical

## Sealed bud galls

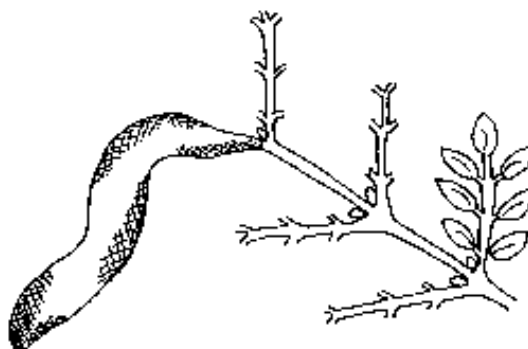


Figure 1. Various gall types induced by gall-forming aphids (Fordini) on *Pistacia* spp. See text for size scales. Drawing: Adi Ne'eman.

### The evolution of gall type: speciation and adaptations

We (Inbar *et al.* 2004) identified five distinct gall types that are induced by different aphid species (Fordini) on *Pistacia* plants (Fig. 1): 1. 'Pea' galls are small (about 5mm long) round open galls located on the midvein of the leaflets. 2. 'Margin' galls are open and elongated galls (about 20 mm long) located on the margin of the leaflets. 3. 'Bag' galls are open galls found near the midvein on the upper surface of the leaflet. 4. 'Spherical' galls are sealed globular galls (volume 4 cm<sup>3</sup>) located on the abaxial side of the leaflet midvein. (5) 'Bud' galls are the largest (may reach the size of a banana or a tennis ball), completely sealed galls located on apical or lateral buds of the trees. Our knowledge of the driving forces behind the

notable variability in gall position, morphology, and complexity is rather limited. Phylogenetic analyses could shed light on possible evolutionary scenarios that may be involved. Sequences of COI and COII (1952 bp) of the mitochondrial DNA of fourteen aphid species were used to reconstruct the phylogeny of the Fordini. The maximum parsimony cladogram divides the Fordini into three lineages. The speciation of the aphids did not correspond with their host plants. Similar gall types are induced on the same sites in different *Pistacia* species. Hence, it is suggested that the aphids frequently shifted between plant species while maintaining control on gall shape and structure. The molecular phylogeny indicates that the primitive gall was a 'pea' type, simple and open that supports only few aphids. The open 'margin' and 'bag' galls

developed next, followed by the bigger 'Spherical' galls and ending with the large 'bud' galls that can support thousands of aphids each. The evolution of the Fordini galls was therefore from small and simple galls to large and complex ones, associated with the stronger ability of the aphids to manipulate their host plant and induce stronger sinks for assimilates (Inbar *et al.* 2004). Similar trends were detected in other gall-forming aphid groups (Fukatsu *et al.* 1994; Zhang & Qiao 2007; Sano & Akimoto 2011).

### Gall defensive traits against natural enemies

Because they are sessile (attached to the plant), long lasting (months to years), often conspicuous and irreplaceable (for the inducing insects), there has been strong selection for gall defenses against a large variety of natural enemies. Indeed, galls and gall-formers are commonly attacked by predators and parasitoids and may be subjected to pathogen infections (Price *et al.* 1987; Stone & Schönrogge 2003; Gerchman & Inbar 2011). In some cases the galls may be occupied by inquilines or competitors. Unlike the vast majority of gall-forming insects, gall-forming aphids themselves can actively protect their galls. They fight for limited galling sites before the galls are actually induced (Whitham 1979; Inbar 1998). In some species the young nymphs that are borne in the galls, aggressively attack predators, parasitoids or intruders. These nymphs may have typical soldier-like morphologies that include thick legs, frontal spines and massive sclerotization (e.g. Stern & Foster 1996; Abbot 2009; Aoki & Kurosu 2011). They may also use their stylets to attack natural enemies. A similar behavior was also recorded in adult individuals that protect their offspring within the gall against intruders or conspecific competitors (Fig. 2; Inbar 1998). The nymphs may be in some cases completely sterile, i.e they function as a distinct, non-reproductive altruistic member of the colony (Stern & Foster 1996). Aphids may clean their galls by pushing out honeydew and exuvia. It has been shown that nymphs can repair their damaged galls by a unique self-sacrificing behavior. Holes in the galls are blocked by body fluid discharged from the dieing nymphs (Kurosu *et al.* 2003).

