

Ensino, Pesquisa e Inovação em Botânica

Jesus Rodrigues Lemos
(Organizador)

Ensino,
Pesquisa e
Inovação em
Botânica

Jesus Rodrigues Lemos
(Organizador)

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^ª Dr^ª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Prof^ª Dr^ª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof^ª Dr^ª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^ª Dr^ª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof^ª Dr^ª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Dr^ª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^ª Dr^ª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Prof^ª Dr^ª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Prof^ª Dr^ª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof^ª Dr^ª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

Prof^ª Dr^ª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília

Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^ª Dr^ª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra

Prof^ª Dr^ª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Prof^ª Dr^ª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas

Prof^ª Dr^ª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof^ª Dr^ª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof^ª Dr^ª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Prof^ª Dr^ª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Prof^ª Dr^ª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^ª Dr^ª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Prof^ª Dr^ª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^ª Dr^ª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^ª Dr^ª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^ª Dr^ª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Prof^ª Dr^ª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof^ª Dr^ª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Prof^ª Dr^ª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^ª Dr^ª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Prof^ª Dr^ª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Prof^ª Dr^ª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof^ª Dr^ª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Me. Alexandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof^ª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^ª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Prof^ª Dr^ª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^ª Dr^ª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Prof^ª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Prof^ª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Prof^ª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar

Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR

Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Prof^ª Dr^ª Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof^ª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz
Prof^ª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Prof^ª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Prof^ª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof^ª Dr^ª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa
Prof^ª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Prof^ª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Prof^ª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof^ª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Prof^ª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Ensino, pesquisa e inovação em botânica

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Correção: Flávia Roberta Barão
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizador: Jesus Rodrigues Lemos

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

E59 Ensino, pesquisa e inovação em botânica / Organizador
Jesus Rodrigues Lemos. – Ponta Grossa - PR: Atena,
2021.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
198 p., il.
ISBN 978-65-5706-966-0
DOI 10.22533/at.ed.660210904

1. Botânica. I. Lemos, Jesus Rodrigues (Organizador). II.
Título.

CDD 580

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

APRESENTAÇÃO

A obra “Ensino, Pesquisa e Inovação em Botânica” transita por esferas que proporciona a possibilidade de percepção de o quão ampla e abrangente é esta grande área das Ciências Biológicas, esta, por sua vez, um grande campo do saber.

Neste sentido, o leitor tem a oportunidade de enveredar por caminhos em que verificará uma amplitude de pensamento acerca do que pode ser explorado, e, ainda, provocando este leitor a alargar suas perspectivas de realização de investigações envolvendo estes organismos fundamentais e indispensáveis na manutenção da vida no planeta: as plantas!

Por questões de um raciocínio sequenciado deste título, os capítulos foram trazidos concebendo seus perfis principais dentro da proposta geral, assim, primeiramente são trazidos os estudos com enfoque direcionados especificamente ao ensino de Botânica, seguido de estudos com pesquisas básicas e aplicadas com subáreas mais tecnicistas, desembocando em vieses mais nitidamente inovadores, não havendo aqui a sugestão de que estes perfis sejam mutuamente exclusivos entre os capítulos, pelo contrário, há uma inter e transdisciplinaridade entre os mesmos.

Sem maiores delongas, portanto, desejo a todos que usufruam ao máximo das informações aqui contidas, reproduzindo-as, aplicando-as e sempre aprendendo mais...

Jesus Rodrigues Lemos

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

OFICINA DIDÁTICA DE PLANTAS MEDICINAIS: ESTRATÉGIA DE ENSINO NAS AULAS DE CIÊNCIAS

Samara Fernanda de Oliveira

Jheniffer Batista dos Santos

Léia Mendes Guedes

Caroline Pereira Lopes

Valquiria do Nascimento Silva

Diego Cabral dos Santos

Edenice Matheus

Vanessa Daiana Pedrancini

Valéria Flávia Batista da Silva

DOI 10.22533/at.ed.6602109041

CAPÍTULO 2..... 11

EDUCAÇÃO AMBIENTAL E ECOPELAGOGIA NA RECUPERAÇÃO DA MATA ATLÂNTICA NA MARGEM ESQUERDA E NASCENTE DO RIO SUBAÚMA NO LITORAL NORTE DA BAHIA (BRASIL)

José Antonio da Silva Dantas

Maria Dolores Ribeiro Orge

Cláudio Roberto Meira de Oliveira

Clemerson Alan Mota Costa Santos

Ludmilla de Santana Luz

Wilma Santos Silva

Rafaela Soares Teixeira

DOI 10.22533/at.ed.6602109042

CAPÍTULO 3..... 24

ESTRUTURA E DIVERSIDADE ALFA DE UMA ÁREA DE CERRADO *SENSU STRICTO* NA RESERVA DA BIOSFERA DA SERRA DO ESPINHAÇO

Tháís Ribeiro Costa

Leovandes Soares da Silva

Heitor Alves Bispo Júnior

Miriana Araújo de Souza Ribeiro

Anne Priscila Dias Gonzaga

DOI 10.22533/at.ed.6602109043

CAPÍTULO 4..... 37

IRIDACEAE IN HIGHLAND GRASSLAND VEGETATION AREAS OF PARANÁ SOUTHERN BRAZIL

Larissa Dal Molin Krüger

André Luiz Gaglioti

Adriano Silvério

DOI 10.22533/at.ed.6602109044

CAPÍTULO 5	51
COMO OS ATRIBUTOS TÉRMICOS FOLIARES DE ÁRVORES NA TRANSIÇÃO AMAZÔNIA-CERRADO VARIAM ENTRE OS NÍVEIS ORGANIZACIONAIS?	
Igor Araújo de Souza	
Bruno Araújo de Souza	
Josiene Naves Carrijo	
Tiffani Carla da Silva Vieira	
Carla Heloísa Luz de Oliveira	
Suyane Vitoria Marques dos Santos	
Nayara Cardoso Barros	
Daniella Aparecida Cipriano	
Ludimila Almeida	
DOI 10.22533/at.ed.6602109045	
CAPÍTULO 6	57
REGENERACIÓN NATURAL ARBOREA Y ARBUSTIVA EN ÁREAS DEGRADADAS POR MINERÍA AURÍFERA EN LA AMAZONIA PERUANA	
Verónica Huamaní Briceño	
Gabriel Alarcón Aguirre	
Rembrandt Canahuire Robles	
Marx Herrera-Machaca	
Jorge Garate-Quispe	
DOI 10.22533/at.ed.6602109046	
CAPÍTULO 7	69
INSERÇÃO DE ÁRVORES FRUTÍFERAS NA ARBORIZAÇÃO DO PARQUE LINEAR DA GAMELINHA, ZONA LESTE DE SÃO PAULO	
Alessandra Pereira dos Santos Marques	
Fabiana Aparecida Vilaça	
Ana Cláudia Siqueira	
DOI 10.22533/at.ed.6602109047	
CAPÍTULO 8	85
USUAL LABORATORIAL TECHNIQUES IN TROPICAL MELISSOPALYNOLOGY	
Ortrud Monika Barth	
Alex da Silva de Freitas	
Cynthia Fernandes Pinto da Luz	
DOI 10.22533/at.ed.6602109048	
CAPÍTULO 9	99
IMPACTO DA TEMPERATURA ELEVADA E DA SECA NAS CARACTERÍSTICAS DO PÓLEN DE ESPÉCIES NATIVAS E CULTIVADAS	
Cynthia Fernandes Pinto da Luz	
DOI 10.22533/at.ed.6602109049	

CAPÍTULO 10.....	123
GEN <i>pelB</i> , COMO FACTOR DE VIRULENCIA EN AISLAMIENTOS DE <i>Colletotrichum SPP</i> En <i>Rubus glaucus</i> Benth	
Lina María Gómez López	
Marta Leonor Marulanda Ángel	
Liliana Isaza Valencia	
Ana María López Gutiérrez	
DOI 10.22533/at.ed.66021090410	
CAPÍTULO 11	139
AÇÕES ANTIOXIDANTES DAS FOLHAS DE <i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) OKEN CONTRA RADICAIS LIVRES	
Lucas Apolinário Chibli	
Maria da Glória Ferreira Leite	
Orlando Vieira de Sousa	
DOI 10.22533/at.ed.66021090411	
CAPÍTULO 12.....	156
EXTRATO DE <i>Schinus terebinthifolius</i> RADDI COM POTENCIAL ANTICANCER: UM ESTUDO PROSPECTIVO	
Julia Samara Pereira de Souza	
Robson Edney Mariano Nascimento e Silva	
Heryka Myrna Maia Ramalho	
DOI 10.22533/at.ed.66021090412	
SOBRE O ORGANIZADOR.....	166
ÍNDICE REMISSIVO.....	167

CAPÍTULO 1

OFICINA DIDÁTICA DE PLANTAS MEDICINAIS: ESTRATÉGIA DE ENSINO NAS AULAS DE CIÊNCIAS

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 08/03/2021

Samara Fernanda de Oliveira

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Mundo Novo - MS
<http://lattes.cnpq.br/5750198098945945>

Jheniffer Batista dos Santos

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Mundo Novo - MS
<http://lattes.cnpq.br/4224495279066233>

Léia Mendes Guedes

Universidade Estadual de Mato do Sul
Mundo Novo - MS
<http://lattes.cnpq.br/7112262863199755>

Caroline Pereira Lopes

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Mundo Novo - MS
<http://lattes.cnpq.br/9451608476748247>

Valquiria do Nascimento Silva

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Mundo Novo – MS
<http://lattes.cnpq.br/7519782627653624>

Diego Cabral dos Santos

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Mundo Novo - MS
<http://lattes.cnpq.br/9353664042819727>

Edenice Matheus

Escola Municipal Carlos Chagas
Mundo Novo - MS
<http://lattes.cnpq.br/6298821762234671>

Vanessa Daiana Pedrancini

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Mundo Novo – MS
<http://lattes.cnpq.br/4921430400957079>

Valéria Flávia Batista da Silva

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Mundo Novo – MS
<http://lattes.cnpq.br/1114908498511949>

RESUMO: A oficina didática é uma estratégia que favorece a construção de várias habilidades nos alunos, como observação, participação e criatividade, além de possibilitar um ensino diversificado e uma aprendizagem significativa dos conteúdos. Diante disso, este trabalho apresenta uma proposta de oficina didática para desenvolver o tema “Plantas Mediciniais” em aulas de ciências. As atividades foram desenvolvidas com alunos do 7º, 8º e 9º anos do ensino fundamental da Escola Municipal Carlos Chagas, Mundo Novo/MS, com duração de 3 horas/aula, no ano letivo de 2017, e contemplaram aula expositiva dialogada, interações dialógicas e aula de campo, com o auxílio de projetor multimídia, slides, vídeos e exemplares de plantas medicinais. Foi possível notar que as atividades desenvolvidas na oficina permitiram que os alunos conhecessem, descrevessem e diferenciassem as plantas medicinais, reconhecendo a sua diversidade e modo de utilização, assim como refletissem acerca dos riscos e cuidados que devem ser tomados no uso dessas plantas. Esses resultados vêm fortalecer a importância de se trabalhar temas transversais,

por meio de metodologias que permitem aos alunos participarem ativamente na construção do conhecimento.

PALAVRAS - CHAVE: ensino de ciências, práticas pedagógicas, tema transversal.

DIDACTIC WORKSHOP OF MEDICINAL PLANTS: TEACHING STRATEGY IN SCIENCE CLASSES

ABSTRACT: The didactic workshop is a strategy that favors the construction of various skills in students, such as observation, participation, and creativity, besides, to allow a diversified teaching and significant learning of the contents. Therefore, this paper presents a didactic workshop proposal to develop the theme “Medicinal Plants” in science classes. The activities were developed with students of the 7th, 8th, and 9th classes of Carlos Chagas elementary school, Mundo Novo - MS, with a duration of 3 hours / class, in 2017, and contemplated expository class, dialogic interactions, and field class, with the aid of a multimedia projector, slides, videos, and specimens of medicinal plants. It was possible to notice that the activities developed in the workshop allowed the students to know, describe and differentiate each medicinal plant and recognizing their diversity and method of use, as well, reflecting the risks and precautions that must be taken when using these plants. These results reinforce the importance of working on cross-cutting themes, through methodologies that allow students to actively participate in the construction of knowledge.

KEYWORDS: science teaching, pedagogical practices, cross-cutting theme.

1 | INTRODUÇÃO

As oficinas didáticas ou pedagógicas se referem a uma modalidade de ensino que pode ser empregada pelos professores para o trabalho de temas diversos, em aula ou em contra turno, por meio de diversificadas estratégias de ensino e para atingir numerosos objetivos (GIANOTTO; PEDRANCINI, 2020). Trata-se de uma modalidade que oportuniza a vivência de situações concretas capaz de promover a construção de conhecimento individual e coletivo, com destaque na ação, porém, também, levando em conta a base teórica (PAVIANI; FORTUNA, 2009). Logo, as oficinas didáticas permitem ao professor oportunizar aos seus alunos a construção de várias habilidades, como análise, criatividade, investigação e observação, despertando a curiosidade e a busca por novos conhecimentos (GIANOTTO; PEDRANCINI, 2020).

Nas palavras de Paviani e Fontana (2009, p.78):

Uma oficina é, pois, uma oportunidade de vivenciar situações concretas e significativas, baseada no tripé: sentir-pensar-agir, com objetivos pedagógicos. Nesse sentido, a metodologia da oficina muda o foco tradicional da aprendizagem (cognição), passando a incorporar a ação e a reflexão. Em outras palavras, numa oficina ocorrem apropriação, construção e produção de conhecimentos teóricos e práticos, de forma ativa e reflexiva.

Ao organizar as oficinas didáticas relacionadas à disciplina de Ciências, dentre a variedade de metodologias de ensino, as atividades práticas se destacam, pois podem ser usadas com o intuito de melhorar a aprendizagem dos conteúdos teóricos trabalhados, estabelecendo relação entre teoria e prática, além do fato de que esse tipo de atividade é indispensável para a formação do pensamento científico dos alunos (BARTZIK; ZANDER, 2016). Dentre as atividades práticas, podemos exemplificar as aulas de campo, as demonstrações, as experimentações e o estudo do meio (KRASILCHIK, 2008; ANDRADE; MASSABNI, 2011).

O uso de atividades práticas pode diferenciar uma aula e torná-la mais atrativa, dando a ela um processo mais dinâmico e prazeroso, além de propiciar uma situação de investigação aos alunos (SOUZA, 2013). Nesse sentido, os estudantes se mostram mais dinâmicos e, quando em meio ao processo, mostram-se também dispostos a continuar a aprendizagem mesmo que em outros contextos (YAMAZAKI; YAMAZAKI, 2006).

Tendo em vista a importância das plantas medicinais, e a Botânica sendo reconhecida como um dos conteúdos a serem trabalhados na disciplina de Ciências, os autores Moitinho e Marisco (2015) consideram ser de grande relevância o estudo dessas plantas na educação básica. Vale destacar que, mesmo diante dos avanços da medicina, essas plantas ainda continuam sendo uma alternativa para a população (CAVAGLIER; MESSEDER, 2014).

Ao trabalhar o tema plantas medicinais, não se pode negar o senso comum e conhecimentos populares que os estudantes têm acerca deste assunto. No ensino de ciências é importante valorizar e resgatar os conhecimentos que os alunos trazem de suas vivências e experiências exteriores à escola e, assim, abordar a ciência de forma contextualizada (KOVALSKI; OBARA, 2013).

Considerando, portanto, os benefícios que as oficinas didáticas podem possibilitar ao ensino de ciências, assim como as atividades práticas, o presente trabalho apresenta uma proposta didática para trabalhar o tema “Plantas Medicinais” no ensino fundamental. A proposta é organizada com recursos simples e de baixo custo, tornando-se um material viável para trabalhar em sala de aula, além de viabilizar uma prática participativa e problematizadora, facilitando o entendimento e tornando o conteúdo mais atrativo ao aluno.

2 | DESENVOLVIMENTO

Este trabalho fez parte das atividades realizadas pelos bolsistas do Programa Institucional de Bolsa Iniciação à Docência - PIBID, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - UEMS, Unidade Universitária de Mundo Novo, do curso de Ciências Biológicas - Licenciatura.

As atividades, aqui apresentadas, constituíram uma oficina didática acerca do tema “Plantas Medicinais”, estruturada em seis etapas e com duração de aproximadamente

3 horas/aula, destacando a importância deste grupo, suas várias formas de uso, seus tratamentos terapêuticos, os riscos à saúde ao utilizá-las de forma indiscriminada e os cuidados básicos para a manutenção dos seus princípios ativos.

A oficina didática foi desenvolvida por meio de aula expositiva dialogada, interações dialógicas, demonstrações e aula de campo, com o auxílio de projetor multimídia, slides, vídeos e exemplares de algumas plantas medicinais (Ex.: erva cidreira, guaco, camomila, boldo, babosa, alecrim, orégano, hortelã, entre outras). A referida proposta foi realizada no ano letivo de 2017, com os alunos do 7º, 8º e 9º anos do Ensino Fundamental da Escola Municipal Carlos Chagas, do município de Mundo Novo/MS.

2.1 Primeira etapa

Na primeira etapa, com interações dialógicas realizou-se a sondagem dos conhecimentos prévios dos alunos, por meio da demonstração de exemplares de plantas medicinais e de questionamentos, tais como: Vocês conhecem essas plantas? Apesar das suas diferenças, o que essas plantas têm em comum? O que é uma planta medicinal? Vocês utilizam ou já utilizaram alguma planta medicinal? Pode-se usar qualquer tipo de planta? Quais as partes das plantas que podem ser utilizadas? Elas podem nos fazer mal? Por quê?

Quando as experiências culturais, sociais, afetuosas e a estrutura cognitiva de cada aluno são investigadas e aproveitadas pelo docente para desenvolver situações problemas e acrescentar informações nos processos de ensino e de aprendizagem, este pode resultar na aprendizagem significativa, pois o aluno consegue relacionar o conteúdo abordado com o seu cotidiano e, assim, compreendê-lo melhor (FERNANDES, 2011; PAGANOTTI, 2011; SANTOS; ROSSI, 2020).

No que se refere à utilização dos exemplares de plantas medicinais para enriquecer esse momento de ensino, Gianotto (2020, p.51) ressalta que estes podem “[...] estimular, incentivar o aluno a estudar e aprender, ajudando-o a transformar suas ideias em fatos e/ou realidades”.

Além disso, esse momento de ensino teve como objetivo instigar a curiosidade dos alunos e conhecer seus interesses acerca do tema, uma vez que, ao estimular a curiosidade dos alunos e despertar o interesse e o prazer em participar da aula, obtém-se maior sucesso nos processos de ensino e de aprendizagem (NICOLA; PANIZ, 2016).

2.2 Segunda etapa

Na segunda etapa foi ministrada uma aula expositiva dialogada acerca dos seguintes tópicos: a) definição e diferenciação das plantas medicinais, enfatizando a importância destas plantas para os seres humanos no dia a dia; b) Como elas podem nos ajudar no combate e prevenção de doenças; e, por fim, c) suas respectivas finalidades.

Por meio de projetor multimídia, priorizando as interações dialógicas entre professor-

aluno e aluno-aluno, foram apresentados slides e diversas imagens de plantas medicinais (Figura 1), além da demonstração de alguns exemplares, com o intuito de exemplificar o conteúdo, assim como facilitar a explicação, incentivar o diálogo e auxiliar na aprendizagem. Estes recursos, também, instigaram a curiosidade e chamaram à atenção dos alunos.

A metodologia de aula expositiva dialogada é capaz de desenvolver a curiosidade científica, a criatividade, o pensamento crítico e reflexivo dos alunos. Além disso, essa forma de aula tem como elemento principal o diálogo entre professor e alunos e dos alunos entre si (GIANOTTO; INADA; PEDRANCINI, 2020). No que se referem aos recursos utilizados, ressalta-se que estes são valiosos para os professores, pois transformam a relação professor-aluno-aprendizagem, auxiliam na aquisição de conhecimentos e na percepção de informações, evitando as aulas repetitivas e aproveitando os sentidos de captação mais presentes nos alunos, a visão e a audição (GIANOTTO, 2020).

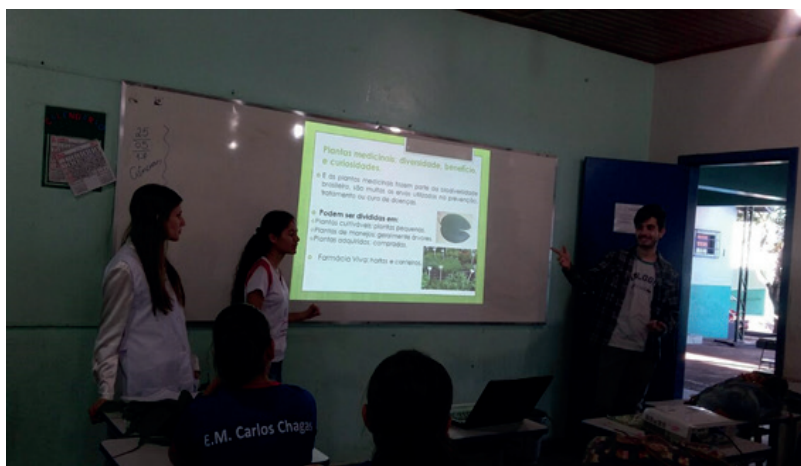


Figura 1. Utilização do recurso multimídia e apresentação de slides.

Fonte: Arquivo pessoal.

2.3 Terceira etapa

Com a intenção de facilitar o aprendizado dos alunos e apresentar informações que estes manifestaram de maneira equivocada, nesta etapa foram demonstradas mais algumas plantas medicinais de fácil acesso e que podem ser utilizadas em nosso cotidiano, como, por exemplo, os chás de guaco e capim cidreira e o xarope de limão (Figura 2).

Segundo Nicola e Paniz (2016), para que os alunos tenham um interesse maior nas aulas, todo o tipo de recurso é válido, para que assim possam compreender e sentir-se mais atraídos pela aula. Entretanto, vale destacar que é de suma importância que o material usado não seja só para chamar a atenção do aluno, mas sim para facilitar e estimular o

aprendizado.



Figura 2. Demonstração das plantas medicinais aos alunos em sala de aula.

Fonte: Arquivo pessoal.

Sobre este aspecto, Souza (2007, p.113) enfatiza que:

O uso de materiais didáticos no ensino escolar deve ser sempre acompanhado de uma reflexão pedagógica quanto a sua verdadeira utilidade no processo de ensino e de aprendizagem, para que alcance o objetivo proposto. Não se pode perder em teorias, mas também não se deve utilizar qualquer recurso didático por si só sem objetivos claros.

2.4 Quarta etapa

Para o desenvolvimento desta etapa, promoveu-se uma discussão sobre os riscos e cuidados que devemos ter com as plantas medicinais, em especial as consequências que estas plantas podem trazer se utilizadas em excesso ou de forma errada. Para instigar na discussão e complementar o assunto, por meio de projetor multimídia, foi apresentado aos alunos um vídeo de 11min59s acerca do uso de plantas medicinais e de fitoterapia no dia a dia da população (Vídeo disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=w6LkQMxiGnA&feature=player_detailpage).

Por meio das observações realizadas ao longo desta etapa, percebeu-se que o vídeo despertou a curiosidade dos alunos e possibilitou mostrar diversos aspectos de forma acelerada, auxiliando na complementação do assunto trabalhado. Porém, para o professor atingir os objetivos almejados com esse recurso, torna-se necessário analisar sua relação com o conteúdo proposto, se a linguagem é compreensível, se as ideias e os exemplos

apresentados são significativos aos alunos, assim como, se há relação entre o vídeo e os demais elementos da cultura na qual aqueles alunos estão imersos (ARROIO; GIORDAN, 2006).

2.5 Quinta etapa

Nesta etapa, os alunos realizaram uma aula de campo na horta de plantas medicinais da UEMS - Unidade Universitária de Mundo Novo/MS, onde puderam observar algumas plantas medicinais estudadas em sala e conhecer outras espécies (Figura 3). Foi um momento de ensino importante, pois os alunos puderam verificar as características de algumas plantas medicinais e se sentiram instigados a conhecer mais sobre as plantas presentes na horta, fazendo questionamentos e lendo as informações presentes nas placas de identificação de cada planta. Também fizeram comentários e contaram situações que já haviam vivenciado com determinadas plantas medicinais.

Esses fatos observados corroboram com os destacados por Krasilchik (2008), a qual enfatiza que, mesmo não sendo com grande frequência, atividades que diferem da rotina dos alunos são necessárias e essenciais para permitir que estes relacionem os fatos estudados em sala de aula com situações vivenciadas em seu dia a dia.



Figura 3. Visita dos alunos à horta de plantas medicinais da UEMS/Mundo Novo.

Fonte: Arquivo pessoal.

2.6 Sexta etapa

Nesta etapa, após a visita à horta de plantas medicinais, os alunos receberam um roteiro contendo um caça-palavras acerca do tema estudado, o qual foi executado com o auxílio dos professores e por meio de discussões. Além disso, os alunos receberam um texto complementar para leitura e discussão, com ênfase nos cuidados para o uso das plantas medicinais, intitulado “Cartilha alerta para uso excessivo de ervas medicinais” (Disponível em:

<https://m.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2008/10/462144-cartilha-alerta-para-uso-excessivo-de-ervas-medicinais.shtml>).

Segundo Krasilchik (2008), qualquer atividade aplicada aos alunos precisa estar associada a uma discussão dos resultados obtidos, a fim de que a atividade não seja apenas um passeio sem nenhum raciocínio. Logo, o caça-palavras e o texto foram utilizados para essa finalidade, assim como para a sistematização do conteúdo abordado ao longo da oficina didática.

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

No decorrer da oficina didática pudemos verificar que muitos alunos, apesar de já terem ouvido falar nas plantas medicinais e alguns relataram já utilizar chás e xaropes caseiros, não tinham conhecimento da forma correta de utilização e dos cuidados que devemos ter ao utilizarmos essas plantas. Por outro lado, foi possível notar que as atividades desenvolvidas na oficina permitiram que os alunos conhecessem, descrevessem e diferenciassem as plantas medicinais, reconhecendo a sua diversidade e modo de utilização, assim como refletissem acerca dos riscos e cuidados que devemos ter ao fazer uso indiscriminado destas plantas.

Além disso, foi possível notar que as metodologias utilizadas, os recursos didáticos empregados e as atividades propostas, ao longo da oficina didática, auxiliaram nos processos de ensino e de aprendizagem, assim como possibilitaram promover a contextualização do conteúdo, instigar a curiosidade e o interesse dos alunos e a participação ativa destes na construção do conhecimento.

Esses resultados vêm fortalecer a importância de se trabalhar temas transversais, como as plantas medicinais, na educação básica, por meio de metodologias que permitem aos alunos participarem, ativamente, na construção do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pelo apoio financeiro, à equipe de profissionais da Escola Municipal Carlos Chagas pela parceria no desenvolvimento dessa atividade e a todos da UEMS - Unidade Universitária de Mundo Novo - MS por tornar a execução desta atividade possível.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. L. F. D.; MASSABNI, V. G. **O desenvolvimento de atividades práticas na escola: um desafio para os professores de ciências**. Ciência & Educação, Bauru/SP, v. 17, n. 4, p. 835-854, 2011.
- ARROIO, A.; GIORDAN, M. **O vídeo educativo: aspectos da organização do ensino**. Química Nova na Escola, v. 24, n. 1, p. 8-11, 2006.
- BARTZIK, F.; ZANDER, L. D. **A importância das aulas práticas de ciências no ensino fundamental**. Revista Arquivo Brasileiro de Educação, Belo Horizonte, v. 4, n. 8, p. 31-38, 2016.
- CAVAGLIER, M. C. dos S.; MESSEDER, J. C. **Plantas Medicinais no Ensino de Química e Biologia: propostas interdisciplinares na Educação de jovens e adultos**. Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências, v. 14, n. 1, p. 55-71, 2014.
- FERNANDES, E. **Conhecimento prévio**. Nova Escola, março de 2011.
- GIANOTTO, D. E. P. Recursos Didáticos Alternativos e sua Utilização no Ensino de Ciências. In: GIANOTTO, D. E. P.; MACHADO, M. H.; INADA, P. (Org), **Modalidades e recursos didáticos para o ensino das ciências**: guia pedagógico para o trabalho com o conhecimento científico na educação básica. 1. ed. Maringá - PR: Massoni, 2020, p. 51-66.
- GIANOTTO, D. E. P.; INADA, P.; PEDRANCINI, V. D. Modalidades didáticas para o Ensino de Ciências. In: GIANOTTO, D. E. P.; MACHADO, M. H.; INADA, P. (Org). **Modalidades e recursos didáticos para o ensino das ciências**: guia pedagógico para o trabalho com o conhecimento científico na educação básica. 1. ed. Maringá- PR: Massoni, 2020, p.17-32.
- GIANOTTO, D. E. P.; PEDRANCINI, V. D. Oficinas e Projetos Didáticos no Ensino de Ciências e Biologia. In: GIANOTTO, D. E. P.; MACHADO, M. H.; INADA, P. (org). **Modalidades e recursos didáticos para o ensino das ciências**: guia pedagógico para o trabalho com o conhecimento científico na educação básica. 1. ed. Maringá- PR: Massoni, 2020, p. 33-50.
- KOVALSKI, M. L.; OBARA, A. T. **O estudo da etnobotânica das plantas medicinais na escola**. Ciência & Educação, Bauru/SP, v. 19, n. 4, p. 911-927, 2013.
- KRASILCHIK, M. **Prática de Ensino de Biologia**. 4. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2008.
- MOITINHO, L.; MARISCO, G. **A importância da abordagem de plantas medicinais na escola**. Scientia Amazonia, v. 4, n. 3, p. 36-40, 2015.
- NICOLA, J. A.; PANIZ, C. M. **A importância da utilização de diferentes recursos didáticos no Ensino de Biologia**. InFor, São Paulo/SP, v. 2, n. 1, p. 355-381, 2016.
- PAGANOTTI, I. **Vygotsky e o conceito de zona de desenvolvimento proximal**. Nova Escola, maio de 2011.
- PAVIANI, N. M. S.; FONTANA, N. M. **Oficinas pedagógicas: relato de uma experiência**. Conjectura, v. 14, n. 2, p. 77-88, 2009.

SANTOS, M. de A.; ROSSI, C. M. S. **Conhecimentos prévios dos discentes: contribuições para o processo de ensino-aprendizagem baseado em projetos.** Educação Pública, v. 20, n. 39, outubro de 2020.

SOUZA, A. C. de. **A Experimentação no Ensino de Ciências: importância das aulas práticas no processo ensino aprendizagem.** 2013. Monografia (Especialização em Educação: Métodos e Técnicas de Ensino). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2013.

SOUZA, S. E. de. **O uso de recursos didáticos no ensino escolar.** In: I Encontro de Pesquisa em Educação, IV Jornada de Prática de Ensino, XIII Semana de Pedagogia da UEM, Maringá - PR, Arq. Mudi, 11 (Supl.2), p. 110-14, 2007.

YAMAZAKI, S. C.; YAMAZAKI, R. M. de O. **Sobre o uso de metodologias alternativas para ensino-aprendizagem de ciências.** Educação e Diversidade na Sociedade Contemporânea. Anais da III Jornada de Educação da Região de Grande Dourados, 01-14. 2006.

CAPÍTULO 2

EDUCAÇÃO AMBIENTAL E ECOPELAGOGIA NA RECUPERAÇÃO DA MATA ATLÂNTICA NA MARGEM ESQUERDA E NASCENTE DO RIO SUBAÚMA NO LITORAL NORTE DA BAHIA (BRASIL)

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 19/02/2021

Rafaela Soares Teixeira

Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Salvador - Bahia

<http://lattes.cnpq.br/9455108408246804>

<https://orcid.org/0000-0002-1473-2873>

José Antonio da Silva Dantas

Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Alagoinhas - Bahia

<http://lattes.cnpq.br/4070112667175865>

<https://orcid.org/0000-0003-2535-4908>

Maria Dolores Ribeiro Orge

Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Alagoinhas - Bahia

<http://lattes.cnpq.br/7039932305357538>

<https://orcid.org/0000-0002-0018-9574>

Cláudio Roberto Meira de Oliveira

Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Irecê - Bahia

<http://lattes.cnpq.br/6496521727294343>

<https://orcid.org/0000-0002-3077-8353>

Clemerson Alan Mota Costa Santos

Escola Família Agrícola da Região de

Alagoinhas - EFARA

Inhambupe - Bahia

<http://lattes.cnpq.br/2715543491963274>

Ludmilla de Santana Luz

Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Salvador - Bahia

<http://lattes.cnpq.br/2655514790478065>

<https://orcid.org/0000-0002-4844-0772>

Wilma Santos Silva

Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Alagoinhas - Bahia

<http://lattes.cnpq.br/2453824807578898>

<https://orcid.org/0000-0003-2786-7619>

RESUMO: Na recuperação da Mata Atlântica na margem esquerda e nascente do rio Subaúma, a educação ambiental e a ecopedagogia foram usadas para sensibilizar jovens em sua integração à natureza. Trabalhamos em parcerias com empresa, instituição social e escolas técnicas do estado da Bahia. O objetivo foi realizar uma ação integrada de educação ambiental e ecopedagogia na recuperação de áreas degradadas de Mata Atlântica na margem esquerda e nascente do rio Subaúma, respectivamente nos trechos em Inhambupe e Entre Rios, Litoral Norte da Bahia (Brasil). O trabalho foi realizado no período de 2016 a 2018 em duas etapas, usando dois métodos de abordagem para dois públicos-alvo: i) uma ação de Educação Ambiental com atividades práticas em duas áreas, envolvendo principalmente jovens em situação de vulnerabilidade social e alguns estudantes de escola técnica; e ii) uma abordagem da Ecopedagogia com aplicação de questionário como atividades teóricas para conhecimento do potencial de formação ambiental de estudantes de outra escola técnica. Após localizar as áreas, o terreno foi limpo, feito o coveamento e a adubação para o plantio das mudas de seis espécies frutíferas nativas (cajuero, aroeira, pau-Brasil, ingá, pau-pombo e ipê-rosa), sempre no mês de setembro

(primavera). Ao longo dos três anos foram plantadas 71 mudas por 145 jovens, dos quais 120 viviam em situação de vulnerabilidade social, mas todos proativos em campo. O sucesso deste reflorestamento foi fortemente afetado pela estiagem prolongada. Apenas 5 (7%) aroeiras (*S. terebinthifolius*), 1 (1%) pau-Brasil (*P. echinata*) e 1 (1%) ingá (*A. bullata*) sobreviveram. As ações integradas foram importantes para dar uma nova perspectiva de valorização pessoal aos jovens participantes.

PALAVRAS - CHAVE: Mata Atlântica, reflorestamento, sustentabilidade.

ENVIRONMENTAL EDUCATION AND ECOPEDEGOGY IN THE RECOVERY OF THE ATLANTIC FOREST IN THE LEFT BANK AND SOURCE OF THE SUBAÚMA RIVER IN THE NORTH COAST OF BAHIA (BRAZIL)

ABSTRACT: In the recovery of the Atlantic Forest in the left bank and source of the Subaúma River, environmental education and ecopedagogy were used to sensitize young people in their integration into nature. We work in partnerships with a company, social institution, and technical schools in the state of Bahia. The objective was to carry out an integrated action of environmental education and ecopedagogy in the recovery of degraded areas of Atlantic Forest in the left bank and source of the Subaúma River, respectively at Inhambupe and Entre Rios on the North Coast of Bahia (Brazil). The work was carried out in the period from 2016 to 2018 in two stages, using two methods of approach for two target audiences: i) an Environmental Education action with practical activities in two areas, mainly involving young people in situations of social vulnerability and some technical school students; and ii) an ecopedagogy approach with the application of a questionnaire as theoretical activities to know the potential of environmental training of students from another technical school. After locating the areas, the land was cleared and prepared (pitting and fertilization) for planting the seedlings of six native fruit species (cashew, aroeira, brazilwood, inga, tapirira, and pink ipe), always in September (spring). Over the three years, 71 seedlings were planted by 145 young people, of whom 120 lived in a situation of social vulnerability, but all proactive in the field. The success of this reforestation was strongly affected by prolonged drought. Only 5 (7%) aroeiras (*S. terebinthifolius*), 1 (1%) brazilwood (*P. echinata*) and 1 (1%) inga (*A. bullata*) survived. The integrated actions were important to give a new perspective of personal appreciation to the young participants.

KEYWORDS: Atlantic Forest, Reforestation, Sustainability.

INTRODUÇÃO

A Floresta Atlântica é um bioma de grande biodiversidade e um dos mais ameaçados do mundo, sendo reconhecida como um dos *hotspots* prioritários para conservação (MYERS *et al.*, 2000). Sua fragmentação tem origem histórica e acarreta a redução da abundância local de espécies pelo crescente isolamento entre as populações, com prejuízos para os processos ecológicos e as comunidades (DEAN, 2002; RATHCKE e JULES, 1993). A principal degradação ambiental decorre da ação antrópica desordenada, seja por práticas ilegais de extração de madeira, uso e ocupação irregular do solo, com supressão da vegetação, e contaminação dos recursos hídricos por lançamentos de efluentes e resíduos

sólidos (RIBEIRO *et al.*, 2009).

A depredação ambiental geralmente resulta da falta de conscientização cidadã para o bem comum em todas as classes sociais. Este desvio pode ser agravado sob condições de vulnerabilidade econômica. Relações interpessoais negativas com rebaixamento da auto-estima, frustração pessoal e descontentamento costumam gerar conflitos ambientais, como um ato-reflexo que se prolonga para o entorno de cada indivíduo. Esta situação é agravada em uma comunidade exposta ao declínio socioeconômico, mas pode ser revertida com ações de valorização pessoal e desenvolvimento humano.

O hedonismo está na base do comportamento da sociedade atual consumista e produtora de grande carga de resíduos não recicláveis, decorrentes da sobreexploração e descarte de recursos naturais sem verdadeira necessidade nem responsabilidade cidadã de conservação ou compromisso com o desenvolvimento. Exemplos disso são a perda da qualidade dos recursos hídricos e florestais com desmatamento de extensas faixas de terra para monoculturas (pastagens, eucalipto), pecuária e mineração por corporações sem responsabilidade ambiental efetiva. Kahn (2008) relaciona a manutenção deste sistema de globalização da exploração predatória para criação de fortunas de corporações e alguns indivíduos conectados ao modelo de economia liberal, sem benefícios para uma sociedade verdadeiramente equilibrada. Críticos desse interesse do sistema sobre os países em desenvolvimento, como Anderson (2000), apontam-no como “a melhor concha ideológica do neoliberalismo hoje” em nome de um falso humanitarismo global.

A recuperação é também uma questão de educação ambiental. E deve ser também de consciência cidadã, mas em todos os níveis sociais. Portanto, proporcionar uma redução nos níveis de desigualdade social, através das oportunidades e promoção de pessoal com geração de emprego e renda, contribui sobremaneira para aumentar o índice de desenvolvimento humano e conseqüente redução de impactos no entorno de comunidades carentes. Neste sentido, a legislação vigente prevê que o baixo grau de instrução ou escolaridade e a limitação significativa da degradação ambiental causada são circunstâncias que atenuam a pena, conforme a Lei de Crimes Ambientais (Lei 9.605/98 de 12/02/1998).

Nas áreas onde exista uma comunidade local que atue como foco de contaminação, planos de recuperação ambiental devem estar associadas a ações de educação ambiental junto a esse público-alvo para aumentar a probabilidade de sucesso. A possibilidade de reabilitação de áreas degradadas por ações humanas até alcançar condições desejáveis e socialmente aceitáveis é objetivo de qualquer plano de recuperação de áreas degradadas.

A Política Nacional de Educação Ambiental oferece uma linguagem simples, acessível e objetiva, tratando das questões mais relevantes como preservação dos recursos naturais, da sustentabilidade e não deixando de lado o protagonismo do ser humano na existência de vida no planeta. Também na Política Nacional do Meio Ambiente, a LF n°. 6.938/81 norteia a finalidade de planos pré-estabelecidos para uso e ocupação do solo visando a obtenção

da estabilidade ambiental (LIMA, FLORES e COSTA, 2006) e a Instrução Normativa n°. 4 de 2001 estabelece exigências mínimas para elaboração de um plano de recuperação de áreas degradadas (PRAD), com medidas que assegurem a proteção das áreas degradadas de fatores que possam dificultar ou impedir o próprio processo de recuperação (IBAMA, 2011). No âmbito da educação ambiental, a Lei n°. 9.795/99 regula e define ações como processos por meio dos quais o coletivo humano constrói valores sociais, conhecimentos, habilidades, atitudes e competências voltadas para a conservação ambiental, visando o uso comum essencial à qualidade de vida e sua sustentabilidade (SILVA, 2016).

Frente à agenda de globalização neo-liberal, movimentos alternativos surgiram desde então (KAHN, 2008) e mais uma proposta de educação foi apresentada como pedagogia de vertente ecológica, a ecopedagogia. Ela apareceu inicialmente como movimento para o desenvolvimento sustentável (GUTIÉRREZ, 1994). E propõe um equilíbrio dinâmico entre o ser humano e a natureza, destacando a sustentabilidade como seu pressuposto essencial (GADOTTI, 2010).

Na esfera educacional, correntes opostas à predação do capital mundial sobre os países em desenvolvimento vão desde teorias radicais até aquelas chamadas pós-desenvolvimento (KAHN, 2008). Mas é patente a necessidade crescente de ações concretas para formação de crianças e adolescentes, como geração consciente do seu papel de cidadania plena na integração equilibrada e no cuidado dos recursos naturais e serviços ambientais para o bem comum. Neste sentido, o presente trabalho para revitalização da mata ciliar na margem esquerda e nascente do rio Subaúma foi desenvolvido com ações de Educação Ambiental e Ecopedagogia associadas a um PRAD simples. Em parcerias institucionais com empresa florestal e instituições de ensino técnico, princípios e práticas pedagógicas foram empregados como instrumento adicional à solução do problema ambiental, seguindo as normativas técnicas e métodos disponíveis como práticas para converter ideias em projetos exequíveis. O objetivo principal foi realizar uma ação integrada de educação ambiental e de ecopedagogia na recuperação de duas áreas degradadas do bioma Mata Atlântica, na margem esquerda e nascente do rio Subaúma, no Litoral Norte da Bahia (Brasil).

Esta restauração ambiental com plantio de mudas de espécies frutíferas nativas foi realizada durante o processo formativo nas instituições parceiras envolvidas. O conjunto de ações foi usado para sensibilizar os jovens participantes e despertar-lhes o interesse por uma mudança de comportamento de integração à natureza. A perspectiva de preservação dos recursos florestais e hídricos deste trabalho pretende estender uma influência positiva ao cotidiano de cada um, especialmente daqueles que vivem em situação de vulnerabilidade social.

A EDUCAÇÃO COMO FERRAMENTA PARA INTEGRAÇÃO ECOLÓGICA

Historicamente, a relação homem e natureza restringia-se apenas ao conhecimento sobre o que o ambiente podia oferecer através dos serviços ecossistêmicos e ambientais. O uso potencial dos recursos advindos do solo, do patrimônio hidrológico e da matriz florestal se consolida e cresce em alta velocidade, superando a capacidade de renovação ambiental e rompendo seu limiar de resiliência. Desde então, as explorações passaram a ser uma preocupação para pesquisadores e povos nativos.

Para restringir o avanço acelerado desse consumo predatório em detrimento do avanço tecnológico e da economia sobre toda a cadeia produtiva, conceitos e metodologias foram surgindo para conter e reverter os impactos provocados pelas intervenções antrópicas.

Na questão ambiental, surge a ecopedagogia como movimento político e social para fortalecer estratégias e práticas da educação ambiental na transformação das pessoas envolvidas como agentes da restauração-conservação para o reequilíbrio ambiental. No contexto da educação formal, esses instrumentos de mediação, apesar de semelhantes e complementares, são uma alternativa de mudança. A sua aplicação encontra barreiras em diferentes esferas da sociedade. Como qualquer conceito, a ecopedagogia possui princípios e diretrizes para ação do ser humano frente à natureza. Como todo movimento novo, em desenvolvimento, ele é complexo e pode tomar direções variadas (GADOTTI, 2010).

A visão socioambiental requer uma abordagem interdisciplinar e considera-o como campo de interações entre cultura, sociedade, elementos físicos e biológicos e processos vitais (CARVALHO, 2008). Essa é a essência da educação ambiental, um componente essencial e permanente da educação nacional, devendo estar presente, de forma articulada, em todos os níveis e modalidades do processo educativo, em caráter formal e não formal (BRASIL; CF, 1999), sendo uma importante referência que regulamenta a Política Nacional de Educação Ambiental (PNEA).

São princípios básicos da educação ambiental, uma abordagem mais completa e participativa possível do local estudado, a interdisciplinaridade, a garantia do processo educativo e os aspectos éticos, sociais, econômicos e culturais envolvidos no desenvolvimento sustentável, articulado entre as esferas regional, nacional e a biosfera. Entre seus objetivos fundamentais estão a compreensão integrada do meio em suas interações ecológicas, políticas legais e científicas com garantia do acesso amplo à informação para fortalecimento de uma consciência crítica e envolvimento na resolução de questões ambientais. A qualidade ambiental é inseparável do exercício da cidadania e depende da cooperação entre a ciência e a tecnologia nas diversas escalas de poder e influência da sociedade (BRASIL, 1999).

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho de recuperação de Mata Atlântica em duas áreas degradadas, margem esquerda e nascente do rio Subaúma no Litoral Norte da Bahia (Brasil), foi realizado no período de 2016 a 2018 em duas etapas, usando dois métodos de abordagem para dois públicos-alvo:

1) uma ação de Educação Ambiental com um Plano de Recuperação de Áreas Degradadas (PRAD) simples como atividade prática em duas áreas degradadas, com o lema “Cuidar da nossa água é preservar a vida” e envolvendo principalmente jovens que vivem em situação de vulnerabilidade social e alguns estudantes de escola técnica;

2) e uma abordagem da Ecopedagogia como atividade teórica, com o lema “Amigos da Floresta”, e aplicação de questionário com 9 questões fechadas, sem identificar os participantes.

Na primeira etapa de Educação Ambiental, em cada área foi feita a limpeza de galhos secos, o coveamento no padrão de espaçamento 3 m x 3 m e adubação para o plantio de mudas das espécies frutíferas nativas disponíveis no viveiro no momento da aquisição (Tabela 1). A empresa BRACELL Florestal doou as mudas como contrapartida do seu Programa Social e o técnico, responsável pela relação da empresa com a comunidade, acompanhou as atividades de plantio nas duas áreas.

Espécie	Nome vulgar
<i>Anacardium occidentale</i> L.	Cajueiro
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.	Aroeira
<i>Paubrasilia echinata</i> Gagnon, Lima & Lewis.	Pau-Brasil
<i>Affonsea bullata</i> Benth.	Ingá
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	Pau-pombo
<i>Handroanthus heptaphyllus</i> (Vell). Matos	Ipê-rosa

Tabela 1. Checklist das espécies frutíferas nativas usadas no reflorestamento de áreas degradadas de Mata Atlântica na margem esquerda e nascente do rio Subaúma, respectivamente em Inhambupe e Entre Rios, Litoral Norte da Bahia (Brasil). 2016-2018.

Na segunda etapa da abordagem Ecopedagógica, foi feita a aplicação do questionário para conhecimento da percepção de estudantes de escola técnica sobre a temática ambiental e a importância das ações de recuperação ambiental. Neste grupo, o PRAD simples e as técnicas empregadas para sua execução foram usados para monitoramento das áreas recuperadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi realizado sob uma perspectiva integrada de intervenção ambiental usando abordagens da educação ambiental e ecopedagogia.

Ao longo dos 3 anos (2016 a 2018) foram plantadas 71 mudas na margem esquerda e nascente do rio Subaúma por um grupo de 145 jovens, sempre no mês de setembro (primavera). Em 2016 e 2017, atuaram 120 adolescentes na margem esquerda do rio. Eles eram voluntários atendidos pelo Centro de Referência de Assistência Social (CRAS) de Riacho da Guia, distrito de Alagoinhas (Figura 1). Em 2018, outros 25 jovens, educandos do Centro Tecnológico de Aprendizagem Senhora Santana (CETASS) em Alagoinhas, colaboraram no plantio das mudas na área próximo à nascente (Figura 2).