The main line of gall defense from natural enemies is based, however, on plant-derived secondary (and primary) metabolites. Compared with intact plant organs, galls contain large amount of

defensive compounds. Most studies however focused on the concentrations of phenols and tannins (Hartley 1998; Rehill & Schultz 2012). The accumulation of these compounds in the galls is not random. The inner tissue, that serves as the nutritional layer, may contain lower amounts of defensive components that are more concentrated in the external layers of the gall (Nyman & Julkunen-Tiitto 2009; Allison & Schultz 2005), and therefore more exposed to natural enemies. The high humidity and availability of plant carbohydrates as well as honeydew inside the galls (especially in closed ones) should make them and the aphids within vulnerable to destructive microbial and fungal infection. We found that some galls express clear antibacterial and antifungal activities which are different from those detected in intact leaves (Gerchman & Inbar 2011). This activity is probably based on tannins, terpenes (Rostás *et al.* 2013) and pathogenesis related (PR) proteins (Inbar *et al.* 2003) that are stored in the galls. To avoid contamination the aphids may cover their

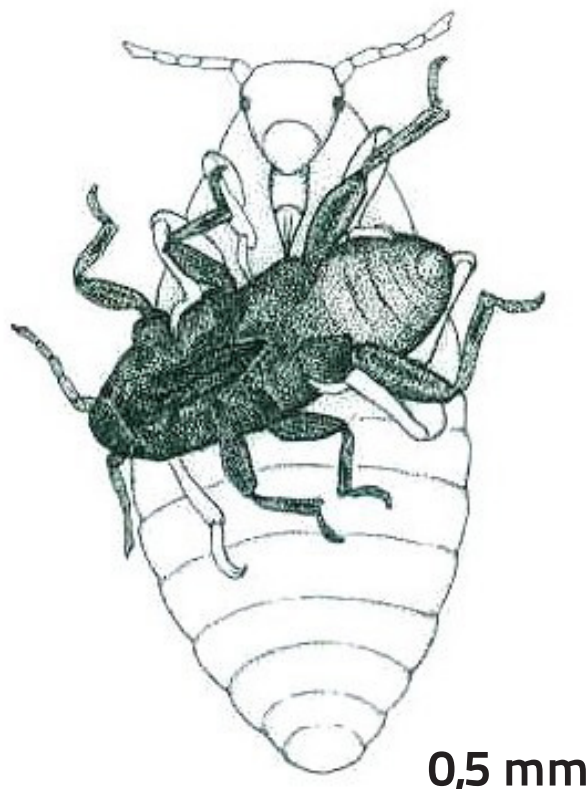


Figure 2. Gall defense behavior by an adult aphid (*Smynturodes betae*), in this case against a conspecific intruding nymph (the dark individual). The defending adult rolls on its back, grasps the invador with its legs and stabs it with its mouthparts. Predatory insect are treated similarly. Drawing: Walter Ferguson.



honeydew with a non-sticky wax layer (Inbar & Schultz 2001), absorbed it via a unique layer in the inner gall surface (Kutsukake *et al.* 2012) or push it out as mentioned above (Pike *et al.* 2005).

Unlike most other gall-forming insects, gall-forming aphids are only rarely attacked by parasitoids (Burstein & Wool 1991; Stone & Schönrogge 2003). On the other hand gall-forming aphids may suffer from vertebrate and (in particular) insect predators. The accumulation of secondary metabolites are thought to play a major role in gall defense - a logical assumption that has hardly been tested experimentally (Rehill & Schultz 2012). Recently we found that galls induced by the aphid *Slavum wertheimae* on *P. atlantica* trees contain higher amounts of tannins and volatile terpenes (Rostás *et al.* 2013). The galls also emitted more terpenes to the headspace than intact leaves. These terpenes acted as olfactory signals and feeding deterrents to goats that consumed the intact leaves but repeatedly avoided the galls. Hence, in this case the plant-derived volatiles in the headspace serve as an external (beyond physical boundaries) 'extended phenotype' of the aphid (Rostás *et al.* 2013).