Figura 1. Plantio de mudas de espécies nativas na margem esquerda do rio Subaúma em Inhambupe – Bahia (Brasil), com participação de jovens atendidos pelo Centro de Referência em Assistência Social (CRAS) do Riacho da Guia. 2016 e 2017

Autor: José Antonio da Silva Dantas.



Figura 2. Plantio de mudas de espécies nativas próximo à nascente do rio Subaúma, Entre Rios – Bahia (Brasil), com participação de estudantes do Centro Tecnológico de Aprendizagem Senhora Santana (CETASS). 2018

Autor: José Antônio da Silva Dantas.

Os jovens mostraram-se motivados e proativos em campo.

Entre as mudas plantadas, sobreviveram apenas 5 (7%) aroeiras (*S. terebinthifolius*), 1 (1%) pau-Brasil (*P. echinata*) e 1 (1%) ingá (*A. bullata*). Observou-se também o enriquecimento natural por sementes de aroeira local. O sucesso deste reflorestamento foi comprometido pela estação seca prolongada durante e após o plantio (2018 e 2019), quando as mudas ainda estavam vulneráveis às condições edafo-climáticas.

Os 120 jovens participantes voluntários, atendidos pelo CRAS, viviam em situação de vulnerabilidade social em Riacho da Guia, distrito de Alagoinhas. Um riacho atravessa a área urbana e a vegetação ciliar foi suprimida. O envolvimento desses jovens moradores nas ações de Educação Ambiental pretendeu estimular seu interesse pela necessidade de preservação do entorno para o bem de toda a comunidade e mostrar-lhes uma nova perspectiva de valorização pessoal e o início de uma consciência cidadã.

Durante a participação dos educandos do CETASS na atividade em Entre Rios, o técnico da empresa florestal explicou sobre a dinâmica dos procedimentos envolvidos na recuperação de uma área degradada, a proteção das nascentes dos rios e algumas ações práticas de educação ambiental.

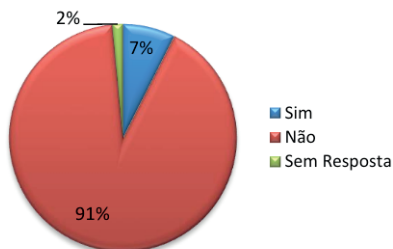
Na lacuna do conhecimento científico sobre o Litoral Norte da Bahia, este trabalho foi importante para mostrar, aos estudantes, os principais impactos decorrentes do uso e ocupação desordenada dos recursos naturais e da exploração econômica, seja por monoculturas ou pecuária. Eles perceberam o papel indispensável que a cobertura vegetal exerce no contexto de restauração ecológica, especialmente para manutenção dos recursos

hídricos. Constatou-se também a erosão do solo em áreas desmatadas, já acarretando perda de habitats e comprometendo recursos hídricos superficiais especialmente na faixa úmida de ocorrência da Mata Atlântica. Isto auxiliou na escolha de estratégias práticas da revegetação para proteção dos mananciais.

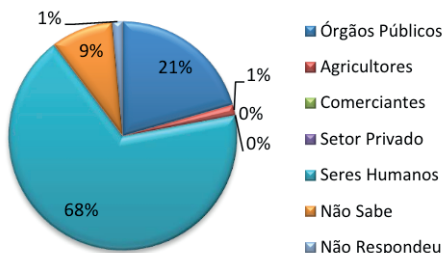
Escolas, empresas e setores públicos possuem profissionais com percepção ambiental que podem causar impactos positivos, principalmente para a geração atual. Podem estar alinhadas como uma metodologia inovadora, atrativa, empolgante, moldando a educação e transformando jovens em cidadãos ambientais conscientes do seu papel com a natureza e a sociedade. Em projetos de recuperação ambiental, as parcerias com empresas são importantes para o sucesso do empreendimento, devido à logística requerida em campo.

Na segunda etapa do trabalho, os princípios da Ecopedagogia juntamente com normativas técnicas e métodos tradicionais disponíveis como atividades práticas foram apresentados a outro grupo de 67 estudantes da Escola Família Agrícola da Região de Alagoinhas (EFARA) em Inhambupe. A maioria dos jovens participantes mostrou-se consciente sobre a importância da recuperação da mata ciliar (63%) para conservação de rios e nascentes (70%) (Figura 3).

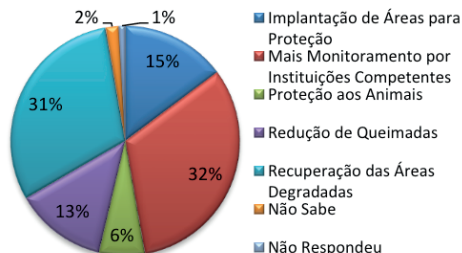
Questão 1. Possui tratamento de esgoto e efluentes onde mora?



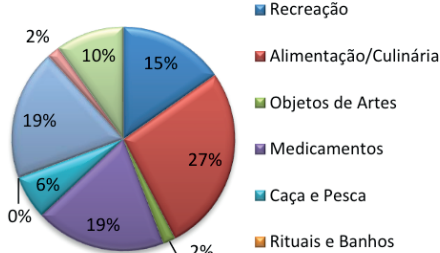
Questão 2. A quem atribui os problemas ambientais na sua localidade?



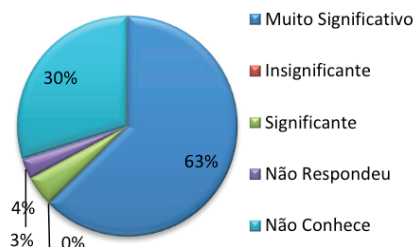
Questão 3. Quais ações poderiam contribuir na conservação ambiental?



Questão 4. Como utiliza os recursos naturais da mata?



Questão 5. Para você, ação de recuperação é importante para proteger essa vegetação?



Questão 6. Para você, é importante recuperar a vegetação ciliar que protege rios e nascentes?

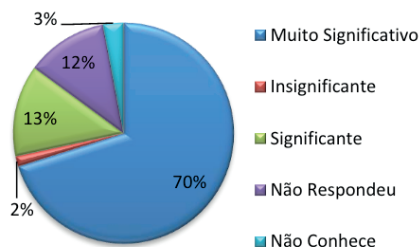


Figura 3. Percepção dos estudantes da Escola Família Agrícola da Região de Alagoínhas (EFARA) em Inhambupe sobre a temática ambiental e a importância das ações de recuperação. 2018

O diagnóstico inicial foi usado nas ações de conscientização ambiental sobre a dependência humana dos serviços ambientais, servindo para subsidiar trabalhos posteriores de recuperação da área degradada e proteção de rios e nascentes. A este grupo foi atribuído o monitoramento e a rega das mudas plantadas, cuja maior parte (64 mudas, 91%) pereceu, apesar dos esforços, por conta da estiagem prolongada.

Atividades de educação ambiental combinadas com a ecopedagogia, ainda que pontuais, representam uma alternativa de baixo custo.

Uma Ecopedagogia eficiente é necessária para educar a nova geração na via do desenvolvimento sustentável e superar as questões econômicas que limitam o ensino para formação do cidadão ambiental (GADOTTI, 2010). O grau de instrução também é importante como investimento na conservação ambiental e o Poder Público necessita investir na qualidade da Educação Básica, para que a sociedade seja mais sensível com as questões ambientais. Seres humanos transformados atuam como parceiros para a conservação da biodiversidade.

Durante o processo formativo em cada uma das instituições de ensino técnico envolvidas, as ações de Educação Ambiental e de Ecopedagogia foram usadas para sensibilizar os jovens participantes no interesse por uma mudança de comportamento em relação à natureza. Por meio dessas propostas de atividades combinadas, entendemos o quanto é imprescindível estabelecer elos entre os diferentes setores da sociedade, visando a formação do cidadão ambiental como parceiro, multiplicador e colaborador para preservação dos recursos hídricos e florestais,.

Através de um maior conhecimento ambiental, a sociedade pode definir melhor forma de ação e intervenção no entorno do seu cotidiano. A complexidade dos problemas ambientais e suas causas são resultados da ação humana e, por isso, a formação e a informação são fundamentais para permitir melhores escolhas ambientais (BRASIL; MMA, 2020).

A partir desses diálogos estabelecidos entre diferentes correntes teóricas, é possível compreender os desafios para sensibilizar a sociedade em um comportamento saudável e de respeito à natureza. O sucesso e o fracasso caminham lado a lado quando negligenciamos nosso papel diante dos problemas decorrentes das nossas próprias atitudes.

A organização da sociedade depende dos atores que representam a população na esfera das decisões políticas e, em sua maioria, ditam como o sistema deve funcionar sob pretexto de interesses, muitas vezes excusos e contrários ao bem comum. Enquanto sociedade civil, necessitamos cuidar do nosso espaço e do modo como vivemos.

O tema ambiental está cada vez mais presente na vida das pessoas, mas poucos compreendem de fato as questões ambientais e sua relação íntima com a sociedade. No Brasil, cerca de 85% da população sobrevive em áreas urbanas e as questões ambientais estão tão distantes como as florestas ou os animais silvestres (BRASIL; MMA, 2020).

Com a degradação ambiental, todos somos afetados em maior ou menor grau. A cidadania ambiental é importante para a popularização do conhecimento. Desta forma, cada um poderá contribuir para reverter a cultura do descartável ao fazer escolhas acertadas de forma responsável.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após localização das áreas para recuperação na margem esquerda e nascente do rio Subaúma, foram plantadas 71 mudas ao longo de três anos.

O plantio foi feito por 145 jovens, dos quais 120 viviam em situação de vulnerabilidade social. Todos os participantes mostraram-se motivados e proativos em campo.

O sucesso deste reflorestamento foi comprometido pela estação seca prolongada durante e após o plantio. Entre as mudas plantadas, sobreviveram apenas 5 (7%) aroeiras (*S. terebinthifolius*), 1 (1%) pau-Brasil (*P. echinata*) e 1 (1%) ingá (*A. bullata*). Observou-se também o enriquecimento natural por sementes de aroeira local.

Nos projetos de recuperação ambiental, as parcerias com empresas são importantes para o sucesso do empreendimento, devido à logística requerida em campo.

Ações combinadas de Educação Ambiental e de Ecopedagogia foram empregadas para sensibilizar os participantes no interesse pela mudança de comportamento para preservação em cada uma das instituições de ensino técnico envolvidas. Ainda que pontuais, elas representam uma saída de baixo custo.

A maioria dos jovens participantes mostrou-se consciente sobre a importância da recuperação da mata ciliar (63%) para conservação de rios e nascentes (70%).

As ações integradas foram importantes como uma nova perspectiva de valorização pessoal dos jovens participantes.

AGRADECIMENTOS

À Escola Família Agrícola da Região de Alagoinhas (EFARA), ao Centro de Referência de Assistência Social (CRAS) de Riacho da Guia, ao Centro Tecnológico de Aprendizagem Senhora Santana (CETASS Júnior) e ao Eng. Dailson Ramalho, representando a BRACELL Florestal.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, P. Renewals. *New Left Review*, 11(1): 11 p. 2000.

BRASIL. **Art. 2 lei da Política Nacional do Meio Ambiente - Lei 6938/81**. Disponível em: <https://www.jusbrasil.com.br/topicos/11334894/artigo-2-da-lei-n-6938-de-31-de-agosto-de-1981>. Acesso em: 13 mar. 2020.

BRASIL. **Constituição Federal**. Lei nº 9.795, de 27 de Abril de 1999. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L9795.htm. Acesso em: 04 fev. 2021.

BRASIL. MMA. **Ministério do Meio Ambiente**. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/educacaoambiental/educacao-ambiental> Acesso em: 04 fev. 2021.

CARVALHO, I.C.M. **Educação ambiental: a formatação do sujeito ecológico**. 3ª. ed. São Paulo: Cortez, 2008.

DEAN, W. **A Ferro e Fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira**. Companhia das Letras, São Paulo, 2002.

GADOTTI, M. **A Carta da Terra na educação**. São Paulo: Editora e Livraria Instituto Paulo Freire, 105 p., 2010.

GUTIÉRREZ, F. *Pedagogia para el Desarrollo Sostenible*. Heredia, Costa Rica: **Editorialpec**, 1994.

IBAMA. **Instrução Normativa: 04/2011**. Instituto Brasileiro dos Recursos Naturais Renováveis. Disponível em: <https://www.diariosdasleis.com.br>. Acesso em: 13 mar. 2020.

KAHN, R. From Education for Sustainable Development to Ecopedagogy: Sustaining Capitalism or Sustaining Life? **Green Theory & Praxis: The Journal of Ecopedagogy**, v. 4, n. 1, 2008.

LIMA, H.M.; FLORES, J.C.C.; COSTA, F.L. **Plano de recuperação de áreas degradadas versus plano de fechamento de mina: um estudo comparativo**. Revistada Escola de Minas, Ouro Preto, v. 59, p. 397-402, 2006.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. **Biodiversity hotspots for conservation priorities**. *Nature* 403: 853-845, 2000.

RATHCKE, B.J.; JULES, E.S. Habitat fragmentation and plant-pollinator interactions. **Current Science** 65:273-277, 1993.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M.. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, p.1141-1153, mar, 2009.

SILVA, R. G. **A Lei 9.795/99 e a efetividade da sustentabilidade ambiental**. 2016. Disponível em: <https://jus.com.br/artigos/51926/a-lei-9-795-99-e-efetividadesustentabilidade-ambiental>. Acesso em: 04 fev. 2021.

CAPÍTULO 3

ESTRUTURA E DIVERSIDADE ALFA DE UMA ÁREA DE CERRADO *SENSU STRICTO* NA RESERVA DA BIOSFERA DA SERRA DO ESPINHAÇO

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 05/03/2021

Thaís Ribeiro Costa

Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Diamantina, MG
<http://lattes.cnpq.br/6760078833393368>

Leovandes Soares da Silva

Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Diamantina, MG
<http://lattes.cnpq.br/2203895481009630>

Heitor Alves Bispo Júnior

Programa de Pós-graduação em Ciências Humanas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Diamantina, MG
<http://lattes.cnpq.br/1243489217529335>

Miriana Araújo de Souza Ribeiro

Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Diamantina, MG
<http://lattes.cnpq.br/2709265039169731>

Anne Priscila Dias Gonzaga

Programa de Pós Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Diamantina, MG
<http://lattes.cnpq.br/3457070198865502>

RESUMO: Nos últimos anos, áreas naturais do Cerrado têm sido convertidas em diferentes sistemas de uso e ocupação do solo. Igualmente grave é a distribuição altamente fragmentada dos habitats remanescentes que interfere na viabilidade de manutenção das comunidades biológicas. Assim, considerando a vulnerabilidade da vegetação do Cerrado, este estudo teve por objetivo caracterizar os padrões de diversidade e estrutura da flora arbustiva-arbórea em uma área de Cerrado *sensu stricto* localizada no município de Felício dos Santos, MG, (Reserva da Biosfera da Serra do Espinhaço - RBSE). Foram alocadas aleatoriamente 10 parcelas de 20x50m, sendo registrados todos os indivíduos arbustivo-arbóreos vivos que atendessem ao critério de inclusão: diâmetro à 0,30 m do solo (DAS) \geq 5cm. Para a análise dos dados foram calculados parâmetros fitossociológicos e índices de diversidade e distribuição da densidade de árvores por classe diamétrica. Foram registrados 684 indivíduos, totalizando 51 espécies distribuídas em 34 gêneros e 23 famílias botânicas. As famílias que apresentaram maior riqueza em espécies foram: Fabaceae (4); Melastomataceae (5) e Vochysiaceae (4). Dentre as espécies amostradas, as mais representativas em todos os parâmetros foram: *Eriotheca gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns, *Vochysia discolor* Warm., *Miconia ferruginata* DC., *Qualea cordata* (Mart.) Spreng. e *Qualea parviflora* Mart. Estas somaram 40% do valor de importância; perfizeram 44,7% da densidade total de indivíduos e 53% da dominância total. Os valores de diversidade de Shannon (3,17 nats.ind-1) e de uniformidade de Pielou (0,8) evidenciaram

heterogeneidade florística e baixa dominância ecológica. A distribuição diamétrica dos indivíduos arbustivo-arbóreos da comunidade e das cinco principais populações seguem o mesmo padrão de *J*-invertido, com maior porcentagem de indivíduos concentrando-se na menor classe de diâmetro. Este estudo possibilitou identificar padrões gerais e particularidades da área, contribuindo para subsidiar a implementação e consolidação de políticas públicas consistentes para a conservação da diversidade.

PALAVRAS - CHAVE: Conservação; Distribuição diamétrica; Fitosociologia.

ALPHA STRUCTURE AND DIVERSITY OF CERRADO *SENSU STRICTO* AREA IN THE ESPINHAÇO RANGE BIOSPHERE RESERVE

ABSTRACT: In recent years, natural areas in the Cerrado have been converted into different land use and occupation systems. Equally serious is the highly fragmented distribution of the remaining habitats, which interferes with the viability of maintaining biological communities. Thus, considering the vulnerability of the Cerrado vegetation, this study aimed to characterize the patterns of diversity and structure of the shrub-tree flora in an area of Cerrado *sensu stricto*, located in the municipality of Felício dos Santos - MG (Espinhaço Range Biosphere Reserve). 10 plots of 20x50m were randomly allocated, and all live shrub-tree individuals that met the inclusion criteria were recorded: diameter at 0.30 m from the ground (DAS) \geq 5cm. For data analysis, phytosociological parameters, diversity indices and tree density distributions by diametric class were calculated. 684 individuals were registered, totaling 51 species distributed in 34 genera and 23 botanical families. The families that had the highest species richness were: Fabaceae (7); Vochysiaceae (5); Melastomataceae (4); Myrtaceae and Asteraceae (3). Among the sampled species, the most representative in all parameters were: *Eriotheca gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns, *Vochysia discolor* Warm., *Miconia ferruginata* DC., *Qualea cordata* (Mart.) Spreng. and *Qualea parviflora* Mart. These accounted for 40% of the importance value, making up 44.7% of the total density of individuals and 53% of total dominance. The values of Shannon's diversity (3.17) and Pielou's uniformity (0.8) showed floristic heterogeneity and low ecological dominance. The diametric distribution of shrub-tree individuals in the community and of the five main populations follows the same pattern of inverted J, with a higher percentage of individuals concentrating on the smallest diameter class. This study made it possible to identify general patterns and particularities in the area, contributing to support the implementation and consolidation of consistent public policies for the conservation of diversity.

KEYWORDS: Conservation; Diametric distribution; Phytosociology.

1 | INTRODUÇÃO

Existe um consenso na comunidade científica de que o mundo vive uma crise ambiental e que entrou numa nova era geológica no último século: o Antropoceno (LEWISMASLIN, 2015). As taxas de extinção das espécies estão muito mais altas, levando alguns autores a afirmarem que estamos vivenciando a sexta extinção em massa (CEBALLOS et al., 2017). No entanto, apesar das outras cinco extinções em massa terem sido provocadas por eventos estocásticos ou naturais, a presente ocorre devido às mudanças ambientais

causadas por atividades antrópicas (DIRZO et al., 2014; CEBALLOS et al., 2017).

As principais causas das extinções da flora são as invasões biológicas, perda de habitat, fragmentação, queimadas e mudanças climáticas globais em curso, especialmente nos ecossistemas savânicos (YOUNG et al., 2016). O desmatamento contínuo nas últimas décadas, transformou o Cerrado como uma das savanas mais ameaçadas do mundo e, um dos biomas mais ameaçados do Brasil (AGUIAR et al., 2016).

No Brasil, estima-se que menos de 20% desta vegetação permaneça intacta, enquanto apenas 7,44% do território está legalmente protegido em Unidades de Conservação (BUENO et al., 2016). Enquanto isso, muitas espécies ameaçadas de extinção permanecem fora de quaisquer parques ou reservas (MMA, 2011), contribuindo para o status do Cerrado como um dos *hotspots* de biodiversidade do mundo (MYERS et al., 2000). Lamentavelmente, esse cenário é ainda mais alarmante devido ao sucateamento científico e à negligência do governo brasileiro em controlar seus recursos naturais que, pode gerar resultados não esperados para a conservação da biodiversidade no Cerrado (BOCKMANN et al., 2018).

Dentro desta perspectiva, é interessante endereçar questões para avaliar a composição de espécies, diversidade biológica e identificar a estrutura dos habitats bem como sua relação com o ambiente ao longo do tempo. Este conhecimento sobre as comunidades biológicas abarca pilares muito importantes para tomadas de decisões mais cautelosas no uso sustentável, conservação e restauração dos recursos genéticos (COLLEVATTI et al., 2013).

Assim, considerando a vulnerabilidade da vegetação do Cerrado, este estudo teve por objetivo caracterizar os padrões de diversidade e estrutura da flora arbustiva-arbórea em uma área de Cerrado *sensu stricto*, localizada na Reserva da Biosfera da Serra do Espinhaço.

2 | MATERIAS E MÉTODOS

2.1 Caracterização da Área de Estudo

Reconhecida pela Unesco como Reserva da Biosfera, a Serra do Espinhaço é uma das mais importantes regiões biogeográficas brasileiras e centros de endemismo de espécies na América do Sul (UNESCO, 2021). Localizada no Estado de Minas Gerais (ao Sudeste), a RBSE se estende por 10,2 milhões de hectares. A área amostrada localiza-se no município de Felício dos Santos, situado na porção nordeste da RBSE, integrando a microrregião de Diamantina (IBGE, 2008), especificamente no Alto Vale do Araçuaí.

O clima da área é caracterizado como mesotérmico (Cwb na classificação de Geiger-Köppen), marcado por verões brandos e úmidos (outubro a abril), invernos mais frescos e secos (junho a agosto), com pequenas transições nos meses de maio e setembro. A

precipitação varia de 1250 mm a 1550 mm e a temperatura média anual varia entre 18° a 19°C (INMET, 2021).

Quanto à geologia, considera-se que Felício dos Santos apresenta unidades litoestratigráficas diversificadas e distribuídas regionalmente (BISPO JR, 2020, p. 53). Na área pesquisada predomina a formação geológica Batólito Itanguá (PPYI) que caracteriza a geomorfologia do município (BISPO JR, 2020). O solo predominante do local de estudo é o Neossolo Litólico Órtico típico, textura arenosa cascalhenta. Formado pela decomposição da rocha quartzítica, este solo apresenta cor branca, pouca profundidade e baixa fertilidade natural (PEREIRA et al., 2015).

As condições edafo-climáticas do município, favorecem o desenvolvimento de um mosaico da vegetação, com predominância de formações de Cerrado *sensu stricto*, especialmente nas porções mais planas do terreno. Já nas áreas com afloramentos de quartzítico a vegetação dominante é formada pelos Campos Rupestres. Além disso, há presença de fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual, conferindo um caráter ecotonal à área (FAGUNDES et al., 2020).

2.2 Amostragem da Vegetação

O fragmento de Cerrado *sensu stricto* selecionado constitui uma porção da Reserva Legal de propriedade privada e está inserido em uma área arqueológica, conhecida como Sítio Sampaio. Nesta área, vem sendo desenvolvidas diversas pesquisas no campo da Arqueologia pelo Laboratório de Arqueologia e Estudo da Paisagem (LAEP/CEGEO/UFVJM) (FAGUNDES et al., 2020). O fragmento possui área aproximada de 7 ha, com altitude média de 880 m.

No fragmento foram alocadas aleatoriamente 10 parcelas de 20x50m, sendo registrados todos os indivíduos arbustivo-arbóreos vivos que atendessem ao critério de inclusão: diâmetro a 0,30 m do solo (DAS) \geq 5cm.

A identificação das plantas, sempre que possível, foi feita *in situ*. O material botânico coletado, tanto fértil quanto vegetativo, foi depositado como coleção testemunho no Herbário Dendrológico Jeanine Felfili (HDJF) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM). As espécies foram classificadas em famílias de acordo com o sistema do APG, *Angiosperm Phylogeny Group IV* (APG IV, 2016).

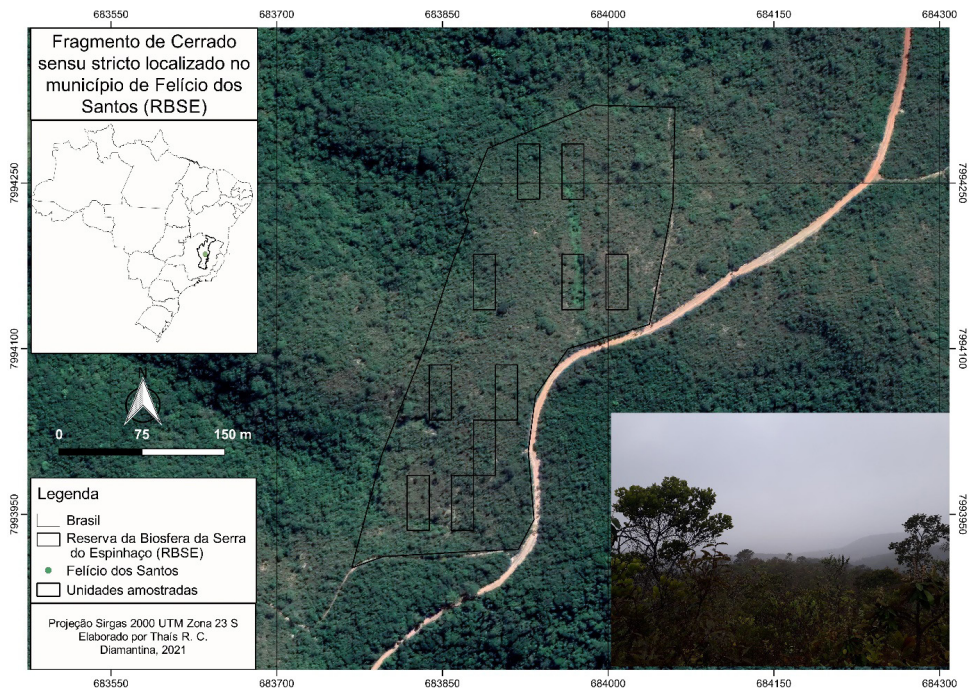


Figura 1. Área amostral do fragmento de Cerrado sensu stricto localizado em Felício dos Santos (Reserva da Biosfera da Serra do Espinhaço)

Fonte: Os autores.

2.3 Análise dos Dados

A diversidade alfa da comunidade estudada foi avaliada por meio do índice de Shannon-Wiener (H') e de equabilidade de Pielou (J') (FELFILI; REZENDE, 2003).

Para a análise estrutural foram calculados os parâmetros fitossociológicos clássicos propostos por Mueller-Dombois e Ellenberg (1974). Além disso, a fim de avaliar o porte das comunidades e das principais populações, os indivíduos amostrados foram distribuídos em classes de diâmetro com intervalo crescente para se compensar o forte decréscimo da densidade nas classes de tamanho maiores, típico da distribuição em J-invertido (BOTREL et al., 2002).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registrados 684 indivíduos, totalizando 51 espécies distribuídas em 34 gêneros e 23 famílias botânicas (Tabela 1). As famílias que apresentaram maior riqueza em espécies foram: Fabaceae (7); Melastomataceae (5); Vochysiaceae (4) e Myrtaceae (3), que representam 43,13% da flora amostrada. Os gêneros com maior número de espécies

foram: *Qualea* (4), *Miconia* (3) e *Eremanthus* (2) que juntos perfazem 17,6% das espécies.

Família	Espécie	Ni	DR	FR	DOR	VI
Malvaceae	<i>Eriotheca gracilipes</i> (K.Schum.) A.Robyns	57	8,33	5,13	17,48	30,94
Vochysiaceae	<i>Vochysia discolor</i> Warm.	33	13,45	4,10	8,51	26,06
Melastomataceae	<i>Miconia ferruginata</i> DC.	92	10,82	5,13	6,84	22,79
Vochysiaceae	<i>Qualea cordata</i> Spreng.	50	4,82	3,59	12,35	20,77
Vochysiaceae	<i>Qualea parviflora</i> Mart.	74	7,31	4,10	8,13	19,54
Malpighiaceae	<i>Byrsonima coccolobifolia</i> Kunth	47	6,87	5,13	4,67	16,67
Ebenaceae	<i>Diospyros lasiocalyx</i> (Mart.) B.Walln.	12	4,68	4,10	2,52	11,30
Caryocaraceae	<i>Caryocar brasiliense</i> Cambess.	5	3,22	4,10	3,43	10,75
Vochysiaceae	<i>Qualea grandiflora</i> Mart.	22	3,22	4,10	2,97	10,29
Araliaceae	<i>Didymopanax macrocarpus</i> (Cham. & Schtdl.) Seem.	22	3,65	4,10	1,85	9,61
Primulaceae	<i>Myrsine guianensis</i> (Aubl.) Kuntze	32	3,80	4,10	1,49	9,40
Calophyllaceae	<i>Kielmeyera lathrophyton</i> Saddi	12	3,07	4,62	1,55	9,23
Melastomataceae	<i>Pleroma candolleianum</i> (Mart. ex DC.) Triana	25	1,75	2,56	3,87	8,19
Fabaceae	<i>Enterolobium gummiferum</i> (Mart.) J.F.Macbr.	5	2,63	3,08	1,58	7,28
Fabaceae	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	21	2,19	3,59	1,06	6,84
Ericaceae	<i>Agarista oleifolia</i> (Cham.) G.Don	26	1,75	3,59	1,30	6,64
Lamiaceae	<i>Hyptidendron canum</i> (Pohl ex Benth.) Harley	18	1,75	1,54	3,15	6,44
Proteaceae	<i>Roupala montana</i> Aubl.	4	0,73	1,03	4,17	5,93
Apocynaceae	<i>Aspidosperma tomentosum</i> Mart.	12	0,73	2,05	2,25	5,03
Asteraceae	<i>Eremanthus incanus</i> (Less.) Less.	15	1,02	3,08	0,59	4,69
Fabaceae	<i>Hymenaea martiana</i> Hayne	3	1,32	2,56	0,47	4,35
Loganiaceae	<i>Strychnos pseudoquina</i> A.St.-Hil.	7	2,05	1,54	0,65	4,24
Asteraceae	<i>Lychnophora salicifolia</i> Mart.	14	0,88	2,05	0,53	3,46
Vochysiaceae	<i>Qualea multiflora</i> Mart.	13	0,88	2,05	0,30	3,23
Ochnaceae	<i>Ouratea hexasperma</i> (A.St.-Hil.) Baill.	9	1,90	0,51	0,69	3,10
Fabaceae	<i>Leptolobium dasycarpum</i> Vogel	6	0,58	0,51	1,93	3,03
Fabaceae	<i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	2	0,88	1,54	0,35	2,77
Asteraceae	<i>Eremanthus erythropappus</i> (DC.) MacLeish	6	0,44	1,03	1,02	2,48
Melastomataceae	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	6	0,29	1,03	0,72	2,04
Apocynaceae	<i>Himatanthus obovatus</i> (Müll. Arg.) Woodson	1	0,44	1,03	0,26	1,72
Annonaceae	<i>Annona crassiflora</i> Mart.	3	0,44	1,03	0,19	1,65

Styracaceae	<i>Styrax ferrugineus</i> Nees & Mart.	2	0,44	1,03	0,18	1,65
Myrtaceae	<i>Eugenia dysenterica</i> (Mart.) DC.	3	0,29	1,03	0,26	1,58
	Morfotipo 6	1	0,29	1,03	0,14	1,46
Primulaceae	<i>Myrsine guianensis</i> (Aubl.) Kuntze	3	0,29	1,03	0,08	1,40
Dilleniaceae	<i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil.	2	0,15	0,51	0,43	1,09
Fabaceae	<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth	1	0,29	0,51	0,18	0,99
Clusiaceae	<i>Kielmeyera coriacea</i> Mart. & Zucc.	1	0,15	0,51	0,29	0,95
	Morfotipo 3	1	0,29	0,51	0,11	0,91
Apocynaceae	<i>Hancornia speciosa</i> Gomes	2	0,29	0,51	0,10	0,91
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum suberosum</i> A.St.-Hil.	2	0,15	0,51	0,22	0,88
	Morfotipo 4	1	0,15	0,51	0,21	0,87
Myrtaceae	<i>Psidium salutare</i> (Kunth) O. Berg	1	0,15	0,51	0,21	0,87
Melastomataceae	<i>Miconia burchellii</i> Triana	2	0,15	0,51	0,16	0,82
Fabaceae	<i>Machaerium opacum</i> Vogel	2	0,15	0,51	0,14	0,79
Myrtaceae	<i>Marlierea laevigata</i> (DC.) Kiaersk.	1	0,15	0,51	0,09	0,75
	Morfotipo 2	1	0,15	0,51	0,09	0,75
	Morfotipo 5	1	0,15	0,51	0,08	0,74
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum tortuosum</i> Mart.	1	0,15	0,51	0,06	0,72
	Morfotipo 1	1	0,15	0,51	0,05	0,71
Rubiaceae	<i>Palicourea rigida</i> Kunth	1	0,15	0,51	0,04	0,70

Tabela 1 - Parâmetros fitossociológicos da flora arbustiva-arbórea do fragmento de Cerrado *sensu stricto* - Felício dos Santos (RBSE). As espécies arbóreas estão dispostas em ordem decrescente de VI. Onde: Ni: Número de Indivíduos DR = Densidade Relativa; FR = Frequência Relativa; DoR = Dominância Relativa; VI = Valor de Importância

Fonte: Autores, 2021.

As famílias mencionadas possuem grande destaque em áreas de Cerrado no estado de Minas Gerais (COSTA et al., 2010; SILVA et al., 2020). Para a família Fabaceae, em especial, tem sido sugerido a capacidade de algumas espécies em fixar nitrogênio, o que é importante para o sucesso na colonização (CHAER et al., 2011), principalmente em condições de solos de baixa fertilidade como na área de estudo. Para as famílias Vochysiaceae e Melastomataceae, típicas de áreas de Cerrado, estudos indicam que estas plantas têm potencial de ser alumínio-acumuladoras (Goodland; Pollard, 1978), proporcionando vantagem para crescer com sucesso nestes solos.

O fragmento apresenta 13 espécies raras (densidade inferior a 1 indivíduo) (MARTINS, 1991), que representam 25,3% das espécies amostradas. Foi observado em alguns estudos em fitofisionomias de Cerrado que a maioria das espécies ocorre em baixa densidade (OLIVEIRA et al., 2015; RIOS et al., 2018; SILVA et al., 2020). Este número acentua a importância de definir estratégias para conter a exploração de espécies e a fragmentação dessas áreas. Deve-se considerar ainda a urgência da implementação de

corredores ecológicos que permitam o fluxo gênico destas espécies, impossibilitando processos de extinção e garantindo que estas populações permaneçam viáveis.

Em relação à estrutura do fragmento foi gerada uma estimativa de área basal (dominância) de 5,1335 m².ha⁻¹, valores abaixo da média encontrada para áreas de Cerrado sensu stricto (FELFILI, 2008; SILVA et al., 2020). Este resultado pode ser atribuído à presença de fatores como incidência de queimadas e pisoteio de gado na área, como constatado em campo. O fogo ocasiona mudanças microclimáticas pela queima da copa, com o aumento da incidência solar, elevação da temperatura do solo, e provocando alterações na evaporação de água (PIVELLO et al., 2010), que conseqüentemente afeta as taxas de sobrevivência dos indivíduos e incorporação de biomassa (LAWES; CLARCK, 2017).

As espécies que se destacaram pelo valor de importância (VI) foram: *Eriotheca gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns, *Vochysia discolor* Warm., *Miconia ferruginata* DC., *Qualea cordata* (Mart.) Spreng. e *Qualea parviflora* Mart. Estas, somaram 40% do valor de importância, perfizeram 44,7% da densidade total de indivíduos e 53 % da dominância total.

O fragmento apresentou índice de equabilidade de Pielou equivalente a 0,80 e índice de diversidade de Shannon de 3,17 nats. ind⁻¹. Estes valores enquadram-se dentro da faixa de variação (3,16 a 3,73) de outros estudos no Cerrado em Minas Gerais (COSTA et al., 2010; SILVA et al., 2020). Este resultado evidencia elevada diversidade de espécies para a área de estudo, o que ressalta sua importância para a complementaridade e conectividade da flora regional. O valor de equabilidade obtido indica que esta área apresenta baixa dominância ecológica, o que é confirmado pela ausência de dominância de um grupo de espécies em relação às demais.

Esta condição pode indicar que diferentes populações estão tendo sucesso na colonização na comunidade estudada, ou pode tratar de baixo efeito da competição interespecífica apesar dos extremos de disponibilidades de recursos (solos rasos e pedregosos, stress hídrico, queimadas, etc) (MAZON et al., 2019). Isto representa que as espécies amostradas têm potencial de serem incluídas em projetos de restauração áreas degradadas do Cerrado. Sendo assim, ecossistemas fragmentados necessitam de políticas de conservação mais rigorosas, que garantam à preservação e restauração desses ecossistemas

No que tange a distribuição de indivíduos nas classes diamétricas, a comunidade arbórea apresentou claro padrão de exponencial negativo (J-invertido), ou seja, alta concentração de indivíduos nas classes menores e redução acentuada no sentido das classes maiores (Figura 2A). Assim, a comunidade se encontra com distribuição diamétrica balanceada, ou seja, a mortalidade é compensada pelo recrutamento dos indivíduos entre as classes. Esta condição indica ainda uma comunidade estoque, com idade e composição de espécies variadas (SCOLFORO et al., 2008).

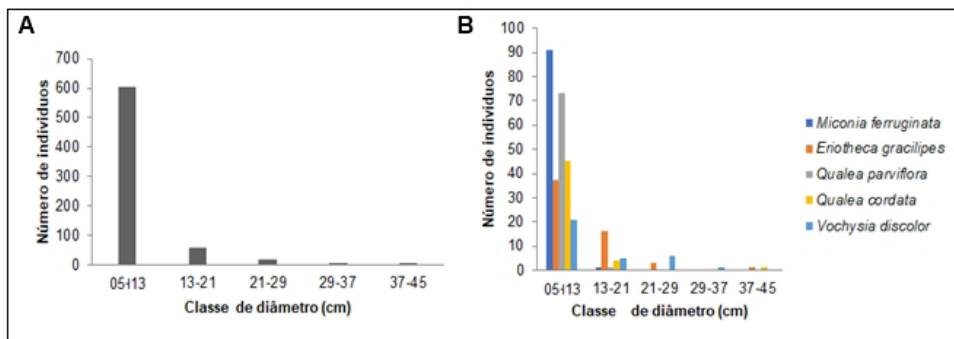


Figura 2 - Distribuição diamétrica da flora arbórea-arbustiva do fragmento de Cerrado sensu stricto, em Felício dos Santos (Reserva da Biosfera da Serra do Espinhaço. Em que: A) Indivíduos da comunidade; B) Indivíduos das cinco principais populações.

Fonte: Autores, 2021

A classe de DAP de 5 a 13 cm compreendeu cerca de 87,7% dos indivíduos, sendo que para a classe consecutiva houve participação de 7,3% dos indivíduos. As classes de diâmetros maiores (acima de 21 cm) perfizeram juntas menos de 5% do total de indivíduos amostrados (Figura 2A). Assim, podemos afirmar que a área estudada apresenta padrão estrutural condizente com o observado em áreas naturais não perturbadas. Pois, embora esteja submetido a diferentes tipos de distúrbios (queimadas, pisoteio de gado, presença de estradas), o fragmento mantém sua estrutura, com fluxo de indivíduos das primeiras classes diamétricas para as últimas independente da composição de espécies (OLIVEIRA et al., 2015).

Outro indicativo de que o fragmento apresenta estabilidade na sua autorregeneração é que para as cinco principais populações estudadas, foi observado o mesmo padrão de distribuição diamétrica que a comunidade (Figura 2B). Para *M. ferruginata* e *Q. parviflora* a concentração do grande número de indivíduos jovens apenas na primeira classe diamétrica pode se tratar da ecofisiologia destas espécies. Porém representa uma ameaça a essas populações, uma vez que árvores mais finas reduzem a chance de sobrevivência em áreas com queimadas frequentes (RIOS et al., 2018).

Salientamos que o padrão estrutural das populações depende das características autoecológicas das espécies em sinergia com as variáveis ambientais locais (saturação de alumínio, profundidade do solo, disponibilidade hídrica, etc) (MAZON et al., 2019). Portanto, somente a maior densidade de indivíduos nas classes inferiores não irá garantir sua manutenção na comunidade (MARQUES et al., 2020). Ademais, retrocessos por degradação (queimadas, corte seletivo, mudanças climáticas) podem intervir em qualquer fase do processo regenerativo, fazendo com que a comunidade não atinja a condição de estabilidade (MACHADO, 2008).

4 | CONCLUSÕES

A área se apresenta em processo de sucessão secundária, provavelmente desencadeada por eventos passados de perturbação, confirmados pela estrutura de tamanhos observados, com predomínio de indivíduos jovens. Apesar disto, a diversidade e equabilidade encontradas, somadas aos parâmetros fitossociológicos, revelaram elevada diversidade florística local.

Novos esforços direcionados para avaliar a interação da vegetação com as mudanças ambientais em determinado intervalo de tempo podem fornecer informações importantes sobre a capacidade de regeneração e a ocorrência de perturbações em áreas de Cerrado, proporcionando bases sólidas para medidas de manejo e restauração.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, L. M. S.; BERNARD, E.; RIBEIRO, V.; MACHADO, R. B.; JONES, G. **Should I stay or should I go? Climate change effects on the future of Neotropical savannah bats.** *Global Ecology and Conservation* 5: 22-33, 2016.
- APG. Angiosperm Phylogeny Group (APG IV). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.181, p.1-20, 2016
- BISPO JÚNIOR, H. A. **Lugares e Gentes: as relações entre pessoas, paisagens e Arqueologia em Felício dos Santos, Alto Vale do Araçuaí, Minas Gerais (2010-2019).** Dissertação de Mestrado, Diamantina, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 147 p, 2020.
- BOCKMANN, F. A.; RODRIGUES, M. T.; KOHSLDORF, T.; STRAKER, L. C., GRANT, T.; DE PINNA, M. C. C.; DE SOUZA AMORIM, D. (2018). **Brazil's government attacks biodiversity.** *Science*, v. 360, n. 6391, p. 865.1–865, 2018. DOI:10.1126/science.aat7540.
- BOTREL, R. T.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; RODRIGUES, L. A.; CURI, N. **Influência do solo e topografia sobre as variações da composição florística e estrutura da comunidade arbóreo arbustiva de uma floresta estacional semidecidual em Ingai, MG.** *Revista Brasileira de Botânica*, v. 25, n. 2, p. 195-213, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).** Disponível em: <http://www.inmet.gov.br>. Acesso em: 20/02/2021.
- BUENO, M. L.; PENNINGTON, R. T.; DEXTER, K. G.; KAMINO, L. H. Y.; PONTARA, V.; NEVES, D. M. et al. **Effects of quaternary climatic fluctuations on the distribution of Neotropical savanna tree species.** *Ecography*, v. 39, n. 1, p. 1-12, 2016.
- CEBALLOS, G.; EHRLICH, P. R. e DIRZO, R. **Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines.** *Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 114, n. 30, p. 6089-6096, 2017. DOI:10.1073/pnas.1704949114.
- CHAER, G. M.; RESENDE, A. S.; CAMPELLO, E. F. C.; FARIA, S. M.; BODDEY, R. M.; SCHIMIDT, S. **Nitrogen-fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil.** *Tree Physiology*, v. 31, n.2, p. 139-149, 2011.

COLLEVATTI, R. G.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; OLIVEIRA, G.; DOBROVOLSKI, R. e TERRIBILE, L. C. **Stability of Brazilian Seasonally Dry Forests under Climate Change: Inferences for Long-Term Conservation**. American Journal of Plant Sciences, v. 4, n. 4, p. 792–805, 2013. DOI:10.4236/ajps.2013.44098.

COSTA, F. V.; OLIVEIRA, K. N.; NUNES, Y. R. F.; MENINO, G. C. O. BRANDÃO, D. O.; ARAÚJO, L. S.; MIRANDA, W. O.; NETO, S. D. A. **Florística e estrutura da comunidade arbórea de duas áreas de Cerrado Sentido Restrito no norte de Minas Gerais**. Cerne, Lavras, v. 16, n. 3, p. 267-281, jul./set. 2010.

DIRZO, R.; YONG, H. S.; GALETTI, M.; CEBALLOS, G.; ISAAC, N. J. B.; COLLEN, B. **Defaunation in the Anthropocene**. Science v. 80, n. 345, p. 401–406, 2014.

FAGUNDES, M.; KUCHENBECKER, M.; VASCONCELOS, A. M. C.; GONZAGA, A. P. D. **Paisagens e Lugares?** Caracterização geoambiental e cultural dos sítios arqueológicos do complexo três fronteiras, Alto Vale do Rio Araçuaí, Minas Gerais. Revista Ra'e Ga Espaço Geográfico em Análise, v. 47, p. 67-84, 2020.

FAGUNDES, M.; BAGGIO FILHO, H.; SILVA, A. C.; GRECO, W. S.; GALVÃO, L. G.; AROEIRA, M. D. O **Sítio Arqueológico Sampaio, Alto Vale do Araçuaí, Felício Dos Santos, Minas Gerais: Paisagem, Cronologia e Repertório Cultural para Compreensão das Ocupações Humanas Antigas do Espinhaço Meridional**. Revista Espinhaço, v. 11, p. 65-76, 2017.

FELFILI, M. C. **Proposição de critérios florísticos, estruturais e de produção para manejo do Cerrado *sensu stricto* do Brasil Central**. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008. 133 f.

FELFILI, J. M.; RESENDE, R. P. **Conceitos e métodos em fitossociologia**. Comunicações técnicas florestais. Brasília: Universidade de Brasília, Departamento de Engenharia Florestal, 2003.

GOODLAND, R.; POLLARD, R. **Aluminium and nutrient strategies of cerrado trees**. II Congresso Lation-Americano de Botânica. Resumos, p. 71-72. 1978.

BISPO JÚNIOR, Heitor Alves. **Lugares e Gentes: as relações entre pessoas, paisagens e Arqueologia em Felício dos Santos, Alto Vale do Araçuaí, Minas Gerais (2010-2019)**, Dissertação de Mestrado, Diamantina, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2020. 147 p.

IBGE. **Censo 2008**. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br>>. Acessado em 07 de Fevereiro de 2021.

LAWES, M. J.; CLARK, P. J. **Ecology of plant resprouting: populations to community responses in fire-prone ecosystems**. Plant Ecology, v. 212, p. 1937-1943, 2011. 10.1007/s11258-011-9994-z

LEWIS, S. L.; MASLIN, M. A. **Defining the Anthropocene**. Nature, v. 519, p. 171–180, 2015.

MACHADO, E. L. M. **Heterogeneidade temporal e espacial de comunidades arbóreas fragmentadas na região do Alto Rio Grande, MG**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2008. 67p.

MARQUEZ, F. J.; CABRAL, A. G. A.; LIMA, C. R.; FRANÇA, P. R. C. **Florística e estrutura do componente arbustivo arbóreo da caatinga nas margens do rio Sucuru em Coxixola, Paraíba: reflexos da antropização.** Brazilian Journal of Development, v. 6, n.4,p.20058 - 20072, 2020

MAZON, J. A.; RODRIGUES SILVA, R.A.; WATZLAWICK, L. F. **Estrutura e composição da regeneração natural em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista secundária.** Pesquisa Florestal Brasileira, [S. l.], v. 39, n. 1, 2019. DOI: 10.4336/2019.pfb.39e201801698.

MMA. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Área de preservação permanente e unidades de conservação e áreas de risco. O que uma coisa tem haver com outra. Relatório de inspeção da área atingida pela tragédia das chuvas na região serrana do Rio de Janeiro / Wigold Bertoldo Schaffer et al. Brasília: MMA, 2011.

MUELLER-DOMBOIS, D.; ELLENBERG, H. **Aims and methods of vegetation ecology.** New York: John Wiley & Sons, 1974.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. **Biodiversity hotspots for conservation priorities.** Nature, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000. <http://dx.doi.org/10.1038/35002501>. PMID:10706275.

OLIVEIRA, C. P.; FRANCELINO, M. R.; CYSNEIROS, V. C.; ANDRADE, F. C.; BOOTH, M. C. **Composição florística e estrutura de um Cerrado *sensu stricto* no oeste Bahia.** Cerne, v. 21 n. 4, p. 545-552, 2015.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E CULTURA – UNESCO, 2020. **O Programa Mab: Reserva da Biosfera da Serra do Espinhaço.** Disponível em: <<http://www.unesco.org/mabdb/br/brdir/directory/biores.asp?code=BRA+06&mode=all>>. Acesso em fevereiro de 2021.

PEREIRA, E. O.; GONTIJO, B. M.; CAMPOS ABREU, L. G. A., 2015. **As ecorregiões da Reserva da Biosfera da Serra do Espinhaço: elementos para o fortalecimento da conservação da biodiversidade.** Caderno de Geografia, v. 25, n. 43, p. 18-33, 2015.

PIVELLO, V. R.; OLIVERAS, I.; MIRANDA, H. S.; HARIDASAN, M.; SATO, M. N.; MEIRELLES, S. T. **Effect of fires on soil nutrient availability in an open savanna in Central Brazil.** Plant and Soil, v. 337, n. 1-2, p. 111–123, 2010.

RIOS, M. N. S.; SOUSA-SILVA, J. C.; MALAQUIAS, J. V. **Mudanças pós-fogo na florística e estrutura da vegetação arbóreo-arbustiva de um cerrado sentido restrito em Planaltina - DF.** Ciência Florestal, Santa Maria, v. 28, n. 2, p. 469-482, abr.- jun., 2018.

SCOLFORO, J. R.; MELLO, J. M.; OLIVEIRA, A. D. (eds.). **Inventário Florestal de Minas Gerais: Floresta Estacional Semidecidual e Ombrófila - Florística, Estrutura, Diversidade, Similaridade, Distribuição Diamétrica e de Altura, Volumetria, Tendências de Crescimento e Áreas Aptas para Manejo Florestal.** Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 2008; 1029 p.

SILVA, L. S.; COSTA, T. S.; NATÁLIA VIVEIROS SALOMÃO, N. V.; OTONI, T. J. O.; MACHADO, E. L. M. **After-fire Variations in Floristic Composition at the Cerrado (Brazilian Savannah) Phytophysognomies in Curvelo, Minas Gerais, Brazil.** Floresta e Ambiente v. 27, n. 3, e20180188, 2020.

YOUNG, H. S.; MCCAULEY, D. J.; GALETTI, M. e DIRZO, R. **Patterns, Causes, and Consequences of Anthropocene Defaunation**. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* v. 47, p. 333-358, 2016.

CAPÍTULO 4

IRIDACEAE IN HIGHLAND GRASSLAND VEGETATION AREAS OF PARANÁ SOUTHERN BRAZIL

Data de aceite: 01/04/2021

Larissa Dal Molin Krüger

Laboratório de Botânica Estrutural,
Departamento de Ciências Biológicas,
Universidade Estadual do Centro-Oeste –
UNICENTRO, Guarapuava-PR, Brazil.
Programa de Pós-graduação em Biologia
Evolutiva, Universidade Estadual do Centro-
Oeste-UNICENTRO, Guarapuava-PR, Brazil.

André Luiz Gaglioti

Núcleo de Pesquisas Curadoria do Herbário
SP, Instituto de Botânica, São Paulo-SP, Brazil.
Programa de Pós-graduação em Biologia
Evolutiva, Universidade Estadual do Centro-
Oeste-UNICENTRO, Guarapuava-PR, Brazil.

Adriano Silvério

Programa de Pós-graduação em Biologia
Evolutiva, Universidade Estadual do Centro-
Oeste-UNICENTRO, Guarapuava-PR, Brazil.

ABSTRACT: Iridaceae presents wide distribution in Brazil, being only the species of tribes Sisyrrinchieae, Trimezieae and Tigridieae, belonging to subfamily Iridoideae. The present study aimed to perform a survey of the occurrence of Iridaceae in Paraná (Southern Brazil) and which of these occur in natural field area. The data about occurrence of the family were performed through field collection and revision of herbaria and scientific publication. For the survey of the species in field areas, samples were collected in 10 points. The current result has

up to date the occurrence of 75 species for the Paraná state. Concerning to field areas, previous literature recorded the occurrence of 25 species, of which 16 species were sampled, since this study obtained 17 species collected, among which *Herbertia lahue*, this becomes a first occurrence for the state. The previous literature had no record of this species and consequently the number of species for the state changes to 76. The current study highlighted the importance of grassland field areas as environment to wild species of Iridaceae.

KEYWORDS: Brazilian Campos, *Herbertia lahue*, Iridoideae, *Sisyrrinchium*.

IRIDACEAE EM CAMPOS DE ALTITUDE DO PARANÁ, SUL DO BRASIL

RESUMO: Iridaceae apresenta ampla distribuição no Brasil, sendo apenas as espécies das tribos Sisyrrinchieae, Trimezieae e Tigridieae, pertencentes à subfamília Iridoideae. O presente estudo teve como objetivo analisar a ocorrência de Iridaceae no Paraná (Sul do Brasil) e quais destas ocorrem em área natural de campo. Os dados de ocorrência da família foram realizados por meio de coleta de campo e revisão de herbários e publicação científica. Para o levantamento das espécies em áreas de campo, foram coletadas amostras em 10 pontos. O resultado atual tem até a data a ocorrência de 75 espécies para o estado do Paraná. Em relação às áreas de campo, a literatura anterior registrava a ocorrência de 25 espécies, das quais 16 espécies foram amostradas, pois neste estudo foram obtidas 17 espécies coletadas, entre as quais *Herbertia lahue*, esta se torna uma

primeira ocorrência para o estado. A literatura anterior não tinha registro desta espécie e consequentemente o número de espécies para o estado muda para 76. O presente estudo destacou a importância das áreas de campo como ambiente para espécies silvestres de Iridaceae.

PALAVRAS - CHAVE: campos do Brasil; *Herbertia lahue*; Iridoideae; *Sisyrinchium*

INTRODUCTION

The Paraná Province is recovered by a natural grassland vegetation that belongs to Tropical Rain Forest biome (locally known as Atlantic Forest) that forms mosaics with forest formations a smaller extent with the Plateau of Rio Grande do Sul and Santa Catarina (IBGE, 2012).

According to Moro and Carmo (2007), these grasslands, known in Brazil as *Campos*, possess a great diversity of vegetation with herbaceous and shrubby floristic compositions comprised of hemicryptophytes, geophytes and therophytes, and within which the family Iridaceae is widely distributed.

Species of Iridaceae Juss. are generally perennial herbs (Goldblatt, 1986), characterized by having bulbous underground stems or rhizomes and cylindrical or flat, smooth or plicate leaves; the flowers possess a perigone with subtle or distinct colourful whorls, an androecium with three free or united stamens, and a tricarpellate, trilobulate and polyspermic gynoecium with axial placentation (Eggers, 2008).

The family possesses approximately 66 genera and 2,025 species in seven subfamilies, and has a cosmopolitan distribution with its greatest diversity in the Neotropical and Paleotropical regions (Goldblatt et al., 2008).

Iridaceae belongs to Monocots clade in the order Asparagales. The monophyly of the family has been supported by cladistics and phylogenetic analysis (Dahlgren, 1985; Goldblatt et al., 1990; Souza-Chies et al., 1997; Reeves et al., 2001; Goldblatt et al., 2008).

In Brazil, Iridaceae is represented by 22 genera, 202 species, 19 subspecies and one variety, of which five genera, 112 species, nine subspecies and the one variety is endemic. The greatest diversity is concentrated in the phytogeographical regions of the Atlantic Forest, Cerrado and Pampas (Eggers et al., 2015).

The subfamilies Crocoideae Burnett and Iridoideae Eaton are widely distributed in Brazil, however, all of the native representatives belong to the latter in the Sisyrinchieae J. S. Pres, Trimezieae Ravenna and Tigridieae B. M. Kittel tribes (Deble, 2012). The most diverse and abundant genera in Brazil are *Sisyrinchium* L. (71 species and 10 subspecies), belonging to the Sisyrinchieae tribe (Eggers, 2015); *Trimezia* Salisb. ex Herb. (21 species, one subspecies and one variety) (Gil and Lovo, 2015), *Neomarica* Sprague (23 species), *Pseudotrimezia* R.C. Foster (21 species) (Lovo, 2015), belonging to the Trimezieae tribe; and *Cypella* Herb. (19 species and two subspecies), of the Tigridieae tribe (Eggers et al., 2015).

Iridaceae is highly diversified and its genera have been extensively studied due to their economic importance as ornamental plants and as sources of food and spices (Tacuatiá et al., 2012). Ecologically they provide floral rewards to pollinators in the form of pollen and oil (produced in elaiophores) (Silvério et al., 2012).

In view of the considerations, the present study addresses the need for additional knowledge regarding the distribution and diversity of Iridaceae in natural areas of Southern Brazilian highland grasslands in the state of Paraná.

MATERIAL AND METHODS

Species of Iridaceae in Paraná

Herbarium and literature surveys were carried out looking for species of Iridaceae that occur in the state of Paraná.

Collections consulted were: MBM, HUPG, HUCO, ICN and HAS. In addition, the collection from herbaria NY, P, and K were accessed virtually. The data are presented in Table 1 and 2.

The literature search was performed using the publications Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil (Eggers et al. 2010, Eggers et al. 2015) and Plantas Vasculares do Paraná (Vascular Plants of Paraná; LOVO, 2014), in addition to the website *speciesLink* (2019).

Field study area

Georeferenced field sampling was carried out in 2014 and 2015 in wild highland grasslands in the state of Paraná (Figure 1). The samples were collected and vouchers were deposited at the ICN herbarium (Table 2).

The map of plant distribution (Figure 1) was produced using the program Q GIS 2.12.0-Lyo.

RESULTS

Occurrence of Iridaceae in Paraná state

The analysis of herbarium and field collections documented the occurrence of 17 genera and 75 species of two subfamilies of Iridaceae in the state of Paraná (Table 1).

For the subfamily Crocoideae G. T. Burnett, six genera and eight species were recorded belonging to the follow tribes: Gladioleae Dumortier (*Gladiolus*), Freesieae Goldblatt and Manning (*Crocasmia*, *Freesia*), Croceae Dumortier (*Babiana*, *Crocus*), Watsonieae Klatt (*Watsonia*).

The subfamily Iridoideae had a greater number of species recorded, with 11 genera and 65 species distributed among the tribes: Iridaeae B. M. Kittel (*Dietes*, *Iris*), Sisyrinchieae J. S. Presl (*Sisyrinchium*), Trimezieae Ravenna (*Trimezia*, *Neomarica*) and Tigridieae B. M.

Kittel (*Alopha*, *Calydorea*, *Cypella*, *Eleutherine*, *Gelasine*, *Phalocallis*).

Along with wild occurrence plants, 12 exotic species of the genera *Crocus*, *Babiana*, *Watsonia*, *Gladiolus*, *Crocasmia*, *Freesia* (Crocoideae) and *Dietes*, *Iris* (Iridoideae) were recorded, all grown as ornamental plants.

Among the genera represented by the 65 native species recorded for Paraná, the *Sisyrinchium* genus had the greatest number of species with 35, and the broadest distribution, followed by the *Neomarica* genus with seven species and *Cypella* with six.

The localities sampled in the present study produced 17 species (Figure 2-16), with belonging to the Sisyrinchieae tribe (*Sisyrinchium* genus), and three belonging to the Tigridieae tribe (*Calydorea*, *Herbertia*, *Gelasine* and *Phalocallis* genera).

The localities with the greatest number of sampled species were *campus* CEDETEG in Guarapuava (P1), with *S. micranthum*, *S. commutatum*, *S. palmifolium*, *S. luzula*, *S. restioides*, *S. sellowianum* and *H. lahue*; and Palmas (P5) with *S. micranthum*, *S. restioides*, *S. weirii*, *S. brasiliense* and *C. basaltica*.

Most species were found to occur on a variety of different substrates in various environments. The species found in the greatest variety of environments was *S. micranthum*, which was collected in anthropic areas, areas of rocky soil with a thin soil layer, areas of natural wild grassland with predominantly herbaceous plants and in wild grassland areas with herbaceous and woody species. The species *S. setaceum*, on the other hand, was collected only on rocky soils and in areas with low vegetation and little associated soil in the form of a thin layer.

DISCUSSION

Of the 75 species encountered in Paraná (Table A.1), 60 are native. Given that the Iridaceae family, which has a cosmopolitan distribution (Goldblatt et al., 2008), contains approximately 2,025 species, of which 202 species occur in Brazil (Eggers et al. 2015), the number of species encountered in the present study can be considered representative. The exotic species found are due to the fact that many of them are used in landscaping.

Calydorea basaltica, *Cypella pabstiana*, *S. brasiliense*, *S. densiflorum* and *S. teleanthum* are endemics of Paraná (Eggers et al., 2010). Among the exotic species, *Crocasmia crocosmiiflora* and *Iris domestica* are currently considered to be invasive to the state (IAP, 2016).

Seventeen species were sampled from areas of grassland (Table 2): *Sisyrinchium micranthum*, *S. nidulare*, *S. alatum*, *S. palmifolium*, *S. luzula*, *S. hasslerianum*, *S. setaceum*, *S. restioides*, *S. weirii*, *S. brasiliense*, *S. sellowiannun*, *S. plicatum*, *S. commutatum*, *Phalocallis coelestis*, *Herbertia lahue*, *Calydorea basaltica* and *Gelasine coerulea*.

In addition to these sampled species, records of the occurrence of several other species of Iridaceae in highland grassland were found: *S. densiflorum*, *S. hoenei*, *S.*

iridifolium, *S. purperellum*, *S. wettsteinii*, *Calydorea basaltica*, *Trimezia juncifolia* and *T. spathata* (Ritter et al., 2010; Ritter et al., 2007). Therefore, of the 60 species of Iridaceae native to Paraná obtained in this study, approximately 25 occur in grassland vegetation, which corresponds to 41% of the species of the state.

Of the species sampled, *Calydorea basaltica*, *S. brasiliense*, *S. hasslerianum*, *S. nidulare*, *S. setaceum*, *S. alatum* and *S. plicatulum* are typical of the Atlantic Forest. Species reported from two biomes are *S. commutatum*, *S. luzula* and *S. weirii* (Atlantic Forest and Cerrado); and *S. sellowiannun* and *Herbertia lahue* (Atlantic Forest Pampa) (Eggers et al., 2015).

The most abundantly sampled species was *S. micranthum*, which was sampled at all of the collection localities. Martins-Ramos et al. (2011) found this species in wetland areas, and Deble (2012) recorded it primarily from altered areas. The present study added records of this species in compacted, rocky soil and in areas of closed grassland vegetation.

It has been suggested that the wide occurrence of *Sisyrinchium micranthum* is due to its reproductive system and intrapopulation variation (Tacuatiá et al., 2012), and so it is considered a weed in areas of commercial production (Cesarin et al., 2013).

The present study sampled *S. commutatum* from anthropic areas. Cervi et al. (2007) described the occurrence of this species in predominantly herbaceous phytophysiognomies with litholic or cambisol soils referred to as Woody Savanna Grassland, and also in herbaceous formations with predominance of grasses and rocky fields, called Rupestrian Grassland.

Sisyrinchium nidulare was collected both in rocky areas and in areas with herbaceous plants of the families Poaceae and Cyperaceae; this species may also occur in Woody Savanna Grassland (Cervi et al., 2007), while *S. setaceum* was sampled at two localities with rocky areas and a thin stratum of bryophytes with extensive sun exposure, although it can also be found in granitic grasslands (Eggers 2008).

Among genera, *Sisyrinchium* (*Sisyrinchieae* tribe) had the greatest occurrence in the state for all the surveys performed and collections examined in the present study. Eggers (2015) described the occurrence of 71 species of *Sisyrinchium* in Brazil. In the present study, 35 species were documented for Paraná from herbarium collections and the literature review, of which 13 were sampled in grasslands formation.

The genus with the second greatest occurrence (seven species) was *Neomarica* (*Trimezieae* tribe). The majority of the species of this genus are typical of Atlantic Forest, occurring from coastal dunes to mountaintop coastal forests, and are typical of the understory of semideciduous forests, yet some are native to areas of Restinga (Gil, 2015; Capellari Júnior, 2003), which explains why no species of *Neomarica* was found naturally occurring in the grasslands evaluated in this study.

Tigridieae was the most diverse tribe in terms of the number of genera occurring in Paraná with five genera and 17 species, but only *P. coelestis*, *C. basaltica*, *H. lahue* and *G.*

coerulea were recorded from campo grassland areas.

Herbertia Sweet presents seven species actually described to Brazil (*Herbertia amabilis* Deble & F. S. Alves, *Herbertia darwinii* Roitman & J. A. Castillo, *Herbertia furcata* (Klatt) Ravenna, *Herbertia lahue* (Molina) Goldblatt, *Herbertia pulchella* Sweet, *Herbertia quareimana* Ravenna and *Herbertia zebrina* Deble), all of them localized in Rio Grande do Sul State (Eggers, 2015). The present study recorded a new occurrence for the state of Paraná. *Herbertia lahue* was sampled at a single locality; however, because it is an anthropic area it cannot be conclusive that this species is native or not. However, *H. lahue* appeared adapted to local environmental conditions, possessing vegetative characteristics for energy reserves and floral morphology for attracting visitors, yet retaining the ability to self-pollinate (Souza-Chies et al., 2012).

An important characteristic of the Iridaceae is the extensive morphological variation and diverse forms of reproduction of some of its groups. It is possible that its sexual type dispersal system has a strong influence on population differentiation within the family (Souza-Chies et al., 2014), although vegetative propagation from stems also contributes to the reproductive system.

Almeida et al. (2015) reported that subterranean organs with energy reserves, such as carbohydrates, support phenological events by protecting the plant from environmental stress. Because species vary in the sugar composition of these reserves, it has proven to be a useful characteristic for determining taxonomic relationships. For example, Trimezieae and Tigridieae are similar in possessing extensive reserves, in contrast to Sisyrinchieae, which possesses few nutritive substances in its rhizome-like stem.

This current data about the wide distribution of Iridaceae in Paraná and the importance of new points of collection in the field areas, once a new species has sampled for the region.

The eight collections consulted between herbaria and literature had records of 17 genera and 75 species of Iridaceae in Paraná. However, in searches to the Reflora website, there were no records of all of them until now, this reinforces the relevance of this study.

Previous research by authors for the field areas recorded, with the exception of *H. lahue*, the same species of this work as eight other species. This work provided the first record of *H. lahue*, the number of species for the Paraná and field areas, become outdated in all the collections consulted.

The genus with the highest representation in the state is *Sisyrinchium* (35 species), followed by *Calydorea* and *Cypella* (4 species each one) and *Neomarica* (3 species). It is concluded that the state of Paraná, south of Brazil, has actually 75 species of Iridaceae, and in field areas 24 species unknown information until then.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the following institutions and their representatives for all the help offered: AAU, ALCB, B, BG, BM, BOTU, CAY, COAH, COL, CUVC, ESA, F, GUA, EAFM, HAMAB, HEPH, HRCB, HUEFS, HUT, IAC, IBGE, INPA, K, M, MEDEL, MBM, MIN, MIRR, MO, P, PMS, QCA, R, RB, SP, SPF, SPSF, U, UEC, UFAC, UPCB, US, VEN. This research was supported by Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO and the Programa de Pós-graduação em Biologia Evolutiva, Dr. Lillian Egger and Dr. Camila Dellanese Inácio for the plant identification.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

LDK and AS collect the plant in field, visited the herbaria and wrote the manuscript. ALG help in the taxonomic treatment.

REFERENCES

- Almeida, V.O.; Carneiro, R.V.; Carvalho, M.A.M.; Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.; Moraes, M.G. 2015. Diversity of non-structural carbohydrates in the underground organs of five Iridaceae species from the Cerrado (Brazil). *South African Journal of Botany* 96: 105–111.
- BFG 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66: 1085-1113. doi: 10.1590/2175-7860201566411.
- Capellari Jr., L. R. 2003. Espécies de *Neomarica* Sprague (Iridaceae): potencial ornamental e cultivo. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental* 9: 1–5.
- Cervi, A. C.; Linsingen, L.; Hatschbach, G.; Ribas, O. S. 2007. Vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, Município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. *Boletim Museu Botânico Municipal* 69: 1–52.
- Cesarin, A.E.; Martins, J.F.; Giancotti, P.R.F.; Nepumuceno, M.P.; Alves, P. L. C. A. 2013. Eficácia de herbicidas no controle pós-emergente de *Sisyrinchium micranthum* Cav. e *Agrostis* sp. *Revista Brasileira de Herbicidas* 12(3): 296–306.
- Dahlgren, R.M.T.; Clifford, H.T.; Yeo, P.F. 1985. *The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy*. Berlin Heidelberg. Springer-Verlag. 519pp.
- Deble, L. P. 2012. Panorama da família Iridaceae Juss. no Bioma Pampa. In: Oliveira-Deble A, Deble L. P., Leão A. L. S. *Bioma Pampa: Ambiente x Sociedade*. Edurcamp. Bagé. pp 11–29.
- Eggers, L. A. 2008. A família Iridaceae no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 6: 167–175.
- Eggers, L. A.; Gil, A.; Lovo, J.; Chukr, N. 2015. Iridaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB136>. Accessed: 08 may 2020.

Eggers, L.; Gil, A.; Lovo, J.; Chukr, N. 2010. Iridaceae. In: Forzza, R. C.; Baumgratz, J. F. A.; Bicudo, C. E. M.; Carvalho Jr., A. A.; Costa, A.; Costa, D. P.; Hopkins, M.; Leitman, P. M.; Lohmann, L. G.; Maia, L. C. *Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil*, vol. 2. Andrea Jakobsson Estúdio. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, pp 1122-1128.

Eggers, L. 2015. *Sisyrinchium*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8066>. Accessed 08 may 2020.

Eggers, L.; Pastori, T.; Chauveau, O. 2015. *Cypella*. In: Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB8046>. Accessed 09 may 2020.

Gil, A.; Lovo, J. 2015. *Trimezia*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8076>. Accessed 08 may 2020.

Gil, A. S. B.; Hall, C. F. 2015. *Neomarica*. In: Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB8052>. Accessed 09 may 2020.

Goldblatt, P. 1986. Geography of Iridaceae in Africa. *Bothalia* 14: 559–564.

Goldblatt, P. 1990. Phylogeny and Classification of the Iridaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 77: 607–627.

Goldblatt, P.; Rodriguez, A.; Powell, M. P.; Davies, T. J.; Manning, J. C., van der Bank, M.; Savolainen, V. 2008. Iridaceae 'Out of Australasia'? Phylogeny, Biogeography, and Divergence Time Based on Plastid DNA Sequences. *Systematic Botany* 33: 495–508. doi.org/10.1600/036364408785679806.

IAP, 2016. *Espécies Exóticas Invasoras do Estado do Paraná*. Available from: <http://www.iap.pr.gov.br/uploads/0a0fca82-a800-ee6d.pdf>. Accessed 20 January 2016.

IBGE, 2012. Manual técnico da vegetação brasileira. *Manuais Técnicos em Geociências nº1. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)*. Rio de Janeiro.

Inácio, C. D.; Chauveau, O.; Eggers, L. 2018. Three new species of *Sisyrinchium* (Iridaceae) from Campos of South America. *Phytotaxa* 361: 198-210. doi.org/10.11646/phytotaxa.361.2.5.

Lovo, J. 2014. Iridaceae. In: Kaeher, M.; Goldenberg, R.; Evangelista, P.H.L.; Ribas, O. S.; Vieira, A. O. S.; Hatschbach, G. G. *Plantas vasculares do Paraná*. Universidade Federal do Paraná, Paraná, Curitiba.

Lovo, J. 2015. *Pseudotrimezia* in: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB25589>. Accessed: 09 may 2020.

Martins-Ramos, D.; Chaves, C. L.; Bortoluzzi, R. D. C. L.; Mantovani, A. 2011. Florística de Floresta Ombrófila Mista Altomontana e de Campos em Urupema, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Biociência* 9: 156–166.

Moro, R. S.; Carmo, M. R. B. 2007. A vegetação campestre nos Campos Gerais. (Eds.) Melo M S, Moro RS, Guimarães G B. *Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná*. Editora UEPG, Ponta Grossa.

Overbeck, G. E.; Müller, S. C.; Fidelis, A.; Pfoadenhauer, J.; Pillar, V. D.; Blanco, C. C.; Boldrini, I. I.; Both, R.; Forneck, E. D. 2007. Brazil's neglected biome: the South Brazilian Campos. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9: 101–116. doi.org/10.1016/j.ppees.2007.07.005.

Reeves, G.; Chase, M.W.; Goldblatt, P.; Rudall, P.; Fay, M. F.; Cox, A.V.; Lejeune, B.; Souza-Chies, T. T. 2001. Molecular systematics of Iridaceae: a combined analysis of four plastid DNA sequence matrices. *Annali di Botanica* 1: 29–42.

Ritter, L. M. O.; Almeida, C. G.; Moro, R. S. 2007. Caracterização fitofisionômica dos fragmentos campestres com fâcias de cerrado em Ponta Grossa-PR. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 192–194.

Ritter, L. M. O.; Ribeiro, M. C.; Moro, R. S. 2010. Floristic composition and phytophysiognomies of Cerrado disjunct remnants in Campos Gerais, PR, Brazil - Southern boundary of the biome. *Biota Neotropica* 10: 379–413.

Silvério, A.; Nadot, S.; Souza-Chies, T. T.; Chauveau, O. 2012. Floral rewards in the tribe Sisyrinchieae (Iridaceae): oil as an alternative to pollen and nectar? *Sexual Plant Reproduction* 25: 267–279. doi:10.1007/s00497-012-0196-1.

Souza-Chies, T. T.; Bittar, G.; Nadot, S.; Carter, L.; Besin, E.; Lejeune, B. 1997. Phylogenetic analysis of Iridaceae with parsimony and distance methods using the plastid gene rps4. *Plant Systematics and Evolution* 204, 109–123.

Souza-Chies, T. T.; Burchardt, P.; Alves, E. M. S.; Essi, L.; Santos, E. K. 2014. O estudo da biodiversidade e evolução vegetal através de marcadores de DNA e citogenética: exemplos em Iridaceae e Poaceae. *Ciência e Natura* 36: 279–293.

Souza-Chies, T. T.; Santos, E. K.; Eggers, E.; Flores, A. M.; Alves, E. M. S.; Fachinetto, J.; Lustosa, J.; Corrêa, L. B.; Tacuatiá, L. O.; Picolli, P.; Miz, R. B. 2012. Studies on diversity and evolution of Iridaceae species in southern Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 35: 1027–1035.

Tacuatiá, L. O.; Eggers, E.; Kaltchuk-Santos, E.; Souza-Chies, T. T. 2012. Population genetic structure of *Sisyrinchium micranthum* Cav. (Iridaceae) in Itapuã State Park, Southern Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 35: 99–105.

	Species	Herbarium data						Reference and websites data		
		HUPG	MBM	HAS	ICN	NY	RBG	Lovo (2014)	Eggers et al. (2015)	Brazilian Flora (2020)
C R O C O I D E A E	Crocoideae <i>Gladiolus hortulanus</i> L. H. Bailey		X	X				X		X
	<i>Gladiolus communis</i> L.							X		X
	<i>Crocasmia crocosmiiflora</i> (Lemoine ex Morren) N.E.Br.		X	X		X		X	X	X
	<i>Freesia refracta</i> (Jacq.) Klatt		X	X						X
	<i>Freesia sparrmanii</i> (Thunb.) N.E.Br							X		X
	Croceae <i>Babiana striata</i> G. J. Lewis		X					X		X
	<i>Crocus vernus</i> Hill		X							X
	Watsonieae <i>Watsonia meriana</i> (L.) Mill.							X		
I R I D O I D E A E	Irideae <i>Diates bicolor</i> Sweet ex G. Don			X				X		X
	<i>Iris domestica</i> (L.) Goldblatt & Mabb.				X			X		X
	<i>Iris japonica</i> Thunb.							X		
	<i>Iris germanica</i> L.		X					X		
	<i>Sisyrinchium alatum</i> Hook.			X						
	<i>Sisyrinchium brasiliense</i> (Ravenna) Ravenna			X	X	X		X	X	X
	<i>Sisyrinchium bromelioides</i> R. C. Foster							X	X	X
	<i>Sisyrinchium commutatum</i> Klatt		X		X			X	X	x
	<i>Sisyrinchium densiflorum</i> Ravenna			X		X		X		x
	<i>Sisyrinchium diversicarpum</i> C. D. & L. Eggers					X				
	Sisyrinchieae <i>Sisyrinchium eserrulatum</i> I.M.Johnst.							X		
	<i>Sisyrinchium fasciculatum</i> Klatt		X	X		X		X	X	X
	<i>Sisyrinchium fiebrigii</i> I. M. Johnst.								X	X
	<i>Sisyrinchium hasslerianum</i> Baker		X	X				X	X	X
	<i>Sisyrinchium hoehne</i> I.M. Johnst.								X	X
<i>Sisyrinchium humidum</i> Ravenna								X	X	
<i>Sisyrinchium luzula</i> Klotzsch ex Klatt			X		X		X	X	X	

		<i>Sisyrrinchium megapotamicum</i> Malmé					X	X	X
		<i>Sisyrrinchium micranthum</i> Cav.	X	X	X	X	X	X	X
		<i>Sisyrrinchium nidulare</i> (Hand.-Mazz.) Johnst.					X	X	X
		<i>Sisyrrinchium pachyrhizum</i> Baker					X		
		<i>Sisyrrinchium palmifolium</i> L.		X		X	X	X	X
	Sisyrrinchieae	<i>Sisyrrinchium pendulum</i> Ravenna					X	X	X
I		<i>Sisyrrinchium platense</i> I. M. Johnst.					X		
R		<i>Sisyrrinchium plicatulum</i> Ravenna					X		
I		<i>Sisyrrinchium purpurellum</i> Ravenna					X	X	X
D		<i>Sisyrrinchium rambonis</i> R. C. Foster					X	X	X
O		<i>Sisyrrinchium rectilineum</i> Ravenna				X	X	X	X
I		<i>Sisyrrinchium restioides</i> Spreng.					X	X	X
D		<i>Sisyrrinchium scariosum</i> I. M. Johnst.					X	X	X
E		<i>Sisyrrinchium sectiandrum</i> C. D. & L. Eggers				X			
A		<i>Sisyrrinchium sellowianum</i> Klatt	X			X	X	X	X
E		<i>Sisyrrinchium setaceum</i> Klatt				X	X		
		<i>Sisyrrinchium soboliferum</i> Ravenna					X	X	X
		<i>Sisyrrinchium teleanthum</i> Ravenna					X	X	X
		<i>Sisyrrinchium uliginosum</i> Ravenna					X		
		<i>Sisyrrinchium vaginatum</i> Spreng.	X			X	X	X	X
		<i>Sisyrrinchium weirii</i> Baker					X		
		<i>Sisyrrinchium wettsteini</i> Hand.-Mazz.	X				X	X	X
I	Trimezieae	<i>Trimezia juncifolia</i> (Klatt) Benth. & Hook.				X	X	X	X
R		<i>Trimezia martinicensis</i> (Jacq.) Herb.				X	X	X	X
I		<i>Trimezia spathata</i> (Klatt) Baker				X	X	X	X
D		<i>Neomarcia caerulea</i> (KerGawl.) Sprague		X		X	X		
O		<i>Neomarcia candida</i> (Hassl.) Sprague		X			X	X	X
I	Trimezieae	<i>Neomarcia fluminensis</i> (Ravenna) Chukr					X	X	
D		<i>Neomarcia humilis</i> (Klatt) Capell.		X			X	X	
E		<i>Neomarcia northiana</i> (Schneev.) Sprague		X		X	X		

	<i>Neomarica nitida</i> (Ravenna) Chukr								X	X
	<i>Neomarica rotundata</i> (Ravenna) Chukr							X		X
	<i>Aliphia coerulea</i> (Vell.) Chukr								X	X
	<i>Aliphia linearis</i> (Kunth) Klatt								X	
	<i>Calydorea aproximata</i> R. C. Foster				X				X	X
	<i>Calydorea basaltica</i> Ravenna				X				X	X
	<i>Calydorea campestris</i> (Klatt) Baker	X	X		X	X	X	X	X	X
	<i>Calydorea crocoides</i> Ravenna							X		
	<i>Calydorea longipes</i> Ravenna								X	X
	<i>Calydorea luteola</i> (Klatt) Baker								X	
	<i>Cypella aquatilis</i> Ravenna		X					X	X	X
Tigridieae	<i>Cypella crenata</i> (Vell.) Ravenna		X			X		X		X
	<i>Cypella herbertii</i> (Lindl.) Herb.		X			X		X		
	<i>Cypella laxa</i> Ravenna		X					X	X	X
	<i>Cypella pabstiana</i> Ravenna								X	X
	<i>Eleutherine bulbosa</i> (Mill.) Urb		X					X	X	
	<i>Gelasine caldensis</i> (Klatt) Ravenna		X							
	<i>Gelasine coerulea</i> (Vell.) Ravenna	X	X		X	X		X		x
	<i>Gelasine paranaensis</i> Ravenna		X							X
	<i>Phalocallis coelestis</i> (Lehm.) Ravenna							X	X	X
Total	75	15	26	3	13	16	1	57	43	53

Table 1: Iridaceae species obtained of herbarium, reference and website. **Legends - Herbaria:** Herbário of Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG), Museu Botânico Municipal (MBM), Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica (HAS), Herbário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICN). **Virtual Herbaria:** The New York Botanical Garden (NYBG), Muséum National D'Histoire Naturelle (MNHN), Royal Botanic Gardens (RBG) and Virtualles Herbarium Deutschland (VHD). **Website:** Brazilian Flora.

Species name	voucher number
<i>Gelasine coerulea</i> (Vell.) Ravenna	ICN199828
<i>Herbertia lahue</i> (Molina) Goldblatt.	ICN187418
<i>Phalocallis coelestis</i> (Lehm.) Ravenna	ICN187425
<i>Sisyrinchium brasiliense</i> (Ravenna) Ravenna	ICN187422
<i>Sisyrinchium fiebrigii</i> I. M. Johnst.	ICN187419
<i>Sisyrinchium micranthum</i> Cav.	ICN187414
<i>Sisyrinchium nidulare</i> (Hand.-Mazz.) I. M. Johnst.	ICN187415
<i>Sisyrinchium palmifolium</i> L.	ICN187417
<i>Sisyrinchium plicatulum</i> Ravenna	ICN187424
<i>Sisyrinchium restioides</i> Spreng.	ICN187416
<i>Sisyrinchium sellowiannun</i> Klatt	ICN187423
<i>Sisyrinchium setaceum</i> Klatt.	ICN187420
<i>Sisyrinchium weirii</i> Baker.	ICN187421

Table 2: Iridaceae species obtained of collect field and herbarium voucher.

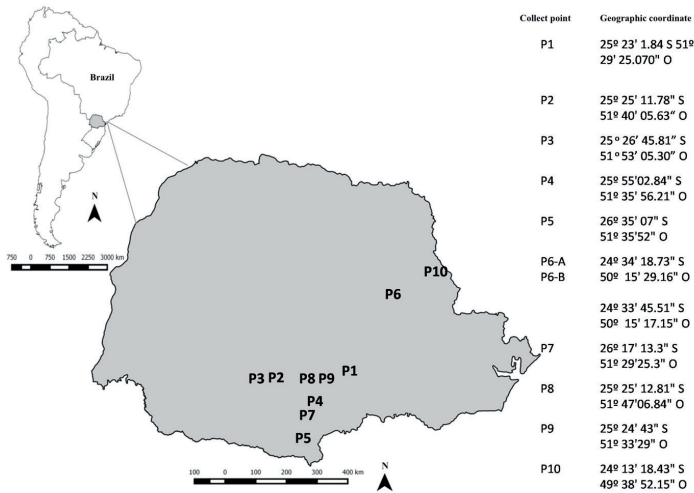


Figure 1. Places of field collect of Iridaceae in grassland at province of Paraná during 2014 and 2015.



Figure 2-16. Iridaceae species collected in the areas of Southern Brazilian grasslands: 2) *Sisyrinchium palmifolium*, 3) *S. brasiliense*, 4) *S. vaginatum*, 5) *S. nidulare*, 6) *S. hasslerianum*, 7) *Sisyrinchium micranthum*, 8) *S. luzula*, 9) *S. alatum*, 10) *S. commutatum*, 11) *S. sellowianum*, 12) *S. setaceum*, 13) *Calydorea basaltica*, 14) *Gelasine coerulea*, 15) *Herbertia lahue*, and 16) *Phalocallis coelestis*.

CAPÍTULO 5

COMO OS ATRIBUTOS TÉRMICOS FOLIARES DE ÁRVORES NA TRANSIÇÃO AMAZÔNIA-CERRADO VARIAM ENTRE OS NÍVEIS ORGANIZACIONAIS?

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 06/03/2021

Igor Araújo de Souza

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-9226-7321>

Bruno Araújo de Souza

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/3296476229483003>

Josiene Naves Carrijo

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2346901247593795>

Tiffani Carla da Silva Vieira

Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1146475943085281>

Carla Heloísa Luz de Oliveira

Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2638749278854540>

Suyane Vitoria Marques dos Santos

Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0433900589990294>

Nayara Cardoso Barros

Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6093659885836185>

Daniella Aparecida Cipriano

Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0114596818155701>

Ludimila Almeida

Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9623776825369148>

RESUMO: Entender como os atributos térmicos foliares variam entre diferentes níveis organizacionais, especialmente em sistemas hiperdiversos e complexos como a transição Amazônia-Cerrado é crucial para compreendermos os padrões e processos em escalas ecológicas mais significativas. Aqui, avaliamos a tolerância fotossintética, temperatura das folhas e o excesso de temperatura foliar para quatro espécies de plantas coocorrentes ao longo de um gradiente ambiental. Encontramos que, o nível de vegetação explica maior variação nos atributos foliares do que o nível de espécie.

De maneira geral, nossos resultados sugerem que fatores ambientais impulsionam maior variação em atributos térmicos foliares em sistemas savana-floresta.

PALAVRAS - CHAVE: Altas temperaturas. Fotossistema II. Danos térmicos.

HOW FOLIAR THERMAL TRAITS OF TREES IN THE AMAZONIA-CERRADO TRANSITION VARY BETWEEN ORGANIZATIONAL LEVELS?

ABSTRACT: Understanding how leaf thermal traits vary between different organizational levels, especially in hyperdiverse and complex systems such as the Amazonia-Cerrado transition is crucial for understanding patterns and processes on more significant ecological scales. Here, we evaluated photosynthetic tolerance, leaf temperature and excess leaf temperature for four species of plants co-occurring along an environmental gradient. We found that the vegetation level explains a more significant variation in leaf thermal traits than the species' level. In general, our results suggest that environmental factors drive more significant variation in leaf thermal traits in savanna-forest systems.

KEYWORDS: High temperatures. Photosystem II. Thermal damage.

1 | INTRODUÇÃO

Modelos climáticos futuros prevêm o aumento na duração, frequência e intensidade de ondas de calor, bem como secas intensas em várias regiões (Collins et al. 2013; IPCC, 2019). Eventos climáticos extremos podem afetar profundamente a aptidão das espécies de plantas e expor as mesmas fora dos limites fisiológicos que estão habituadas e provocar mudanças drásticas e inesperadas na estrutura, composição e funcionamento das florestas (Doughty & Goulden, 2008; Corlett & Westcott, 2013). Nesse contexto, tem aumentado o interesse em quantificar a capacidade fisiológica das plantas para lidar com as mudanças ambientais, especialmente ao aquecimento futuro (Grace et al. 2002).

Estudos recentes, tem avaliado a tolerância fotossintética, que é definida como a variação na capacidade de excitação do fotossistema II (PSII) sob altas temperaturas, e pode ser utilizado para examinar o funcionamento do PSII em folhas sob condições de estresse térmico (Knight & Ackerly, 2003; Zhang et al. 2012). As folhas expostas a luz solar direta e altas temperaturas podem alcançar temperaturas acima da temperatura do ar e, substancialmente, serem mais sensíveis aos aumentos de temperatura no futuro, colocando em risco o aparato fotossintético e danificando o PSII (Noffsinger 1961).

No entanto, até onde sabemos, nenhum estudo mostrou como a variação na tolerância fotossintética (T_{50} , definido como a perda de 50% da função do PSII), temperatura da folha (T_{FOLHA}) e o excesso de temperatura foliar (ΔT) em árvores tropicais diferem entre diferentes níveis organizacionais (espécies e vegetações). A nível de vegetação, as condições nutricionais e hídricas do solo, flutuações do microclima e compactação do solo podem causar variações nos atributos funcionais (Messier et al. 2010). Por outro lado, a nível de espécie, a variação pode ser resultante da competição entre as espécies por

recursos (Schemske et al. 2009; Albert et al. 2010; Messier et al. 2010). Portanto, nosso objetivo foi revelar a contribuição de cada nível organizacional (espécies e vegetações) em atributos térmicos foliares de árvores na transição Amazônia-Cerrado.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

Realizamos a pesquisa no Parque Municipal do Bacaba (14°41'09" S e 52°20'09" W), uma unidade de conservação, em Nova Xavantina -MT, Brasil. O Parque Municipal do Bacaba está situado na transição entre o Cerrado e Amazônia, abriga ambientes de savanas e florestas, como por exemplo cerrado típico, cerrado rupestre, cerradão e floresta de galeria (Marimon-Junior & Haridasan, 2005). O clima da região apresenta dois períodos bem definidos, um chuvoso (outubro a março) e outro seco (abril a setembro), sendo do tipo Aw, conforme a categorização de Köppen (Alvares et al. 2013), com pluviosidade anual de 1.500 mm e temperatura média anual de 25 °C (Marimon et al. 2010).

2.2 Coleta de Dados

Usamos a tolerância fotossintética (T_{50}), temperatura da folha (T_{FOLHA}) e o excesso de temperatura foliar (ΔT) de quatro espécies coocorrentes em um cerrado rupestre (formação savânica, aberta e em solo raso), um cerrado típico (savânica, aberta e solo profundo) e um cerradão (florestal, fechada e solo profundo) no Parque Municipal do Bacaba, sendo elas *Qualea parviflora* Mart. (Vochysiaceae), *Pseudobombax longiflorum* (Mart.) A. Robyns (Malvaceae), *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne e *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke, ambas da família Fabaceae fornecidas por Araújo, 2020. Essas três vegetações, muito próximas entre si (< 900m), podem ser consideradas um “experimento climático a céu aberto” por estarem sob o mesmo clima e em habitats com múltiplas tensões abióticas atuando em conjunto, essencial para compreendermos as respostas das árvores frente as mudanças climáticas em curso. Além disso, essas espécies são excelentes modelos para estudar as respostas fisiológicas, pois ocorrem sobre diferentes tipos de solos. Para cada espécie foram amostrados 15 indivíduos, sendo cinco em cada vegetação. A metodologia de coleta para esses atributos térmicos foliares podem ser consultados em Araújo, 2020.

2.3 Análise de Dados

Para compreender a variação da tolerância fotossintética (T_{50}), temperatura da folha (T_{FOLHA}) e o excesso de temperatura foliar (ΔT) entre os níveis organizacionais (vegetações e espécies), ajustamos modelos lineares mistos separadamente para as características térmicas foliares (Rosas et al. 2019). Inicialmente introduzimos, vegetações e espécies como fatores aleatórios aninhados para avaliar como a variação do T_{50} , T_{FOLHA} e ΔT estão distribuídos entre os diferentes níveis de organização. Realizamos as análises no programa R, versão 3.6.1 (R Core Team 2019).

3 | RESULTADOS

Todos os atributos térmicos foliares avaliados diferiram entre os níveis organizacionais (Figura 1). O fator de vegetação explicou em alto grau (> 50%) da variância para as características térmicas das folhas (T_{50} e T_{FOLHA}). O nível de espécie foi responsável por uma baixa quantidade da variância (30-35%) na tolerância fotossintética e temperatura da folha (Figura 1). Surpreendentemente, o excesso de temperatura foliar (ΔT), foi explicado (99%) a nível de vegetação (Figura 1).

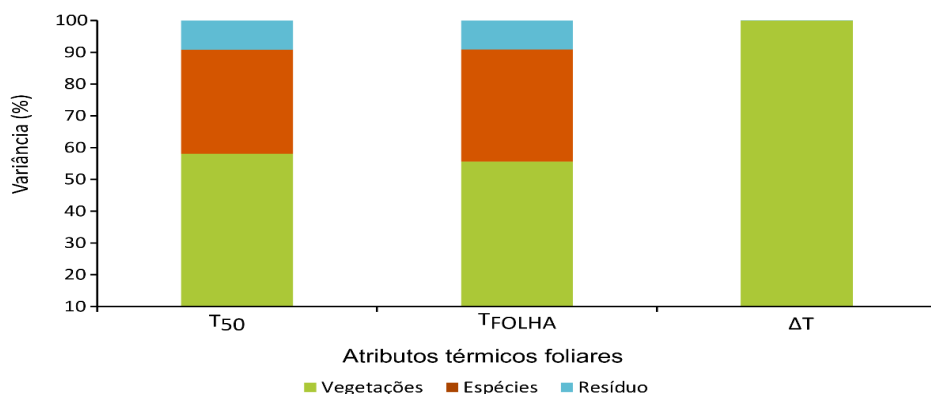


Figura 1. Fonte de variação dentro dos atributos térmicos foliares de árvores na transição Amazônia-Cerrado. Decomposição da variância em diferentes níveis organizacionais: níveis de vegetações (barra verde), espécies (barra marrom) e resíduo (barra azul) para: Perda de 50% da função do PSII (T_{50}), temperatura da folha (T_{FOLHA}) e o excesso de temperatura foliar (ΔT).

4 | DISCUSSÃO

Esse estudo avaliou, pela primeira vez, a decomposição da variância na tolerância fotossintética, temperatura da folha e o excesso de temperatura foliar de quatro árvores coocorrentes ao longo de um gradiente ambiental na transição Amazônia-Cerrado com enfoque em diferentes níveis organizacionais. Nossos resultados mostraram que as variações nos atributos térmicos foliares divergiram entre os níveis organizacionais. A variância explicada por vegetações e espécies nos permitiu entender a contribuição separada para a variabilidade dos atributos térmicos das folhas.

Neste estudo, mostramos que os atributos térmicos foliares foram explicados principalmente pela vegetação, que pode ser dirigida pelas diferenças na retenção de água, nível nutricional do solo e mudanças nos aspectos microclimáticos (Marimon-Junior & Haridasan, 2005). Surpreendentemente, a vegetação influenciou (99%) do excesso de temperatura foliar, e 1% de sua variabilidade foi explicada por espécies.

Portanto, descobrimos que a variância nos atributos térmicos foliares apresentam uma baixa variação a nível de espécies, demonstrando que as diferenças interespecífica nas estratégias funcionais e competição por recursos (e.g., água e nutrientes), (Albert et al. 2010; Messier et al. 2010) interferem menos nos atributos térmicos foliares, por outro lado, fatores ambientais são mais importantes em sistemas savana-floresta.

REFERÊNCIAS

Albert, C. H., Thuiller, W., Yoccoz, N. G., Soudant, A., Boucher, F., Saccone, P., & Lavorel, S. (2010). **Intraspecific functional variability: extent, structure and sources of variation.** *Journal of Ecology*, 98(3), 604-613.

Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., de Moraes, G., Leonardo, J., Sparovek, G., 2013. **Köppen's climate classification map for Brazil.** *Meteorologische Zeitschrift* 22, 711-728.