The fact that aphid galls contain large amounts of defensive compounds and are often highly conspicuous triggered the recent formulation of the aposematic gall hypothesis (Inbar *et al.* 2010). It has been suggested that insect galls that have both high levels of defensive compounds and a conspicuous appearance could be aposematic. In other words the shape, color or scent may act as warning signal that deter potential predators from attacking the well-defended conspicuous galls (Inbar *et al.* 2010) Many insect-induced galls are colorful (red, yellow etc.) and have conspicuous shapes, sizes (Isaias *et al.* 2013) and perhaps scent (Motta *et al.* 2005; Rostás *et al.* 2013). Such conspicuousness (advertisement) may accelerate the avoidance learning process in potential predators. No doubt, the aposematic gall hypothesis (as well as alternative hypotheses) should be tested under natural conditions. The main future task however, would be to reveal the mechanisms by which the aphids as well as other insect manipulate plant traits to form galls.

## References

- Abbot, P. 2009. On the evolution of dispersal and altruism in aphids. **Evolution** **63**:2687-2696.
- Allison, S.D. & Schultz, J.C. 2005. Biochemical responses of chestnut oak to a galling cynipid. **Journal of Chemical Ecology** **31**:151-166.
- Aoki, S. & Kurosu, U. 2011. A review of the biology of Cerataphidini (Hemiptera, Aphididae, Hormaphidinae), focusing mainly on their life cycles, gall formation, and soldiers. **Psyche** **2010**:doi:10.1155/2010/380351.
- Burstein, M. & Wool, D. 1991. Parasitoids of the gall-forming aphid *Smynthuroides betae*. **BioControl** **36**:531-538.
- Fernandes, W.G. & Price, P.W. 1992. The adaptive significance of insect gall distribution: survivorship of species in xeric and mesic habitats. **Oecologia** **90**:14-20.
- Fukatsu, T.; Aoki, S.; Kurosu, U. & Ishikawa, H, 1994. Phylogeny of Cerataphidini aphids revealed by their symbiotic microorganisms and basic structure of their galls: implications for host-symbiont coevolution and evolution of sterile soldier castes. **Zoological Sciences** **11**:613-623.
- Gerchman, Y. & Inbar, M. 2011. Distinct antimicrobial activities in aphid galls on *Pistacia atlantica*. **Plant Signaling and Behavior** **6**:2008-2012.
- Hartley, S.E. 1998. The chemical composition of plant galls: are levels of nutrients and secondary compounds controlled by the gall-former? **Oecologia** **113**:492-501.
- Inbar, M.; Eshel, A. & Wool, D. 1995. Interspecific competition among phloem - feeding insects mediated by induced host plant sinks. **Ecology** **76**:1506-1515.
- Inbar, M. 1998. Competition, territoriality and maternal defense in a gall-forming aphid. **Ethology, Ecology and Evolution** **10**:159-170.
- Inbar, M. & Schultz, J.C. 2001. Once again, insects worked it out first. **Nature** **414**: 147-148.
- Inbar, M.; Mayer, R.T. & Doostdar, H. 2003. Induced activity of pathogenesis related (PR) proteins in aphid galls. **Symbiosis** **34**: 293-300.

- Inbar, M.; Wink, M. & Wool, D. 2004. The evolution of host plant manipulation by insects: Molecular and ecological evidence from gall-forming aphids on *Pistacia*. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **32**:504-511.
- Inbar, M.; Izhaki, I.; Koplovich, A.; Lupo, I.; Silanikove, N.; Glasser, T.; Gerchman, Y.; Perevolotsky, A. & Lev-Yadun, S. 2010. Why do many galls have conspicuous colors? A new hypothesis. **Arthropod Plant Interactions** **4**:1-6.
- Isaias, R.M.S.; Carneiro, R.G.S.; Oliveira, D.C. & Santos, J.C. 2013. Illustrated and annotated checklist of brazilian gall morphotypes. **Neotropical Entomology** **1**-10.
- Koach, J. & Wool, D. 1977. Geographic distribution and host specificity of gall-forming aphids (Homoptera, Fordinae) on *Pistacia* trees in Israel. **Marcellia** **40**:207-216.
- Kurosu, U.; Aoki, S. & Fukatsu, T. 2003. Self-sacrificing gall repair by aphid nymphs. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences** **270**: S12-S14.
- Kutsukake, M.; Meng, X.Y.; Katayama, N.; Nikoh, N.; Shibao, H. & Fukatsu, T. 2012. An insect-induced novel plant phenotype for sustaining social life in a closed system. **Nature Communications** **3**:1187 DOI: 10.1038/ncomms2187.
- Larson, K.C. & Whitham, T.G. 1991. Manipulation of food resources by a gall-forming aphid: the physiology of sink-source interactions. **Oecologia**, **88**:15-21.
- Motta, L.B.; Kraus, J.E.; Salatino, A. & Salatino, M.L.F. 2005. Distribution of metabolites in galled and non-galled foliar tissues of *Tibouchina pulchra*. **Biochemical systematics and ecology** **33**:971-981.
- Nyman, T. & Julkunen-Tiitto, R. 2009. Manipulation of the phenolic chemistry of willows by gall-inducing sawflies. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **97**:13184-13187.
- Pike, N.; Richard, D.; Foster, W. & Mahadevan, L. 2002. How aphids lose their marbles. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, **269**:1211-1215.
- Price, P.W.; Fernandes, G.W. & Waring, G.L. 1987. Adaptive nature of insect galls. **Environmental Entomology** **16**:15-24.
- Raman, A.; Schaefer, C.W. & Withers, T.M. 2005. **Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods**. Enfield, NH: Science Publisher Ltd.
- Rehill, B.J. & Schultz, J.C. 2012. *Hormaphis hamamelidis* fundatrices benefit by manipulating phenolic metabolism of their host. **Journal of Chemical Ecology** **38**:496-498.
- Rostás, M.; Maag, D.; Ikegami, M. & Inbar, M. 2013. Gall volatiles defend aphids against a browsing mammal. **BMC Evolutionary Biology** **13**:193. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/13/193>
- Sano, M. & Akimoto, S.I. 2011. Morphological phylogeny of gall-forming aphids of the tribe Eriosomatini (Aphididae: Eriosomatinae). **Systematic Entomology** **36**:607-627.
- Shorthouse, J.D. & Rohfritsch, O. 1992. **The Biology of Insect-induced Galls**. Oxford University Press, Oxford.
- Stern, D.L. & Foster, W.A. 1996. The evolution of soldiers in aphids. **Biological Reviews** **71**:27-79.
- Stone GN, Schönrogge K 2003. The adaptive significance of insect gall morphology. **Trends in Ecology and Evolution** **18**:512-522.
- Whitham, T.G. 1979. Territorial behaviour of Pemphigus gall aphids. **Nature** **279**:324-325.
- Wool, D. 2004. Galling aphids: Specialization, biological complexity, and variation. **Annual Review of Entomology** **49**:175-192.
- Wool, D.; Aloni, R.; Ben-Zvi, O. & Wollberg, M. 1999. A galling aphid furnishes its home with a built-in pipeline to the host food supply. **Entomologia experimentalis et applicata** **91**:183-186.
- Zhang, H. & Qiao, G. 2007. Systematic status of the genus *Formosaphis* Takahashi and the evolution of galls based on the molecular phylogeny of Pemphigini (Homoptera: Aphididae: Eriosomatinae). **Systematic Entomology** **32**:690-699.