Araújo, I. S. Mudanças climáticas: impactos, adaptação e vulnerabilidade de árvores da borda Sul-amazônica às altas temperaturas. 2020. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade do Estado de Mato Grosso, Nova Xavantina, 2020.

Collins, M., Knutti, R., Arblaster, J., Dufresne, J. L., Fichet, T., Friedlingstein, P., ... & Booth, B. B. (2013). **Long-term climate change: projections, commitments and irreversibility.** In *Climate Change 2013-The Physical Science Basis: Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (pp. 1029-1136). Cambridge University Press.

Corlett, R. T., & Westcott, D. A. (2013). **Will plant movements keep up with climate change?.** *Trends in ecology & evolution*, 28(8), 482-488.

Doughty C.E., Goulden M.L.: **Are tropical forests near a high temperature threshold? – J. Geophys. Res.-Biogeo.** 113: G00B07, 2008

Grace, J., Berninger, F., & Nagy, L. (2002). **Impacts of climate change on the tree line.** *Annals of botany*, 90(4), 537-544.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. Land Degradation: IPCC **Special Report on Climate Change, Desertification, Land 5 Degradation, Sustainable Land Management, Food Security, and 6 Greenhouse gas fluxes in Terrestrial Ecosystems.** *Sciences*, 1-43, 2019.

Knight, C. A., & Ackerly, D. D. (2003). **Evolution and plasticity of photosynthetic thermal tolerance, specific leaf area and leaf size: congeneric species from desert and coastal environments.** *New Phytologist*, 160(2), 337-347.

Marimon Junior, B. H., & Haridasan, M. (2005). **Comparação da vegetação arbórea e características edáficas de um cerrado e um cerrado sensu stricto em áreas adjacentes sobre solo distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil.** *Acta bot. bra*, 19(4), 914-926.

Marimon, B. S., Felfili, J. M., Lima, E. D. S., Duarte, W. M. G., & Marimon-Júnior, B. H. (2010). **Environmental determinants for natural regeneration of gallery forest at the Cerrado/Amazonia boundaries in Brazil.** *Acta Amazonica*, 40(1), 107-118.

Messier, J., McGill, B. J., & Lechowicz, M. J. (2010). **How do traits vary across ecological scales? A case for trait-based ecology.** *Ecology letters*, 13(7), 838-848.

Noffsinger T.L.: **Leaf and air temperature under Hawaii conditions.** – *Pac. Sci.* 15: 304-306, 1961

R Core Team., 2019. **R Foundation for Statistical Computing.** Vienna, Austria.

Rosas, T., Mencuccini, M., Barba, J., Cochard, H., Saura-Mas, S., & Martínez-Vilalta, J. (2019). **Adjustments and coordination of hydraulic, leaf and stem traits along a water availability gradient.** *New Phytologist*, 223(2), 632-646.

Schemske, D. W., Mittelbach, G. G., Cornell, H. V., Sobel, J. M., & Roy, K. (2009). **Is there a latitudinal gradient in the importance of biotic interactions?.** *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 40, 245-269.

Zhang, J. L., Poorter, L., Hao, G. Y., & Cao, K. F. (2012). **Photosynthetic thermotolerance of woody savanna species in China is correlated with leaf life span.** *Annals of botany*, 110(5), 1027-1033.

CAPÍTULO 6

REGENERACIÓN NATURAL ARBOREA Y ARBUSTIVA EN ÁREAS DEGRADADAS POR MINERÍA AURÍFERA EN LA AMAZONIA PERUANA

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 22/02/2021

Verónica Huamaní Briceño

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Departamento de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Puerto Maldonado, Perú.
<https://orcid.org/0000-0001-9316-8432>

Gabriel Alarcón Aguirre

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Departamento de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Puerto Maldonado, Perú.
<https://orcid.org/0000-0003-0816-9911>

Rembrandt Canahuire Robles

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Departamento de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Puerto Maldonado, Perú.
<https://orcid.org/0000-0003-2319-7910>

Marx Herrera-Machaca

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Departamento de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Puerto Maldonado, Perú.
<https://orcid.org/0000-0002-8391-3977>

Jorge Garate-Quispe

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Departamento de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Puerto Maldonado, Perú.
<https://orcid.org/0000-0002-7494-2274>

Laberinto, Tambopata – Madre de Dios. Para ello se analizó la composición florística por categoría de regeneración natural, índices de diversidad, y los estadios sucesionales en un área de 7,7 ha distribuida en 77 parcelas de 1000 m² (0,1 ha) con un promedio de años de abandono de 30 a 35 años. Se colectó y registró individuos mayores o iguales a 3 cm de circunferencia, clasificados en brinzales, latizales, fustales y arboles dentro de las parcelas de muestreo. El estudio reportó 3120 individuos distribuidos en 121 especies y 40 familias, las familias más abundantes fueron Fabaceae (21), Malvaceae (11), Moraceae (9), presentando la mayor abundancia de individuos en la etapa de brinzal, fustal y árbol. En cuanto a las especies y número de individuos por unidad de hectárea más importantes en la recuperación de áreas degradadas en las diferentes categorías de regeneración fueron *Pseudolmedia laevigata* (6233,77), *Virola calophylla* (1866,23), *Inga oerstediana* (1837,27), *Tetragastris altissima* (1165,97), *Piper aduncum* (1006,49), *Oxandra mediocris* (815,58), *Rinoreaocarpus ulei* (808,96), *Guatteria chlorantha* (797,14), *S. parahyba* (588,31). El estadio sucesional muestra al área en etapa de transición de secundaria inicial a secundaria tardía, es decir, el área se encuentra en proceso de recuperación y formando cobertura boscosa, haciendo posible el establecimiento de especies tolerantes a la luz.

PALABRAS CLAVE: Composición florística, regeneración, diversidad de especies, estadio sucesional y hábito.

RESUMEN: El estudio evaluó la regeneración natural de áreas abandonadas por la minería de oro aluvial en el sector de Fortuna, distrito de

NATURAL REGENERATION OF TREES AND SHRUBS IN DEGRADED AREAS BY GOLD MINING IN THE PERUVIAN AMAZON

ABSTRACT: The study evaluated the natural regeneration of areas abandoned by alluvial gold mining in the Fortuna sector, Laberinto district, Tambopata - Madre de Dios. For this, the floristic composition was analyzed by category of natural regeneration, diversity indexes, and successional stages in an area of 7.70 ha distributed in 77 plots of 1000 m² (0.1 ha) with an average of years of abandonment of 30 - 35 years. We collected and registered individuals greater than or equal to 3 cm in circumference, classified into brinzales, latizales, fustales and trees within the sampling plots. The study reported 3120 individuals distributed in 121 species and 40 families, the most abundant families were Fabaceae (21), Malvaceae (11), Moraceae (9), presenting the highest abundance of individuals in the stage of brinzal, fustal and tree. The most important species and number of individuals per unit of hectare in the recovery of degraded areas in the different regeneration categories were *Pseudolmedia laevigata* (6233.77), *Viola calophylla* (1866.23), *Inga oerstediana* (1837.27), *Tetragastris altissima* (1165.97), *Piper aduncum* (1006.49), *Oxandra mediocris* (815.58), *Rinoreaocarpus ulei* (808.96), *Guatteria chlorantha* (797.14), *S. parahyba* (588.31). The successional stage shows the area in the transition stage from the initial secondary to the secondary secondary, that is, the area is in the process of recovery and forming forest cover, making possible the establishment of light-tolerant species.

KEYWORDS: Floristic composition, regeneration, species diversity, successional stage and habit.

1 | INTRODUCCIÓN

Los bosques tropicales son considerados como los más frágiles, debido a la lenta capacidad de regeneración y a la persistente amenaza de la deforestación por causas naturales y antrópicas. Esto último debido a las condiciones de deforestación por las diferentes actividades económicas realizadas en la región (JIMÉNEZ, 2014).

Esta amenaza está ligada al incremento significativo de la población por los procesos migratorios, concentrado principalmente en la actividad minera de oro, y en menor proporción en la extracción selectiva de madera, desbosque de rodales de castaña y shiringa con fines agropecuarios. Desde el año 1930, comenzaron las migraciones de colonos para trabajar en los lavaderos de oro, localizados en las provincias de Tambopata y Manu. El Censo Nacional de 1940 indica que la población de la región fue de 4 950 habitantes. Algunos colonos localizaron sus yacimientos mineros en torno a las misiones dominicas, donde convivían con los indígenas. La práctica de la actividad minera era informal, ajena al marco legal vigente. Los mineros por lo general, eran provenientes de Cuzco, Arequipa y Puno, quienes fueron estableciendo a sus familias en Puerto Maldonado, mientras trabajan en algunas micro-cuencas de la región (ALARCÓN; DÍAZ; VELA; GARCÍA *et al.*, 2016; PERZ; QIU; XIA; SOUTHWORTH *et al.*, 2013; SWENSON; CARTER; DOMEQ; DELGADO, 2011).

Actualmente la minería de oro constituye una de las principales actividades

económica de la región Madre de Dios, sin embargo también constituye uno de los mayores medios para la pérdida de grandes extensiones de bosques a través de la deforestación y degradación del suelo, así como efectos colaterales socioambientales producto de la actividad; contaminación de aguas, suelos, aire, trata de personas, delincuencia, drogadicción, etc. (ALARCÓN; DÍAZ; VELA; GARCÍA *et al.*, 2016; ASNER; TUPAYACHI, 2017).

La modificación agresiva del paisaje por la minería de oro, muchas veces complica la recuperación de estas áreas. Siendo una preocupación para investigadores, profesionales y el gobierno peruano, en la búsqueda de alternativas de recuperación de áreas degradadas, que permitan minimizar costos con fines de recuperación al entorno ecológico más próximo a la original.. Para ello, es necesario entender la dinámica de recuperación de los procesos ecológicos y la capacidad de resiliencia del ecosistema. En este escenario conocer la caracterización de la vegetación arbórea y arbustiva en concesiones mineras son primordiales para plantear alternativas metodológicas de restauración y rehabilitación de estas áreas (SQUIZZATTO DE ARAÚJO; MARTINS; ALVES MEIRA NETO; LANI *et al.*, 2005).

La base de estudios de composición florística en áreas abandonadas por minería de oro en la región de Madre de Dios son herramientas importantes para abordar estrategias de recuperación de áreas degradadas (SÁNCHEZ, 2010; VALOIS-CUESTA; MARTÍNEZ-RUIZ, 2017). Sin embargo, debe existir una política clara del estado que articule diferentes entidades de gobierno; nacional, regional, local, universidades e institutos de investigación, con la finalidad de sumar esfuerzos en la recuperación de bosques amazónicos que ponen en riesgo la existencia de la población local y uno de los mayores refugios de bosques prístinos en áreas naturales protegidas.

El objetivo del presente estudio fue caracterizar la vegetación arbórea y arbustiva en concesiones mineras de la Amazonia peruana, Madre de Dios. Específicamente, se analizó (1) la composición florística de la vegetación arbórea y arbustiva por categoría de regeneración natural en las concesiones mineras, (2) se determinó los índices de diversidad de la vegetación arbórea y arbustiva, y (3) se determinó la etapa sucesional de la vegetación arbórea y arbustiva.

2 | MÉTODOS

Área de Estudio

El área de estudio se ubica en el sector de Fortuna, centro poblado de Puerto Rosario, Provincia de Tambopata (Madre de Dios) a orillas de la margen derecha del río Madre de Dios a 50 km de la carretera Interoceánica Sur (Puerto Maldonado – Cusco). La región de Madre de Dios está situada al sureste del Perú. Limita por el norte con la región

de Ucayali y el país vecino de Brasil, por el este con los países de Brasil y Bolivia, por el sur con las regiones de Cusco y Puno y por el oeste con las regiones de Cusco y Ucayali.

Métodos de campo

En el lugar de estudio se seleccionaron áreas con presencia de regeneración natural que fueron abandonadas después de actividades mineras ubicadas en cinco concesiones mineras. En estas áreas se establecieron 77 parcelas de 1000,00 m² (7,7 ha) con un tiempo de abandono entre 30 a 35 años, posteriormente se midió y estudió la composición florística de la regeneración natural y los estadios sucesionales de las especies.

El trabajo de campo se realizó entre noviembre y diciembre de 2014. La selección de las parcelas fue por conveniencia y el criterio de inclusión de años de abandono del área por la minería aurífera aluvial.

En cada parcela se registraron a todos los individuos de vegetación con un diámetro a la altura del pecho mayor a 1 cm (DAP > 1 cm), considerando la metodología de MALLEUX (1982) se utilizaron las siguientes dimensiones para cada parcela y subparcela; parcelas de 10 m x 100 m (1000 m²), parcelas de 10 m x 10 m (100 m²), parcelas de 5 m x 5 m (25 m²), y parcelas de 2 m x 2 m (4 m²) (Figura 1). Se colectaron especímenes botánicos para su posterior depósito e identificación de acuerdo al protocolo del Herbario Alwyn Gentry, y la determinación taxonómica se hizo siguiendo la metodología de (BRAKO; ZARUCCHI, 1993; RADFORD; WILLIAM; DICKINSON; MASSEY *et al.*, 1974; THOMAS, 1976), y Angiosperm Phylogenetic Group – AGP III (BREMER; BREMER; CHASE; FAY *et al.*, 2009; HASTON; RICHARDSON; STEVENS; CHASE *et al.*, 2009)2009; HASTON; RICHARDSON; STEVENS; CHASE *et al.*, 2009).

Asimismo, se determinó las sucesiones arbóreas y arbustivas, categorizando las especies vegetales según las dimensiones siguientes: Arbóreos (DAP > 40 cm); Fustales (Individuos con DAP >= a 10 cm y menor a 40 cm); Latizales (Individuos con DAP >= 5 cm y < 10 cm) y Brinzales (Individuos con altura mayor a 0,30 m hasta 1,30 m y con DAP < 5 cm).

Se determinó los estadios sucesionales de las especies identificadas y evaluadas, las mismas que fueron agrupadas en categorías: pioneras, secundarias iniciales y secundarias tardías, de acuerdo a la clasificación desarrollada por GANDOLFI *et al.* (1995). Asimismo, las especies sin referencia fueron consideradas como Sin Clasificación (SC), de acuerdo a lo reportado por varios estudios (COELHO; CARDOSO-LEITE; CASTELLO, 2016; GANDOLFI; LEITAO; BEZERRA, 1995; NETO; SCHIAVINI; DE FARIA LOPES; DO VALE *et al.*, 2009; PAULA; SILVA; JÚNIOR; DE *et al.*, 2004).

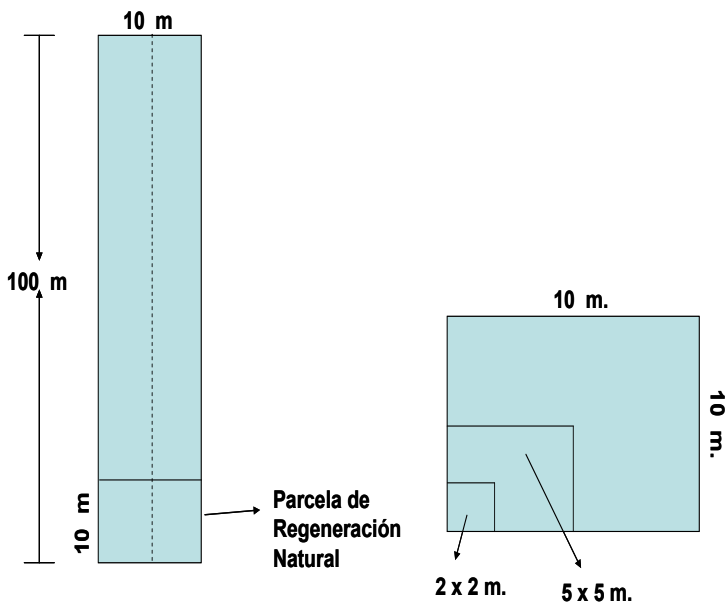


Figura 1. Diseño de unidades de muestreo utilizados en el presente estudio.

Fuente: (MALLEUX, 1982).

Análisis de datos

La base de datos se manejó utilizando el programa MS Excel 2016. Se comparó el número de especies e individuos según categorías de regeneración (brinzal, latizal, fustal y árbol adulto), utilizando gráficos de barras. Por otro lado, se comparó la abundancia y riqueza de especies según categorías sucesionales, con la finalidad de encontrar un patrón en este proceso. Todas las Figuras se realizaron en el paquete estadístico SigmaPlot.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIONES

Composición florística de la regeneración natural

Se encontró un total de 3 120 individuos distribuidos en 121 especies y 40 familias botánicas. Las especies más abundantes en las áreas abandonadas por la minería aurífera fueron: *Pseudolmedia laevigata*, *Pseudolmedia macrophylla*, *Inga oerstediana*, *Virola calophylla* y *Tetragastris altissima*. Estas especies presentaron una amplia representación en las categorías de brinzal, latizal, fustal y árbol. En brinzales, las especies más representativas fueron: *Pseudolmedia laevigata*, *Inga oerstediana*, *Virola calophylla*, *Tetragastris altissima*, *Piper aduncum*, *Oxandra mediocris*, y *Guatteria chlorantha*. En latizales fueron: *Virola calophylla*, *Duguetia quitarensis*, *Rinoreocarpus ulei*, *Pseudolmedia*

laevigata, *Aniba taubertiana*, y *Guatteria chlorantha*. Mientras que los fustales las especies más abundantes fueron *Pseudolmedia laevigata* y *Guatteria chlorantha*.

Por otro lado, la categoría de árbol adulto presentó el mayor número de especies e individuos, mientras que fustal presentó la menor densidad de individuos y los latizales la menor riqueza de especies (Figura 2).

La composición florística de la vegetación arbórea y arbustiva en áreas abandonadas por la minería de oro aluvial en el área de estudio es similar a los reportado en estudios previos (FLORES; BATTE; DAPARA, 2002; GÓMEZ; SANTANA; ROMERO; ARMIENTA *et al.*, *s/f*; PAIVA; ARAÚJO; ANDREY, 2007), por lo tanto se demuestra la dinámica de recuperación y la capacidad de resiliencia de la vegetación en áreas severamente impactadas. El establecimiento rápido de especies colonizadoras temporales y permanentes es una característica típica para que más adelante se puedan establecer especies de sucesión temprana y tardía y con requerimientos más exigentes. La presencia de estos patrones a través de estratos y los años transcurridos son fundamentales para la recuperación del área y la diversidad de flora y fauna.

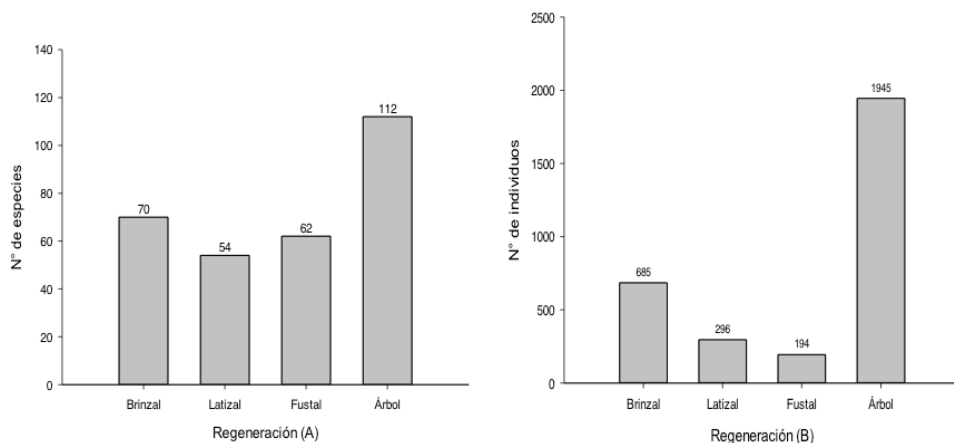


Figura 2. Número de especies (A) e individuos (B) en las tres etapas de desarrollo, encontrados en la regeneración natural del área abandonada por minería aurífera aluvial en la Amazonia peruana.

Nuestros resultados a nivel sudamericano coinciden con los reportados por ARAÚJO; MARTINS; NETO; ALVES *et al.* (2005), donde la vegetación colonizadora de un área degradada por minería de Caolín en Brás Pires - Brasil, registro 64 especies, 50 géneros y 30 familias botánicas. ARAÚJO; MARTINS; NETO; ALVES *et al.* (2005) reportaron que las familias con mayor riqueza de especies fue Fabaceae (11 especies), Annonaceae (5 especies), Lauraceae y Melastomataceae (4 especies). Mientras que AMARAL; PEREIRA;

MACHADO; OLIVEIRA *et al.* (2013), registro en áreas degradadas por minería aurífera, 921 individuos distribuidos en 16 familias y 36 especies. Similares resultados fueron reportado por DÍAZ e ELCORO (2009), quienes evaluaron las plantas colonizadoras en áreas perturbadas y abandonadas por la minería en el estado Bolívar, Venezuela, reportando a las familias botánicas con mayor riqueza de especies son Fabaceae, Melastomataceae, Asteraceae, Rubiaceae, Solanaceae y Clusiaceae.

A nivel local PACHECO e ALARCÓN (2014), muestran los primeros hallazgos de la composición florística de la regeneración natural de un área degradada por minería aurífera en un sector similar a donde se desarrolló el presente estudio. Las familias con especies más abundantes mostraron a la Fabaceae (25%) con 9 especies, seguido de Malvaceae (13,89%) con 5 especies. PACHECO e ALARCÓN (2014) reportaron que las especies más abundantes, dominantes e importantes en el repoblamiento de estas áreas fueron *Ochroma pyramidale* (36%) y *Cecropia engleriana* (34,35%). En un estudio similar, CUTIRE; RAMIREZ e ZEVALLOS (2017), realizaron la caracterización ecológica en bosques secundarios, en una comunidad nativa (Tres Islas) en Madre de Dios, en la cual se desarrolla la actividad minera. Estos autores reportaron 49 especies distribuidos en 25 familias botánicas, siendo las más abundantes Fabaceae, Asteraceae, Malvaceae y Cecropiaceae. Interesantemente, en la categoría de brinzal y latizal las especies más abundantes y dominantes fueron *Bahuinia* sp, *Baccharis* sp, y *Cecropia engleriana*. Por otro lado, SAJAMI (2017), reporta más de 80 especies y 27 familias que se establecieron en áreas degradadas por minería. Siendo Fabaceae, Annonaceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae y Salicaceae, las familias con mayor número de individuos en la etapa de brinzal y latizal. Mientras que, las especies más abundantes, dominantes e importantes en la recuperación de áreas degradadas fueron *Chromolaena laevigata*, *Piper* sp1, y *Cecropia membranacea*, concentrando el 41,64% del total.

Nuestros resultados confirman que las familias botánicas Fabaceae (21 especies), Malvaceae (11 especies), Moraceae (9 especies), Lauraceae (6 especies), Annonaceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae y Urticaceae con 5 especies, fueron las más importantes en la recuperación de áreas abandonadas y degradadas por la minería aurífera en la Amazonía de Madre de Dios, después de un periodo de tiempo entre 30 a 35 años de abandono.

Por otro lado, JACOBI; CARMO e VINCENT (2008), caracterizaron la vegetación y estructura sobre campos de roca, en un área degradada por minería de hierro (Minas Gerais-Brasil), reportando 2151 individuos en 16 familias botánicas y 36 especies, siendo *Lychnophora pinaster* (Asteraceae), y *Sebastiania glandulosa* (Euphorbiaceae) las más importantes. SCHARDOSIM; CITADINI-ZANETTE; PEPORINE e DOS SANTOS (2009), en la evaluación de un área degradada por minería con 28 años de abandono en Santa Catarina (Brasil), registraron 32 especies, y las especies que tuvieron mejor desarrollo en la colonización y estructura de la regeneración natural fueron *Clethra escabra*, *Myrsine coriácea* y *Miconia Cabucu*. Los resultados en cuanto al registro de especies no coinciden

con la investigación propuesta. Sin embargo, se destacan la importancia Asteraceae y Euphorbiaceae como importantes en la recuperación de áreas impactadas por la minería.

Estadio (categoría) sucesional de la regeneración natural

El 32% de las especies encontradas (39) correspondieron a pioneras y por lo tanto dependientes de luz. El 41% especies (51) correspondieron al estadio secundaria inicial y crecen en condiciones de luz no muy intenso. El 24% de las especies (29) son de sucesión secundaria tardía o especies tolerantes a la sombra. Mientras que solo en dos especies (1,65%) no se pudo determinar la categoría sucesional (sin clasificación) (Figura 3A).

En cuanto al número total de individuos registrados en el área, el 19,2% (599) son especies pioneras, 52,76% (1646) en la categoría de secundarias iniciales, decreciendo en la categoría de secundarias tardías con 26,09% (814) de los individuos. Solo el 1,96% (61) de los individuos se quedaron sin clasificar (Figura 3B). Los resultados de la identificación de los estadios sucesionales de la vegetación arbórea y arbustiva en el área abandonada por minería aurífera aluvial, nos sugieren que se estas áreas encuentran en la etapa de transición de secundaria inicial a secundaria tardía, es decir, el área se encuentra en proceso de recuperación y formando cobertura boscosa, haciendo posible el establecimiento de especies poco tolerantes a altas condiciones de luminosidad.

La representatividad de las familias con mayores especies e individuos en la categoría de pioneras fueron Fabaceae (*S. parahyba*), Malvaceae (*M. ochrocalyx*), Urticaceae (*C. polystachya*), y Euphorbiaceae (*S. marmieri Huber*). Mientras que las familias Annonaceae (*G. chlorantha*), Lauraceae (*A. taubertiana*), Meliaceae (*G. macrophylla*), y Myristicaceae (*V. calophylla*). Estas tienen una mayor representatividad de especies en la etapa de sucesión inicial con mayor número de individuos. Mientras que la familia Fabaceae (*D. micrantha*) presenta mayor número de especies e individuos en la etapa de sucesión tardía. en áreas abandonadas por minería aurífera en la Amazonia peruana.

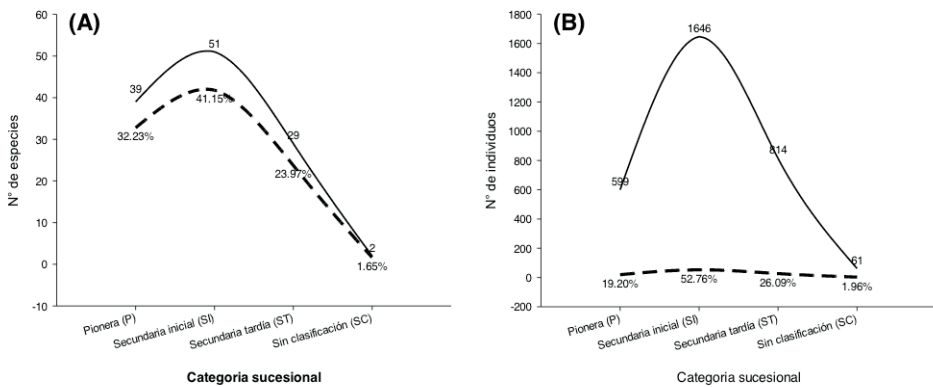


Figura 3. (A) Número de especies por categoría sucesional, y (B) Número de individuos por categoría sucesional, en áreas abandonadas por minería aurífera en la Amazonia peruana.

Nuestros resultados se sustentan el estudio de ARAÚJO; MARTINS; NETO; ALVES *et al.* (2005), que reportan la abundancia y dominancia de especies secundarias iniciales (43,75%), seguido por las especies pioneras (35,90%) y en menor proporción las especies secundarias tardías (7,81%) de la composición florística de la vegetación colonizadora de un área degradada por minería con 20 años de abandono. De esta manera se presenta un bosque en etapa de transición pionera y fase inicial de sucesión secundaria inicial a tardía, fase que se asemeja a lo evaluado y que se atribuye al tiempo de abandono del área, de 30 a 35 años. En cuanto al estudio de SAJAMI (2017), sobre la regeneración natural de áreas degradadas por la minería aurífera en el distrito de Laberinto, Tambopata – Madre de Dios, con periodos de abandono de; 0 a 5 años, 6 a 10 años, y mayores a 10 años, existe cierta similitud, sin embargo, lo reportado por el autor datan un bosque en transición de etapa pionera a secundaria inicial, con un mayor número de individuos en la etapa pionera, pero un mayor número de especies en la etapa de sucesión inicial, que hacen deducir que el bosque se encuentran en inicio de fases más avanzadas (sucesión tardía), como parte del proceso de la dinámica de recuperación del área perturbada.

Por otro lado, nuestros resultados difieren con otros estudios reportados por (CUTIRE; RAMIREZ; ZEVALLOS, 2017; PACHECO; ALARCÓN, 2014; SCHARDOSIM; CITADINI-ZANETTE; PEPORINE; DOS SANTOS, 2009), quienes determinaron la abundancia y dominancia de las especies pioneras, seguido por las especies secundarias, y en menor proporción las secundarias tardías en área abandonadas por minería con rango promedio de 14 a 28 años. Lo reportado por los autores, hace deducir que la característica de la vegetación, fragilidad del hábitat, grado de impacto o perturbación, y características geológicas del suelo son determinantes e infieren en la capacidad de la dinámica de recuperación del área (AMARAL; PEREIRA; MACHADO; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

CONCLUSIONES

En las áreas abandonadas por minería de oro aluvial en el sector de Fortuna - Laberinto, se registraron 121 especies distribuidos en 40 familias. las familias más abundantes fueron Fabaceae, Malvaceae y Moraceae. La mayoría de las especies comprendieron las etapas de árbol, fustal y brinjal. Las especies colonizadores más importantes en la recuperación de áreas abandonadas por minería y con mejor aclimatación a estas áreas fueron *Matisia ochrocalyx*, *Cecropia polystachya*, *Apeiba membranacea*, *Eugenia florida*, *Schizolobium parahyba*, *Maytenus macrocarpa*, y *Piper aduncum*. Estas especies facilitarán el establecimiento de otras especies más exigentes.

La composición florística en las diferentes etapas de la sucesión muestra un bosque en transición de la etapa sucesión secundaria inicial a secundaria tardía. Después de entre 30 a 35 años del abandono por actividades mineras, se encontró una gran cantidad de especies pioneras que están facilitando el establecimiento de especies secundarias iniciales y tardías, con una alta diversidad de especies y formando cobertura de bosque.

REFERÊNCIAS

ALARCÓN, G.; DÍAZ, J.; VELA, M.; GARCÍA, M. *et al.* Deforestación en el sureste de la amazonia del Perú entre los años 1999-2013; caso Regional de Madre de Dios (Puerto Maldonado–Inambari). **Revista Investigaciones Altoandinas**, 18, n. 3, p. 319-330, 2016.

AMARAL, W. G.; PEREIRA, I. M.; MACHADO, E. L. M.; OLIVEIRA, P. A. *et al.* Relação das espécies colonizadoras com as características do substrato em áreas degradadas na serra do espinhaço meridional= Relationship colonizing species with the substrate characteristics in degraded areas in southern sierra of espinhaço. **Bioscience Journal**, 29, n. 5, 2013.

ARAÚJO, F. S.; MARTINS, S. V.; NETO, M.; ALVES, J. A. *et al.* Florística da vegetação arbustivo-arbórea colonizadora de uma área degradada por mineração de caulim, em Brás Pires, MG. **Revista Árvore**, 2005.

ASNER, G. P.; TUPAYACHI, R. Accelerated losses of protected forests from gold mining in the Peruvian Amazon. **Environmental Research Letters**, 12, n. 9, 2017. Article.

BRAKO, L.; ZARUCCHI, J. L. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Catálogo de las angiospermas y gimnospermas del Perú. **Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden.**, 45, p. 1-1286, 1993.

BREMER, B.; BREMER, K.; CHASE, M.; FAY, M. *et al.* An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 2009.

COELHO, S.; CARDOSO-LEITE, E.; CASTELLO, A. C. D. Composição florística e caracterização sucessional como subsídio para conservação e manejo do PNMCBio, Sorocaba-SP. **Ciência Florestal**, 26, n. 1, p. 331-344, 2016.

CUTIRE, L.; RAMIREZ, L.; ZEVALLOS, P. **Caracterización ecológica de bosques secundarios regenerados en áreas degradadas producto de la actividad aurífera en la comunidad de Tres Islas, Madre de Dios, Perú.** Orientador: POLLITO, P. A. Z. 2017. (Ingeniero) - Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Puerto Maldonado.

DÍAZ, W.; ELCORO, S. Plantas colonizadoras en áreas perturbadas por la minería en el estado Bolívar, Venezuela/Pioneer plant species in disturbed mining areas in Bolívar State, Venezuela. **Acta Botánica Venezolánica**, p. 453-466, 2009.

FLORES, J. G.; BATTE, C.; DAPARA, J. Caracterización de la vegetación del Río Undumo y su importancia para la conservación de la fauna silvestre. **Ecología en Bolivia**, 31, n. 1, p. 23-48, 2002.

GANDOLFII, S.; LEITAO, H.; BEZERRA, C. Levantamento florístico e caráter sucessional das espécies arbustivo-arbóreas de uma floresta mesófila semidecídua no município de Guarulhos, SP. **Revista brasileira de biologia**, 55, n. 4, p. 753-767, 1995.

GÓMEZ, M. J.; SANTANA, J.; ROMERO, F.; ARMIENTA, A. M. *et al.* Inventario florístico de especies encontradas en sitios contaminados con desechos mineros en Taxco, Guerrero, México. *s/f*.

HASTON, E.; RICHARDSON, J. E.; STEVENS, P. F.; CHASE, M. W. *et al.* The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 161, n. 2, p. 128-131, 2009.

JACOBI, C. M.; CARMO, F. F. d.; VINCENT, R. d. C. Estudo fitossociológico de uma comunidade vegetal sobre canga como subsídio para a reabilitação de áreas mineradas no Quadrilátero Ferrífero, MG. **Revista Árvore**, 32, n. 2, p. 345-353, 2008.

JIMÉNEZ, E. Herbivoría en tres estadios de sucesión del bosque seco tropical, en el Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica. 2014.

MALLEUX, O. J. Inventarios forestales en bosques tropicales. 1982.

NETO, O. C. D.; SCHIAVINI, I.; DE FARIA LOPES, S.; DO VALE, V. S. *et al.* Estrutura fitossociológica e grupos ecológicos em fragmento de floresta estacional semidecidual, Uberaba, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, p. 1087-1100, 2009.

PACHECO, D. E.; ALARCÓN, G. **Composición florística de la regeneración natural colonizadora de un área degradada por minería aurífera en el sector teniente Acevedo Tambopata-Madre de Dios.** Orientador: AGUIRRE, G. A. 2014. (Ingeniero) - Ingeniería Forestal y Medio Ambiente, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios.

PAIVA, R.; ARAÚJO, N.; ANDREY, K. Dinâmica da regeneração natural de árvores em áreas mineradas na Amazônia. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Naturais**, 2, n. 2, p. 85-139, 2007.

PAULA, A. d.; SILVA, A. F. d.; JÚNIOR, M.; DE, P. *et al.* Sucessão ecológica da vegetação arbórea em uma Floresta Estacional Semidecidual, Viçosa, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 2004.

PERZ, S. G.; QIU, Y.; XIA, Y.; SOUTHWORTH, J. *et al.* Trans-boundary infrastructure and land cover change: Highway paving and community-level deforestation in a tri-national frontier in the Amazon. **Land Use Policy**, 34, p. 27-41, 2013.

RADFORD, A. E.; WILLIAM, C.; DICKINSON, J.; MASSEY, R. *et al.* **Vascular plant systematics**. New York: Harper and Row, 891 p., 1974. 891p. p.

SAJAMI, E. Evaluación de la regeneración natural en áreas degradadas por la minería aurífera en el distrito de Laberinto-Tambopata-Madre de Dios. 2017.

SÁNCHEZ, D. N. **Bases para la rehabilitación ambiental y paisajística de los pasivos ambientales mineros en el distrito de Hualgayoc, Cajamarca, Perú**. 2010. Universidad de Pinar del Río Hermanos Saiz Montes de Oca. Facultad de Forestal y Agronomía. Departamento Forestal.

SCHARDOSIM, A.; CITADINI-ZANETTE, V.; PEPORINE, R.; DOS SANTOS, R. Regeneração natural em área degradada pela mineração de carvão em Santa Catarina, Brasil. **Rem: Revista Escola de Minas**, 62, n. 3, p. 297-304, 2009.

SQUIZZATTO DE ARAÚJO, F.; MARTINS, S. V.; ALVES MEIRA NETO, J. A.; LANI, J. L. *et al.* Florística da vegetação arbustivo-arbórea colonizadora de uma área degradada por mineração de caulim, em Brás Pires, MG. **Revista Árvore**, 29, n. 6, 2005.

SWENSON, J. J.; CARTER, C. E.; DOMEK, J.-C.; DELGADO, C. I. Gold mining in the Peruvian Amazon: global prices, deforestation, and mercury imports. **PLoS one**, 6, n. 4, p. e18875, 2011.

THOMAS, J. H. New Biological Books Reviews and Brief Notices Vascular Plant Systematics. Albert E. Radford William C. Dickison Jimmy R. Massey C. Ritchie Bell. **The Quarterly Review of Biology**, 51, n. 1, 1976.

VALOIS-CUESTA, H.; MARTÍNEZ-RUIZ, C. Especies vegetales colonizadoras de áreas perturbadas por la minería en bosques pluviales del Chocó, Colombia. **Biota Colombiana**, 18, n. 1, 2017.

CAPÍTULO 7

INSERÇÃO DE ÁRVORES FRUTÍFERAS NA ARBORIZAÇÃO DO PARQUE LINEAR DA GAMELINHA, ZONA LESTE DE SÃO PAULO

Data de aceite: 01/04/2021

Alessandra Pereira dos Santos Marques

Fabiana Aparecida Vilaça

Ana Cláudia Siqueira

RESUMO: O trabalho em questão aborda os inúmeros benefícios da arborização nas grandes cidades mostrando como é importante a inserção de árvores frutíferas em parques lineares, demonstrando assim mudança da paisagem local ajudando no bem-estar físico e mental da população que encontra nesse parque local de lazer, de caminhadas, prática de exercícios, interação social e aproveitam principalmente os benefícios trazidos pelas árvores frutíferas, a avifauna também é atraída por essas espécies frutíferas. [mc1] Objetivou-se mostrar a identificação das espécies de árvores frutíferas existentes no parque linear da Gamelinha. A metodologia utilizada nessa pesquisa foi a quali-quantitativa, com a exposição dos dados obtidos através de registro fotográfico, feitos pelo aparelho celular contendo as espécies frutíferas existentes em toda extensão do parque linear da Gamelinha, que se situa na zona leste de São Paulo, colocando em evidência a grande importância de haver mais espaços verdes em grandes centros urbanos. [mc2] Obeve-se identificação das espécies frutíferas amoreira, abacateiro, bananeira, goiabeira, limoeiro, mamoeiro, mangueira, nespereira e pitangueira,

várias propriedades benéficas existentes em cada uma delas, e também foram mostrados em tabela os seus nomes populares, nomes científicos, família pertencente e origem. A inserção de árvores frutíferas em grandes cidades favorece no microclima, na saúde da população e um novo aspecto à cidade que vive em meio a muita poluição.

PALAVRAS - CHAVE: Ambientes não formais de ensino, Educação ambiental, Hortas urbanas.

RESUME: The work in question addresses the numerous benefits of afforestation in large cities, showing how important it is to insert fruit trees in linear parks, thus demonstrating a change in the local landscape, helping the physical and mental well-being of the population found in this local leisure park, of walks, exercise, social interaction and mainly enjoy the benefits brought by fruit trees, avifauna is also attracted by these fruit species. The objective was to show the identification of the species of fruit trees existing in the linear park of Gamelinha. The methodology used in this research was qualitative and quantitative, with the exposure of the data obtained through photographic record, made by the cell phone containing the fruit species existing in the entire extension of the Gamelinha linear park, which is located in the east side of São Paulo, highlighting the great importance of having more green spaces in large urban centers. Identification of the fruit species: mulberry, avocado, banana, guava, lemon, papaya, mango, loquat and pitangueira, several beneficial properties existing in each of them, and their popular names, scientific names, belonging family were also shown in the table and

origin. The insertion of fruit trees in large cities favors the microclimate, the health of the population and a new aspect to the city that lives in the midst of a lot of pollution.

KEYWORDS: Non-formal teaching environments, Environmental education, Urban gardens.

1 | INTRODUÇÃO

O paisagismo tem funções de promover encontros sociais entre diferentes grupos. A vida urbana se amplia cada vez mais no entorno dos espaços públicos, com isso, as paisagens tornam-se parte do convívio, de tal forma a influenciar os mais diversos aspectos, desde o ecológico e econômico até o social (LIRA FILHO et al; 2001).

Em grandes cidades onde a poluição, a falta de áreas verdes, inúmeros prédios, asfalto que deixam a cidade com o clima pesado a necessidade de espaços com inserção de árvores é necessário.

A cidade por conta da arborização exibe outra paisagem mudando o aspecto cinzento e carregado em virtude da poluição dos carros das indústrias presentes nos grandes centros, a população se beneficia de forma efetiva pois oferece benefícios para a saúde bem como a conscientização para um meio ambiente mais puro, saudável e agradável tendo o pensamento voltado para a melhoria urbana podendo aproveitar momentos de diversão e lazer nesses espaços.

Fica demonstrado através desse trabalho a importância crucial da inserção de árvores frutíferas bem como de outras espécies também que oferecem uma gama de benefícios para a sociedade pois oferece para populações de várias cidades a oportunidade da prática de esportes trazendo assim melhorias para a saúde.

Essa introdução ameniza um pouco o clima pesado das grandes cidades que trazem consigo absurda poluição trazendo um novo respirar mais leve, traz a população a oportunidade de aproveitar a inserção dessas árvores nos parques lineares bem como em outros espaços da cidade mais o que está em questão e apresentado aqui são os parques lineares a oportunidade para o lazer num clima mais agradável, também existe a questão de atração de aves que vem por conta dos frutos das espécies inseridas e a população nesse mesmo aspecto usufrui dos mesmos frutos expostos pelo parque.

É uma forma de despertar a população para ter uma vida mais saudável pois o ambiente é propício e incentiva a prática, outro fator é a participação no plantio dessas espécies aumentando assim a diversidade. Existe também a questão de atração para pássaros dependendo da espécie plantada que enriquece o ambiente proporcionando uma variedade de pássaros nesses locais revitalizados.

O uso de mais árvores frutíferas e espécies nativas propiciam uma maior variedade da fauna em áreas urbanas e por isso as condições importantes para receber uma variedade de pássaros e insetos em áreas verdes urbanas dependem da seleção de espécies (MINKS,2013).

Assim a arborização é uma floresta social no conceito restrito de árvores plantadas na calçada, à medida que gera diversos serviços e produtos diretos, como material de poda comerciável (GONÇALVES; PAIVA, 2004).

A arborização pode também ser fator de desenvolvimento urbano e da qualidade de vida. Bairros com urbanização protegida e funcional têm significativa valorização em aspectos sociais e econômicos, podendo ter efeito no microclima local ou regional (PAIVA; GONÇALVES, 2002).

Para que haja sucesso no planejamento do paisagismo urbano é necessário haver participação da comunidade, pela sua função primordial, sendo prática recomendável como forma de educação ambiental, provocando mudanças de atitudes e comportamentos relacionados à arborização (SILVA et al., 2007).

Segundo Pinheiro (2013b), os parques lineares são obras estruturadas em áreas urbanas, muito utilizados como instrumento de planejamento e gestão de áreas degradadas, buscando conciliar tanto os aspectos urbanos como também naturais. Eles se constituem de áreas lineares, destinadas tanto a conservação como à preservação dos recursos naturais, tendo como principal característica a capacidade de interligar fragmentos de vegetação como outros parques, praças ou corredores verdes, permitindo ainda o acréscimo de funções de uso humano.

De acordo com LIMA (1993), as áreas urbanas constituem um ambiente artificial, pois possuem grande concentração de áreas construídas e pavimentadas que favorecem a absorção a radiação solar de dia e reflexão durante a noite. Denominadas ilhas de calor, este fenômeno pode ter um diferencial térmico bastante significativo em relação à locais mais vegetados. As árvores interceptam, refletem, absorvem e transmitem a radiação solar. Uma adequada arborização e uma boa ventilação constituem dois elementos fundamentais para a obtenção de conforto térmico para o clima tropical úmido.

O objetivo desse trabalho é a identificação de árvores frutíferas existentes no Parque linear da Gamelinha, bem como retratar a importância da implantação dessas áreas para melhorar a qualidade de vida das pessoas que vivem em centros urbanos, arborização urbana e aproveitamento de espaços para área de convivência.

2 | METODOLOGIA

Essa pesquisa, que é de natureza quali-quantitativa, foi realizada na cidade de São Paulo precisamente no bairro da Vila Matilde onde o local de estudo é o parque linear da Gamelinha situado na Av. Dr. Bernardino Brito Fonseca de Carvalho próximo ao nº 1.200 com o intuito de identificar as espécies de árvores frutíferas usadas para arborização existentes nessa localidade. A realização dessa coleta de dados foi no mês de junho de 2019.

O caráter qualitativo da arborização refere-se à escolha da (s) espécie (s) mais adequada (s) a cada espaço da cidade como ruas, parques, praças, alamedas, considerando,

sempre, as condições edafoclimáticas e físicas locais. O caráter quantitativo, qualquer que seja, é insatisfatório se não vier acompanhado por parâmetros de qualidade da (s) espécie (s) em questão ou, segundo Griffith e Silva (1987), a melhor maneira de avaliar um sistema de áreas verdes não é necessariamente a quantidade de espaço verde por habitante, uma vez que aspectos como a forma, a qualidade e a distribuição das áreas são subjetivos, e tão fundamentais quanto à quantidade.

Localizado na zona leste de São Paulo atende também as comunidades da Vila Guilhermina, cidade Patriarca, o parque linear Gamelinha (Figura 1) possui uma área de extensão de 122.500 m², com iluminação por toda a sua área, pista de caminhada pavimentada, área de descanso para a população, quadras , área de gramados, com ciclovia para pedestres. Possui também em meio ao parque uma área com aparelhos para prática de esportes.

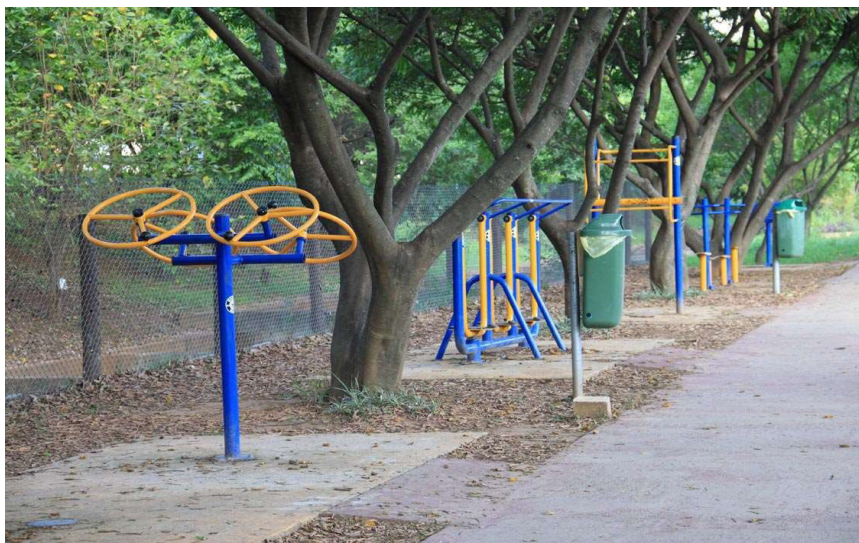


Figura 1: Vista do Parque Linear Gamelinha

Fonte: BIAGOLINI (2018)

O parque possui variedades de plantas introduzidas por moradores e poder público em sua maioria espécies frutíferas e possui nessa área 3,8 Km de extensão e 25 metros de largura. (Figura 2).



Figura 2: Vista do alto do Parque Gamelinha Zona Leste, SP

Fonte: Google Eart, acessado em:27/05/2019

Através de registro fotográfico foram registradas em caráter quantitativo 9 espécies de árvores frutíferas no Parque Linear da Gamelinha dentre as quais de forma qualitativa estão a amoreira, o abacateiro, a bananeira, a goiabeira, o limoeiro, a mangueira, o mamoeiro, a nespereira e a pitangueira.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

De acordo com as observações feitas no local em questão o parque linear da Gamelinha é visível a presença de várias espécies de árvores frutíferas não só as exóticas como também as nativas.

Os benefícios para a população são enormes o bem-estar que proporciona em meio a cidade poluída pelas indústrias é de grande valia a inserção de árvores é necessário a cidade com espaços verdes para melhor modo de vida da população, da avifauna e de um clima mais leve e saudável, o parque linear da Gamelinha é um exemplo desses benefícios.

É evidente que o parque linear da Gamelinha obteve vários benefícios com a inserção das árvores e a canalização do córrego para melhor escoamento das águas que nos anos 80 causava muitos transtornos à população.



Figura 3: Enchentes provocadas pelas fortes chuvas no local

Fonte: Google

A canalização foi também uma estratégia utilizada para a melhoria no escoamento das águas para melhor benefício de toda localidade melhorando a condição de vida da população trazendo uma nova perspectiva e novas expectativas aos moradores de todo local e imediações. No ano de 1991 foi feita a canalização do córrego melhorando as condições do lugar nas figuras 4 e 5 abaixo são demonstrados tais transformações na estrutura do local.

Anos de problemas enfrentados de enchentes e inundações finalmente foram revertidos em novas possibilidades para muitas pessoas que moravam já há anos na região.

Atualmente o parque possui uma estrutura muito diferente de décadas atrás.

Figura 5: Início das obras de canalização Gamelinha



Fonte: Google

Figura 4: Parque Linear Gamelinha



Acervo: Autor

De acordo ainda com os registros fotográficos de BIAGOLINI 2018 se pode observar na Figura: 6(a) o antes e (b) depois do parque linear da Gamelinha bem como também a pista de ciclismo Figura:4 onde se pode observar a mudança no parque e o local pensado para beneficiar a população também nos passeios com bicicleta e para aqueles também usam para se deslocar para o trabalho como meio de locomoção em substituição muitas vezes do automóvel contribuindo assim para melhoria do ar na cidade.



Figura 6:(a) Córrego da Gamelinha com margens gramadas ano de 2002 (b) Córrego Gamelinha arborizado com a implementação do parque linear ano de 2017.

Fonte: BIAGOLINI (2018)



Figura 6: Ciclovía às margens do parque linear da Gamelinha

Fonte: BIAGOLINI (2018)

Segundo Giordano (2004), os parques lineares são áreas destinadas tanto à conservação como a preservação dos recursos naturais, tendo como principal característica interligar fragmentos florestais e outros elementos encontrados em uma paisagem, assim como os corredores ecológicos, porém neste tipo de parque têm-se a agregação de funções de uso humano, expressas principalmente por atividades de lazer e com rotas de locomoção humana não-motorizada, compondo desta forma princípio de desenvolvimento sustentável.

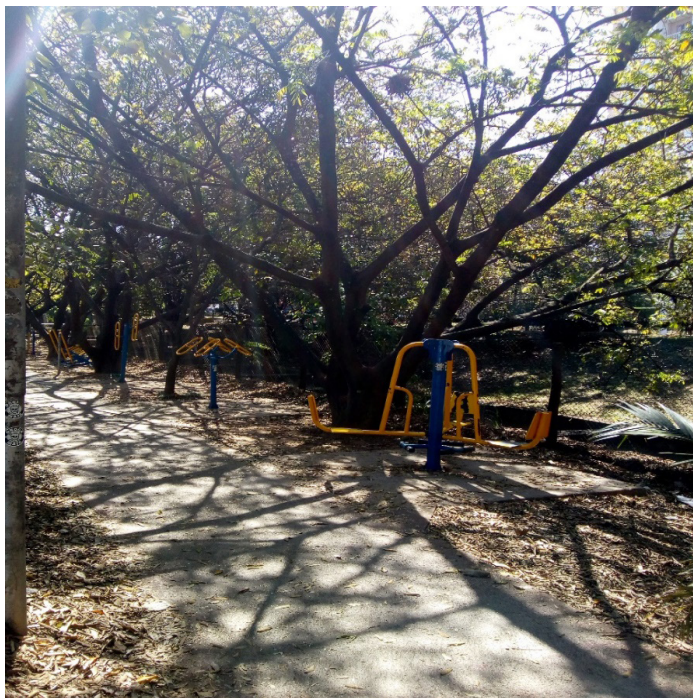


Figura 7: Aparelhos Parque Linear Gamelinha

Acervo: Autor

A população conta com equipamentos para prática de esportes beneficiando assim à saúde e trazendo bem-estar e melhor qualidade de vida por conta da prática dos exercícios físicos que são muito importantes para a manutenção do corpo e da mente.

Segundo FRIEDRICH (2007), o parque linear estimula a coesão social, além de viabilizar a promoção recreacional e educacional. Os passeios lineares acarretam benefícios a coletividade, verificado pela quantidade de pessoas que caminham e pedalam em eixos viários lineares existentes. Dessa maneira, o bosque urbano está em congruência com a mudança cultural ocorrida na década de 1990, caracterizada pela valorização ambiental e pelo exercício físico (MERINO, 2006 apud FRIEDRICH, 2007).



Figura 8: Pista de caminhada Gamelinha

Acervo: Autor

A pista de caminhada é também uma ótima opção para os moradores locais utilizarem para sua recreação e aproveitar para as caminhadas matinais nas manhãs e fins de tarde.

Em Garabini (2004), o parque linear agregado à áreas de fundo de vale apresenta-se como um espaço aberto, livre e de pouca manutenção, onde subespaços recreativos são de outra natureza, nos quais playgrounds e jogos lúdicos são preteridos pela preservação ambiental, pelo culto ao corpo, pela prática de longas caminhadas e pelo lazer contemplativo.

Todas essas espécies frutíferas como as demais proporcionam ao lugar um clima mais ameno, agradável e com possibilidades de diferentes espécies de aves se alimentarem de seus frutos, o abacateiro por ser uma espécie grande e de crescimento mais lento deveriam estar presentes antes da revitalização do parque, foram mapeadas as espécies frutíferas conforme tabela abaixo:

NOME CIENTÍFICO	NOME POPULAR	FAMÍLIA	ORIGEM
<i>Persea americana</i>	Abacateiro	Lauraceae	América Central (México)
<i>Morus nigra</i>	Amoreira	Moraceae	Ásia, África e América do Norte
<i>Eugenia uniflora</i>	Pitangueira	Myrtáceas	América do Sul (Mata Atlântica)
<i>Musa velutina</i>	Bananeira	Musaceae	Sudeste Asiático
<i>Psidium guajava</i>	Goiabeira	Myrtáceas	América (exceto México e Canadá)
<i>Mangifera indica L.</i>	Mangueira	Anacardiaceae	Sudeste Asiático
<i>Carica papaya</i>	Mamoeiro	Caricaceae	Sul do México, América Central e Norte da América do Sul
<i>Citrus limon</i>	Limoeiro	Rutaceae	Ásia
<i>Eriobotrya japonica</i>	Nespereira	Rosaceae	Sudeste da China

Tabela 1- Origem e relação das espécies frutíferas existentes no Parque Linear da Gamelinha

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É certo que árvores frutíferas ou outras espécies proporcionam uma grande diferença na paisagem das cidades em meio aos parques e praças cada espécie estudada nesse trabalho além de trazer mais riqueza e diversidade em solos pouco prováveis para sua frutificação mais de umas menos de outras, mas estabelecem uma harmonia entre homem e natureza, bem-estar e poluição se sobressaindo e dando nova visão em cidades tomadas pela poluição atmosférica que tantos danos causam a saúde de quem nelas vive.

É de grande contribuição na área de Ciências Biológicas esse estudo pois possibilita agregar o verde, o puro e a beleza de grandes florestas, grandes santuários da natureza em meio ao caos da cidade com seus elementos poluentes e maléficos à vida, a visão de lugares mais agradáveis de se viver.

Muito importante se estabelecer esse contato um tanto oposto da inserção de árvores frutíferas no meio de grandes centros agitados e com tantas ocupações e preocupações

para que se tenha uma conexão entre as pessoas e o meio ambiente para que isso não se perca ao longo do tempo.

É preciso saber a capacidade que o ser humano tem de preservar e analisar com bons olhos o meio ambiente e o benefício diverso que ele nos traz, será que futuramente teremos ainda a oportunidade de nos deparar com ambientes frutíferos, arborizados e voltados para a preservação e perpetuação de tantas e tantas espécies, será que se não tomarmos medidas hoje para que isso aconteça lá no futuro teremos oportunidade de ver todas essas belezas e maravilhas da natureza.

Fica claro que a arborização nas grandes cidades contribui em aspectos importantes para a vida da população que pode desfrutar de um local para seu lazer, prática de esportes, convívio social trazendo assim benefícios para a saúde física e mental.

O fato de estar num ambiente com temperatura amena um clima agradável ajuda nas caminhadas que os moradores podem fazer pelas manhãs, o ar mais puro fornecido pela inserção das árvores frutíferas agrega vários outros benefícios como a diminuição da poluição sonora, poluição do ar, parte dos raios sendo absorvidos e atração de aves para o parque linear.

É interessante também se implantar mais árvores nativas nesses parques pois dentre as espécies frutíferas observadas somente duas são nativas a goiabeira e a pitangueira sendo todas as outras espécies exóticas, é importante a inserção de espécies brasileiras.

O que se conclui é que só benefícios são observados pois a inserção de árvores frutíferas em parques lineares é uma medida correta para a melhoria do ambiente no geral nas cidades grandes onde também a população pode participar no plantio e na manutenção dessas espécies.

São necessárias mais ações como essa nas grandes cidades, nos parques, nas praças onde for possível ser implantado, pois há uma grande necessidade de preservação das áreas verdes para as futuras gerações possam usufruir desse bem, e podemos observar também que apesar de tantas melhorias no local, ainda há muito por se fazer, tanto pelo poder público como também pela comunidade que usufrui desse espaço.

A população pode ter uma maior participação não só na questão que está relacionada ao plantio das árvores, mas também na preservação das mesmas, as pessoas que são mais próximas ao local que sempre estão fazendo caminhada por lá sempre que possível observar como está a condição das árvores e incentivar mais pessoas a fazerem o mesmo.

Os benefícios para a população são inúmeros, pois além da sombra que as árvores fornecem também existe a parte da alimentação vinda dos frutos que elas produzem.

Assim, restaurar e recuperar espaços públicos nas grandes cidades, localizados as margens de rios e córregos, principalmente para a implantação de áreas de lazer ou de preservação, pode ao mesmo tempo contribuir para a preservação de ambientes naturais, contribuir com a melhoria de ambientes degradados e melhorar de forma significativa a qualidade de vida das pessoas (DE ANGELIS NETO; DE ANGELIS; OLIVEIRA, 2004)

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. R.; ZEM.; BIONDI, D. **Relação observada pelos moradores da cidade de Curitiba-PR entre a fauna e árvores frutíferas**. REVSBAU, Piracicaba -SP, v.4, n.1, p. 3-20, 2009.
- ARAÚJO, R. C. R.; PIRES, L. L. **Opções de árvores frutíferas do cerrado para paisagismo em Bairros da Periferia de Goiânia- GO**: Revista Caatinga vol.22, nº4, outubro-deciembre, 2009, pp. 235-239. Universidade Rural do semi-Árido, Mossoró ,Brasil. Disponível em: <http://www.redalyc.org:9081/articulo.oa?id=237117843034> Acesso:26/02/2019
- ALVES, E. D. L.; VECCHIA, F. A. S. **Influência de diferentes superfícies na temperatura e no fluxo de energia: um ensaio experimental**. *Ambiência*, Guarapuava, v. 8, n. 1, p. 101 - 111, 2012.
- BIAGOLINI, C. H.; LOURENÇO, R. W. **Identificação das principais espécies frutíferas existentes em 10 parques lineares da cidade de São Paulo**. *Cadernos de Agroecologia- ISSN.2236-7934-Anais do xCBA- Vol. 13, nº1, Mar.2018*. Univerdidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita UNESP- Campus Sorocaba,2018.
- BIAGOLINI, C. H. **Método avaliativo e qualitativo de parques lineares da cidade de São Paulo**, (SP). 2018. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) – Campus Experimental de Sorocaba, UNESP – Universidade Estadual Paulista, 2018
- CALLEJAS, I. J. A.; DURANTE, L. C.; OLIVEIRA, A. S. de; NOGUEIRA, M. C. D. J. A. **Uso do solo e temperatura superficial em área urbana**, Universidade Federal do Ceará, Brasil. *Revista Mercator*, Fortaleza, v. 10, n. 23, p. 207 - 223, 2011.
- CARVALHO, Ruy Inácio Neiva de. **Produção de frutas em pomar Doméstico**. Curitiba: Champagnat, 1998.
- COUTO, H. T. Z. **Métodos de amostragem para avaliação de árvores de ruas**. In: Congresso Brasileiro de Arborização Urbana, 2, 1994, São Luis. Anais... São Luis: SBAU, 1994. p.169-179.
- DANTAS, I. C.; SOUZA, C.M. C. **Arborização urbana na cidade de Campina Grande-PB: Inventário e suas espécies**. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. v.4, n.2, 2004.
- DE ANGELIS NETO, G.; DE ANGELIS, B. L. D.; OLIVEIRA, D. S. **O uso da vegetação na recuperação de áreas urbanas degradadas**. *Acta Scientiarum Technology*, Maringá, v. 26, n. 1, p. 65-73, 2004. Disponível em: <file:///C:/Users/user/Documents/1555-4116-1-PB.pdf>. Acesso em: 26 out. 2019
- DOULOS, L. M.; SANTAMOURIS, L. I. **Passive cooling of outdoor urban spaces: the role of materials**. In.: *Solar Energy*, Número 77, 2004. p. 231-249.
- FRANCO, Maria de Assunção Ribeiro. **Planejamento ambiental para a cidade sustentável**, São Paulo, Anablume, 2001.
- FRIEDRICH, Daniela. **O parque linear como instrumento de planejamento e gestão das áreas de fundo de vale urbanas**. Dissertação de mestrado, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, 2007.

FRISCHENBRUDER, Maria T. Mamede; PELLEGRINO, Paulo. **Using greenways to reclaim nature in Brazilian cities**, 2006 apud FRIEDRICH, D., p. 59, 2007.

GANGLOFF, D. Urban forestry in the USA. In: **Second National Conference on Urban Forestry**. USA, K D. Collins, 1996. p. 27-29.

GARABINI, Élcio Araújo. Parques Urbanos Aqui, Ali, Acolá. Porto Alegre, 2004. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Arquitetura, Programa de Pós-Graduação em Arquitetura, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GENGO, R. C.; HENKES, J.A. **A utilização do paisagismo como ferramenta na preservação e melhoria ambiental em área urbana**. Revista gestão sustentável ambiental. Florianópolis, v.1, n.2, p.55-81, out. 2012/mar. 2013.

GIORDANO, Lucilia do Carmo. Análise de um conjunto de procedimentos metodológicos para a delimitação de corredores verdes (greenways) ao longo de cursos fluviais. Rio Claro, 2004. **Tese de Doutorado**. Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista.

GONÇALVES, W.; PAIVA, H.N. Árvores: para o ambiente urbano. Viçosa: Aprenda Fácil Editora, 2004, 243p.

GRIFFITH, J.J.; SILVA, S.M.F. **Mitos e métodos no planejamento de sistemas de áreas verdes**. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE ARBORIZAÇÃO URBANA, 2., 1987, Maringá. Anais... Maringá: Imprensa da Prefeitura Municipal, 1987. p. 34-42. GUIMARÃES, Elom Alano. **Parques lineares como gerenciadores de paisagem: realidades e possibilidades do Rio Tubarão no contexto urbano de Tubarão, SC**. Dissertação de Mestrado. UFSC, Florianópolis, Brasil, 2011.

INPE, **Clima Urbano**. Disponível em:, acesso em 14 de set. de 2019.

LIMA, A.M.L. Piracicaba, SP: **Análise da arborização na área central e em seu entorno**. Piracicaba, 1993. 238p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

LOIS, E.; LABAKI, K. L. C. **Conforto térmico em espaços externos: uma revisão**. In.: Encontro Nacional de Conforto no Ambiente Construído, VI; Encontro Latino-Americano de Conforto no Ambiente Construído, III, 2001. São Pedro. Anais... São Pedro: ANTAC, 2001. p. 209-212.

LIRA FILHO, J.A.; PAIVA, H.N.; GONÇALVES W. **Paisagismo: princípios básicos Viçosa**: Aprenda Fácil Editora, 2001, 166p.

MACIEL, C. de R.; NOGUEIRA, M. C. de J. A.; NOGUEIRA, J. de S. **Cobertura do solo e sua influência na temperatura de microclimas urbanos na cidade de Cuiabá - MT**. Caminhos de Geografia, Uberlândia, v. 12, n. 39, p. 40 - 57, 2011.

MAZZAFERRO, Ângela Cristina Pereira. **Os espaços coletivos sob a ótica do desenvolvimento sustentável**. 2004 apud FRIEDRICH, D., p. 61, 2007.

MELO, E. F. Q.; ROMANI, A. Praça Ernesto Tochetto: **Importância da sua preservação histórica e aspectos de sua arborização**. Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana. Piracicaba. v.3, n.1, 2008. p.54-72.

MENDONÇA, L.B.; ANJOS, L. **Feeding behavior of hummingbirds and perching birds on *Erythrina speciosa* Andrew (Fabaceae) flowers in an urban area, Londrina, Paraná, Brazil.** Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba, v. 23, n. 1, p. 42-49, 2006.

MENEGUETTI K.S.; REGO, R.L.; BELOTO, G.E. **Maringá, a paisagem urbana e o sistema de espaços livres.** Revista Paisagem Ambiente: ensaios, nº26, p. 29-50, 2009.

MERINO, Emílio. **Promoção de bicicletas como meio de transporte sustentável,** 2006 apud FRIEDRICH, D., p. 103, 2007.

MILANO, M. S.; DALCIN, E. C. **Arborização de vias públicas.** Rio de Janeiro, RJ: Light, 2000. 131

MILANO, M. S.; DALCIN, E. C. **Arborização de Vias Públicas.** 1. ed. Rio de Janeiro: Light, 2000. 226p.

MILLER, R.W. **Urban Floresty: Planning and Managing Urban Greenspaces.** 2nd ed. New Jersey, Prentice Hall, 1997. 502p.

MINKS, Volker. **A rede de desing verde urbano- uma alternativa sustentável para megacidades.** Revista Labverde. São Paulo, n.7. artigo n.6, p. 1-22, 2013. Disponível em:<<http://www.revistas.usp.br/revistalabverde/article/view/81089/84732>> Acesso: 04/03/2019.

NASCIMENTO, Oswaldo. **O guia mapograf,** 1994

NINCE, P. C. do C.; SANTOS, F. M. de M.; NOGUEIRA, J. de S.; NOGUEIRA, M. C. D. J. A. **Conforto térmico dos usuários em vegetação e revestimentos urbanos no campus da UFMT em Cuiabá-MT.** Revista Monografias Ambientais, Santa Maria, v. 13, n. 4, p.3299 – 3305, 2014.

NOWAK, J.N. NOBLE, M.H., SISINNI, S.M.& DWYER, J.F. **PEOLE & Trees: Assessing the US Urban Forest Resource.** Journal of Forestry, v.99, n.3, p. 37-42, 2001.

NUCCI, J. C. **Qualidade ambiental e adensamento urbano.** São Paulo: Humanitas/FAPESP, 2001. 150 p.

OLIVEIRA, A. S. de. **Influência da vegetação arbórea no microclima e uso e praças públicas.** 162 f. Tese (Doutorado em Física Ambiental) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2011.

OLIVEIRA, C. H. **Planejamento ambiental na cidade de São Carlos (SP) com ênfase nas áreas públicas e áreas verdes: diagnóstico e propostas.** Dissertação (Mestrado em Planejamento Urbano e Ecologia Urbana.) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos. 132 p. São Carlos, 1996.

OLIVEIRA, M.M.A. **Arborização e avifauna urbana em cidades do interior paulista.** Boletim Centro de Estudos Ornitológicos, São Paulo, n. 7, p 10-14, 1990.

PAIVA, H.N.; GONÇALVES, W. **Florestas urbanas: planejamento para a melhoria de vida.** Viçosa; Aprenda Fácil Editora, 2002. 180p (Série Arborização Urbana, 2).

PEREIRA et al. **O uso de Espécies Vegetais, como Instrumento de Biodiversidade da Avifauna Silvestre, na Arborização Pública: o caso de Recife.** Atualidades Ornitológicas. Olinda, n. 125, p. 1-15, maio/junho, 2005.

PESCI, Rúben. **La ciudad de la urbanidad**, 1999 apud FRIEDRICH, D., p. 61, 2007.

PINHEIRO, L. Projeto Técnico: **Parques Lineares como medidas de Manejo de Águas Pluviais. Soluções para cidades, São Paulo**- Fundação Centro Técnico de Hidráulica, SBCP, Disponível em: http://www.solucoesparacidades.com.br/wp-content/uploads/2013/10/AF_Parques%20Lineares_Web.pdf > Acesso : 21/04/19

PINHEIRO, L. Projeto Técnico: Programa Drenurds: **Uma concepção inovadora dos recursos hídricos no meio urbano.** (Org.) MOTA, E. Soluções para Cidades, Fundação Centro Técnico de Hidráulica, SBCP, 2013. Disponível em: http://www.solucoesparacidades.com.br/wpcontent/uploads/2013/09/AF_DRENNURBS_W EB.pdf> Acesso:04/03/2019

PIVETTA, K.F.L e SILVA FILHO, D.F. **Arborização Urbana**, In: Boletim Acadêmico: Série arborização Urbana. UNESP/FCAV/FUNEP, Jaboticabal, São Paulo: 2002.

SCALISE, Walnyce, **Parques Urbanos- evolução, projeto, funções e uso.** Revista Assentamentos Humanos, Marília, v.4, n.1, p.17-24, 2002.

SANTOS, N.R.Z dos; TEIXEIRA, I.F. **Arborização de vias públicas: ambiente x vegetação.** Santa Cruz do Sul: Instituto Souza Cruz, 2001. 135p.

SARA.BRASIL S/A. (Empresa que elaborou). **Mapa topográfico do Município de São Paulo.** Eescala 1:5.000, 1930, folha 54.

SILVA. L.F. et al. **Participação comunitária no planejamento viário de alguns bairros da cidade de Americana/ SP.** Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana, v.2, n.3, p. 47 -64, 2007.

TRENTIN, Gracieli, SIMON, Adriano Luís Heck. **Análise da ocupação espacial urbana nos fundos de vale do município de Americana- SP,** BRASIL, UNESP, 2003. Disponível em:<http://observatoriogeograficoamericalatina.org.mx/ega/12/GeografiasocioeconomicaGeografiaurbana/287.pdf>. Acesso em 08/06/2019.

TROWBRIDGE, P. J.; BASSUK, N. L. **Trees in Urban Landscapes: site assessment, design and installation.** Hoboken: Wiley & Sons, 2004. 207p.

VILLALOBOS, J.U.G. **Fundos de vale, política e situação ambiental**, 2003 apud BARBOSA, L. C., p. 49, 2010. www.jardineiro.net/ plantas-de-a-a-z-por-nome-popular Acesso:03 de out. 2019.

CAPÍTULO 8

USUAL LABORATORIAL TECHNIQUES IN TROPICAL MELISSOPALYNOLOGY

Data de aceite: 01/04/2021

Ortrud Monika Barth

Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz
Rio de Janeiro, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9153494749384486>
<http://orcid.org/0000-0002-2418-8605>

Alex da Silva de Freitas

Universidade Federal Fluminense
Instituto de Geociências,
Niterói, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9364645111705574>
<http://orcid.org/0000-0002-8665-7649>

Cynthia Fernandes Pinto da Luz

Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em
Palinologia,
São Paulo, Brazil
<http://lattes.cnpq.br/9803806414020991>
<http://orcid.org/00000001-7908-155X>

ABSTRACT: Melissopalynological techniques used actually in the laboratories to prepare and study bee products are frequent and sometimes divergent. Tropical countries need some special attention to reach good results in sample preparation and, thereafter, the final interpretation and sample diagnostic. Detailed standard techniques and complements are presented encompassing honey, pollen loads, bee bred, propolis, geopropolis and royal jelly. The products obtained by honeybees (*Apis*) and social stingless bees are considered. A global review of techniques applied to studies in

Melissopalynology is not intended here.

KEYWORDS: Melissopalynology, techniques, standards, the tropics

TÉCNICAS LABORATORIAIS USUAIS EM MELISSOPALINOLOGIA DOS TRÓPICOS.

RESUMO. As técnicas melissopalínológicas utilizadas atualmente nos laboratórios para preparar e estudar os produtos apícolas são frequentes e por vezes divergentes. Os países tropicais precisam de atenção especial para alcançar bons resultados na preparação das amostras e, a partir daí, na interpretação final e no diagnóstico. Técnicas padrão detalhadas e complementos são apresentados abrangendo mel, cargas de pólen, pão de abelhas, própolis, geoprópolis e geleia real. São considerados os produtos obtidos por abelhas melíferas (*Apis*) e abelhas sociais sem ferrão. Não é feita uma revisão global das técnicas aplicadas aos estudos em Melissopalynologia.

PALAVRAS - CHAVE: Melissopalynologia, técnicas, padrões, trópicos

1 | INTRODUCTION

Melissopalynology: significance, pollen and palynological analysis - The main knowledge when starting melissopalynological investigations must be the taxonomical recognition of plants occurring in different vegetation types around apiaries and bee nests until the limit of the bee action ray. The bee species have to be identified also, while

stingless bee products are bee species dependent (Barth *et al.* 2020). Floristic surveys are numerous when based on indiscriminate field observations. Bees visit flowers for obtaining nectar and pollen grains, but often just rest on the flowers only. Provided information on common names of plants frequently does not confer with the scientific nomenclature. These informations are important to add value to the product (Montoya-Pfeiffer *et al.* 2016). The knowledge of pollen grain morphology and accessory structured elements occurring in the sediment of bee products is the starting point of any bee product analyses (Haidamus *et al.* 2019, Barth *et al.* 2010). Bee products suitable to be studied in Melissopalynology are honey, pollen loads from bee baskets, stored bee bread, propolis, geopropolis and royal jelly (Barth 1989).

Decades of melissopalynological bee product investigations cover countries, counties, areas and restricted localities. Standards were firstly defined by Louveaux, Maurizio & Vorwohl (1970, 1978) joining their experiences in France, Switzerland and Germany. Just at today this information is valid. The standard technique to prepare honey samples trying to identify pollen grains and figurative remaining elements in the sediment, give the best characterization of the botanical origin, as well as on the environmental quality for honey production and of bee behaviors (Barth 1989).

Many authors all over the world developed techniques to prepare honey and pollen samples, each one according the intention to obtain its results purposed. Filtration technique of honey was presented by Lutier & Vaissière (1993). Adulteration of honey with cane sugar products was investigated by Kerkvliet & Meijer (2000). Jones & Bryant (2001) discussed pollen grain concentration and the use of ethanol to prepare honey samples. Quantitative and qualitative methods of Melissopalynology were discussed (Von der Ohe *et al.* 2004). DNA barcoding was more recently applied in Melissopalynology of honey origin identification (Hawkins *et al.* 2015).

Nevertheless, investigations when started in tropical countries suffered lack of botanical information and a use of appropriate laboratorial techniques. The original standard technique to investigate pollen in honey, bee loads and bee bread sediments (Louveaux *et al.* 1970) can be complemented for investigation of pollen morphology by using additionally the acetolysis methodology (Erdtman 1952). Attention is to be made that, using the acetolysis technique only, many additional information about the origin and quality of these products, as purity, contamination, adulteration, are lost. The standard technique gives a palynological analysis, while acetolysis respond to pollen morphology and number of pollen grains as a pollen analysis.

Barth (1989) besides bee pollen morphology studies of hundreds of samples, started a regional analysis of Brazilian honeys using Louveaux *et al.* (1978) methodology. Later a comprehensive review was presented by Barth (2004) on Melissopalynology in Brazil.

Considering the importance of Melissopalynology for the botanical and phytogeographic certification of bee products, both for their commercialization and for scientific research

purposes, the objective of this work was to present basic methodologies used in Brazilian and international laboratories with recognized competence.

2 | MATERIAL AND MÉTODOS

Material

Samples obtained in several South American countries, mainly of Brazilian regions, were considered. They comprise liquid and crystallized honey, honeydew, bee pollen loads (pellets), bee bread, propolis, geopropolis and royal jelly.

Methods

General techniques

All samples have to be maintained at 5-8°C in a refrigerator or, for longer time, at -20°C in a freezer.

Needle stylets, tweezers, scalpel, fine scissors, etc. need to be sterilized by flaming in a gas flame to avoid pollen contamination from previous analyses. All glasses (honey jars, beakers and centrifuge tubes) need sterilization through heat at 100°C in distilled water for approximately one minute. Plastics should preferably be disposable.

2.1 Glycerin jelly protocol (following Kissler 1935)

- Dissolve 7 g of white powdered gelatin in 24.5 mL of distilled water in a becher.
- Leave it one hour at room temperature.
- Heat in a water bath, whose temperature should not exceed 50°C, until complete dissolution of gelatin; avoid shaking to avoid introducing air bubbles.
- Add 21 mL of glycerol (glycerin p.a.); mix very slowly with a glass stick to avoid introducing air bubbles.
- Still warm, transfer the mixture to small bottles, preferably threaded, and store in a refrigerator. Durability is at least one year. If the glycerin jelly dry or contaminate, discard it.

Notes:

- Room temperature is considered preferentially between 20 and 25°C.
- If during the gelatin dissolution shaking was excessive and the mixture turn white, then discard it and begin again at the first step.
- Avoid opening the same bottle repeatedly to avoid contamination.
- Gelatin jelly results uncolored but may be stained introducing some drops of an alcoholic 0,1% basic fuchsine solution (or 0.2–1% safranin O solution, that

usually results in over-staining) when still warm. Drop slowly. The number of drops varies according to the sample; avoid excessive coloring.

- Using a refrigerator to store the glycerin jelly, no longer the addition of phenol crystals is necessary in order to prevent fungi contamination.

2.2 Light microscope pollen slides preparation

- Stick a 0.5 mm³ piece of glycerin jelly on the tip of a stylus and enter it into the sediment at the bottom of the centrifuge tube.
- Place the glycerin jelly piece with the pollen grains adherent onto the center of a microscope slide.
- Heat gently the slide on a hot plate and mix with the stylus the glycerin jelly and the collected sediment.
- Cover with a coverslip 22x22 mm.
- Still on the hot plate, add small pieces or smelted paraffin lateral to the coverslip; it will penetrate between the slide and the coverslip and sealing the area occupied by the glycerin jelly.
- Clean and label the slides.

Notes:

- At any step heats never more than 56°C.
- Prepare at least one slide per tube with unstained glycerin jelly.
- Prepare additional slides at least for each sample, using colored glycerin jelly, if so wanted. It helps to recognize pollen grain apertures.
- The use of colored jelly is not suitable in Melissopalynology because it obscures important features used to identify the pollen grains.
- Observe in a photonic light microscope firstly using a 10x objective, then pass to larger magnifications.
- Keep the slide boxes at room temperature; store away from sun exposure and maintain at a relative humidity below 60% (if possible).
- Stability of slides. In old preparations (depending upon storing temperatures) pollen grains are swelling and should not be used for measurements.

3.1 HONEY OF *APIS* AND *MELIPONINI* (FOLLOWING BARTH 1989)

3.3 Honey samples protocol

- Weigh 10 g of honey into a becher.
- Add 20 mL of distilled water and dissolve well (10 to 15 minutes).
- Divide the solution into two centrifuge tubes of 15 mL capacity.
- Centrifuge at least 1500 rpm (revolutions per minute) for 15 minutes.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes for approximately 30 seconds before returning to the normal position.
- Note the amount of sediment obtained.
- Add 10 mL of distilled water onto the pellet, mixing well.
- Centrifuge at least 1500 rpm for 15 minutes.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes for approximately 30 seconds before returning to normal position.
- Add 5 mL of a glycerin water solution to the pellet.
- Rest 30 minutes.
- Centrifuge at least 1500 rpm for 15 minutes.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes and **never** return to the normal position; leave the tube inverted on filter paper to drain all the liquid at least 10 minutes. Then prepare the pollen slides.

Notes:

- Crystallized honey may take longer time for dissolution; heat in a water bath; can be dissolved also in a microwave oven briefly, a few seconds, to complete the sugar crystals dissolution.
- The amount of sediment obtained in the centrifuge tubes is visually grouped in rare, few, normal, much, excessive sediment.
- Glycerin water solution consists of 1:1 distilled water and glycerol p.a.

3.4 Honey samples evaluation

- Visually evaluate the two slides, using preferably a 200x magnification.
- Then start to a 400x magnification. Count at least 300 to 500 pollen grains, and

in addition other figured elements noted, preferentially within 10 days.

- Measurements of pollen grains and figured elements are to be taken within this time.
- Consider a predominant pollen type (more than 45% of the nectariferous pollen sum), an accessory pollen type (15-14% of the nectariferous pollen sum), an isolate important pollen type (3-15% of the nectariferous pollen sum) and an isolate occasional pollen type (less than 3% of the nectarifeous pollen sum).
- Take then into consideration:
 - Pollen of entomophilous plants,
 - Pollen from anemophilous plants,
 - Pollen from polliniferous plants,
 - Overrepresented pollen grains
 - Underrepresented pollen grains,
 - Light spores of fungi,
 - Dark spores of fungi,
 - Yeast,
 - Bacteria,
 - Algae,
 - Starch,
 - Insects and its fragments,
 - Wood and vegetal tissue fragments,
 - Samples devoid of pollen grains.

Notes:

- Correction factors or coefficients. We have no correction factors available for plants growing in the tropics (Barth, 2005). (Empirically, according to thousands of evaluated Brazilian samples, 3x values can be attributed to pollen grains in honey p. ex. *Antigonon* (Polygonaceae), of *Croton* (Euphorbiaceae), and *Dombeya* (Sterculiaceae), 2x of Bombacaceae, *Citrus* (Rutaceae), *Hyptis*, *Salvia* (Lamiaceae) and *Vernonia* (Asteraceae).
- Final honey sample evaluation: considering the factors mentioned above, the two following examples show this strategy.

Total of pollen grains counted	464	= pollen sum
Total of anemophilous pollen grains counted	4	= 0.87% of the pollen sum
Total of polliniferous pollen grains counted	42	= 9.05% of the pollen sum
Total of nectariferous pollen counted	418	Considered as 100%
<i>Eucalyptus</i>	390	93.30% of nectariferous pollen counted
<i>Hyptis</i>	21	= 5.02% of nectariferous pollen counted
Final evaluation: Monofloral (unifloral, "pure") honey of <i>Eucalyptus</i> .		

Comments: Since the share of anemophilous and polliniferous pollen is not large (9.92% of the pollen sum), the improvement obtained by this calculation for *Eucalyptus* goes from 84.05% of the pollen sum to 93.30% of the nectariferous pollen therefore; it increases the contribution of *Eucalyptus* nectar in this sample.

Example 1: Honey registered under number X

Total of pollen grains counted	375	= the pollen sum
Total of anemophilous pollen grains counted	-05	= 1.3% of the pollen sum
Total of polliniferous pollen grains counted	-06	= 1.6% of the pollen sum
Total of nectariferous pollen counted	(364 counted + 200 from <i>Croton</i> factor 3) = 564	considered as 100% nectariferous
<i>Croton</i> (factor 3)	(100 counted x factor 3) = 300	53.2% of nectariferous pollen counted
<i>Myrcia</i>	25	4.4% of nectariferous pollen counted
<i>Caesalpinia</i>	18	3.2% of nectariferous pollen counted
Final evaluation: A monofloral (unifloral) honey of <i>Croton</i> .		

Comments: The improvement obtained by using a factor 3 for *Croton*, as a strong nectar producing plant, increases its contribution from 27.5% to 53.2%, and therefore reaching a monofloral sample condition.

Example 2: Honey registered under number Y

4 | BEE POLLEN LOADS (PELLETS) OF *APIS* AND *MELIPONINI* (FOLLOWING BARTH *et al.* 2010)

4.1 Pollen load samples protocol

- Mix well a dry sample of bee pollen pellets.
- Weight two grams of a dry pollen loads sample into a 15 mL centrifuge tube.
- Resuspend the pollen pellets using 70% ethanol just to complete 13 mL and left for 30 minutes.
- Centrifuge at least 1500 rpm (revolutions per minute) for 15 minutes.
- The sediment obtained after centrifugation may be extracted with ethanol again.
- A solution of glycerin water (1:1) is add to the sediment just to complete 13 mL and left for circa 30 minutes.
- One drop of the well-mixed pollen grain suspension was applied on a microscope slide, covered with a 22×22 mm cover slide and sealed with enamel.
- The slide has to be maintained in a horizontal position.

Notes: Ultrasonic treatment during 5 minutes can be suitable for particle dispersal, once or twice.

4.2 Bee pollen load samples evaluation

- Count at least 500 to 1000 pollen grains, in addition other figured elements, using a 400x magnification, preferentially within 10 days, before drying starts.
- Consider a sample to be monofloral (unifloral) if a unique pollen type represents (i) 90% of the pollen sum or (ii) 60% when no accessory pollen type (just to 45% of the pollen sum) is present. Bifloral and heterofloral samples do not present a predominant pollen type.
- Take into consideration:
 - Light spores of fungi,
 - Dark spores of fungi,
 - Yeast,
 - Bacteria,
 - Starch,
 - Wood and vegetal and animal tissue fragments,

- - Samples devoid of pollen grains.

5 | BEE BREAD OF *APIS* AND *MELIPONINI* (FOLLOWING VIT *ET AL.* 2018)

5.1 Bee Bread samples protocol

- I- Weigh two grams of a bee bread sample into a 15 mL centrifuge tube.
- II- Proceed as described for bee pollen loads/pellets above.

5.2 Bee Bread samples evaluation

Bee bread evaluation follows bee pollen loads/pellets evaluation.

Notes:

- Bee bread generally contains a large amount of yeast spores.

6 | PROPOLIS OF *APIS* AND GEOPROPOLIS OF STINGLESS BEES (FOLLOWING ERDTMAN 1952, BARTH 1998, 2006, BARTH & LUZ 2003)

6.1 Propolis and geopropolis samples protocol

- Weigh 0.5 g of the scraped and clean propolis.
- Extract with 15 mL ethanol PA overnight, shaking the vial at intervals.
- Divide the suspension into two centrifuge tubes and centrifuge at 1500 rpm for 15 minutes.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes for approximately 30 seconds before returning to normal position.
- Resuspend the sediment in each tube with 13 mL of ethanol p.a.
- Centrifuge and decant.
- Add 12 mL of 10% KOH and boil for 2 min in a water bath.
- Place the tubes into an ultrasound bath for 5 min.
- Centrifuge and decant and add 13 mL of distilled water.
- Centrifuge and decant.
- Transfer each sediment to another centrifuge tube through a 0.3 mm mesh sieve in order to remove large organic particles.
- Centrifuge, decant and prepare a microscope slide of the sediment with glycerin jelly in order to observe any organic material such as plant hairs, trichomes, tissue fragments, etc.

- Add then 5 mL of glacial acetic acid p.a. and leave to stand overnight.
- Centrifuge and decant.
- Add the acetolysis mixture (9 volumes of acetic anhydride p.a. and 1 volume of concentrated sulphuric acid) and leave for 3 min at 80°C in a water bath.
- Centrifuge and decant.
- Wash the sediment with distilled water.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes for approximately 30 seconds before returning to normal position.
- Add 5 mL of a glycerin water (1:1) solution to the pellet.
- Rest 30 minutes.
- Centrifuge at least 1500 rpm for 15 minutes.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes and never return to the normal position; leave the tube inverted on filter paper to drain all the liquid at least 10 minutes. Then prepare the pollen slides.

Notes:

- When preparing a first microscope slide of the sediment with glycerin jelly in order to observe any organic material such as plant hairs, trichomes, tissue fragments, etc., unstained or fuchsin stained glycerin jelly can be used.
- The propolis and geopropolis samples evaluation reports only on local and regional vegetation.
- Propolis is obtained by honey (*Apis*) bees, geopropolis by the stingless bees.
- Bee wax may contain very few pollen grains.

6.2 Propolis and Geopropolis samples evaluation

- Count at least 300 pollen grains, in addition other figured elements, using a 400x magnification, preferentially within 10 days.
- Propolis and geopropolis samples evaluation reports only on local and regional vegetation.

7 | ROYAL JELLY OF *APIS* (FOLLOWING BARTH 2005B)

7.1 Royal jelly samples protocol

- Dilute 1g of royal jelly with 10 mL of distilled water.

- Centrifuge and decant.
- Resuspend the pellet in 10 mL of acetic acid p.a. and leave overnight.
- Centrifuge and decant.
- Add the acetolysis mixture (9 volumes of acetic anhydride p.a. and 1 volume of concentrated sulphuric acid) and leave for 3 min at 80°C in a water bath.
- Centrifuge and decant.
- Wash the sediment with distilled water.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes for approximately 30 seconds before returning to normal position.
- Add 5 mL of a glycerin water (1:1) solution to the pellet.
- Rest 30 minutes.
- Centrifuge at least 1500 rpm for 15 minutes.
- Discard the supernatant by rapidly inverting the centrifuge tubes and **never** return to the normal position; leave the tube inverted on filter paper to drain all the liquid at least 10 minutes.

Notes:

- Prepare three slides of each sample: two slides using unstained glycerin jelly and one with fuchsin stained glycerin jelly.
- The use of the acetolysis method is mandatory in order to eliminate a substantial background.
- Stingless bees of the genus *Melipona* do not produce royal jelly.

7.2 Royal jelly samples evaluation

- Count at least 300 pollen grains, in addition other figured elements as spores, fungi, and other impurities, using a 400x magnification, preferentially within 10 days.

Notes:

- The *Apis* royal jelly samples evaluation reports only on local and regional vegetation. Pollen analysis of stingless bee royal jelly was not yet studied.
- Royal jelly of stingless bees is not yet commercialized.

8 | CONCLUSIONS

Several protocols of techniques presented are evaluated together better through Final Considerations than by Conclusions. There are several methodologies in use intending palynological analyses of bee products. For this reason, the results obtained are often not comparable. Palynological analyses are more comprehensive than exclusively pollen analyses. The techniques presented are the simplest possible in their execution, and can be considered as a proposal for standardization in tropical samples and, therefore, provide comparable results from palynological analyses of bee products.

ACKNOWLEDGMENTS

This work received financial support from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) [Senior Research Productivity Fellowship for first author, process 301992/2017-7 and Research Productivity Fellowship for last author, process 304271/2019-5].

REFERENCES

BARTH, O.M. **O Pólen no mel brasileiro**. Editora Luxor, Rio de Janeiro. 1989.

BARTH, O.M.; LUZ, C.F.P. **Palynological analysis of Brazilian geopropolis sediments**. Grana 42: 121-127. 2003.

BARTH, O.M. **Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees**. Scientia Agricola 61: 342-350. 2004.

Barth, O.M. **Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado**. Mensagem Doce, SP, 81: 2-6, 2005a.

BARTH, O.M. **Botanical resources used by *Apis mellifera* determined by pollen analysis of royal jelly in Minas Gerais, Brazil**. Journal of Apicultural Research 44: 78-81. 2005b.

BARTH, O.M. **Palynological analysis of geopropolis samples obtained from six species of Meliponinae in the Campus of the Universidade de Ribeirão Preto, USP, Brazil**. Apiacta: 1-14. 2006.

BARTH, O.M. **Pollen analysis of Brazilian propolis**. Grana 37: 97-101. 1998.

BARTH, O.M.; FREITAS, A.S.; OLIVEIRA, E.S.; SILVA, R.A.; MAESTER, F.M.; ANDRELLA, R.R.S.; CARDOZO, G.M.B.Q. **Evaluation of the botanical origin of commercial dry bee pollen load batches using pollen analysis: a proposal for technical standardization**. Anais da Academia Brasileira de Ciências 82: 893-902. 2010.

BARTH, O.M.; FREITAS, A.S.; RIO-BRANCO, C.S. **Pólen e elementos estruturados em mel de abelhas sem ferrão em áreas urbanas e periurbanas da cidade do Rio de Janeiro, Brasil.** In: P.T. Scaglioni (org.). *Sustentabilidade em Ciência e Tecnologia de Alimentos 2*, Atena Editora, Ponta Grossa, pp. 112-125. 2020.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy- Angiosperms.** Almqqvist & Wicksell, Stockholm. 1952.

H Aidamus, S.; Lorenzon, M.C.A.; Barth, O.M. **Biological Elements and Residues in Brazilian Honeys.** *Greener Journal of Biological Sciences* 9: 8-14. 2019.

HORWITZ, W. **Nomenclature for Sampling in Analytical Chemistry.** *Pure & App. Chem* 62: 1193-1208. 1990.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique.** New York: McGraw-Hill Book Company. 1940.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. **Methods of melissopalynology.** *Bee World* 51: 125-138. 1970.

LOUVEAUX, J.; MAURIZIO, A.; VORWOHL, G. **Methods of Melissopalynology.** *Bee Word* 59: 139-157. 1978.

LUTIER, P.M.; VAISSIERE, B.E. **An improved method for pollen analysis of honey.** *Review of Palaeobotany and Palynology* 78: 129-144. 1993.

MONTOYA-PFEIFFER, P.M.; LEÓN, D.; BONILLA, D.; CHAMORRO, F.; NATES-PARRA, G. **Apis mellifera como polinizador de cultivos en Colombia.** In: /G. N. Parra (ed.). *Iniciativa Colombiana de Polinizadores – Abejas ICPA*, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, pp. 95-110. 2016.

HAWKINS, J.; VERE, N.; GRIFFITH, A.; FORD, C.R.; ALLAINGUILLAUME, J.; HEGARTY, M.J., BAILLIE, L.; ADAMS-GROOM, B. **Using DNA Metabarcoding to Identify the Floral Composition of Honey: A New Tool for Investigating Honey Bee Foraging Preferences.** *PLOS ONE* 10: e0134735. 2015.

JONES, G.D.; BRYANT, V.M.Jr. **Alcohol dilution of honey.** In: D.K. Goodman & R.T. Clarke (eds.). *In: Proceedings of the IX International Palynological Congress*, Houston, Texas, U.S.A. 1996, American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, Texas, pp. 453-458. 2001.

KISSER, J. **Bemerkungen zum Einschluss in Glycerin-Gelatine.** *Zeitschrift fur Wissenschaftliche Mikroskopie und Mikroskopische Technik* 51: 372-374. 1935.

KERKVLiet, J.D.; MEIJER, H.A.J. **Adulteration of honey: relation between microscopic analysis and delta C-13 measurement.** *Apidologie* 31: 717-726. 2000.

VIT, P.; PEDRO, S.R.M.; ROUBIK, D. **Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology.** Springer International Publishing AG, New York. 2018.

VON DER OHE, W.; ODDO, L.P.; PIANNA, M.L.; MORLOT, M; MARTIN, P. **Harmonized Methods in Melissopalynology.** *Apidologie* 35: S18-S25. 2004.

Additional references on techniques:

- Bogdanov, S. **Harmonised methods of the International Honey Commission**. Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld. 2002.
- Bogdanov, S.; Martin, P.; Lüllmann, C. **Harmonised methods of the European Honey Commission**. Apidologie Extra Issue: 1-59. 1997.