# The problem of cyanobacteria and cyanotoxins in aquatic environments: blooms and toxins in reservoirs of Minas Gerais

**Alessandra Giani**

Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.  
agiani@icb.ufmg.br

Cyanobacteria are highly successful photoautotrophic prokaryotes of very old lineage and can be found as a common component of the phytoplankton community in all freshwater lakes, as well as in ponds, reservoirs, and in some slow-moving rivers, in temperate and tropical systems. When environmental conditions change as a consequence of cultural eutrophication, they allow these organisms to gather at high densities forming blooms. Blooms are events of accumulation of algae and cyanobacteria in aquatic water bodies that present a significant increase of one or few species in a period of hours to days. At this moment they can pose a problem to humans or animals, through direct contact and through drinking contaminated water, because of their potential to produce powerful toxins. Several common species of cyanobacteria produce toxins that are known to present a risk for public health (Chorus & Bartram, 1999). Their toxins attack different organs, tissues and metabolic pathways: hepatotoxins (*microcystins*, *nodularin*, *cylindrospermopsin*), neurotoxins (*anatoxins*, *saxitoxins*), cytotoxins (*cylindrospermopsin*, *cyanopeptolins*), dermatotoxins (*aplysiatoxins*, *lyngbyatoxin A*, *lipopolysaccharides*), and genotoxins (*microcystins*, *cylindrospermopsin*), as well as hundreds of protease inhibitors and other toxins of poorly known activity (*microviridins*, *microvirins*, *anabaenopeptins*, *cyanopeptolins*, *aeruginosins*, *microginins*, *oscillapeptins*). Acute liver poisoning is the most common disease due to cyanotoxins (Codd,

2000) because the most common freshwater toxin is the hepatotoxic heptapeptide microcystin. Common Cyanobacteria genera, such as *Microcystis*, *Anabaena* and *Planktothrix*, are microcystin producers. The general microcystin structure is cyclo- (-D-Ala-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glu-Mdha-) where X and Z are variable L-amino acids, D-MeAsp is 3-methyl-aspartic acid, and Mdha is *N*-methyl-dehydroalanine. More than 90 variants of microcystins are known, varying by the level of methylation, peptide sequence and toxicity. Microcystin hepatotoxicity is due to its ability to inhibit protein phosphatases 1 and 2A, together with its transport to the hepatocytes which results in the destruction of the liver cytoskeleton.

The recent origin of problems with cyanobacterial blooms is largely coupled to agriculture. Nitrogen and phosphorus rich fertilizers are indispensable for intensive agriculture. Despite continual progress in residual water treatment and some efforts towards watershed rehabilitation, nutrient loading from municipal and agricultural sources continues at undesirable levels and blooms are appearing in previously formerly clean environments. In southeastern Brazil many large reservoirs were built in the last decades to provide sufficient power supply to the region. External nutrient inputs from agriculture and sewage, however, caused an increase of eutrophication in these systems and cyanobacterial blooms are always more frequent. Since some



Figure 1. Map of Brazil and the state of Minas Gerais with the location of the six reservoirs of this study

reservoirs are also used as source for drinking water, cyanobacterial potential toxicity can be a threat for human health and a bloom early detection is an important asset.

In this work we studied six reservoirs located in the state of Minas Gerais (Brazil): São Simão, Emborcação, Furnas, Marimbondo, Volta Grande and Pampulha (fig. 1). Except Pampulha, which is an urban artificial lake, all reservoirs were built for hydroelectric power generation. The reservoirs **were sampled at regular intervals with the aim of** to detect the presence of toxigenic cyanobacteria and to try to understand their occurrence and toxins production according to changes observed in nutrient input or climatic factors. Different methods were used for toxin detection, and ELISA, chromatography as well as molecular tools were employed for their quantification.

In all reservoirs, samples were collected for physical, chemical and biological analyses. Samples were taken every two months in São Simão, every four in Emborcação, every three months in Marimbondo, and every month in Furnas, Volta Grande and Pampulha. In the field, temperature, pH, dissolved oxygen and conductivity were measured by a multiparameter YSI 556 probe. Transparency was measured by Secchi disk. Water samples were taken at Secchi disk depth by a Van Dorn bottle. Part of the sample was filtered and filters kept frozen until analysis (DNA and microcystin extraction). For nutrient analyses, 200mL of each sample were collected and stored at -20°C. Nutrient

analyses were performed using spectrophotometric methods according to APHA (1995). For phytoplankton analyses, samples were lugol preserved for subsequent identification and quantification. Quantification of cyanobacteria was done by the Utermöhl technique (Utermöhl 1958). Algae biovolume was calculated from single cells according to Rott (1981).