IMPACTO DA TEMPERATURA ELEVADA E DA SECA NAS CARACTERÍSTICAS DO PÓLEN DE ESPÉCIES NATIVAS E CULTIVADAS

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 24/01/2021

Cynthia Fernandes Pinto da Luz

Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em
Palinologia
São Paulo - SP

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9803806414020991>

ORCID <http://orcid.org/0000-0001-7908-155X>

RESUMO: Com a tendência das últimas décadas de elevação das temperaturas e maiores períodos de seca no Brasil, faz-se necessário um estudo sobre o impacto que esses agentes estressores vêm causando nas plantas nativas e naquelas mantidas *in situ* e *ex situ*. A polinização bem-sucedida, com grãos de pólen viáveis, é fator essencial para a manutenção da vegetação. Dentre os agentes estressores, a disponibilidade hídrica e o aumento de temperatura têm sido considerados como importantes fatores que afetam o período reprodutivo das plantas, especialmente na produtividade e viabilidade polínica. Os efeitos podem ser avaliados em experimentos controlados por meio de simulações da situação futura prevista devido às alterações climáticas. Os dados devem ser comparados aos obtidos em grãos de pólen de plantas mantidas em condições que representem a situação atual ou anterior às mudanças climáticas previstas para o final do século XXI. A avaliação palinológica sobre esses impactos abrange a morfologia polínica clássica utilizando

ferramentas tecnológicas, como a microscopia fotônica e eletrônica de varredura, para verificar possíveis anormalidades em grãos de pólen devido a exposição aos fatores associados às mudanças climáticas. Outros testes também são necessários. Os estudos com esse enfoque contribuem para o entendimento das possíveis consequências fisiológicas nas propriedades germinativas polínicas e conseqüentemente, na fertilização das plantas em ambientes naturais impactados pelas mudanças climáticas.

PALAVRAS - CHAVE: Grãos de pólen, Morfologia polínica, Mudanças climáticas, Testes histoquímicos, Testes de germinação polínica, Viabilidade polínica *in vitro*

IMPACT OF ELEVATED TEMPERATURE AND DROUGHT ON POLLEN CHARACTERISTICS OF NATIVE AND CULTIVATED SPECIES

ABSTRACT: With the trend of recent decades of rising temperatures and longer periods of drought in Brazil, it is necessary to study the impact that these stressors have been causing on native plants and on those maintained *in situ* and *ex situ*. Successful pollination with viable pollen grains is an essential factor in maintaining vegetation. Among the stressors, water availability and temperature increase have been considered as important factors that affect the reproductive period of plants, especially in productivity and pollen viability. The effects can be evaluated in controlled experiments through simulations of the predicted future situation due to climate change. The data must be compared to those obtained

from pollen grains of plants maintained in conditions that represent the current situation or previous to the climate changes predicted for the end of the 21st century. The palynological assessment of these impacts covers classical pollen morphology using technological tools, such as photonic and scanning electron microscopy, to check for possible abnormalities in pollen grains due to exposure to factors associated with climate change. Further tests are also needed. Studies with this focus contribute to the understanding of the possible physiological consequences on pollen germinative properties and, consequently, on plant fertilization in natural environments impacted by climate change.

KEYWORDS: Climatic changes, Histochemistry tests, *In vitro* pollen germination, Pollen germination tests, Pollen grains, Pollen morphology

1 | INTRODUÇÃO

As simulações projetadas pelos modelos globais do IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) para o século XX demonstraram que de 1960 a 2000 houve uma tendência positiva significativa na frequência de noites mais quentes em praticamente toda a América do Sul ao sul de 10° S. Tendências positivas em relação aos eventos de precipitação intensa distribuídos irregularmente ao longo dos anos e extensos períodos de seca também foram observadas na série histórica para o sudeste da América do Sul (Marengo et al. 2010). As projeções mais otimistas para o sudeste brasileiro até o final do século XXI indicam elevação da temperatura de 2 a 3° C, enquanto em um cenário mais pessimista a temperatura será ainda mais elevada, de 3 a 4° C, com eventos pluviométricos severos e irregulares em ambos os cenários, levando a episódios prolongados de seca (Marengo et al. 2007).

Como exemplo, estudos realizados por várias instituições de pesquisa de São Paulo indicaram que a biodiversidade dos ecossistemas terrestres e aquáticos abrangidos pela Reserva da Biosfera do Cinturão Verde (RBCV-SP) vem sendo impactada pelas mudanças climáticas. Como exemplo do que vem ocorrendo nos fragmentos florestais incluídos nesta área podemos apontar os registros do Instituto Astronômico e Geofísico realizados de 1933 até 2017 que demonstraram aumento de mais de 2° C na temperatura média anual e aumento médio de 6,0 mm na precipitação anual no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (PEFI, administrado pelo Instituto de Botânica). Este aumento de temperatura foi acompanhado por uma elevação de quase 50% dos totais anuais de precipitação pluviométrica, associada à diminuição dos dias de chuva e maior variabilidade climática (IAG/USP 2017). Nesse período, a taxa de variação da temperatura média anual no PEFI foi mais do que o triplo da observada para todo o globo terrestre, potencializando os riscos de perda de biodiversidade neste fragmento florestal urbano.

A reprodução das plantas é altamente vulnerável a fatores de estresse como alta concentração de CO₂, altas temperaturas, componentes atmosféricos tóxicos e diferentes graus de dessecação, o que pode levar a mudanças nas comunidades vegetais com perda ou/e substituição de espécies, principalmente as endêmicas e em pequenas populações

(Koti *et al.* 2005). “Viabilidade” é definida como a capacidade de viver, desenvolver-se ou, no caso das plantas, germinar quando existem condições favoráveis (Dafni & Firmage 2000). Portanto, estudos de viabilidade contribuem para a análise de risco e são essenciais para a adoção de estratégias de manutenção da biodiversidade vegetal em planos de conservação (Zanella *et al.* 2012, Frankham 2010).

Para a conservação da biodiversidade vegetal nativa é importante entender as consequências da exposição dos grãos de pólen aos diversos tipos de agentes ambientais estressores advindos das mudanças climáticas. A disponibilidade de pólen é uma das principais limitações do sucesso reprodutivo das plantas, e, espera-se que seja mais eficaz quando vários grãos de pólen viáveis estejam atuando na polinização (Fernández *et al.* 2012). A polinização efetiva é um pré-requisito para a formação de frutas e sementes na maioria das plantas, e informações sobre a biologia do pólen são necessárias para qualquer abordagem que vise conservar e/ou aumentar a produtividade vegetal (Cruzan 1989, Bolat & Pirlak, 1999, Shivanna 2003).

1.1 Estudos morfológicos e de viabilidade polínica frente aos futuros cenários de extremos climáticos

A antera, é formada por dois lóculos situados de um lado e de outro do conectivo. Cada lóculo da antera é constituído por dois sacos polínicos nos quais se formam os grãos de pólen. Cada saco polínico é constituído do exterior para o interior pelas seguintes camadas celulares: (a) epiderme, (b) a camada mecânica (ou endotécio) em que as paredes interna e radial se lenhificam posteriormente e cujo processo está associado à deiscência da antera; (c) a camada transitória (ou camada média) que pode estar presente ou não e que se degenera rapidamente; (d) o tapete que tem um papel fisiológico importante no desenvolvimento das células esporogênicas e, (e) o tecido esporogênico composto por células diplóides que se multiplicam ativamente por meiose (Figura 1). Durante o desenvolvimento inicial dos estames, as células esporogênicas tornam-se bastante distintas das circundantes. A camada mais interna que as envolve, o tapete, nutrirá essas células que já diferenciadas passam a se chamar “células mães dos grãos de pólen” (CMP). O tapete é uma camada de células metabolicamente ativas que fornece esporopolenina para a esporoderme, secreta β -1,3-glucanase para a quebra da calose, além de outros materiais essenciais ao pólen, como as moléculas lipídicas. O desenvolvimento normal do pólen depende dessa interação com o tapete e, na antese, o tapete já está degenerado em condições normais de desenvolvimento (Heslop-Harrison 1971, Dunbar 1973, Barth 1978, Pacini *et al.* 1985, Shivanna & Johri 1985, Dickinson 1992, Pacini 2000, Li & Zhang 2010).

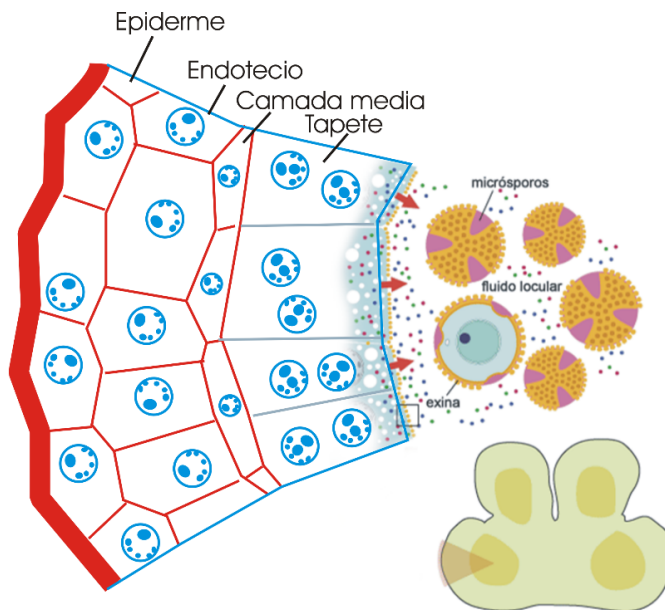


Figura 1. Caracterização dos estratos parietais da antera jovem (Fonte: Modificado de <https://lume-re-demonstracao.ufrgs.br/embriologia-vegetal-esporogenese/micro2.php>).

O pólen é o microgametófito responsável pela transferência do material genético masculino e sua caracterização morfológica é tão importante na Taxonomia quanto na conservação da biodiversidade, já que anomalias polínicas podem impedir a fertilização vegetal. Os estudos da biologia polínica são importantes para subsidiar os programas de melhoramento de plantas, na avaliação das chances de germinação polínica após exposição a várias condições ambientais e no manejo de espécies nativas para reintrodução na natureza.

Embora o pólen apresente uma alta diversidade morfológica entre espécies, gêneros e famílias vegetais (Figura 2) é caracterizado por exibir três pontos em comum: (a) contém reservas de carboidratos para seu desenvolvimento e manutenção até a germinação do tubo polínico, (b) tem duas paredes celulares, a exina e a intina e, (c) contém os gametas ou seus precursores (Pacini 2000). Raras são as espécies cujo pólen não apresenta exina (parede exterior do pólen), geralmente as plantas marinhas e algumas poucas terrestres de ambientes tropicais muito úmidos, como as de Heliconiaceae, Lauraceae Musaceae e Zingiberaceae, que apresentam redução ou falta total de exina (Kress 1986).

Segundo Benzing (2000), para os estudos taxonômicos a utilização das características morfológicas dos grãos de pólen, principalmente o tipo de ornamentação da exina e número de aberturas polínicas (colpos, poros, sulcos etc.), é uma alternativa ao uso de características vegetativas, como a cor da folha e da flor e o tamanho dessas estruturas,

mais sujeitas a alterações morfológicas devido aos fatores ambientais. As características polínicas são consideradas conservativas do ponto de vista taxonômico e filogenético, pois apresentam baixa plasticidade fenotípica (Chanda *et al.* 1979). Sendo assim, o valor dos caracteres polínicos foi reconhecido na Taxonomia das Angiospermas nas propostas recentes de classificação do grupo (APG II 2003, APG III 2009, APG IV 2016), uma vez que podem indicar limites taxonômicos, afinidades e dar suporte à análise de esquemas de classificação.

Apesar dos grãos de pólen serem considerados morfológicamente estáveis (com exceção de algumas plantas ornamentais que podem apresentar pólen malformado em grande frequência, Figura 2) foi comprovado que altas temperaturas, suspensão hídrica, variações na quantidade de nitrogênio no solo, metais pesados, alta irradiação de UV-B e taxas elevadas de CO₂ podem alterá-lo durante seu desenvolvimento na antera. Foi observado em plantas submetidas aos estressores climáticos e poluentes atmosféricos menor produção de pólen, pólen com tamanhos discrepantes e com deformações morfológicas, baixo índice de germinação polínica, menores comprimentos dos tubos polínicos, maior acumulação de flavonoides, aumento de enzimas e metabólitos antioxidantes e indução de genes de metabólitos secundários relacionados à proteção (Nilsson & Berggren 1991, Koti *et al.* 2005, Wang *et al.* 2005, Rezanejad 2009).

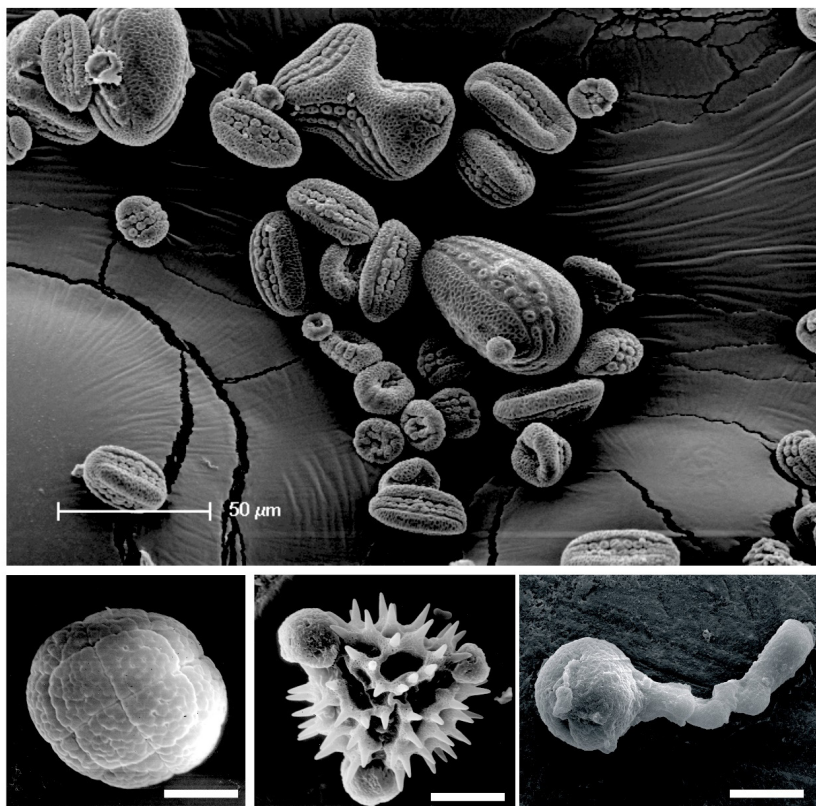


Figura 2. Imagens de grãos de pólen sob microscopia eletrônica de varredura. **Acima:** Grãos de pólen mal formados da planta ornamental *Justicia brandegeana* Wassh. & L.B.Sm. (“flor-camarão”, Acanthaceae). **Abaixo à esquerda:** Pólen de *Anadenanthera* sp. (Fabaceae). **Abaixo no centro:** Pólen de *Vernonia* sp. (Asteraceae). **Abaixo à direita:** Pólen e tubo polínico de *Senefeldera verticillata* (Vell.) Croizat (“maria-mole”, Euphorbiaceae). Barras das imagens de baixo = 10 µm (Fonte: Gabriela Cristina Sakugawa e Cynthia F. P. da Luz).

Estudos controlados com intensificação dos componentes abióticos em plantas economicamente importantes revelaram modificações no número de aberturas e na estrutura da exina do pólen (Shen & Webster 1986, Mercado *et al.* 1997, Porch & Jahn 2001, Cross *et al.* 2003), assim como resultaram em menores taxas de germinação e viabilidade polínica (Ahmed *et al.* 1992, Aronne 1999, Feng *et al.* 2000, Prasad *et al.* 2003, Wang *et al.* 2005, Das *et al.* 2014, Kaur *et al.* 2015).

Alta temperatura noturna ($33 \pm 2^\circ\text{C}$ dia/ $30 \pm 2^\circ\text{C}$ noite) aplicada durante o desenvolvimento floral de *Vigna unguiculata* [L.] Walp. causou a indeiscência da antera pela não formação do endotécio e perda de viabilidade polínica devido a degeneração precoce do tapete. Foi demonstrado que o estágio floral mais sensível ao estresse ocorreu de 9 a 7 dias antes da antese (Ahmed *et al.* 1992). Em *Phaseolus vulgaris* com genótipo

sensível ao calor, o tratamento térmico (32°C dia /27°C noite) durante a microsporogênese, a partir de 9 dias anteriores a antese, também originou redução do espessamento da parede endotelial e degeneração incompleta dos septos interloculares, causando indeiscência das anteras, formação de pólen anormal e redução na viabilidade polínica (Porch & Jahn 2001). Resultado similar foi visto em *Sesamum indicum* (Kaul & Singh 1966) e no tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Rudich *et al.* 1977). Ao contrário, a aplicação de baixa temperatura noturna em *Capsicum annum* L. afetou as primeiras fases da meiose dos micrósporos, o que causou a diminuição na viabilidade polínica e desenvolvimento de grãos de pólen com menor tamanho e de exina menos espessa, o que acarretou uma menor quantidade de sementes por fruto. No entanto, plantas em fases posteriores de desenvolvimento dos micrósporos e na fase de maturação do pólen não foram afetadas pelos mesmos tratamentos térmicos (Mercado *et al.* 1997).

Em relação ao estresse hídrico, este foi prejudicial à produção de pólen no trigo (*Triticum* spp.), resultando em uma redução de 40% a 50% no rendimento (Dorion *et al.* 1996). A degeneração das células do tapete induzida pela seca prejudica a microsporogênese e o desenvolvimento do pólen. O momento de degeneração do tapete é crucial, pois uma degeneração precoce resulta em perda de orientação nas etapas do desenvolvimento polínico, e uma degeneração tardia leva a ausência no fornecimento de nutrientes essenciais aos micrósporos (Saini *et al.* 1984, Lalonde *et al.* 1997, Ji *et al.* 2010). Além disso, o pólen desenvolvido sob condições de seca é desprovido de amido, limitando a fertilização e o crescimento do tubo polínico (Ji *et al.* 2010). No trigo, o estresse hídrico diminuiu o nível de invertases no desenvolvimento do pólen (Dorion *et al.* 1996, Lalonde *et al.* 1997, McLaughlin & Boyer 2004, Koonjul *et al.* 2005), enquanto as plantas de linhagens tolerantes à seca apresentaram uma expressão normal de invertase (Ji *et al.* 2010). Nenhum efeito foi observado na fertilidade feminina do trigo sob estresse moderado de seca (Saini & Aspinall 1981, Ji *et al.* 2010).

O fornecimento insuficiente de grãos de pólen viáveis aos estigmas e a baixa qualidade genética do pólen foram apontados como os dois principais componentes na limitação polínica (Aizen & Harder 2007, Ashman *et al.* 2004, Hegland & Totland 2008, Knight *et al.* 2005, Larson & Barrett 2000). O sucesso da germinação do tubo polínico tem profundo efeito na fertilização das plantas e consequente produção de frutos e sementes. Estudos relacionaram a viabilidade polínica com características dos frutos e a quantidade de pólen com a produção e qualidade das sementes (Cardoso 2003, Latado *et al.* 2004). Vários estudos demonstraram que as técnicas de seleção polínico influenciaram beneficemente vários cultivos como o do girassol, cuja tolerância das plantas ao calor e maior resistência à seca se deveu a auto-polinização com grãos de pólen selecionados (Lyakh & Totsky 2014). A viabilidade polínica repercute também no potencial das espécies de realizar a fecundação cruzada entre populações distantes (Richards *et al.* 2005).

1.2 Mecanismos de estabilização hídrica do microgametófito em face ao seu desenvolvimento

O tempo de viabilidade polínica pode decorrer de poucos minutos até alguns meses, e parece estar relacionado às características fisiológicas do pólen com relação ao conteúdo de água antes e após sua dispersão e também a qual tipo de reservas de carboidratos possui (Hoekstra & van Roekel 1988, Dafni & Firmage 2000, Nepi *et al.* 2001).

O pólen apresenta variações em seu teor de água adequadas às fases de seu desenvolvimento. O desenvolvimento do pólen compreende três etapas principais: (i) microsporogênese (diferenciação das células esporogênicas e meiose); (ii) desenvolvimento pós-meiótico dos micrósporos; e (iii) mitose dos micrósporos (Chaudhury 1993). O desenvolvimento polínico pode ser dividido em cinco fases que diferem em relação ao estado de hidratação: (1) O pólen se desenvolve dentro da antera imerso no fluido locular, que transporta nutrientes do tapete, incluindo lipídeos – denominada como fase da microsporogênese; (2) O líquido locular desaparece por reabsorção e/ou evaporação antes da abertura da antera e os grãos de pólen em maturação sofrem desidratação, que pode se dar antes ou logo depois da deiscência da antera, dependendo da espécie - a fase de desidratação; (3) As anteras se abrem, o pólen pode ser dispersado imediatamente ou ser mantido ali para ser disperso posteriormente, como ocorre, por exemplo, nas plantas entomófilas que dependem dos insetos para sua polinização - a fase de apresentação; (4) O pólen é dispersado pelos vários agentes polinizadores, permanecendo exposto no ambiente por diferentes períodos - a fase de dispersão; (5) Após a dispersão, quando o pólen cai no estigma e, no caso de haver compatibilidade e condições adequadas, sofrerá reidratação e iniciará a germinação com emissão do tubo polínico - a fase de interação pólen-estigma (Pacini & Franchi 1992, Pacini *et al.* 2006, Firon *et al.* 2012). Dessa maneira, o volume dos grãos de pólen diminui ligeiramente após a clivagem meiótica e começa a aumentar durante a formação da exina e intina. Na fase de desidratação, o volume diminui novamente, só aumentando depois, quando o pólen cai no estigma (Firon *et al.* 2012).

Depois da degeneração do tapete, o fluido locular permanece por um curto período de tempo e depois desaparece, iniciando a fase da desidratação que faz com que a antera se deforme, abrindo-se. Normalmente, logo antes ou logo depois da deiscência da antera ocorre a desidratação parcial do grão de pólen, que entra em estado “dormente” (em analogia com sementes). No estado dormente seus processos bioquímicos funcionam com uma taxa de atividade baixa para resistir às tensões do ambiente externo (Pacini 1990, Pacini 1997, Franchi *et al.* 2011, Firon *et al.* 2012).

A formação da exina do pólen depende em grande parte do papel secretório do tapete (Pacini *et al.* 1985, Shivanna *et al.* 1997), que começa a depositar precursores lipídicos na superfície da primexina celulósica dos micrósporos, logo após a liberação da tétrade, levando à formação da exina esculpida (Piffanelli *et al.* 1997, Blackmore *et al.*

2007). Nos estágios posteriores de desenvolvimento do pólen, o tapete produz e segrega os componentes lipídicos do pólen (trifina) nas cavidades da exina (Piffanelli *et al.* 1997, Blackmore *et al.* 2007). Durante a fase de desidratação, os corpos lipídicos remanescentes do tapete ficam envolvidos pela rede de retículo endoplasmático rugoso e numerosas vesículas se acumulam ao redor da periferia do citoplasma do pólen. Lipídeos também se acumulam no lóculo da antera e posteriormente dentro das columelas da exina do pólen (Piffanelli *et al.* 1998). Portanto, os lipídios intracelulares estão presentes tanto no pólen maduro como reserva de energia para a germinação do tubo polínico, quanto no micrósporo em desenvolvimento. Tanto a membrana como os lipídios de armazenamento dos grãos de pólen fornecem os substratos para a rápida expansão do plasmalema que ocorre após a germinação do pólen e o subsequente alongamento do tubo polínico (Pacini 2000).

Eventualmente, a superfície do pólen pode ser recoberta por uma substância que consiste principalmente de ácidos graxos e derivados de ácidos graxos de cadeia longa, como ésteres e compostos voláteis lipídicos, e várias proteínas, além de pigmentos carotenóides e óleos como essências aromáticas, que atraem e facilitam a adesão do pólen aos insetos, ocorrendo em abundância no pólen de plantas entomófilas. Essa substância que se chama “cimento polínico”, “*pollenkitt*”, “trifina” ou “pollen coat” desempenha papel fundamental no contato inicial entre o pólen e a superfície estigmática, antes da emergência do tubo polínico. O “*pollenkitt*” pode representar até 15% da massa total do pólen ao preencher os espaços entre as columelas e a superfície da exina, fornecendo relativa impermeabilidade ao grão de pólen, estratégia para evitar a perda de água, mantendo-o em um estado semi-desidratado (Preuss *et al.* 1993, Piffanelli *et al.* 1998). Verificou-se que deficiências quantitativas ou qualitativas na trifina foi a causa da esterilidade masculina devido à falta de hidratação polínica (Preuss *et al.* 1993).

1.3 Manutenção da viabilidade polínica frente às variações ambientais

A cutícula das anteras, a esporoderme e os componentes lipídicos desempenham um papel protetor importante para o desenvolvimento do microgametófito masculino. A cutícula da antera e a esporoderme são as duas principais camadas de proteção dos micrósporos, e são pré-requisitos essenciais para o sucesso da dispersão polínica (Bolick 1981, Li & Zhang 2010). O pólen, em geral, enfrenta mais perigo de ressecamento no ambiente do que os esporos de briófitas, samambaias e licófitas, já que as vias de comunicação bioquímica do pólen devem permanecer acessíveis ao estigma. O ar seco é um ambiente hiperosmótico e, a interface pólen/ar é oposta a interface pólen/estigma para o citoesqueleto hidrostático do pólen. A atmosfera pode representar um ambiente muito hostil, como ocorre, por exemplo, em um local com 50% de umidade relativa e temperatura a 20° C, cuja diferença entre o potencial osmótico do ar e da célula vegetal pode ser superior a 900 bar. Uma célula vegetal sem uma camada especial de cutina, suberina ou esporopolenina plasmolisaria muito rapidamente. Embora a plasmólise seja uma maneira de “acomodar a mudança de

volume” não é uma opção na harmomegatia polínica. Para um grão de pólen sobreviver aos estressores ambientais deve ser capaz de resistir às forças incidentes e suas deflexões e nisso a exina tem papel fundamental. Portanto, a exina serve para a proteção do pólen no meio ambiente, para a harmomegatia e como um reservatório bioquímico (Bolick 1981). Como a exina do pólen consiste principalmente do biopolímero esporopolenina, formada por fenóis polimerizados e derivados de ácidos graxos, a polimerização dessas moléculas químicas oferece à exina alta resistência aos fatores físicos e ambientais (Osthoff & Wiermann, 1987, Ahlers *et al.* 1999, Li & Zhang 2010).

A relação superfície-volume do pólen é uma das principais características que determina a taxa de perda de água, o que por sua vez se traduz em viabilidade e chances de sucesso na polinização (Aylor 2003, Ejsmond *et al.* 2015). Hipóteses prévias sobre o efeito da dessecação no pólen apontavam que uma planta deveria produzir grãos maiores que apresentassem também uma relação superfície/volume menor para minimizar a taxa de perda de água. Ejsmond *et al.* (2015) ao estudarem o pólen de 232 espécies de 11 grupos taxonômicos corroboraram as evidências de que a variabilidade interespecífica no tamanho do pólen é afetada pelas condições ambientais durante o período de floração. Porém, esses autores verificaram maiores grãos de pólen com menor relação superfície/volume produzidos por plantas que cresceram em locais com alta temperatura, independente da intensidade do déficit hídrico.

A região das aberturas e toda a exina estão sujeitas aos esforços mecânicos na regulação do volume de água do pólen devido as mudanças que ocorrem durante sua hidratação, nas diversas fases ainda na antera, e depois, na polinização e ao cair nos estigmas. As alterações da pressão osmótica no citoplasma do pólen durante a hidratação ou desidratação são reguladas por diversos fenômenos harmomegáticos da exina, tanto mecânicos quanto fisiológicos. Com relação aos fatores mecânicos da exina, foi visto que: (a) a capacidade da exina de resistir à compressão diminui com o aumento do tamanho do pólen e depende de sua forma. Os elementos de compressão, as columelas, devem ser curtas e largas para resistirem a maiores compressões; (b) já a habilidade da exina de resistir a tensão interna é independente do comprimento ou forma do pólen. Columelas bem desenvolvidas resistem melhor à flexão e ao cisalhamento (deformação devido a um deslocamento em planos diferentes, com manutenção do volume) (Bolick 1981). Devido a densidade específica da esporopolenina, é preferível que o pólen apresente mais elementos de tensão do que de compressão, pois os elementos de compressão têm seção transversal maior e, portanto, são mais pesados do que os elementos de tensão. Isso porque o pólen é dispersado por longas distâncias pelo ar ou pelos insetos, e por isso, é preferível que seja mais leve. Para reduzir as demandas no uso dos elementos de compressão, estes devem ser: (a) usados com moderação (menos columelas), (b) prontamente sintetizados e, (c) com baixa densidade (Bolick 1981).

Diferentes estruturas e espessuras indo do equador para os pólos de um

determinado grão de pólen servem para dar ao grão um eixo preferencial de contração no caso de dessecação. Quando ocorre desidratação, para evitar a dessecação ocorre o dobramento da exina sobre si mesma, invaginando-se em áreas menos espessas e na região das aberturas. Muitas vezes a região das aberturas apresenta uma margem com estrutura mais fina e mais sólida do que o resto da estrutura columelar da exina, o que permite maior controle da flexibilidade no fechamento das aberturas. Isso enfatiza a importância da exina em acomodar mudanças no volume do pólen devido à absorção ou perda de água (Bolick 1981). Por outro lado, nas plantas marinhas e em algumas plantas terrestres de ambientes úmidos, a exina é reduzida ou ausente, pois a desidratação é mínima ou nenhuma devido as condições do próprio ambiente (Pacini 1990, Franchi *et al.* 2011, Firon *et al.* 2012).

O pólen e o estigma estão bem adaptados para gerar microambientes favoráveis à germinação, crescimento dos tubos polínicos e fertilização do óvulo. A secreção do estigma é a principal condição para a germinação polínica, que ocorre de maneira autotrófica a partir das reservas do grão de pólen, enquanto o crescimento dos tubos polínicos é heterotrófico, às expensas das reservas estilares (Heslop-Harrison 2000). A germinação *in vitro* não reproduz completamente o crescimento do tubo polínico *in vivo*, uma vez que podem ocorrer interações entre a composição do meio de germinação e as diversas condições ambientais e do material vegetal. No entanto, apesar dessas desvantagens, a germinação *in vitro* oferece a possibilidade do controle das condições experimentais simulando uma condição mais próxima da germinação do pólen e tem sido considerada uma metodologia muito útil para essa finalidade (Soares *et al.* 2013, Souza *et al.* 2017). Os estudos de germinação do tubo polínico *in vitro* se mostraram eficientes como estimativa da viabilidade polínica em várias espécies de plantas, incluindo bromélias (Parton *et al.* 2002, Munhoz *et al.* 2008, Kumari *et al.* 2015, Souza *et al.* 2015, Souza *et al.* 2017).

Os carboidratos no pólen não funcionam apenas como reservas metabólicas ou carboidratos estruturais, são também importantes na determinação da longevidade polínica. O pólen com baixa longevidade apresenta pouca quantidade de carboidratos solúveis, enquanto o pólen longo tem mais carboidratos solúveis, assim como polissacarídeos citoplasmáticos. Estudos demonstraram uma correlação negativa entre o conteúdo em amido e sacarose no pólen de várias espécies. A sacarose protege as membranas no pólen desidratado (Hoekstra *et al.* 1992, Speranza *et al.* 1997).

Os grãos de pólen toleram dessecação ambiental até determinado ponto, sendo que a perda da viabilidade em diferentes espécies tem sido correlacionada com a perda de água e manutenção do estado de desidratação em condições naturais e de laboratório (Linskens & Cresti 1988, Nepi & Pacini 1993, Lisci *et al.* 1994). Os grãos de pólen foram classificados em dois tipos conforme o teor relativo de água (Firon *et al.* 2012). Na abertura da antera o pólen maduro do “tipo recalcitrante” contém mais de 30% de água, entretanto, geralmente desseca rapidamente durante sua dispersão, diminuindo drasticamente sua

viabilidade conforme a redução do teor relativo de água (Aylor 2003, Franchi *et al.* 2002, Nepi *et al.* 2001). Já o pólen maduro com teor relativo de água inferior a 30% é denominado de “tipo ortodoxo” e, acredita-se que seja capaz de manter a hidratação em níveis relativamente baixos e constantes durante sua fase de dispersão, antes de interagir com o estigma. Esse controle nas flutuações do conteúdo relativo de água, que é uma característica do pólen ortodoxo, favorece a viabilidade polínica, pois diminui sua vulnerabilidade aos ciclos de hidratação e desidratação causados pelas variações de umidade do ar, as quais poderiam causar danos irreversíveis em seu citoesqueleto (Heslop-Harrison & Heslop-Harrison 1992, Firon *et al.* 2012).

Dependendo da espécie, o pólen maduro tem um teor de água entre 5 a 50%. O pólen com alto teor de água pode ou não ser capaz de controlar a retenção hídrica durante a deiscência da antera (Pacini 2000, Nepi *et al.* 2001). Estratégias citofisiológicas do pólen são usadas para reter a água durante sua dispersão, como a presença dos carboidratos citoplasmáticos. Na ausência de tais estratégias, uma polinização rápida deve ser assegurada, porque a perda descontrolada de água leva ao perecimento da viabilidade polínica (Nepi *et al.* 2001).

É provável que todo o pólen contenha pelo menos alguns lipídios, mas alguns parecem usar somente lipídios como fonte primária de energia. Ao contrário, outros dependem principalmente de carboidratos, embora os lipídios não estejam completamente ausentes. Entre as reservas de carboidratos de pólen, o amido é o mais comum e, na prática, o pólen pode ser classificado como «amiláceo» (contendo amido) ou «não-amiláceo» (rico em lipídios ou sem amido). A regulação hídrica do pólen maduro foi estudada por Pacini (2000) que relatou a importância do amido nesse processo. O amido é a reserva de polissacarídeo mais comum e todos os grãos de pólen imaturos têm amido. A acumulação de amido se dá imediatamente após a fase de tétrade, na separação dos micrósporos, quando se formam pequenos vacúolos para armazenamento de amido. Posteriormente, os vacúolos aumentam em quantidade durante o desenvolvimento polínico em uma ou duas ocasiões, dependendo da espécie. À medida que os vacúolos se formam, os grãos de pólen aumentam em volume. Antes da deiscência da antera o amido pode ser completamente ou parcialmente hidrolisado, ou ainda, raramente hidrolisado. Dependendo da espécie, o amido pode ser total ou parcialmente transformado em: (a) outros tipos de polissacarídeos (frutanos e raramente calose), (b) dissacarídeos (sacarose) ou, c) monossacarídeos (glicose e frutose). Dessa forma, Pacini (2000) reconheceu duas categorias de grãos de pólen maduros: a) com frutanos e sacarose ou, b) frutanos e sacarose ausentes ou escassos.

Os frutanos são compostos derivados da polimerização da frutose num primer de sacarose. Seu comprimento varia de três a centenas de unidades monossacarídicas (Kandler & Hopf 1980). Os frutanos são conhecidos como substâncias de reserva de tubérculos e rizomas e de sementes em menor quantidade (Kandler & Hopf 1980). Além

de atuar como reserva, os frutanos atuam como osmorreguladores por meio de sua polimerização e despolimerização (Edelman & Jefford 1968). Eles desempenham um papel importante na tolerância a baixas temperaturas, estresse hídrico e regulação da absorção de água (Kandler & Hopf 1980, Hendry 1993, Spollen & Nelson 1994).

Os grãos de pólen maduros que apresentam sacarose e frutanos possuem mecanismos capazes de regular o teor de água pelo controle da pressão osmótica, prevenindo sua perda ou absorção excessiva, sendo mais resistentes aos choques térmicos enquanto aguardam a atuação dos agentes polinizadores. Além disso, geralmente, esses grãos de pólen têm aberturas na exina que regulam ainda mais as trocas hídricas, permitindo sua sobrevivência às flutuações de temperatura e umidade. Ao contrário, os grãos de pólen com falta ou escassez de frutanos e sacarose não possuem mecanismos eficazes capazes de regular a troca de água, nem de suportar o choque térmico, muitas vezes carecendo de aberturas, sobrevivendo melhor em lugares onde a umidade é alta e a temperatura é baixa (Milocani *et al.* 2006).

Para Baker & Baker (1979, 1983) a quantidade de amido dos grãos de pólen maduros vai depender do tipo de polinização da planta, do comprimento que os tubos polínicos terão que percorrer no gineceu até atingir o óvulo e da posição evolutiva da família. Grãos de pólen que apresentam apenas amido sofrem desidratação mais rapidamente e, conseqüentemente, não conseguirão ser transportados a longa distância na polinização. O tipo de substância de reserva está também relacionado ao tamanho do pólen e ao tipo de inseto polinizador (Baker & Baker 1979). De acordo com Endress (1994), os lipídios são mais comuns em grãos de pólen de tamanho grande a gigante (80-200 μm) do que em menores (15-80 μm). Pólen coletado por dípteros e himenópteros, incluindo abelhas, geralmente carece de amido (Endress 1994, Franchi *et al.* 1996).

Franchi *et al.* (1996) estudaram os grãos de pólen maduros de 901 espécies pertencentes a 104 famílias de eudicotiledôneas e 15 famílias de monocotiledôneas, ranqueando-os de acordo com suas reservas de amido para avaliar sua aplicação na Sistemática. Os grãos de amido apresentaram diferentes propriedades físico-químicas, ou seja, diferentes cores após aplicação de iodo (coloração com iodeto de potássio sob birrefringência em luz polarizada). Esses autores ressaltaram também os resultados de outros testes realizados em um número limitado de espécies que revelaram outros tipos de reservas de carboidratos no citoplasma, localizados fora dos plastídios. A partir dessas observações, os autores relataram que as reservas de carboidratos podem ser armazenadas apenas nos plastídios, no citoplasma fora dos plastídios, ou em ambos. O ranque obtido pelos autores conforme os tipos de reservas do pólen foram parcialmente compatíveis com a Sistemática, já que apenas algumas famílias mostraram consistentemente o mesmo tipo de reserva. Os autores também sugeriram que a presença de polissacarídeos no citoplasma previne a rápida diminuição da viabilidade polínica devido à dessecação, corroborando a hipótese de que as adaptações ecofisiológicas do pólen estão de acordo com a respectiva

síndrome de polinização das plantas-fonte.

Milocani *et al.* (2006) ao estudar o pólen de *Tillandsia* (Bromeliaceae) relataram que a plasticidade ecológica adaptativa do gênero é confirmada também pelos caracteres polínicos morfológicos que parecem ser típicos tanto do pólen do tipo parcialmente desidratado (PD) quanto do tipo parcialmente hidratado (PH). Esta situação tem um significado ecológico, indicando que a alta plasticidade adaptativa pode ser uma das razões dos muitos habitats diferentes onde vivem as *Tillandsia*. Este caráter polínico é, provavelmente, um caráter plesiomórfico que permitiu ao gênero *Tillandsia* diferenciar espécies bem adaptadas a ambientes áridos e outras que vivem em florestas mésicas. Os autores também verificaram que, ao contrário de outros grãos de pólen, os de *Tillandsia seleriana* mantêm uma considerável quantidade de amido na célula vegetativa até a deiscência da antera, porém estes não apresentaram frutanos, fato esse revelado no resultado negativo obtido no teste da inulina. De acordo com a classificação do pólen, que considera como caráter principal o conteúdo de água (Nepi *et al.* 2001), o pólen de *T. seleriana* mostrou caracteres de ambas as categorias (pólen parcialmente desidratado e pólen parcialmente hidratado).

2 | EXEMPLO DE EXPERIMENTO CONTROLADO EM UM CONTEXTO DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS GLOBAIS PARA AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO AUMENTO DA TEMPERATURA NA PRODUTIVIDADE E VIABILIDADE DOS GRÃOS DE PÓLEN DE UMA ESPÉCIE DE BROMÉLIA ENDÊMICA DO ESTADO DE SÃO PAULO

Foram desenvolvidos experimentos para avaliar o impacto da temperatura alta sobre a produção de grãos de pólen viáveis e capacidade de germinação polínica em plantas de *Nidularium minutum* Mez (subfamília Bromelioideae), bromélia terrícola rizomatosa com cerca de 30 a 40 cm de altura, endêmica da Mata Atlântica da Estação Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba, município de Santo André, Estado de São Paulo. A REBIO Alto da Serra de Paranapiacaba (23° 46'35,9" S e 46° 18'42,9" O), tem altitude em relação ao nível do mar de 750 a 900 metros. O clima é tropical de altitude, mesotérmico super-úmido, com temperatura variando, em média, de 14 a 15° C no inverno a 21 a 22° C no verão, cujas temperaturas anuais põem variar de 2° a 30° C. O Bioma é da Mata Atlântica, mais especificamente a Floresta Ombrófila Densa (Leme 2000, Lopes *et al.* 2009, Kurita *et al.* 2014).

Nidularium minutum é considerada vulnerável conforme publicado no Livro Vermelho das Espécies Vegetais Ameaçadas de Extinção, pois apresenta um expressivo valor como planta ornamental, podendo torná-la alvo do extrativismo (Mamede *et al.* 2007, Kurita *et al.* 2014, Flora do Brasil 2020).

As plantas foram cultivadas a partir de sementes coletadas na REBIO e mantidas em casa de vegetação do Campo Experimental do Núcleo de Pesquisa em Plantas

Ornamentais (NPPO) do Instituto de Botânica (23°38'08"-23°40'18" S e 46°36'48"-46°38'00" O), localizado a 770–825 m de altitude. Após indução da floração com uso de 700 ppm de Ethephon, foram mantidas sob condições controladas em câmaras de crescimento por 10 dias antes da antese, estágio floral mais sensível ao estresse (Ahmed *et al.* 1992), cujos botões florais apresentavam cerca de 3 cm de comprimento (Figura 3). As condições foram ajustadas para simular o cenário atual da região de Paranapiacada, de onde é endêmica, com termoperíodo de 25° C dia/16° C noite, e da projeção do aumento de temperatura de acordo com o IPCC para o final do século, com termoperíodo de 30° C dia/20° C noite (4 graus acima da situação atual relatada para as médias de temperatura de Paranapiacaba). As flores em pré-antese e na antese foram coletadas das inflorescências inferiores e as anteras avaliadas foram retiradas do ciclo externo dos estames. Os testes utilizados seguiram os apresentados em Santos *et al.* (2021), com aplicação de testes histoquímicos (Carmin acético, Lugol, Alexander, Sudan IV), estimativa da viabilidade polínica e germinação polínica *in vitro* em meio de cultura BKM (Brewbaker & Kwack 1963), avaliação da morfologia polínica utilizando acetólise ACLAC (Raynal & Raynal 1971), mensuração do volume polínico em pré-antese e na antese e quantificação polínica e dos óvulos. Os resultados estão sendo avaliados e serão futuramente publicados, mas de antemão, viu-se que a alta temperatura afetou grandemente a viabilidade polínica de *Nidularium minutum*.



Figura 3. Plantas de *Nidularium minutum* Mez e seus grãos de pólen. **Acima:** Plantas na câmara de crescimento. **Abaixo à esquerda:** Aspecto da planta, com a inflorescência em destaque. **Abaixo à direita, superior:** Grão de pólen sob microscopia eletrônica de varredura. **Abaixo à direita, inferior:** Grãos de pólen e tubos polínicos germinados sob microscopia óptica. Barra da imagem de baixo à direita, superior = 10 µm; barra da imagem de baixo à direita, inferior = 20 µm (Fonte: Valéria Leobina dos Santos e Cynthia F. P. da Luz).

3 | CONCLUSÕES

A indústria e a vida moderna nas grandes cidades têm fornecido um número quase indefinido de agentes ambientais estressores e poluentes atmosféricos. O impacto nos grãos de pólen pelos vários fatores abióticos provenientes das mudanças climáticas continua sendo um fenômeno pouco conhecido. Frente aos cenários de extremos climáticos apontados nas simulações para o sudeste brasileiro onde as noites serão mais quentes,

as chuvas mais fortes e os períodos de seca mais extensos, são necessários estudos que ofereçam insights sobre o desempenho reprodutivo das plantas. É importante compreender se os parâmetros abióticos afetarão a preservação das características morfológicas do pólen ou sua taxa de viabilidade, pois anormalidades podem levar a graves consequências ecológicas para a conservação das espécies sob condições naturais.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [processos 2015/15359-0, 2016/24015-5, 2018/13992-5, 2017/50341-0] e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) [processos 302766/2016-2, 304271/2019-5]. Este capítulo é dedicado à memória de Valéria Leobina dos Santos, cuja dedicação ao estudo das Bromeliaceae trouxe importantes avanços científicos.

REFERÊNCIAS

- Ahlers, H., Thom, I., Lambert, J., Kuckuk, R. & Wiermann, R. 1999. ¹H NMR analysis of sporopollenin from *Typha angustifolia*. *Phytochemistry* 50: 1095–1098.
- Ahmed, F.E., Hall, A.E. & Demason, D.A. 1992. Heat injury during floral development in cowpea (*Vigna unguiculata*, Fabaceae). *American Journal of Botany* 79: 784-791.
- Aizen, M.A. & Harder. L.D. 2007. Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology* 88:271–281.
- Angiosperm Phylogeny Group II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436
- Angiosperm Phylogeny Group III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification of the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121
- Angiosperm Phylogeny Group IV .2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1-20.
- Ashman TL, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mazer SJ, Mitchell RJ, Morgan MT, Wilson WG. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85:2408–2421.
- Aronne, G. 1999. Effects of relative humidity and temperature stress on pollen viability of *Cistus incanus* and *Myrtus communis*. *Grana* 38: 364–367.
- Aylor, D.E. 2003. Rate of dehydration of corn (*Zea mays* L.) pollen in the air. *J Exp Bot* 54:2307–2312.

- Baker, H.G. & Baker, I. 1979. Starch in angiosperm pollen and its evolutionary significance. *Am. J. Bot.* 66:591–600.
- Baker, H.G. & Baker, I. 1983. Some evolutionary and taxonomic implications of variation in the chemical reserves of pollen. In: Mulcahy DL, Ottaviano E (eds) *Pollen: biology and implications for plant breeding*. Elsevier Biomedical, New York, pp 42–51.
- Barth, O.M. 1978. *Apostila do curso de Palinologia*. Rio de Janeiro. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Benzing, D.H. 2000. *Bromeliaceae: Profile and Adaptive Radiation*, Cambridge: Cambridge University Press.
- Blackmore, S., Wortley, A.H., Skvarla, J.J. & Rowley, J.R. 2007. Pollen wall development in flowering plants. *New Phytol.* 174: 483–498.
- Bolat, I. & Pirlak, L. 1999. An investigation on pollen viability, germination and tube growth in some stone fruits. *Journal of Agriculture and Forestry* 23:383-388.
- Bolick, M.R. 1981. Mechanics as an aid to interpreting pollen structure and function. *Review of Palaeobotany and Palynology* 35: 61-79.
- Brewbaker JL & Kwack BH. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *Am J Bot* 50: 859-865.
- Cardoso, A.I.I. 2003. Produção e qualidade de sementes de abobrinha “piramoita” em resposta a quantidade de pólen. *Bragânia. Campinas*, v. 62, n. 1, p. 47-52.
- Chanda, S., Ghosh, K. & Nilsson, S. 1979. On the polarity and tetrad arrangements in some mono- and diaperturate angiosperm pollen grains. *Grana* 18: 21-31.
- Chaudhury, A.M. 1993. Nuclear genes controlling male fertility. *Plant Cell* 5: 1277–1283.
- Cross RH, McKay SA, McHughen AG, Bonham-Smith PC. 2003. Heat-stress effects on reproduction and seed set in *Linum usitatissimum* L. (flax). *Plant, Cell and Environment* 26, 1013–1020.
- Cruzan, M.B. 1989. Pollen tube attrition in *Erythronium grandiflorum*. *American Journal of Botany* 76:562-570.
- Dafni, A. & Firmage, D. 2000. Pollen viability and longevity: Practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution* 222: 113–132.
- Das, S., Krishnan, P. Nayak M. & Ramakrishnan, B. 2014. High temperature stress effects on pollens of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Environmental and Experimental Botany* 101:36-46.
- Dickinson, H.G. 1992. Microspore-derived embryogenesis. In *Sexual Plant Reproduction* (eds M. Cresti & A. Tiezzi), pp. 1–5. Springer Verlag, Berlin.

- Dorion, S., Lalonde, S. & Saini, H. S. 1996. Induction of male sterility in wheat by meiotic-stage water deficit is preceded by a decline in invertase activity and changes in carbohydrate metabolism in anthers. *Plant Physiol.* 111: 137–145.
- Dunbar, A. 1973. A Review of the ultrastructure and ontogeny of some Angiosperm pollen. *Grana* 13: 85-92.
- Edelman, J. & Jefford, T.G. 1968. The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus*. *New Phytol.* 67: 517-531.
- Ejsmond, M.J., Ejsmond, A., Banasiak, L., Karpin´ska-Kołodziej, M., Kozłowski, J. & Kołodziej, P. 2015. Large pollen at high temperature: an adaptation to increased competition on the stigma? *Plant Ecol* 216:1407–1417.
- Endress, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.
- Feng, H., An, L., Tan, L., Hou, Z. & Wang X. 2000. Effect of enhanced ultraviolet-B radiation on pollen germination and tube growth of 19 taxa in vitro. *Environmental and Experimental Botany* 43: 45–53.
- Fernández, J. D., Bosch J., Nieto-Ariza B. & Gómez J. M. 2012. Pollen limitation in a narrow endemic plant: geographical variation and driving factors. *Oecologia* 170, 421–431.
- Firon, N, Nepi, M & Pacini, E. 2012. Water status and associated processes mark critical stages in pollen development and functioning. *Ann Bot* 109:1201–1213.
- Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>> (acesso em 06-I-2021).
- Franchi, G.G., Bellani, L., Nepi, M. & Pacini, E. 1996. Types of carbohydrate reserves in pollen: localization, systematic distribution and ecophysiological significance. *Flora* 191: 1-17.
- Franchi, G.G., Nepi, M., Dafni, A. & Pacini, E. 2002. Partially hydrated pollen: taxonomic distribution, ecological and evolutionary significance. *Plant Syst Evol* 234:211–227.
- Franchi, G.G., Piotto, B.N., Nepi, M., Baskin, C.C., Baskin, J.M. & Pacini, E. 2011. Pollen and seed desiccation tolerance in relation to degree of developmental arrest, dispersal and survival. *Journal of Experimental Botany* 62: 5267– 5281.
- Frankham, R. 2010. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation* 143: 1919-1927.
- Hegland SJ, Totland Ø. 2008. Is the magnitude of pollen limitation in a plant community affected by pollinator visitation and plant species specialisation levels? *Oikos* 117:883–891.
- Hendry, G.A.F. 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructanes - a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytol.* 123: 3-14.

Heslop-Harrison, J. 1971. The pollen wall: structure and development. In: Pollen development and physiology. Ed: J. Heslop - Harrison. Butterworks, London, pp: 75-98.

Heslop-Harrison, J. & Heslop-Harrison, Y. 1992. Cyclical transformations of the actin cytoskeleton of hyacinth pollen subjected to recurrent vapour-phase hydration and dehydration. *Biol Cell* 75: 245–252.

Heslop-Harrison, Y. 2000. Control Gates and Micro-ecology: The Pollen±Stigma Interaction in Perspective. *Annals of Botany* 85 (Supplement A): 5-13.

Hoekstra, F.A. & Roekel, van T. 1988. Desiccation tolerance of *Papaver dubium* L. pollen during its development in the anther. *Pl. Physiol.* 88: 626-632.

Hoekstra, F.A., Crowe, J.H., Crowe, L.M., Roekel, van T. & Vermeer, E. 1992. Do phospholipids and sucrose determine membrane phase transitions in dehydrating species? *Plant Cell and Environment* 15: 601-606.

IAG/USP. 2017. Boletim Climatológico Anual da Estação Meteorológica do IAG/USP. Seção Técnica de Serviços Meteorológicos - Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo – v 20, 2017 – São Paulo: IAG/USP.77p.

Ji, X., Shiran, B., Wan, J., Lewis, D. C., Jenkins, C. L. D. & Condon, A. G. 2010. Importance of pre-anthesis anther sink strength for maintenance of grain number during reproductive stage water stress in wheat. *Plant Cell Environ.* 33: 926–942.

Kandler, O & Hopf, H. 1980. Occurrence, metabolism, and function of oligosaccharides. In: Preiss J. (ed.) *The biochemistry of plants: a comprehensive treatise*. Vol. 3. Carbohydrates: structure and function. Academic Press, New York, pp. 221-270.

Kaul, C.L. & Singh, S.P. 1966. Studies in male-sterile barley. II. Pollen abortion. *Crop Science* 6: 539–541.

Kaur, R., Bains, T.S., Bindumadhava, H. & Nayyar, H. 2015. Responses of mungbean (*Vigna radiata* L.) genotypes to heat stress: Effects on reproductive biology, leaf function and yield traits. *Scientia Horticulturae* 197: 527-541.

Knight TM, Steets JA, Vamosi JC, Mazer SJ, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mitchell RJ, Ashman TL. 2005. Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36:467–497.

Koonjul, P. K., Minhas, J. S., Nunes, C., Sheoran, I. S., & Saini, H. S. 2005. Selective transcriptional down-regulation of anther invertases precedes the failure of pollen development in water-stressed wheat. *J. Exp. Bot.* 56: 179–190.

Koti, S., Reddy, K.R., Reddy, V.R., Kakani, V.G. & Zhao, D. 2005. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. *Journal of Experimental Botany* 56 (412): 725-736.

Kress, W.J. 1986. Exineless pollen: structure and pollination systems of Tropical *Heliconia* (Heliconiaceae). In: Blackmore S., Ferguson I. K. (eds.) *Pollen and spores: form and function*. Academic Press for the Linnean Society, London, pp. 329-345.

- Kumari A, Papenfus HB, Kulkarni MG, Pošta M & Van Staden J. 2015. Effect of smoke derivatives on in vitro pollen germination and pollen tube elongation of species from different plant families. *Plant Biol* 17: 825-830.
- Kurita, F.M.K., Machado, B.M., Teixeira, N.B., César, C.G.A., Nievola, C.C. & Tamaki, V. 2014. Fenologia, cultivo in vitro e aclimatização da bromélia ameaçada de extinção *Nidularium minutum* Mez. *Biotemas* 27: 59-69.
- Lalonde, S., Beebe, D.U. & Saini, H.S. 1997. Early signs of disruption of wheat anther development associated with the induction of male sterility by meiotic-stage water deficit. *Sex. Plant Reprod.* 10: 40–48.
- Larson BMH, Barrett SCH. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biol J Linn Soc* 69:503–520.
- Latado, R.R., Filho, J.S.S.B., Junior, J.P. & Neto, A.T. 2004. Correlação entre viabilidade de pólen e características de frutos em mutantes de laranja “pêra”. *Pesq. Agropec. Bras.* 39: 961-965.
- Leme, E.M.C. 2000. *Nidularium Bromélias da Mata Atlântica* – Ed. Sextante Artes, Rio de Janeiro.
- Li, H. & Zhang, D. 2010. Biosynthesis of anther cuticle and pollen exine in rice. *Plant Signal Behav.* 5: 1121–1123.
- Linskens, H.F. & Cresti, M. 1988. The effect of temperature, humidity and light on the dehiscence of tobacco anthers. *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie an Wet* 91: 369-375.
- Lisci, M., Tanda, C. & Pacini, E. 1994. Pollination ecophysiology of *Mercurialis annua* L. (Euphorbiaceae) na anemophilous species flowering all year round. *Annals of Botany* 74: 125- 135.
- Lopes, M.I.M.S., Kirizawa, M., Melo, M.M.R.F. (orgs.) 2009. *Patrimônio da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba: a antiga Estação Biológica do Alto da Serra / Márcia Inês Martin Silveira Lopes, Mizué Kirizawa, Maria Margarida da Rocha Fiuza de Melo* — São Paulo: Instituto de Botânica. 720 p.
- Lyakh, V.A. & Totsky, I.V. 2014 Heat tolerance and adaptability to drought in sunflower can be influenced by pollen selection. *Helia* 37: 77–86.
- Mamede, M.C.H.; Souza, V.C.; Prado, J.; Barros, F.; Wanderley, M.G.L.; Rando, J.G. 2007. *Livro vermelho das espécies vegetais ameaçadas de extinção no Estado de São Paulo*. São Paulo: Instituto de Botânica. 165 p.
- Marengo, J., Ambrizzi, T., Alves, L., Nobre, C. & Pisnitchenko, I. 2007. *Atlas de Cenários Climáticos Futuros para o Brasil (Versão 1.0). Projeções climáticas (precipitação e temperatura) para o Brasil durante a segunda metade do Século XXI usando modelos regionais, nos cenários de baixas emissões (otimista IPCC-B2) e de altas emissões (pessimista IPCC-A2)*. Disponível em: http://mudancasclimaticas.cptec.inpe.br/~rmlclima/pdfs/prod_probio/Atlas.pdf. (acesso em 08-I-2021).
- Marengo, J. A., Rusticucci, M., Penalba, O. & Renom, M. 2010. An intercomparison of observed and simulated extreme rainfall and temperature events during the last half of the twentieth century: part 2: historical trends. *Climatic Change* (2010) 98:509–529.

- McLaughlin, J.E. & Boyer, J.S. 2004. Sugar-responsive gene expression, invertase activity, and senescence in aborting maize ovaries at low water potentials. *Ann. Bot.* 94, 675–689.
- Mercado, J.A., Trigo, M.M., Reid, M.S., Valpuesta, V. & Quesada, M.A. 1997. Effects of low temperature on pepper pollen morphology and fertility: Evidence of cold induced exine alterations. *Journal of Horticultural Science* 72: 317-326.
- Milocani, E., Papini, A. & Brighigna, L. 2006. Ultrastructural studies on bicellular pollen grains of *Tillandsia seleriana* Mez (Bromeliaceae), a neotropical epiphyte. *Caryologia* 59: 88-97.
- Munhoz M, Luz CFP, Meissner Filho PE, Barth OM, Reinert F. 2008. Viabilidade polínica de *Carica papaya* L.: uma comparação metodológica. *Rev Bras Bot* 31: 209-214.
- Nepi, M. & Pacini, E. 1993. Pollination, pollen viability and pistil receptivity in *Cucurbita pepo*. *Annals of Botany* 72: 527-536.
- Nepi, M., Franchi, G.G. & Pacini, E. 2001. Pollen hydration status at dispersal: cytophysiological features and strategies. *Protoplasma* 216: 171- 180.
- Nilsson, S. & Berggren, B. 1991. Various methods to determine air pollutants on pollen grains. *Grana* 30: 553-556.
- Osthoﬀ, K.S. & Wiermann, R. 1987. Phenols as integrated compounds of sporopollenin from *Pinus* pollen. *J. Plant Physiol.* 131: 5–15.
- Pacini, E., Franchi, G.G. & Hesse M. 1985. The tapetum: Its form, function, and possible phylogeny in Embryophyta. *Plant Syst. Evol.* 149: 155–185.
- Pacini, E. 1990. Harmomegathic characters of pteridophyta spores and spermatophyta pollen. *Plant Syst Evol Suppl* 5:53-59.
- Pacini, E. & Franchi, G.G. 1992. Diversification and evolution of the tapetum. In: Blackmore S., Barnes S. H. (eds.) *Pollen and spores: patterns of diversification*. Syst. Assoc. Clarendon Press, Oxford, pp. 301-316.
- Pacini, E. 1997. Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities. *Can. J. Bot.* 75: 1448-1459.
- Pacini, E. 2000. From anthers and pollen ripening to pollen presentation. *Plant. Syst. Evol.*, 222: 19-43.
- Pacini, E., Guarnieri, M. & Nepi, M. 2006. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. *Protoplasma* 228: 73– 77.
- Parton, E., Vervaeke, R., Delen, B.R., Vandenbusscher, R. & De Proft, M. 2002. Viability and storage of bromeliad pollen. *Euphytica* 125: 155-161.
- Piffanelli, P., Ross, J.H. & Murphy, D.J. 1997. Intra- and extracellular lipid composition and associated gene expression patterns during pollen development in *Brassica napus*. *Plant J.* 11: 549–562.

- Piffanelli, P., Ross, J.H.E. & Murphy, D.J. 1998. Biogenesis and function of the lipidic structures of pollen grains. *Sex Plant Reprod* 11: 65–80.
- Porch, T.G. & Jahn, M. 2001. Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat-tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. *Plant, Cell and Environment* 24: 723–731.
- Prasad PVV, Boote KJ, Allen H, Thomas JMG. 2003. Suboptimal temperatures are detrimental to peanut (*Arachis hypogaea* L.) reproductive processes and yield at both ambient and elevated carbon dioxide. *Global Change Biology* 9: 1775–1787.
- Preuss, D., Lemieux, B., Yen, G. & Davis, R.W. 1993. A conditional sterile mutation eliminates surface components from *Arabidopsis* pollen and disrupts cell signaling during fertilization. *Genes Dev.* 7: 974–985.
- Raynal A, Raynal J. 1971. Une technique de préparation des grains de pollen fragiles. *Adansonia* 2: 77-79.
- Rezanejad, F. 2009. Air pollution effects on structure, proteins and flavonoids in pollen grains of *Thuja orientalis* L. (Cupressaceae). *Grana* 48: 205–213.
- Richards, J.S., Stanley, J.N. & Gregg, P.C. 2005. Viability of cotton and canola pollen on the proboscis of *Helicoverpa armigera*: implications for spread of transgenes and pollination ecology. *Ecological Entomology* 30: 327-333.
- Rudich J., Zamski E. & Regev Y. 1977. Genotypic variation for sensitivity to high temperature in the tomato: pollination and fruit set. *Botanical Gazette* 138: 448–452.
- Saini, H. S. & Aspinall, D. 1981. Effect of water deficit on sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ann. Bot.* 48: 623–633.
- Saini, H.S., Sedgley, M. & Aspinall, D. 1984. Development anatomy in wheat of male sterility induced by heat stress, water deficit or abscisic acid. *J. Plant Physiol.* 11: 243–253.
- Santos V.L., Nievola C.C., Fidalgo A.O., Kanashiro S., Wanderley M.G.L., Gomes E.P.C. & Luz C.F.P. 2021. Floral morphology and pollen viability of an endangered and endemic Bromeliaceae species from the Atlantic Forest. *Grana* 60 (*no prelo*).
- Shen, Y. & Webster, D. 1986. Effects of water stress on pollen of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 111: 807810.
- Shivanna, K.R. & Johri, B.M. 1985. *The Angiosperm Pollen: Structure and Function*, pp. 5–83. Wiley Eastern Limited, New Delhi.
- Shivanna, K.R., Cresti, M. & Ciampolini F. 1997. Pollen development and pollen-pistil interaction. In *Pollen Biotechnology for Crop Production and Improvement*, In: Shivanna K.R., Sawhney V.K., (eds.), Cambridge, UK: Cambridge University Press: 15–39.
- Shivanna, K.R. 2003. *Pollen biology and biotechnology*. Enfield: Science Publishers.

Soares, T.L., Jesus, O.N., Santos-Serejo, J.A. & Oliveira, E.J. 2013. In vitro pollen germination and pollen viability in passion fruit (*Passiflora* spp.). *Rev Bras Fitic* 35: 1116-1126.

Souza, E.H., Souza, F.V.D., Rossi, M.L., Brancalleão, N., Ledo, C.A.S & Martinelli, A.P. 2015. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. *Euphytica* 204: 13-28.

Souza EH, Souza FVD, Rossi ML, Rossi, Packer RM, Cruz-Barros, MAV & Martinelli AP. 2017. Pollen morphology and viability in Bromeliaceae. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 89: 3067-3082.

Speranza A., Calzoni, G.L. & Pacini, E. 1997. Occurrence of mono or disaccharides and polysaccharides reserves in mature pollen grain. *Sex. Plant Reprod.* 10: 110-115.

Spollen, W.G. & Nelson, C.J. 1994. Response of fructan to water deficit in growing leaves of tall fescue. *Plant Physiol.* 106: 329-336. Stanley, R.G. & Linskens, H.F. 1974. *Pollen: biology, biochemistry and management*. Springer-Verlag, Berlin.

Wang, Q.Y., Aoki, D. & Sakamoto, K. 2005. Chemical and physical effects of air pollutants on Airborne Pollen in urban areas of Japan. *Proceedings: Indoor Air 2005*: 1510-1514.

Zanella, C.M., Janke, A., Palma-Silva, C., Kaltchuk-Santos, E., Pinheiro, F.G. & Paggi, G.M. 2012. Genetics, evolution and conservation of Bromeliaceae. *Genetics and Molecular Biology* 35: 1020-1026.

CAPÍTULO 10

GEN *PeIB*, COMO FACTOR DE VIRULENCIA EN AISLAMIENTOS DE *Colletotrichum SPP EN Rubus glaucus Benth*

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 08/03/2021

Lina María Gómez López

Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias Ambientales, Pereira, Risaralda, Colombia.

<https://orcid.org/0000-0003-3276-9976>

Marta Leonor Marulanda Ángel

Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias Ambientales, Pereira, Risaralda, Colombia.

<https://orcid.org/0000-0002-0748-7582>

Liliana Isaza Valencia

Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias Ambientales, Pereira, Risaralda, Colombia.

<https://orcid.org/0000-0002-6055-6575>

Ana María López Gutiérrez

Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias Ambientales, Pereira, Risaralda, Colombia.

<https://orcid.org/0000-0002-5138-1806>

RESUMEN: El siguiente estudio se llevó a cabo en tres fases. En la primera se reactivaron 31 aislamientos de *Colletotrichum spp.* obtenidos de cultivos de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) provenientes de los departamentos de Caldas, Quindío, Risaralda, Antioquia, Cundinamarca, Santander, Valle del Cauca y Tolima, los cuales se encontraban en conservación en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología y

Biodiversidad de la Universidad Tecnológica de Pereira. En la segunda se extrajo ADN de los 31 aislamientos, con el fin de identificar la presencia del gen *pelB*, (el cual ha sido reportado como el factor clave de patogenicidad en aislamientos de *Colletotrichum spp.*) usando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con los cebadores específicos P1 y P6. En la tercera y última se corroboró la veracidad de los resultados obtenidos en el tamizaje molecular, realizando pruebas de patogenicidad mediante la utilización de estacas de mora con agujones. La amplificación del gen *pelB*, dió positiva para 13 de los 31 aislamientos, calificándolos como los más patogénicos en esta investigación. Este resultado, se corroboró mediante las pruebas de patogenicidad cruzada, las cuales sugirieron que los aislamientos que no presentaron amplificación positiva retardaron la aparición de los síntomas de antracnosis en estacas de mora con agujones. Entre tanto, los aislamientos que arrojaron amplificación positiva para el gen *pelB* desencadenaron procesos infectivos en menor tiempo, en estacas de mora con agujones.

PALABRAS CLAVE: Pectato – liasa, Antracnosis, severidad, patogenicidad.

PELB GENE, AS A VIRULENCE FACTOR IN ISOLATES OF COLLETOTRICHUM SPP IN RUBUS GLAUCUS BENTH

ABSTRACT: The following study was conducted in three phases. In the first 31 isolates of *Colletotrichum spp* they were reactivated. obtained from cultures of blackberry (*Rubus glaucus Benth*) from the departments of Caldas,

Quindío, Risaralda, Antioquia, Cundinamarca, Santander, Valle del Cauca and Tolima, which were in storage at the premises of the Laboratory of Biotechnology and Biodiversity Technological University of Pereira. The second DNA from 31 isolates were extracted, in order to identify the presence of the *pelB* gene (which has been reported as the key pathogenic isolates of *Colletotrichum* spp factor.) Using the technique of the polymerase chain reaction (PCR) with specific primers P1 and P6. In the third and final the accuracy of the results obtained in the molecular screening was confirmed, making pathogenicity tests using stakes abides with stingers. *pelB* gene amplification, was positive for 13 of the 31 isolates, describing them as the most pathogenic in this investigation. This result was corroborated by the evidence of cross pathogenicity, which suggested that the isolates showed no positive amplification delayed the onset of symptoms of anthracnose stakes abides with stingers. Meanwhile, they isolate that yielded positive amplification for the *pelB* gene triggered infective processes in less time, in dwells with stinger.

KEYWORDS: Anthracnose, *Colletotrichum* spp., gen *pelB*., Andean blackberry

11 INTRODUCCIÓN

Dentro del género *Rubus*, la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) es la especie más cultivada por su adaptabilidad y características especiales. En Colombia constituye la principal fuente de ingresos económicos para un gran número de pequeños y medianos agricultores, concentrados principalmente en la zona Andina (Agronet, 2010).

Entre 2015 y 2018 el Área Sembrada en cultivos de mora en Colombia aumentó en un 1,3% promedio anual, alcanzando para el último año las 15.696 hectáreas, con una producción promedio de 130.802 t. Con base en su comportamiento durante el mismo periodo, se estima que para 2019 las áreas cultivadas se acerquen a las 16.000 hectáreas con una producción de 139.931 t. (MADR, 2018).

Cundinamarca es el principal departamento productor de mora del país; representa el 26% del volumen de la producción anual, seguido de Santander y Antioquia, que aportan el 22,8% y el 6,2% respectivamente. Se resalta el aumento de la producción en departamentos de Caldas (112%), Nariño (76%) y Putumayo (67%). (MADR 2018).

En el campo fitosanitario, la producción del cultivo se ve amenazada por diversas enfermedades, entre las cuales sobresale la Antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* como la más limitante, ya que genera pérdidas cercanas a 100% del cultivo cuando no se aplican medidas preventivas (Saldarriaga et al., 2012).

En Colombia, se ha asociado a *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* como agentes causales de antracnosis en mora. Las especies de *Colletotrichum* presentan preferencias por los tejidos de la planta, así, *C. gloeosporioides* se asocia en un mayor grado a lesiones en tallo, presentando altas tasas de crecimiento y patogenicidad (Afanador et al., 2010, 2014).

El manejo de especies de *Colletotrichum* se ha fundamentado en la aplicación de fungicidas, este tipo de manejo presenta problemas debido al desarrollo de cepas resistentes

(Rupp et al., 2017). El abuso de moléculas químicas para el control de Antracnosis en el cultivo de mora, ha ocasionado el rechazo de pulpas para exportación, debido a trazas encontradas en las mismas (Gaviria-Hernández et al., 2013).

Las formas de *Colletotrichum* tienen diferentes modelos de comportamiento en la naturaleza, variando de saprófito a cepas parasíticas especializadas con un estrecho rango de hospedantes. Las conidias son producidas en masas mucilaginosas, a menudo rosadas, bastante conspicuas y típicamente hundidas, con un contorno irregular en las lesiones necróticas (denominada Antracnosis) sobre frutos, hojas, flores y tejidos leñosos como tallos. Las especies de *Colletotrichum* utilizan dos fuentes principales de infección: colonización intracelular o la colonización intracelular subcuticular (Figura 1).

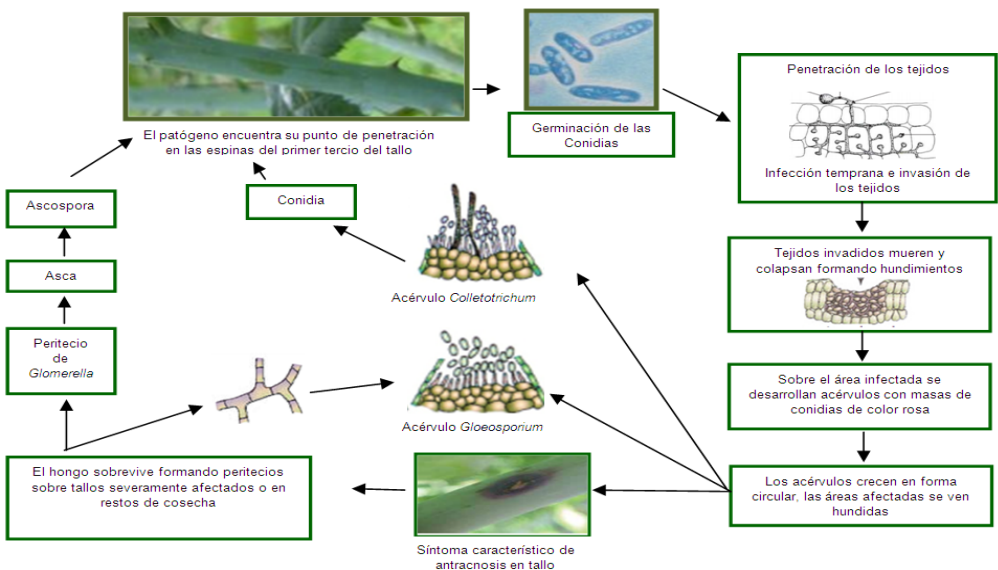


Figura 1. Ciclo patológico de *Glomerella cingulata* (Estado anamorfo de *C. gloeosporioides*) sobre plantas de mora de Castilla. Elaboración propia

En plantas de mora de castilla, la enfermedad generalmente se presenta como manchas oscuras en ramas y tallos; en el interior de estos tejidos, se observa una coloración café claro a café rojizo, posteriormente, las ramas se secan y mueren. Esta enfermedad también puede atacar botones florales, brotes tiernos, pedúnculos, hojas y frutos los cuales se deshidratan y pudren (Figura 2). Cuando este cultivo se establece en zonas de alta humedad, la enfermedad ataca la base de los tallos, a diferencia de otras especies de frutales el patógeno no es frecuente en estructuras florales y reproductivas. Con el progreso de la enfermedad las manchas se agrandan, el centro toma una coloración grisácea con bordes oscuros; luego aparecen las estructuras reproductivas del patógeno,

constituídas por acérvulos y masas de conidias de color salmón. Uno de los síntomas más frecuentes se presenta en las ramas o tallos cortados o heridas durante las labores al cultivo, sitios por donde el microorganismo puede penetrar, ocasionando lesiones de color oscuro y bordes definidos que van colonizando en forma rápida todo el tejido, causando en el primer caso muerte descendente de la rama y en el segundo, muerte desde la base del tallo hacia las ramas superiores.

Con alguna frecuencia, la enfermedad también se manifiesta en las yemas produciendo alrededor manchas oscuras con bordes bien definidos, en algunos casos el patógeno puede avanzar en forma ascendente y necrosar la rama recién formada. Los frutos producidos sobre las ramas y pecíolos no maduran en forma uniforme. Los tejidos de mayor lignificación son los más susceptibles para el desarrollo de la enfermedad, la cual puede afectar entre el 50 y 70% de los tallos de las plantas cultivadas (De La Rotta, 2001).



Figura 2. Principales síntomas de Antracnosis en plantas de mora de Castilla: **a**, tallos; **b**, hojas; **c**, racimos florales (Fuente: Laboratorio de Biotecnología Vegetal – UTP).

Diversos hongos invaden los tejidos de las plantas por la producción de enzimas pectolíticas, tales como poligalacturonasa, que disuelven la laminilla media de las células, sin embargo, la actividad de esta enzima puede ser inhibida cuando aumenta la concentración de calcio (Ca) en los tejidos, a la vez que contribuye en la formación de barreras físicas protectoras frente a la penetración de dichos organismos (Spann y Schumann, 2010).

Estudios revelan que *C. gloeosporioides* produce endopoligalacturonasa (Prusky et al., 1989; Yakoby et al., 2000a), pectinoliase A (Templeton et al., 1994; Bowen et al., 1995), pectino metil esterasa (Ortega, 1996) y pectato liasa B (*peI/B*) (Wattad et al., 1997). Así mismo, durante la colonización de los tejidos infectados y durante la fase necrótica de la infección por *Colletotrichum* spp., las enzimas degradativas de las paredes celulares de la planta, tal como la pectato liasa, se incrementan, lo cual es clave en el desarrollo de la virulencia de la enfermedad (Prusky et al., 2001). La capacidad de las especies de *Colletotrichum* para cambiar el pH en el sitio de infección aumenta la virulencia porque la secreción de amonio y el incremento en el pH conducen a una mayor expresión de un gen llamado *peI/B* y por lo tanto una secreción de pectato liasa superior (Yakoby et al., 2001b). Esto es importante no sólo por la deficiente clasificación taxonómica, sino porque

deben existir diferencias significativas en el modo de agresión de los distintos patógenos, sin embargo, se conoce muy poco sobre el papel que estos compuestos desempeñan en la fisiología y en el mecanismo de infección de estos fitopatógenos (Zou, W. X *et al.*, 2000; Lu, H. *et al.*, 2000; Turner, W. B. y Aldridge, D. C 1983). Por parte del hospedero, Casado – Díaz *et al.* (2006) trabajaron con la respuesta diferencial de fresa al ataque de *Colletotrichum acutatum*, haciendo las evaluaciones de expresión a las 72 horas después de la inoculación, identificando un gran número de genes involucrados en la respuesta de la planta al ataque de microorganismos. Una porción significativa de estos genes estaban directamente relacionados con la defensa de la misma, otra parte de los genes involucrados pertenecían a los sistemas receptores de proteínas, señales de transducción de proteínas – kinasas y factores de transcripción, altamente relacionados con los mecanismos de defensa de las plantas a la infección de patógenos.

El objetivo de este trabajo fue determinar la asociación del gen *peb*, como factor de virulencia en aislamientos de *Colletotrichum* spp., agente causal de la antracnosis en mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth), presentes en las principales zonas productoras de mora en el país y validar estos datos mediante pruebas de patogenicidad en estacas de mora susceptibles a la enfermedad.

2 I MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se presenta la metodología llevada a cabo en esta investigación.

2.1 Aislamientos

Se trabajó con 31 aislamientos previamente caracterizados, pertenecientes al género *Colletotrichum* spp., el material fúngico utilizado provino de cultivos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) de diferentes departamentos de Colombia (Tabla 1).

2.2 Extracción de ADN

La extracción de ADN a partir de micelio se realizó siguiendo la técnica descrita Lee y Taylor (1.990) con algunas modificaciones realizadas durante el desarrollo de la presente investigación. El ADN se visualizó en gel de agarosa al 1%. Para mejorar la calidad del ADN, se realizó a cada muestra dos purificaciones con el protocolo descrito por Castillo (2006).

2.3 Amplificación del Gen *peB*

Para la amplificación de este gen se utilizó la pareja de primers P1 y P6 descritos por Medeiros *et al.* (2010). El producto amplificado presentó un tamaño aproximado de 600 pb. Las reacciones de amplificación se llevaron a un volumen final de 12,5 μ L bajo las siguientes condiciones: Buffer 1X (20 mM Tris-HCl, pH 8.4, 50 mM KCl), 1.5 mM $MgCl_2$, 0.3 mM de cada dNTP, 0.2 mM de cada primer, 0.04 U Taq polimerasa (Bioline) y 25 ng ADN.

El perfil de amplificación constó de una desnaturalización inicial de 95°C por 5 min., seguidos por 40 ciclos a 95 °C por 30 seg., temperatura de apareamiento a 60 °C por 30 seg., y una extensión a 72°C por 30 seg. Los productos amplificados del gen *pe1B*, fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa al 1%, teñido con una solución de bromuro de etidio al 1%.

Muestra	Especie	Lugar de colecta	Coordenadas	Pe1B
1M	<i>C. gloeosporioides</i>	Salamina(Caldas)	5°22'9.7" N 75°29'00.4" W	No
2B	<i>C. gloeosporioides</i>	Pereira(Risaralda)	4°45'52" N 75°38'16" W	No
3S1	<i>C. gloeosporioides</i>	Santuario(Risaralda)	5°12'55.1" N 75°00'20.0" W	Si
3S2	<i>C. gloeosporioides</i>	Santuario(Risaralda)	5°12'18.2" N 75°00'28.2" W	Si
3S3	<i>C. gloeosporioides</i>	Santuario(Risaralda)	5°12'29.5" N 75°00'14.2" W	No
4S1	<i>C. gloeosporioides</i>	Salento(Quindio)	4°63'58.9" N 75°56'94.2" W	Si
4S2	<i>C. gloeosporioides</i>	Salento(Quindio)	4°63'49.6" N 75°56'98.3" W	No
4S3	<i>C. acutatum</i>	Salento(Quindio)	4°59'97.1" N 75°57'86.7" W	No
4S4	<i>C. acutatum</i>	Salento(Quindio)	ND	No
5V1	<i>C. gloeosporioides</i>	Villa Maria(Caldas)	5°22'9.7" N 75°29'00.4" W	Si
5V2	<i>C. acutatum</i> <i>C. gloeosporioides</i> Complejo	Villa Maria(Caldas)	4°57'48" N 75°30'14.1" W	No
5V3	<i>C. acutatum</i> <i>C. gloeosporioides</i> Complejo	Villa Maria(Caldas)	4°57'46.7" N 75°30'16.3" W	No
5V4	<i>C. gloeosporioides</i>	Villa Maria(Caldas)	4°57'44.7" N 75°30'18.2" W	No
6	<i>C. gloeosporioides</i>	Santa Rosa(Risaralda)	4°48'99.2" N 75°41'86" W	No
7D1	<i>C. gloeosporioides</i>	Dosquebradas(Rida)	4°86'97.5" N 5°66'50.5" W	No
7D2	<i>C. gloeosporioides</i>	Dosquebradas(Rida)	4°86'91.1" N 75°66'52.7" W	No
SP	<i>C. gloeosporioides</i>	Santuario(Risaralda)	ND	No
SJM	<i>C. gloeosporioides</i>	Santuario(Risaralda)	ND	No
A1	<i>C. acutatum</i>	Guarne(Antioquia)	6°16'38" N 75°24'43" W	No
A3	<i>C. gloeosporioides</i>	Guarne(Antioquia)	6°16'49" N 75°24'12" W	No

C18	<i>C.gloeosporioides</i>	Fusagasugá(Cundinamarca)	4°24'55" N 74°19'12" W	No
S24	<i>C.gloeosporioides</i>	Piedecuesta(Santander)	6°59'39" N 72°59'17" W	Si
S27	<i>C.gloeosporioides</i>	Piedecuesta(Santander)	6°59'43" N 72°59'28" W	Si
V38	<i>C. gloeosporioides</i>	Ginebra (Valle)	3°46'50" N 76°11'48" W	No
V42	<i>C. gloeosporioides</i>	Ginebra (Valle)	3°46'36" N 76°11'51" W	Si
V50	<i>C. acutatum</i> <i>C. gloeosporioides</i> Complejo	Ginebra (Valle)	3°46'14" N 76°11'25" W	Si
T59	<i>C. gloeosporioides</i>	Icononzo(Tolima)	4°17'77" N 74°53'29" W	Si
T63	<i>C. gloeosporioides</i>	Icononzo(Tolima)	4°17'86" N 74°53'55" W	Si
T65	<i>C. gloeosporioides</i>	Icononzo(Tolima)	ND	Si
T78	<i>C. gloeosporioides</i>	Icononzo(Tolima)	ND	Si
T82	<i>C. gloeosporioides</i>	Icononzo (Tolima)	4°24'38" N 74°34'46" W	Si

*ND: Datos no disponibles.

Tabla 1. Sitios de colecta de *Colletotrichum* spp. en cultivos comerciales de mora en Colombia.

2.4 Diseño experimental

Con el fin de corroborar la relación de la amplificación del gen *peIB* y la capacidad patogénica de *Colletotrichum* spp, se realizaron pruebas de patogenicidad utilizando un diseño completamente al azar, donde la variable respuesta, severidad, fue analizada para 31 aislamientos del género *Colletotrichum* spp., previamente identificados por especie, y clasificados de acuerdo a la presencia o ausencia del gen *peIB* (tratamientos) (Tabla 1). Para cada aislamiento se contó con tres repeticiones en las pruebas de patogenicidad.

2.5 Prueba de patogenicidad en estacas

Se usaron 31 aislamientos para realizar las pruebas de patogenicidad en estacas sanas de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.) con agujón (que posee mayor susceptibilidad a la enfermedad). La concentración de la suspensión de inóculo fue de 1.2×10^6 conidias/ml. Se utilizaron como controles negativos estacas de mora de castilla sanas, inoculadas con agua destilada estéril. Las estacas se conservaron en cámara húmeda a temperatura ambiente.

Las evaluaciones de las pruebas de patogenicidad, en términos de severidad, se realizaron al octavo día después de la inoculación teniendo en cuenta la escala de severidad desarrollada por Marulanda et al, (2007) (Tabla2), para comprobar la capacidad infectiva de todos los aislamientos, se permitió el avance del proceso infectivo durante 14 días.

Grado	Síntoma	Descripción
1	Ausencia de síntomas	Planta sana
2	Síntomas leves	Puntos pequeños de color marrón
3	Varias lesiones	Rayas o flecks de color marrón
4	Lesión grande y húmeda	Muerte de tejidos (necrosis)

Tabla 2. Escala de severidad de los aislamientos de *Colletotrichum* spp sobre estacas de *Rubus glaucus* con aguijón.

2.6 Análisis estadístico.

Para comprobar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Shapiro-Wilks y posteriormente se determinaron las diferencias estadísticas entre aislamientos a través de un Análisis de Varianza (ANAVA), utilizando el programa estadístico *InfoStat* versión 2014.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Amplificación del gen *pe1b*

De los 31 aislamientos estudiados, 13 arrojaron amplificación positiva para la presencia del gen *pe1b*: 3S1, 3S2, 4S1, 5V1, S24, S27, V42, V50, T59, T63, T65, T78 y T82 (Tabla 1), considerándolos probablemente como los más patogénicos; de estos, 12 aislamientos pertenecen a la especie *C. gloeosporioides* y un aislamiento a *C. acutatum* con productos de amplificación de aproximadamente 600 pb.

En los últimos años se ha producido un buen número de evidencias de que diferentes especies de *Colletotrichum* podrían utilizar enzimas pécticas como factores de patogenicidad. Genes codificantes de poligalacturonasas o la actividad de sus productos se han demostrado en *C. acutatum* (Fernando *et al.*, 2001) y *C. lindemuthianum* (Herbert *et al.*, 2004). En el 2010, Medeiros y colaboradores, encontraron la presencia del gen *pe1b* en aislamientos de *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. sublineolum*, obtenidos de hospederos de cebolla, anacardo, mango, pimienta, melocotón y sorgo. De Costa y Chandima (2014), hallaron la presencia del gen *pe1b* en aislados de *Colletotrichum musae*, obtenido de diferentes cultivares de banano. Así mismo, Andréia *et al.*, (2013), realizaron estudios en *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal de la antracnosis en el fríjol, los resultados muestran que los genes que codifican sus enzimas degradantes de las paredes celulares son cruciales para el desarrollo de la enfermedad.

El hongo *Colletotrichum* causante de la antracnosis, inicia su infección después del

reconocimiento de alcoholes grasos y ceras en la superficie del fruto y dos horas más tarde los genes del hongo *CgMEKx* y *CgMEKI* se fosforilan. Dichos genes están involucrados en la diferenciación y germinación de conidias así como en la formación del apresorio. Además, los conidias secretan las proteínas CHIP2 y CHIP3, que se relacionan con el contacto a la superficie del fruto. La activación del gen *cap20* ayuda al apresorio a desarrollarse después que se producen las hifas infectivas, para proveer de presión y secretar enzimas degradadoras de la pared celular. Los cambios en el pH del hospedante activan al gen *pac1* que induce la expresión del gen *peIB* y entonces se producen las enzimas poligalacturonasa y pectato–liasa. El proceso infectivo biotrófico produce la secreción de la proteína CIH1 y la etapa necrotrófica involucra las proteínas CLTA1 y CgDN3, mismas que se relacionan con la necrosis de tejidos en una etapa posterior (Rodríguez *et al.*, 2009).

3.2 Pruebas de patogenicidad en estacas

A los quince días después de la inoculación, todos los aislamientos utilizados en esta investigación tuvieron la capacidad de inducir síntomas de la enfermedad en los tejidos de mora (Figura 3), siendo los aislamientos más agresivos V50 y T63, procedentes de los departamentos del Valle del Cauca y Tolima respectivamente, causando la muerte del tejido vegetal tres días después de la inoculación con el patógeno, de la misma forma, se consideraron agresivos los aislamientos V42 (Valle del Cauca), 4S1 (Quindío), T59, T65, T78 y T82 (Tolima), ya que causaron la muerte de las estacas de mora el cuarto día después de la inoculación.

Para el sexto día, los aislamientos que produjeron necrosis total (grado 4) en el tejido de mora fueron 5V1 (Caldas), S24 y S27 (Santander) los cuales mostraron los primeros síntomas de la enfermedad los días 4, 3 y 2 respectivamente después de la inoculación, seguidos por los aislamientos 3S2 y 3S1 (Risaralda) que causaron las primeras lesiones hacia el tercer y cuarto día respectivamente, al día octavo causaron la muerte de las estacas. Es importante tener en cuenta que todos los aislamientos antes mencionados amplificaron para el gen *peIB*.

Los aislamientos que no presentaron amplificación del gen *peIB* se consideraron menos agresivos ya que al octavo día presentaban severidades grado 1 ó 2. Mientras que los que los que amplificaron positivamente para el gen *peIB*, alcanzaron rápidamente el cuarto grado de severidad.

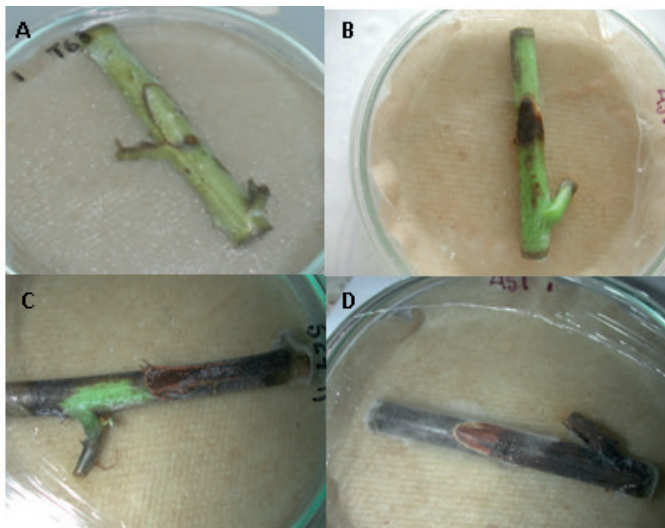


Figura 3. Avance de la enfermedad (antracnosis) generada por *Colletotrichum* spp. en mora de Castilla (*Rubus glaucus*) con aguijón. **A.** *Rubus glaucus* sin síntomas de la enfermedad, **B.** *Rubus glaucus* con síntomas leves, **C.** *Rubus glaucus* con varias lesiones, **D.** *Rubus glaucus* con lesiones grandes (Fuente: Laboratorio de Biotecnología Vegetal).

La fase asintomática de la antracnosis cursa a partir de las 48 a 72 horas después de la inoculación, donde el plasmalema y el tonoplasto de las células infectadas continúan funcionales; en esta fase, la hifa primera larga (LPH) incrementa su volumen de 50 a 200 veces formando una vesícula que indica la adquisición acelerada de fluidos y nutrientes del hospedero infectado antes de ser necrosado (Latunde–Dada, 2001).

Después de 48 h de la penetración inicial en *C. lindemuthianum* y de 96 h en *C. destructivum* O'Hara, *C. truncatum* (Schwein.) Andrus y W.D. Moore y *C. linicola* Pethybr. y Laff (Latunde–Dada, 2001) se desarrollan hifas secundarias necrotóficas que degradan las paredes celulares cercanas al sitio de la infección (O'Connell *et al.*, 1996). El cambio a la fase necrotrófica involucra cambios nutrimentales de modo que la habilidad para que el patógeno utilice los constituyentes de la planta, se hace más eficiente mediante la activación de las rutas catabólicas.

González-Candelas y Kolattukudy (1992) reportan la aparición del gen de la pectato liasa, en otro hongo fitopatógeno como lo es *Fusarium oxysporum*, donde describen que cuando un hongo establece una infección, éste tiene que penetrar barreras de carbohidratos, elementos constitutivos de las paredes de las células vegetales, esto hace parte del éxito en su estrategia infectiva.

La alta patogenicidad de *Colletotrichum* asociada a este gen también ha sido reportada por Medeiros (2010) y Yacoby (2001) para cultivos de aguacate, cebolla, anacardo, mango, pimienta, melocotón, violeta y sorgo, presentando el mismo comportamiento en

aislamientos obtenidos a partir de cultivos de mora.

3.3 Análisis estadístico

La prueba de Shapiro-Wilks corroboró que los datos se ajustan al modelo de distribución normal, arrojando datos de p superiores al 0.9999.

Posteriormente, el análisis de varianza (ANOVA) (Tabla 3) mostró diferencias significativas entre los aislamientos.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Sumatoria de cuadrados	Cuadrados medios	F calculado	Valor de p
Modelo	30	189.29	6.31	1537123892721010,00	<0,0001
Tratamiento	30	189.29	6.31	sd	sd
Error	62	0.00	0.00		
Total	92	189.29			

sd: Diferencias significativas

Tabla 3. Análisis de varianza para la variable severidad en aislamientos de *C. gloeosporioides* con y sin gen *peB*

Para discriminar esas diferencias significativas se utilizó la prueba pareada de Tuckey (Tabla 4), mostrando tres grupos (A, B y C). Donde A y B corresponden a los aislamientos menos patogénicos y sin amplificación positiva para el gen *peB*, todos los aislamientos del grupo A, presentaban grado de severidad 1 al octavo día de evaluación, los del grupo B, presentaban grado 2 de severidad al mismo día de evaluación. Entre tanto, los aislamientos del grupo C, se consideraron los más patogénicos al presentar grado de severidad 4, al octavo día de evaluación, además de la amplificación para el gen *peB*. Demostrando en este estudio, la asociación del gen *peB*, como factor de virulencia en aislamientos de *Colletotrichum* spp. en mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth), así como se había confirmado previamente para otras especies afectadas por *Colletotrichum* spp., y otros hongos que presentan este gen.

Tratamiento	Medias	N	Grupo
4S2SG	1	3	A
SJM1SSG	1	3	A
SP1SG	1	3	A
5V3SG	1	3	A
6SG	1	3	A
5V4SG	1	3	A
V38SG	1	3	A
C18SG	1	3	A

A1SG	1	3	A
7D2SG	1	3	A
3S3SG	1	3	A
4S3SG	1	3	A
7D1SG	1	3	A
1MSG	1	3	A
2BSG	1	3	A
A3SG	1	3	B
5V2SG	1	3	B
4S4SG	1	3	B
T63CG	1	3	C
T59CG	1	3	C
T82CG	1	3	C
T78CG	1	3	C
T65CG	1	3	C
3S2CG	1	3	C
4S1CG	1	3	C
5V1CG	1	3	C
3S1CG	1	3	C
S27CG	1	3	C
S24CG	1	3	C
V42CG	1	3	C
V50CG	1	3	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 4. Prueba pareada de Tukey para comparación de medias. Letras diferentes significan diferencias significativas (Alfa igual al 0.05)

En el 2006, Contreras realizó pruebas de patogenicidad cruzada en estacas de mora con un aislamiento de *C. gloeosporioides* obtenido de lulo y uno de *C. acutatum* a partir de frutos de granadilla, generando los síntomas similares a los ya descritos y encontrados en este estudio, esto indica que el éxito de la infección de las diferentes especies de *Colletorichum* y la variabilidad presentada por el patógeno (Santana y Mahuku 2002), hacen que se considere uno de los géneros más agresivos dentro de los hongos fitopatógenos (Freeman *et al.*, 1998, Agrios 2001, Botero *et al.*, 2002).

4 | CONCLUSIONES

Los aislamientos de *C. gloeosporioides* que presentaron o no el gen *pefB*, tuvieron una respuesta diferencialmente significativa en el periodo de ataque a plantas de mora susceptibles a este hongo. Es así como, los que presentaron amplificación para este gen

indujeron síntomas más rápidamente que aquellos que no presentaron la amplificación de este gen. En este estudio, los aislamientos que no presentaron amplificación del gen *peIB* se consideraron menos agresivos ya que al octavo día presentaban severidades grado 1 ó 2. Mientras que los que los que amplificaron positivamente para el gen *peIB*, alcanzaron rápidamente el cuarto grado de severidad. Diferentes especies de *Colletotrichum* podrían utilizar enzimas pécticas como factores de patogenicidad, es así como los genes que codifican enzimas degradantes de las paredes celulares son cruciales para el desarrollo de las enfermedades en plantas.