Microcystin analyses were performed by ELISA (Enzyme Linked Immuno-Assay), by help of a specific kit (Abraxis-ADDA or Beacon kits). The procedure followed the instructions given by the fabricant. Microcystin analyses in field samples were also performed by HPLC. Extraction and purification of the samples was done according to Lawton & Edwards (2001) and the chromatographic run followed procedure explained in Pereira et al. (2012). DNA was extracted from frozen filters according to the protocol described by Kurmayer et al. (2003) and Hisbergues et al. (2003), with few modifications. Quantification of toxic genotypes containing *mcy* D gene (qPCR) was performed as described in Schober & Kurmayer (2006) and Pimentel & Giani (2013).

Our results showed that the level of trophic was determinant to explain the occurrence and dominance of cyanobacteria in the reservoirs. As we found in a previous work (Giani et al., 2005) nitrogen and phosphorus were decisive and correlated with the presence of toxigenic genera. For example, in Pampulha, which is at present a hypereutrophic system, cyanobacteria dominate during the whole



year. In Emborcação, where nitrogen and phosphorus level were low and sometime close to detection limits, toxigenic cyanobacteria were rarely detected.

Interestingly however, another group of cyanobacteria were found in this reservoir, the picocyanobacteria known for their smaller cell size and ability to grow successfully in nutrient limited systems (Callieri and Stocner, 2002). Picocyanobacteria represent an important part of the planktonic communities in aquatic systems and may be responsible for a large amount of carbon fixation. This same group of organisms was also frequently dominant in Volta Grande, a reservoir classified as oligo-mesotrophic. Furnas presented interesting results. Since the reservoir is formed by two different branches, one oligotrophic (the Rio Grande branch) and the other meso-eutrophic (the Sapucaí branch), we found dominance of picocyanobacteria in the Rio Grande branch and high biomass of toxigenic genera in the Sapucaí branch. Sao Simão and Marimbondo were also classified as meso-eutrophic and presented several toxic cyanobacteria. The most common toxigenic genera generally found in the six reservoirs studied were *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena* and *Cylindrospermopsis*. Only *Cylindrospermopsis* does not produce microcystin, since it is a known producer of saxitoxins (Lagos et al., 1999). The other three genera are all potential microcystin producers (Chorus & Bartram, 1999; Sivonen and Borner, 2008).

In Sao Simão, Furnas and Marimbondo, microcystin levels were sometime above the WHO guideline of 1 mg.L<sup>-1</sup> level for lifetime drinking water exposure and up to 25 mg.L<sup>-1</sup> were observed in these reservoirs. These are quite high values and recommend special attention on these three systems. However, except for Emborcação, microcystin was also detected at lower concentration in the other reservoirs, clearly showing the potential for increasing toxicity, if nutrient inputs will not be controlled. Besides microcystin, some other peptides were also measured. Little is still know about the function of these oligopeptides in cyanobacterial cells (Pereira et al., 2012, Pereira and Giani, in press) or of their potential danger for the trophic chain (Rohrlack et al., 2005).

Finally, our analyses of toxic genotypes showed another interesting result. It is expected that just a portion of the entire potential toxic community of cyanobacteria is really toxic. However we observed that not always the high numbers of total cyanobacteria

cells recorded in the samples corresponded to the same high percentage of toxic cells and on the contrary, in some occasions, a high fraction of toxic genotypes was observed when less cyanobacteria were present. As showed previously (Sabart et al., 2010; Pimentel & Giani, 2013), this interesting observation may help contributing to the discussion of the still controversial role of microcystin in cyanobacteria.

## Acknowledgements

I would like to sincerely thank all the students (undergraduates, MSc and PhD), and post-docs who have worked in my laboratory in the past years and especially our lab technician Elenice M. Silva. Thanks to all of them, we were able to put together these data. I also acknowledge the funds obtained by Furnas Centrais Eletricas SA, CEMIG, FAPEMIG, CNPq and Capes that allowed the development of our research.

## References

- APHA (American Public Health Association). 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, American Public Health Association Publications, Washington DC. 19<sup>th</sup> Edition.
- Callieri, C. & Stockner, J. S. 2002. Freshwater Autotrophic Picoplankton: a Review. **J. Limnol.** **61**:1–14.
- Chorus, I. Bartram, J. 1999. Toxic Cyanobacteria in water: a guide to public health consequences, monitoring and management. World Health Organization. London and New York. 416 p.
- Chu, F.S.; Huang, X.; Wei, R.D.; Carmichael, W.W. 1989. Production and characterization of antibodies against microcystins. **App. Environ. Microbiol.**, **55**: 1928–1933.
- Codd, G.A. 2000. Cyanobacterial Toxins, the Perception of Water Quality, and the Prioritization of Eutrophication Control. **Ecolog. Engineer.** **16**: 51-60.
- Giani, A., Bird, D., Prairie, Y., Lawrence, J. 2005. Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. **Can. J. Fish. Aq. Sciences**

62: 1-10

Hisbergues, M.; Guntram, C.; Rouhiainem, L.; Sivonen, K.; Borner, T. 2003. PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. **Arch. Microbiol.** **180**: 402-410.

Kurmayer R, Christiansen G, Chorus I (2003) The Abundance of microcystin-producing genotypes correlates positively with colony size in *Microcystis* sp. and determinates its microcystin net production in lake Wannsee. **Appl. Environ. Microbiol.** **69** (2): 787-795.

Lagos, N., Onodera, H., Zagatto, P. A., Andrinolo, D., Azevedo, S. M. F. Q. and Oshima, S. M. F. Q. 1999. The first evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. **Toxicon** **37**: 1359-1373.

Pereira, D. A., Pimenta, A.M.C., Giani, A. 2012 . Profiles of toxic and non-toxic oligopeptides of *Radiocystis fernandoii* (Cyanobacteria) exposed to three different light intensities. **Microb. Res.** **167**: 413-421.

Pimentel, J. S. M. & Giani, A. 2013 . Estimating toxic cyanobacteria in a natural environment by quantitative Real Time PCR, based on the microcystin synthetase D gene. **J. Appl. Phycol.** **25**:1545–1554.

Rohrlack T, Christoffersen K, Dittmann E, Nogueira I, Vasconcelos V, Börner T. 2005. Ingestion of microcystins by *Daphnia*: intestinal uptake and toxic effects. **Limnol. Oceanogr.** **50**:440-448.

Rott, E.1981. Some results from phytoplankton counting intercalibrations. **Schweiz. Z. Hydrol.** **43**:34-62.

Sabart M, Popel D, Briand E, Combourieu B, Salençon M J, Humbert J F, Latour D (2010) Spatiotemporal variations in *Microcystis* concentrations and in the proportions of microcystin-producing cells in several *Microcystis aeruginosa* populations. **Appl. Environ. Microbiol.** **76** (14): 4750-4759.

Schober, E. & Kurmayer, R. 2006. Evaluation of different DNA sampling techniques for the application of the real-time PCR method for the quantification of cyanobacteria in water . **Lett. Appl. Microbiol.** **42**:

412–417.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkomnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. **Mitt. Int. Ver. Limnol.** **9**:1-38.

# Using information on the ecology, taxonomic occurrence and phylogeny of seed dormancy to facilitate propagation of plants for restoration

**Carol C. Baskin**

University of Kentucky, Lexington, KY, Estados Unidos.  
ccbask0@email.uky.edu

It is well recognized that in many places on Earth there is a great need for restoration of plant communities in badly degraded sites. Since seeds potentially can provide good genetic diversity for a species, it would seem that the best way to restore a plant community would be to sow seeds of all the desired species. However, with a few notable exceptions, direct sowing of seeds of a diversity of species does not result in the establishment of all, if any, of the species. There are many reasons for failure of establishment of seedlings, and seed dormancy, *i.e.* lack of germination due to an innate property of the seed, can be a very important one. Even when seeds are sown under greenhouse or nursery conditions to produce plants that can be transplanted to the field, seed dormancy can be a big issue, often resulting in low numbers of plants and thus greatly reduced genetic diversity.

Although freshly-matured seeds of various species are nondormant, *i.e.* germinate to a high percentage shortly after sowing, seeds of many species of all life forms and from all vegetation zones on Earth are dormant. There are five classes (major kinds) of seed dormancy. **Physiological dormancy** (PD) is due to a physiological-inhibiting mechanism in the embryo. Thus, the embryo lacks sufficient growth potential (push power) to overcome the mechanical resistance of covering layers such as the endosperm and seed coat. Dormancy-breaking treatments such as exposure

of seeds to simulated summer or winter conditions increases the growth potential of the embryo, and seeds will germinate under appropriate temperature and light-dark conditions. **Morphological dormancy** (MD) is due to a small, underdeveloped embryo that needs time to grow (inside the seed) before germination can occur and **morphophysiological dormancy** (MPD) to an underdeveloped embryo that has PD. **Physical dormancy** (PY) is caused by the presence of a water-impermeable seed or fruit coat, and germination is delayed until a special structure on the seed or fruit coat, the water gap, opens in response to some environmental cue(s) such as high or fluctuating temperatures. Finally, dormancy in seeds with **physical + physiological dormancy** (PY+PD) is due to a water-impermeable seed or fruit coat and PD of the embryo. PD is the most common class of dormancy on Earth and PY the second most common. MD, MPD and PY+PD are relatively rare in most habitats and vegetation zones on Earth.

To deal with the challenges of using dormant seeds to produce plants for restoration (or for other uses), the first best thing to know is what class of dormancy is present. Knowing the class of dormancy gives us insight into the treatment(s) that might be effective in breaking the dormancy. Often, however, no studies have been done on the species of interest, and for these species information on other members of the genus or family can be very useful. In my lecture,

I present information on the world biogeography, taxonomic occurrence and phylogenetic relationship of each class of dormancy (Baskin and Baskin, 1998, in press).

From a plant propagation perspective, the class of dormancy greatly influences what we need to do to germinate seeds. If seeds have MD (or are nondormant), we can just sow them on a moist substrate with the expectation that a high percentage will germinate within about a month. In the case of PY, we can mechanically or chemically scarify the seeds, or give them a heat treatment to open the water gap, after which they will germinate when sown on a moist substrate. However, if seeds have PD, either PD alone or in combination with an underdeveloped embryo (*i.e.*, MPD) or with a water impermeable seed or fruit coat (*i.e.*, PY+PD), breaking it may require special treatments. The big challenge with PD is to figure out what treatment(s) is(are) needed to break dormancy.

There are three levels of PD: nondeep (by far the most common), intermediate and deep and five types of nondeep PD. This diversity of PD may play a role in the fine-tuning of species to their habit and help explain why PD is the most common class of dormancy. Also, PD is labile and thus has switched back and forth with nondormancy many times over the evolutionary history of seed plants.

The problem with trying to break PD often is lack of information about seed ecology of the species under study. Usually PD is broken in the field when conditions are unfavorable for plant establishment, and seeds germinate at the beginning of the favorable season for completion of the life cycle (annuals) or annual growth cycle (biennials and perennials). Thus, depending on the species and how it is adapted to its habitat, seeds may require: a short or long period of warm-dry conditions, a short or long period of cold-wet conditions; warm-dry followed by cold-wet conditions; or a long period of warm-wet conditions for PD to be broken. Further, species whose seeds have PD requiring different dormancy-breaking conditions often occur in the same plant community. For example, in the same habitat seeds of some species require warm-dry summer conditions and those of other species cold-wet winter conditions for PD to be broken. Clearly, information about the timing of seed maturity/dispersal and germination and about the environmental conditions in the habitat between dispersal and germination provides insight

into the seed ecology of the species and thus suggests what conditions might be effective in breaking dormancy. If we could break the dormancy and thus sow nondormant seeds (at the appropriate time for germination), we could help eliminate dormancy as one of the obstacles for using seeds in restoration projects.

## References

- Baskin, C. C. & Baskin, J. M. 1998. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination.** Academic Press, San Diego.
- Baskin, C. C. & Baskin, J. M. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination.** Second Edition. Elsevier/Academic Press, San Diego (in press).





Composto em caracteres Arial, Calibri, St. Marie, Times New Roman e Titillium Text22L.

Editorado pelo Congresso Nacional de Botânica (CNB).

Capa, 4 X 0 cores - Miolo, 4X4 cores.

2013



Realização



UFMG

Patrocínio



Apoio Institucional



Apoio



Organização