REFERÊNCIAS

Afanador, L.; Álvarez, E.; y González, A. 2010. **Antracnosis de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth.): Variabilidad en especies y razas del agente causante e identificación de fuentes de resistencia a la enfermedad.** In: Centro de Agricultura Tropical - CIAT. Proyecto Productores de lulo y mora competitivos mediante selección participativa de clones élite, manejo integrado del cultivo y fortalecimiento de cadenas de valor. Fontagro mora lulo. Palmira: Colombia. p. 66-84.

Afanador, L.; González, A.; Gañán, L.; Mejía, J.; Cardona, N.; y Álvarez, E. 2014. **Characterization of the *Colletotrichum* species causing anthracnose in Andean blackberry in Colombia.** Plant Dis. 98:503-1513.

Agrios G. N. 2001. **Fitopatología.** 2° Edición. Editorial Limusa. 838 pp.

Agronet. 2010. **Sistema de información del sector agropecuario y pesquero colombiano.** Sistema de consultas de estadísticas agrícolas. Ministerio de Agricultura. Colombia. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/agronetweb1/>

Cnossen-Fassoni, A., Bazzoli, D. M. S., Brommonschenkel, S. H., de Araújo, E. F. & de Queiroz, M. V. (2013). **The pectate lyase encoded by the *pecCl1* gene is an important determinant for the aggressiveness of *Colletotrichum lindemuthianum*.** *Journal of Microbiology*, 51(4), 461-470.

Botero, M. J., Ríos, G., Romero, M., Pérez, J. C., Morales, J. E., Gallego, J. L. & Echeverri, D. I. 2002. **Identificación y especialización de enfermedades asociadas a los cultivos de mora (*Rubus glaucus* Benth) en el eje cafetero.** En: Memorias IV seminario frutales de clima frío moderado. Medellín. Colombia.

Bowen, J. K., Templeton, M. D., Sharrock, R. K., Crowhurst, N. R., & Rikkerink, E. H. 1995. **Gene inactivation in the plant pathogen *Glomerella cingulata*: Three strategies for the disruption of the pectin lyase gene *pnlA*.** *Mol. Gen. Genet.* 246:196-205.

Casado-Díaz, A., Encinas-Villarejo, S., Santos, B. D. L., Schilirò, E., Yubero-Serrano, E. M., Amil-Ruíz, F., & Caballero, J. L. (2006). **Analysis of strawberry genes differentially expressed in response to *Colletotrichum* infection.** *Physiologia Plantarum*, 128(4), 633-650.

Castillo, N.R. 2006. **Fingerprinting and genetic stability of *Rubus* using molecular markers.** M.Sc. Thesis. Oregon State University, USA

De Costa, D. M., & Chandima, A. A. G. (2014). **Effect of exogenous pH on development and growth of *Colletotrichum musae* and development of anthracnose in different banana cultivars in Sri Lanka.** *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 42(3).

De La Rotta, M.C. 2001. **Enfermedades de la Mora de Castilla.** Instituto Colombiano de Agricultura, ICA. Bogotá, DC. pp 3-36.

Departamento Administrativo Nacional de Estadística DANE. **El cultivo de la mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana.** 2013. Recuperado de https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuaria/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2013.pdf

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. **InfoStat versión 2014.** Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Fernando, T. H., Jayashinge, C. K., & Wijesundera, R. L. 2001. **Cell wall degrading enzyme secretion by *Colletotrichum acutatum*, the causative fungus of secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis*.** *Mycol. Res.* 105(2):195-201.

Freeman, S., Katan, T. & Shabi, E.1998. **Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits.** *Plant Dis.* 1998;82:596–605.

Gaviria-Hernández, V.; Patiño-Hoyos, L.; y SaldarriagaCardona, A. 2013. **In vitro evaluation of commercial fungicides for control of *Colletotrichum* spp., in blackberry.** *CORPOICA Cienc. Tecnol. Agropecu.*, 14 (1):67-75.

González-Candelas & Kolattukudy. 1992. **Isolation and Analysis of a Novel Inducible Pectate Lyase Gene from the Phytopathogenic Fungus *Fusarium solani* f. sp. pisi (*Nectria haematococca*, Mating Population VI).** *Journal of bacteriology.* Volumen 174, número 20, p. 6343-6349

Herbert, C., O'connell, R., Gaulin, E., Salesses, V., Esquerré-Tugayé, M. T. & Dumas, B. 2004. **Production of a cell wall-associated endopolygalacturonase by *Colletotrichum lindemuthianum* and pectin degradation during bean infection.** *Fungal Gen. Biol.* 41:140-147.

Latunde-Dada, A.O. 2001. ***Colletotrichum*: tales of forcible entry, stealth, transient confinement and breakout.** *Molecular Plant Pathology* 4:187–198

Lee, S.B. & Taylor, J.W. 1990. **Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores.** Chapter 34. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky and T. White , eds.). Academic Press, Orlando, Florida.

López, J.M. 2012. **Identificación de materiales promisorios de mora (*Rubus glaucus* Benth.) a la antracnosis causada por *Glomerella cingulata* (Stoneman).** Spauld & H. Schrenk. Universidad de caldas. Facultad de ciencias agropecuarias. Manizales.

Lu, H., Zou, W. X., Meng, J. C., Hu, J. & Tan, R. X. 2000. **New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*.** *Plant Science*, 151, 67-73.

Marulanda, M.L., Isaza, L. & Ramírez, A.M. 2007. **Identificación de la especie de *Colletotrichum* responsable de la antracnosis en la mora de castilla en la región cafetera.** *Scientia et Technica* Universidad Tecnológica de Pereira 37: 585-590.

Medeiros, L.V., Maciel, D.B., Medeiros, V.V., Houllou Kido L.M. & Oliveira, N.T. 2010. ***peIB* gene in isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from several hosts.** *Genetics and Molecular Research* 9 (2): 661-673

MADR – Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2018. **Anuario estadístico del sector agropecuario 2017.**

O'Connell, R.J., Pain, N.A., Hutchison, K.A., Jones, G.L., & Green, J.R. 1996. **Ultrastructure and composition of the cell surfaces of infection structures formed by the fungal plant pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*.** *Journal of Microscopy* 181:204–212.

Ortega, J. 1996. **Pectolytic enzymes produced by the phytopathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides*.** *Tex. J. Sci.* 48:123-128.

Prusky D., Gold S., & Keen, N.T. 1989. **Purification y characterization of an endopoligalacturonasa produced by *Colletotrichum gloeosporioides*.** *Physiol.Mol.Plant. Pathol.* 35, 121-133.

Prusky, D., McEvoy, J.L., Leverentz, B. & Conway, L.S. 2001. **Local Modulation of Host pH by *Colletotrichum* Species as a Mechanism to Increase Virulence.** *MPMI* Vol. 14, No. 9, 2001, pp. 1105–1113. Publication no. M-2001-0625-01R.

Rodríguez-López, E.S., González-Prieto, J. M & Mayek-Perez, Netzahualcoyotl. 2009. **La Infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. Y Sacc. En Aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos Bioquímicos y Genéticos.** *Rev. mex. fitopatol* [online]. 2009, vol.27, n.1

Rupp, S.; Weber, R.; Rieger, D.; Detzel, P.; y Hahn, M. 2017. **Spread of *Botrytis cinerea* strains with multiple fungicide resistance in German.** *Horticulture. Front. Microbiol.* 7(2075):1-12. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02075

Saldarriaga, A.; Navas, G.; Navas, A.; Franco, G.; Ríos, G.; Vásquez, L.; Londoño, M.; Macías, A.; Hincapié, M.; Gómez, E.; González, S.; Gaviria, V.; Arango, R.; Cañas, G.; Rueda, N.; Ochoa, M.; Salamandro, C.; Osorio, J.; Martínez, E.; Clímaco, J.; Forero, C.; Abaunzá, C.; González, A.; Segura, J.; Gómez, R.; y Palacios, X. 2012. **Proyecto Biología, caracterización y comportamiento del patógeno de antracnosis de la mora (*Rubus glaucus* Benth.), como base para establecer estrategias de manejo.** Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. Rionegro, Colombia.

Santana, G.E. & Mahuku, G. 2002. **Diversidad de razas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Antioquia y evaluación del germoplasma de fríjol crema-rojo por resistencia a la antracnosis.** *Agronomía mesoamericana.* 13(2):95-103.

Spann, T. y Schumann, A. 2010. **Mineral nutrition contributes to plant disease and pest resistance.** The Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. <https://edis.ifas.ufl.edu/hs1181>

Templeton, M. D., Keith, K. R., Bowen, J. K., Crowhurst, R. N., & Rikkerink, E. H. 1994. **The pectin lyase-encoding gene (pnl) family from *Glomerella cingulata*: Characterization of pnlA and its expression in yeast.** *Gene* 142:141-146.

Turner, W. B. & Aldridge, D. C. 1983. **Fungal metabolites 11.** *Academic: London.*, New York, 631 pp.

Wattad, C., Kobilier, D., Dinoor, A., & Prusky, D. 1997. **Pectate lyase of *Colletotrichum gloeosporioides* attacking avocado fruits: cDNA cloning and involvement in pathogenicity.** *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 50:197-212

Yacoby, N., Kobilier, I., Dinoor, A. & Prusky, D. 2000. **pH regulation of pectate lyase secretion modulates the attack of *Colletotrichum gloeosporioides* on avocado fruits.** *Appl. Environ. Microbiol* 66: 1026-1030.

Yakoby, N., Beno-Moualem, D., Keen, N. T., Dinoor, A., Pines, O. & Prusky, D. 2001. ***Colletotrichum gloeosporioides pelB* is an important virulence factor in avocado fruit-fungus interaction.** *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 14(8), 988-995.

Zou, W. X., Meng, J. C., Lu, H., Chen, G. X., Shi, G. X., Zhang, T. Y. & Tan, R. X. 2000. **Metabolites of *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus in *Artemisia mongolica*.** *Journal of Natural Products*, 63, 1529-1530.

CAPÍTULO 11

AÇÕES ANTIOXIDANTES DAS FOLHAS DE *Bryophyllum pinnatum* (LAM.) OKEN CONTRA RADICAIS LIVRES

Data de aceite: 01/04/2021

Data da submissão: 22/02/2021

Lucas Apolinário Chibli

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, Campus Universitário, Juiz de Fora, MG, 36036-330, Brazil
<http://lattes.cnpq.br/1030812555939432>

Maria da Glória Ferreira Leite

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, Campus Universitário, Juiz de Fora, MG, 36036-330, Brazil
<http://lattes.cnpq.br/8666736318170888>

Orlando Vieira de Sousa

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, Campus Universitário, Juiz de Fora, MG, 36036-330, Brazil
<http://lattes.cnpq.br/9797237863119033>

RESUMO: *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken (Crassulaceae), conhecida como “folha-da-fortuna”, é utilizada na medicina tradicional para o tratamento de inflamações, infecções, feridas, contusões, queimaduras, ulcerações, gastrite, entre outros. O objetivo deste estudo

foi quantificar constituintes fenólicos e avaliar a atividade antioxidante das folhas de *B. pinnatum*. Após secagem, o material pulverizado foi submetido à extração com etanol por maceração estática. O fracionamento foi realizado por partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente, obtendo-se as frações hexânica (FH), diclorometânica (FD), em acetato de etila (FA) e butanólica (FB). Os teores de fenois e flavonoides totais foram determinados por espectrometria. A atividade antioxidante foi avaliada pelos ensaios de DPPH, poder de redução do ferro, co-oxidação β -caroteno/ácido linoleico e bioautografia. Os teores de fenois totais variaram de 3,45 a 25,34 g/100 g, enquanto os flavonoides foram de 0,66 a 23,31 g/100 g. Usando o DPPH, os valores de CE_{50} variaram de 9,44 a 57,29 μ g/mL, enquanto o poder de redução do ferro produziu CE_{50} entre 216,81 e 1235,17. A inibição da peroxidação lipídica (%) foi entre 16,9 e 61,3%. A bioautografia evidenciou a presença de constituintes fenólicos com atividade antioxidante em FA e FB. Os resultados indicam que as folhas de *B. Pinnatum* são uma fonte de compostos fenólicos antioxidantes que podem ser usadas como estratégia para o desenvolvimento de fitoterápicos com ações contra radicais livres.

PALAVRAS - CHAVE: *Bryophyllum pinnatum*. Fenois. Flavonoides. Radicais livres. Atividade antioxidante.

ANTIOXIDANT ACTIONS OF *Bryophyllum pinnatum* (LAM.) OKEN LEAVES AGAINST FREE RADICALS

ABSTRACT: *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken (Crassulaceae), known as “leaf-of-fortune”, is used in traditional medicine to treat inflammations, infections, wounds, bruises, burns, ulcerations, gastritis, among others. The aim of this study was to quantify phenolic constituents and to evaluate the antioxidant activity of the *B. pinnatum* leaves. After drying, the pulverized material was subjected to extraction with ethanol by static maceration. The fractionation was performed by liquid-liquid partition with solvents of increasing polarity, obtaining the hexane (HF), dichloromethane (DF), in ethyl acetate (AF) and butanol (BF) fractions. The total phenolics and flavonoids contents were determined by spectrometry. The antioxidant activity was evaluated by the DPPH, iron reduction power, β -carotene/linoleic acid co-oxidation and bioautography assays. The total phenolics contents ranged from 3.45 to 25.34 g/100 g, while the flavonoids ranged from 0.66 to 23.31 g/100 g. Using DPPH, the EC_{50} values ranged from 9.44 to 57.29 μ g/mL, while the iron-reducing power produced EC_{50} between 216.81 and 1235.17. The inhibition of lipid peroxidation (%I) was between 16.9 and 61.3%. Bioautography showed the presence of phenolic constituents with antioxidant activity in AF and BF. The results indicate that *B. Pinnatum* leaves are a source of antioxidant phenolic compounds that can be used as a strategy for the development of herbal medicines with actions against free radicals.

KEYWORDS: *Bryophyllum pinnatum*. Phenolics. Flavonoids. Free radicals. Antioxidant activity.

1 | INTRODUÇÃO

Danos oxidativos induzidos em células e tecidos estão relacionados à etiologia de várias desordens orgânicas, como enfermidades cardíacas, aterosclerose, doenças pulmonares, artrite reumatoide, câncer, obesidade, diabetes, doenças neurodegenerativas, entre outras (GARCÍA-SÁNCHEZ; MIRANDA-DÍAZ; CARDONA-MUÑOZ, 2020; UNUOFIN; LEBELO, 2020). Entre os antioxidantes naturais, os compostos fenólicos, tais como ácidos fenólicos, diterpenos fenólicos, taninos, flavonoides e óleos voláteis, têm sido destacados (PARHAM et al., 2020) por serem capazes de capturar e eliminar radicais livres e metais quelantes e inibir a peroxidação lipídica (AYOUB; MEHTA, 2018; HUNYADI, 2019; HRELIA; ANGELONI, 2020). Considerando esses aspectos, as plantas medicinais, como *Bryophyllum pinnatum*, constituem uma importante estratégia para a busca de agentes antioxidantes para prevenir e/ou tratar desordens relacionadas ao estresse oxidativo.

Bryophyllum pinnatum (Lam.) Oken (Figura 1), família Crassulaceae, conhecida como “folha-da-fortuna”, é nativa de regiões temperadas, sendo encontrada na América do Sul (Brasil) e em regiões da África (EL ABDELLAOUI et al., 2010; MAJAZ et al., 2011). Tradicionalmente, é utilizada no tratamento de inflamações, infecções, contusões, ferimentos, queimaduras, processos alérgicos, gastrite, problemas de fígado, diabetes, verminoses, dentre outras (BISWAS et al., 2011; MAJAZ et al., 2011). Além disso, tem

aplicação em picadas de insetos, furúnculos e ulcerações (NAYAK; MARSHALL; ISITOR, 2010; OJEWOLE, 2005) e auxilia na eliminação de cálculos renais, abscessos, erisipela, frieira, dores de cabeça e nas juntas, reumatismo, hemorroidas, diarreia, disenteria e vômitos (CHIBLI et al., 2014; FERNANDES et al., 2019).



Figura 1. *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken cultivada no Horto da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Estudos farmacológicos relacionados ao *B. pinnatum* têm confirmado as atividades anti-inflamatória (AFZAL et al., 2012; CHIBLI et al., 2014; FERNANDES et al., 2019; GUPTA; LOHANI; ARORA, 2010; OJEWOLE, 2005); antioxidante (BISWAS et al., 2011); antimicrobiana (AKINPELU et al., 2000; AKINSULIRE et al., 2007; OKWU; NNAMDI, 2011a e 2011b); cicatrizante (NAYAK; MARSHALL; ISITOR, 2010); antinociceptiva (IGWE; AKUNYILI, 2005; NGUELEFACK et al., 2006; OJEWOLE, 2005); antidiabética (OJEWOLE, 2005); imunossupressora e antialérgica (CRUZ et al., 2008; CRUZ et al., 2012) e atividade leishmanicida (MUZITANO et al., 2006; MUZITANO et al., 2011). Além disso, atividades anticancerígena, neurológica (sedativa e relaxante muscular), hipoglicemiante e hipolipidêmica têm sido citadas na literatura (OGBONNIA; ODIMEGWU; ENWURU, 2008; SALAHDEEN; YEMITAN, 2006; YEMITAN; SALAHDEEN, 2005; FERNANDES et al., 2019).

B. pinnatum tem sido alvo de estudo da atividade antioxidante *in vitro* (GUPTA; BANERJEE, 2011; HARLALKA; PATIL; PATIL, 2007; JAIN et al., 2010). Gupta e Banerjee (2011) aperfeiçoaram o processo de extração de substâncias fenólicas e avaliaram a atividade antioxidante, demonstrando uma significativa correlação com os teores de fenóis totais. Harlalka, Patil e Patil (2007) relataram que a ação protetora do extrato aquoso contra nefrotoxicidade induzida por gentamicina estava relacionada à atividade antioxidante.

Diversas substâncias, tais como flavonoides (livres e glicosilados), saponinas e alcaloides, já foram identificadas em *B. pinnatum* e apresentaram potenciais farmacológicos (CRUZ et al., 2011; OKWU; JOSIAH, 2006). Muzitano et al. (2011) demonstraram que o conteúdo flavonoídico é potencializado quando a planta é mantida sobre maior exposição à luz solar. Entre os flavonoides identificados, são relatados quercetina, quercitrina, canferol, luteolina e rutina (CHOI, 2012; CORREIA et al., 2012; GOKBULUT et al., 2013; HAM et al., 2011; SUN et al., 2011). Tatsimo et al. (2012) obtiveram sete derivados canferóis ramnosídeos com atividade antioxidante.

O presente estudo teve como objetivo quantificar constituintes fenólicos e avaliar a atividade antioxidante de extratos das folhas de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken com intuito de evidenciar suas propriedades medicinais apoiadas no uso popular.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

Bryophyllum pinnatum (Lam.) Oken foi coletada no Horto Medicinal da Faculdade de Farmácia da Universidade de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais. Uma exsicata (CESJ nº 46.575) encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Após coleta, as folhas foram submetidas à secagem sob ventilação forçada até perda da umidade de 90 a 96%. A droga vegetal seca foi pulverizada em moinho com granulação definida (tamise nº 20) para realização do processo de extração.

2.2 Processo de Extração E Fracionamento

O material vegetal seco e pulverizado (droga vegetal) foi submetido à extração com etanol 99,5% por maceração estática com renovação do solvente e à temperatura ambiente. Após remoção do solvente por rota-*evaporação*, 40g do extrato etanólico (EE) foi ressuspenso em água:etanol (9:1) e submetido à partição líquido-líquido com solventes orgânicos de polaridade crescente, obtendo-se as frações hexânica (FH), diclorometânica (FD), em acetato de etila (FA) e butanólica (FB) (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

2.3 Determinação dos Teores de Fenóis Totais

Os teores de fenóis totais foram quantificados por espectrometria na região do visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu (SOUSA et al., 2007). O ácido gálico, padrão de referência, foi usado no preparo de soluções (200 a 840 µg/mL) que foram colocadas em tubo de ensaio seguida da adição de Na₂CO₃ 15% e água destilada. Após 2 h de reação em temperatura ambiente, as absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro (Shimadzu®, UV-1800) a 783 nm. A curva de calibração do ácido gálico foi determinada através de análise de regressão linear (método dos mínimos quadrados), obtendo-se a equação da

reta e o coeficiente de determinação (R^2). Para quantificação dos teores de fenóis totais nas amostras, foram preparadas soluções (2 mg/mL) em etanol. A partir dessas soluções, em triplicata, em tubos de ensaio contendo Na_2CO_3 15% e água destilada, cinco concentrações foram preparadas. A leitura espectrofotométrica foi realizada da mesma forma descrita para o padrão e os teores de fenóis totais foram calculados usando a equação da reta.

2.4 Determinação dos Teores de Flavonoides Totais

A quantificação dos teores de flavonoides totais foi realizada por espectrofotometria na região do visível usando o cloreto de alumínio (AlCl_3) (SOBRINHO et al., 2008). Solução estoque de rutina (0,5 mg/mL em etanol) foi usada como padrão para obter a curva de calibração, preparando diluições entre 2 a 60 $\mu\text{g/mL}$. A reação foi realizada em tubo de ensaio contendo solução estoque (20 a 600 μL), etanol, ácido acético, piridina a 20% em etanol, AlCl_3 8% em etanol e água destilada. Após 30 min em temperatura ambiente, as absorvâncias foram registradas em espectrofotômetro (Shimadzu®, UV-1800) a 407 nm. A relação entre os valores de absorvância e da concentrações foi usado na análise de regressão linear (método dos mínimos quadrados) para obtenção da equação da reta e do coeficiente de determinação (R^2). Usando os mesmos reagentes do padrão, os teores de flavonoides foram determinados no extrato etanólico e frações a partir da equação da reta.

2.5 Avaliação da Atividade Antioxidante

2.5.1 Método do sequestro do radical DPPH

A atividade antioxidante foi determinada através do método espectrofotométrico do radical livre DPPH· (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) conforme descrito por Mensor et al. (2001). Foram preparadas soluções estoque (1 mg/mL) em etanol das amostras (extrato e frações) e da rutina (controle positivo). A partir das soluções estoque, obteve-se diferentes concentrações e alíquotas que, em triplicata, foram transferidas para tubos de ensaio seguida da adição de DPPH 0,3 mM. Após 30 min de reação, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu®, UV-1800) a 515 nm. Os valores das absorvâncias foram usados para determinar a porcentagem de atividade antioxidante (%AA) por meio da seguinte fórmula:

$$\%AA = 100 - \left[\frac{(\text{Abs amostra} - \text{Abs branco da amostra})}{(\text{Abs controle} - \text{Abs branco do controle})} \times 100 \right]$$

Onde, *Abs amostra*: absorvância das amostra ou rutina para uma dada concentração; *Abs branco da amostra*: absorvância do branco das amostras ou rutina para uma dada concentração; *Abs controle*: absorvância do controle negativo; *Abs branco do controle*: absorvância do branco do controle negativo.

As porcentagens de atividade antioxidante (%AA) foram correlacionadas à concentração das amostras ou rutina. Através da análise de regressão linear (método dos mínimos quadrados), foram determinadas as equações da reta para calcular a concentração efetiva 50% (CE_{50}).

2.5.2 Método do poder de redução do ferro

O poder antioxidante de redução do ferro (FRAP) foi determinado pelo método descrito por Oyaizu (1986). Foram preparadas soluções estoque (1 mg/mL) das amostras e da rutina (controle positivo) em metanol. Em seguida, foram feitas diluições, em triplicata, com tampão fosfato de potássio 200 μ M (pH 6,6) e solução de ferrocianeto de potássio 1%. A mistura foi incubada em estufa a 50 °C por 20 min seguida da adição de ácido tricloroacético 10% (Synth[®]) e submetida a centrifugação a 3000 rpm por 8 minutos. Após centrifugação, uma alíquota (2,5 mL) da camada superior da mistura foi transferida para tubo de ensaio com adição de água destilada e cloreto férrico 0,1% (Synth[®]). As absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro (Shimadzu[®], UV-1800) a 700 nm. Através da análise de regressão linear (método dos mínimos quadrados) foram obtidas as equações da reta para calcular a concentração efetiva 50% (CE_{50}) das amostras e rutina.

2.5.3 Método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico

A atividade antioxidante foi determinada pelo método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico descrito por Koleva et al. (2002). Preparou-se uma solução de β -caroteno 0,2 mg/mL em clorofórmio. Em um balão de rotaevaporação, foi adicionado 1 mL dessa solução, contendo ácido linoleico (25 μ L) e Tween 40 (200 mg). O balão foi rotaevaporado durante 15 minutos para remover o clorofórmio. Em seguida, 50 mL de água destilada, oxigenada por borbulhamento, foram adicionados ao balão lentamente sob agitação constante, formando uma emulsão. Paralelamente, foram preparadas soluções das amostras (250 μ g/mL) e dos controles positivos (BHT e rutina 25 μ g/mL). Alíquotas de 30 μ L das soluções foram colocados em microplaca, em triplicata, seguido de 250 μ L da emulsão.

A primeira leitura (t_0) foi feita imediatamente após a adição da emulsão e, em seguida, a microplaca foi incubada por 15 minutos em estufa a 50° C. Após incubação, foi realizada a segunda leitura (t_{15}) e esse procedimento repetiu-se por mais seis vezes, totalizando-se oito medidas (t_0 , t_{15} , t_{30} , t_{45} , t_{60} , t_{75} , t_{90} e t_{105}), que resultou na redução gradual da absorvância. As absorvâncias foram determinadas em leitor de microplacas (Thermoplate[®], TP-Reader) a 492 nm. A partir das absorvâncias, montou-se o gráfico de decaimento em função do tempo e calculou-se a porcentagem de inibição da peroxidação lipídica (%I), utilizando a seguinte fórmula:

$$\%I = \left(\frac{A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \right) \times 100$$

Onde, $A_{\text{controle}} = Abs_{10} - Abs_{1105}$ e $A_{\text{amostra}} = Abs_{10} - Abs_{1105}$ sendo que A_{controle} : controle negativo e A_{amostra} : extrato, frações e controles positivos (BHT e rotina).

2.5.4 Método da bioautografia

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método da bioautografia utilizando o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) (CAVIN et al., 1998). Foram preparadas soluções das amostras em metanol a 10 mg/mL. Essas soluções foram aplicadas (20 μ L), separadamente, em placas de silicagel 60 com indicador de fluorescência (UV 254 nm) para CCD (Macherey-Nagel®) e eluídas com as fases móveis (FM) pré-determinadas para cada amostra: FH: FM (hexano:acetato de etila, 7:3); FD: FM (diclorometano:metanol, 9,3:0,7); FA e FB: FM (butanol:água:ácido acético (6:3:1). Após a eluição e secagem, as placas foram reveladas com solução de DPPH 2,5 mM. Deixou-se ao abrigo da luz por 30 min para detectar o aparecimento de manchas amarelas ou brancas indicativas da atividade antioxidante. Os Rfs das manchas foram calculados.

Placas reveladas com DPPH foram também usadas para identificar substâncias fenólicas com cloreto férrico 5%. Os Rfs das manchas foram calculados e comparados com os Rfs das manchas reveladas com DPPH.

2.6 Análises Estatísticas

Os resultados foram demonstrados através da média \pm desvio padrão ou erro padrão médio (E.P.M.). Análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey como *post-hoc* foi utilizada para medir o grau de significância para $p < 0,05$. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa SigmaPlot® 11.0.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Extração e Fracionamento

A partir de 800 g da droga vegetal seca de *B. pinnatum*, foram obtidos 138,46 g do extrato etanólico (EE), o que equivale a um rendimento de extração de 17,3%. 40,0 g de EE, após ressuspensão, produziram 9,11, 3,35, 4,37 e 10,0 g das frações FH, FD, FA e FB, respectivamente.

3.2 Teores de Fenois e Flavonoides Totais

Os teores de fenois totais variaram de 3,45 a 25,34 g/100 g no extrato etanólico e frações das folhas de *B. pinnatum* (Tabela 1). FA e FD apresentaram maiores teores de fenois totais quando comparadas com os demais produtos testados. Na Tabela 1, também mostra que os teores de flavonoides totais variaram de 0,66 a 23,31 g/100 g no extrato e

nas frações avaliadas. FA ($23,31 \pm 0,04$ g/100g) contém maior teor de flavonoides totais equivalentes à rutina em comparação com os demais produtos analisados.

Amostras	Teores (g/100 g)	
	Fenois totais	Flavonoides totais
Extrato etanólico	$9,59 \pm 0,03$	$4,21 \pm 0,02$
Fração hexânica	$3,45 \pm 0,04$	$0,66 \pm 0,02$
Fração diclorometânica	$10,53 \pm 0,03$	$5,96 \pm 0,02$
Fração em acetato de etila	$25,34 \pm 0,03$	$23,31 \pm 0,04$
Fração em butanólica	$5,05 \pm 0,03$	$2,89 \pm 0,03$

Tabela 1 - Teores de fenois e flavonoides totais, em equivalência de ácido gálico e rutina, respectivamente, nas folhas de *B. pinnatum*.

Os valores correspondem à média \pm desvio padrão. As médias diferem entre si após análise de variância seguida do teste de Tukey para $p < 0,001$.

3.3 Atividade Antioxidante

3.3.1 Atividade antioxidante usando o radical DPPH e poder de redução

O potencial antioxidante frente ao radical DPPH estão apresentados na Tabela 2 na forma de CE_{50} . Os valores de CE_{50} das amostras variaram entre $9,44 \pm 0,01$ a $57,29 \pm 0,11$ $\mu\text{g/mL}$ e foram significativamente diferentes entre si ($p < 0,001$). FA apresentou menor CE_{50} ($9,44 \pm 0,002$ $\mu\text{g/mL}$), demonstrando possuir maior atividade antioxidante, pois foi capaz de inibir o DPPH com uma menor concentração. Rutina (controle positivo) produziu CE_{50} igual a $8,66 \pm 0,01$ $\mu\text{g/mL}$.

Usando o método do poder de redução do ferro, os valores de CE_{50} variaram entre $216,81 \pm 0,10$ e $1235,17 \pm 1,39$ (Tabela 2). Neste ensaio, FA apresentou menor CE_{50} ($234,22 \pm 0,61$ $\mu\text{g/mL}$), sendo a fração mais ativa ($p < 0,001$). Ao contrário, FB foi menos eficiente em inibir a redução do ferro, sendo cerca de seis vezes menor que a rutina ($216,81 \pm 0,10$ $\mu\text{g/mL}$).

Amostras	CE ₅₀ (µg/mL)	
	DPPH	Poder de redução do Fe ⁺³
Extrato etanólico	16,43 ± ,09	532,71 ± 1,27
Fração hexânica	57,29 ± 0,11	576,79 ± 1,18
Fração diclorometânica	44,75 ± 0,06	589,96 ± 0,87
Fração em acetato de etila	9,44 ± 0,01	234,22 ± 0,61
Fração butanólica	31,70 ± 0,06	1235,17 ± 1,39
Rutina	8,66 ± 0,01	216,81 ± 0,10

Tabela 2 - Atividade antioxidante do extrato etanólico e frações das folhas de *B. pinnatum* pelos métodos do DPPH e poder de redução do ferro.

Os valores correspondem à média ± E.P.M. As médias diferem entre si após análise de variância seguida do teste de Tukey para $p < 0,001$.

3.3.2 Atividade antioxidante pelo método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico

Na Figura 2, são mostradas as absorvâncias em relação aos tempos (min) t_0 , t_{15} , t_{30} , t_{45} , t_{60} , t_{75} , t_{90} e t_{105} das amostras dos controles (BHT e rutina). É observado o decaimento das absorvâncias em função do tempo em decorrência da oxidação do β -caroteno. Quanto menor o decaimento, maior a inibição da peroxidação lipídica e conseqüentemente da oxidação do β -caroteno. EE, FH e FA apresentaram menor variação no decaimento, demonstrando maior inibição da peroxidação lipídica.

Considerando a inibição da peroxidação lipídica (%), EE, frações e controles positivos produziram valores entre 16,9 e 61,3% (Tabela 3). Nesta Tabela, fica evidenciado que FA (%I = 58,30%) foi a mais ativa seguida de FH e FD, ambas com 49,10% de inibição.

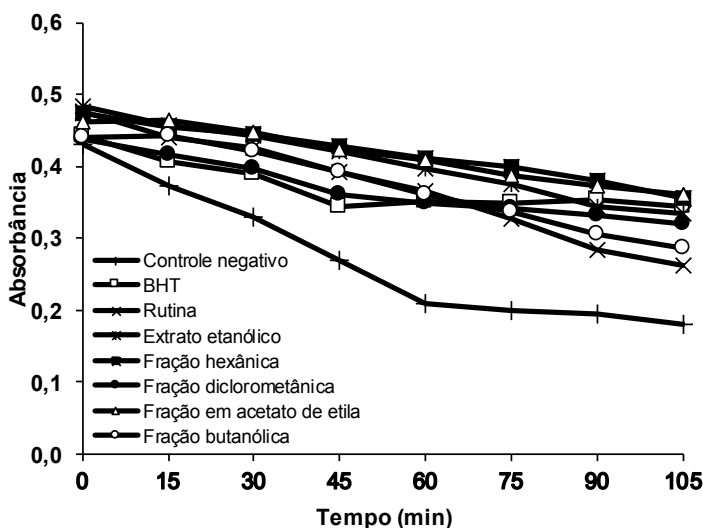


Figura 2. Decaimento da absorvância em função do tempo para o extrato etanólico e frações de *B. pinnatum* pelo método da co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico.

Os valores correspondem à média \pm E.P.M. As médias diferem em relação ao controle negativo após análise de variância seguida do teste de Tukey para $p < 0,05$.

Amostras /Controles	% Inibição da peroxidação lipídica
Extrato etanólico	43,50 \pm 1,64 ^{a,b}
Fração hexânica	49,10 \pm 2,81 ^a
Fração diclorometânica	49,10 \pm 1,31 ^a
Fração em acetato de etila	58,30 \pm 1,54 ^c
Fração butanólico	39,40 \pm 0,62 ^b
BHT	61,30 \pm 0,99 ^c
Rutina	16,90 \pm 1,32

Tabela 2 - Atividade antioxidante do extrato etanólico e frações das folhas de *B. pinnatum* pelo método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoleico.

Os valores correspondem à média \pm E.P.M. Letras iguais na mesma coluna, as médias não diferem entre si após análise de variância seguida do teste de Tukey para $p < 0,05$.

3.3.3 Atividade antioxidante pelo método de bioautografia

As manchas escuras nas placas reveladas com FeCl_3 são indicativas da presença de substâncias fenólicas e a revelação com DPPH com manchas branco-amarelas são indicativas de substâncias com potencial antioxidante (Figura 3). Observa-se que FA e

FB evidenciaram quantidades mais expressivas de constituintes fenólicos e atividade antioxidante. Na FH e EE, não foram reveladas substâncias fenólicas com Rf próximo aquela encontrada com DPPH, cujo Rf foi 0,898 (Rf EE 0,932). Em FD e EE, as manchas referentes a substâncias fenólicas e as reveladas com DPPH, em sua maioria, permaneceram no ponto de aplicação da amostra. FA, FB e EE apresentaram manchas referentes a substâncias fenólicas com Rf 0,625 e 0,607 (Rf do EE 0,661), respectivamente. Manchas com valores semelhantes, quando reveladas com DPPH, produziram Rfs iguais a 0,593, 0,611 e 0,611 para as FA e FB e EE, respectivamente.

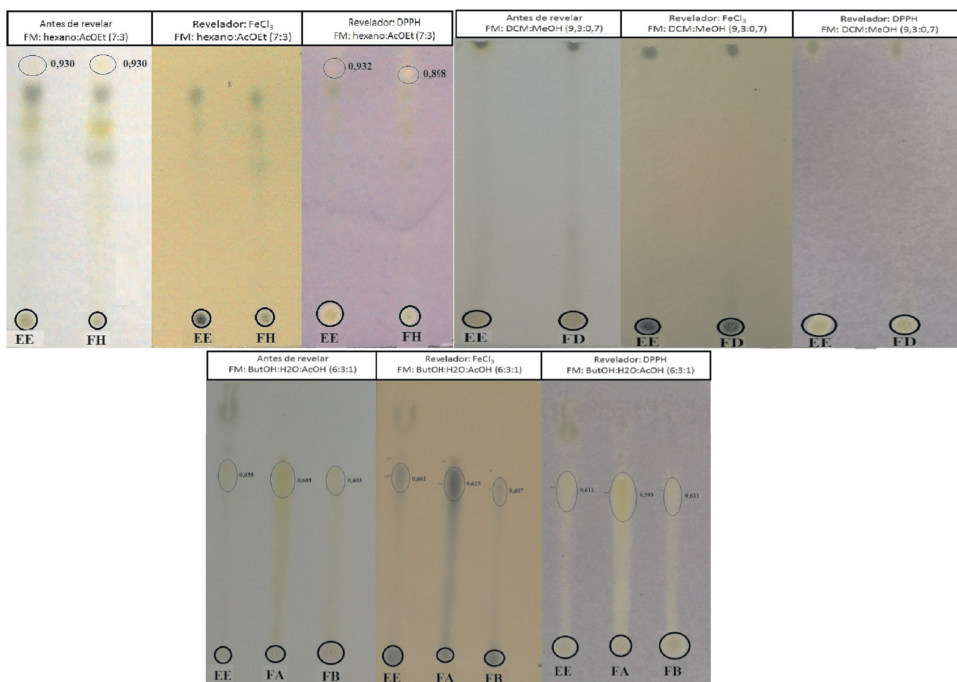


Figura 3 - Bioautografia em CCD do extrato etanólico e frações reveladas com cloreto férrico e DPPH.

A quantificação de fenois totais evidenciou que o extrato etanólico e as frações das folhas de *B. pinnatum* são ricos em substâncias fenólicas, onde os conteúdos variaram de 3,45 a 25,34 g/100 g, sendo que a fração em acetato de etila apresentou maior teor. Os teores de flavonoides totais variaram de 0,66 a 23,31 g/100 g no extrato e nas frações analisadas, destacando novamente a fração em acetato de etila. O teor de flavonoides em extratos de *B. pinnatum* é influenciado pelas condições de cultivo, estação do ano e método de extração, sendo o conteúdo potencializado quando a espécie é exposta à luz solar e coletada nos meses em que há maior incidência de radiação solar, principalmente no verão

(MUZITANO et al., 2011). Para a realização deste trabalho, as folhas de *B. pinnatum* foram coletadas no mês de Janeiro (2012), atendendo às condições descritas anteriormente, ao ponto que na fração em acetato de etila o teor flavonoídico correspondeu a 92% do teor total de fenóis. Os dados dessa quantificação corroboram com aqueles apresentados nos ensaios de atividades antioxidante, sugerindo a relação entre constituintes fenólicos e atividades biológicas (GUPTA; BANERJEE, 2011; HARLALKA; PATIL; PATIL, 2007; JAIN et al., 2010).

Considerando a atividade antioxidante, o extrato etanólico e as frações das folhas de *B. pinnatum* apresentaram potencial antioxidante, em ensaios que diferem em relação ao mecanismo antioxidante. Nos ensaios com DPPH e FRAP, FA produziu CE_{50} (9,44 e 234,22 $\mu\text{g/mL}$) muito próxima à da rutina (8,66 e 216,81 $\mu\text{g/mL}$), demonstrando sua capacidade de sequestro de radicais livres e de redução de íons Fe^{3+} , respectivamente. Os teste de avaliação da inibição da peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO), como o sistema de co-oxidação β -caroteno/ácido linoléico, apesar de serem *in vitro*, reproduzem melhor situações fisiológicas de estresse oxidativo, como a oxidação dos lipídeos insaturados das membranas celulares, que causa a destruição de sua estrutura, alteração de seu funcionamento e em casos extremos, a morte celular (ALVES et al., 2010; LIMA; ABDALLA, 2001). Neste ensaio, analisando o gráfico de decaimento da absorvância da emulsão do sistema β -caroteno/ácido linoléico em função do tempo (Figura 2), ao comparar a curva do controle negativo com as demais, percebe-se que EE e, principalmente, FH e FA retardaram e reduziram a LPO e, conseqüentemente, a oxidação do β -caroteno. FA foi a mais promissora com 58% de inibição da peroxidação lipídica (rutina 61%). LPO é um processo de três etapas: iniciação, propagação e terminação, de modo que os antioxidantes podem agir inibindo a iniciação do processo ao neutralizar ERO^{\cdot} s do meio e/ou inibir a propagação da LPO, ao neutralizar os radicais peroxila formados pela oxidação dos lipídeos (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; LIMA; ABDALLA, 2001). Ainda com relação a este ensaio, em virtude do meio reacional se tratar de uma emulsão, substâncias lipofílicas encontram maior facilidade de exercer sua ação antioxidante, pois são capazes de permanecer na interface óleo:água da emulsão, onde ocorre a LPO. Enquanto as substâncias mais hidrofílicas solubilizam-se na fase aquosa, diluindo-as e assim podendo diminuir sua atividade (KOLEVA et al., 2002). Isso explica a inibição apresentada pela FH, pois inibe a etapa de propagação da LPO (KHANUM; THEVANAYAGAM, 2017).

Os dados de atividade antioxidante estão associados aos teores de fenóis e flavonoides totais encontrados especialmente em FA, que foi a mais ativa em todos os testes de atividade antioxidante realizados, demonstrando uma correlação entre os conteúdos de substâncias fenólicas e atividade antioxidante. Os resultados da bioautografia reafirmam essa correlação uma vez que, de acordo com os valores de R_f apresentados pelo extrato etanólico e pelas frações, apontaram para substâncias fenólicas e flavonoides. Entretanto, sabe-se que os resultados obtidos através de ensaios *in vitro* não podem ser extrapolados

diretamente para situações *in vivo*, uma vez que a ação dos antioxidantes envolve diferentes mecanismos (MAGALHÃES et al., 2008).

4 | CONCLUSÕES

As folhas de *B. pinnatum* contêm expressivos teores de fenóis e flavonoides totais relacionados à atividade antioxidante de sequestro de radicais livres (ensaio com radical DPPH e bioautografia), poder de redução de íons metálicos e inibição da peroxidação lipídica. Portanto, os resultados indicam que as folhas de *B. pinnatum* são fontes promissoras de substâncias fenólicas com ações antioxidantes, justificando o uso tradicional e evidenciando a espécie como alvo para o desenvolvimento de formulações fitoterápicas contra radicais livres.

REFERÊNCIAS

AFZAL, M.; GUPTA, G.; KAZMI, I.; RAHMAN, M.; AFZAL, O.; ALAM, J.; HAKEEM, K. R.; PRAVEZ, M.; GUPTA, R.; ANWAR, F. Anti-inflammatory and analgesic potential of a novel steroidal derivative from *Bryophyllum pinnatum*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 5, p. 853-858, 2012.

AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Bryophyllum pinnatum* leaves. **Fitoterapia**, v. 71, n. 2, p. 193-194, 2000.

AKINSULIRE, O. R.; AIBINU, I. E.; ADENIPEKUN, T.; ADELOWOTAN, T.; ODUGBEMI, T. *In vitro* antimicrobial activity of crude extracts from plants *Bryophyllum pinnatum* and *Kalanchoe crenata*. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 4, n. 3, p. 338-344, 2007.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

AYOUB, Z.; MEHTA, A. Medicinal plants as potential source of antioxidant agents: A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 6, p. 50-56, 2018.

BISWAS, S. K.; CHOWDHURY, A.; DAS, J.; HOSEN, S. M. Z.; UDDIN, R.; RAHAMAN, M. S. Literature review on pharmacological potentials of *Kalanchoe pinnata* (Crassulaceae). **African Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 5, n. 10, p. 1258-1262, 2011.

CAVIN, A.; POTTERAT, O.; WOLFENDER, J. L.; HOSTETTMAN, K.; DYATMYKO, W. Use of on-flow LC/H-1 NMR for the study of an antioxidant fraction from *Orophea enneandra* and isolation of a polyacetylene, lignans, and a tocopherol derivative. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 12, p. 1497-1501, 1998.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CHIBLI, L. A.; RODRIGUES, K. C. M.; GASPARETTO, C. M.; PINTO, N. C. C.; FABRI, R. L.; SCIO, E.; ALVES, M. S.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; SOUSA, O. V. Anti-inflammatory effects of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken ethanol extract in acute and chronic cutaneous inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 154, n. 2, p. 330-338, 2014.

CHOI, E. M. Protective effect of quercitrin against hydrogen peroxide-induced dysfunction in osteoblastic MC3T3-E1 cells. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 3, p. 211-216, 2012.

CORREIA, R. T. P.; BORGES, K. C.; MEDEIROS, M. F.; GENOVESE, M. I. Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. **Food Science and Technology International**, v. 18, n. 6, p. 538-574, 2012.

CRUZ, B. P.; CHEDIER, L. M.; FABRI, R. L.; PIMENTA, D. S. Chemical and agronomic development of *Kalanchoe brasiliensis* Camb. and *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers under light and temperature levels. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, n. 4, p. 1434-1441, 2011.

CRUZ, E. A.; DA-SILVA, S. A. G.; MUZITANO, M. F.; SILVA, P. M. R.; COSTA, S.S.; ROSSI-BERGMANN, B. Immunomodulatory pretreatment with *Kalanchoe pinnata* extract and its quercitrin flavonoid effectively protects mice against fatal anaphylactic shock. **International Immunopharmacology**, v. 8, n. 12, p. 1616-1621, 2008.

CRUZ, E. A.; REUTER, S.; MARTIN, H.; DEHZAD, N.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S.; ROSSI-BERGMANN, B.; BUHL, R.; STASSEN, M.; TAUBE, C. *Kalanchoe pinnata* inhibits mast cell activation and prevents allergic airway disease. **Phytomedicine**, v. 19, n. 2, p. 115-121, 2012.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando o sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

EL ABDELLAOUI, S.; DESTANDAU, E.; TORIBIO, A.; ELFAKIR, C.; LAFOSSE, M.; RENIMEL, I.; ANDRÉ, P.; CANCELLIERI, P.; LANDEMARRE, L. Bioactive molecules in *Kalanchoe pinnata* leaves: extraction, purification, and identification. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n. 3, p. 1329-1338, 2010.

FERNANDES, J. M.; CUNHA, L. M.; AZEVEDO, E. P.; LOURENÇO, E. M. G.; FERNANDES-PEDROSA, M. F.; ZUCOLOTO, S. M. *Kalanchoe laciniata* and *Bryophyllum pinnatum*: an updated review about ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and toxicology. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 29, n. 4, p. 529-558, 2019.

GARCÍA-SÁNCHEZ, A.; MIRANDA-DÍAZ, A. G.; CARDONA-MUÑOZ, E. G. The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro- and antioxidant properties in chronic diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, Article ID 2082145, p. 1-16, 2020.

GOKBULUT, A.; OZHAN, O.; SATILMIS, B.; BATCIOGLU, K.; GUNAL, S.; SARER, E. Antioxidant and antimicrobial activities and phenolic compounds of selected *Inula* species from Turkey. **Natural Product Communications**, v. 8, n. 4, p. 475-478, 2013.

GUPTA, R.; LOHANI, M.; ARORA, S. Anti-inflammatory activity of the leaf extracts/fractions of *Bryophyllum pinnatum* Saliv.Syn. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 3, n.1, p. 16-18, 2010.

GUPTA, S.; BANERJEE, R. Radical scavenging potential of phenolics from *Bryophyllum pinnatum* (LAM.) OKEN. **Preparative Biochemitry & Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 305-319, 2011.

HAM, Y. M.; YOON, W. J.; PARK, S. Y.; SONG, G. P.; JUNG, Y. H.; JEON, Y. J.; KANG, S. M.; KIM, K. N. Quercitrin protects against oxidative stress-induced injury in lung fibroblast cells via up-regulation of Bcl-xL. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 1, p. 253-262, 2012.

HARLALKA, G. V.; PATIL, C. R.; PATIL, M. R. Protective effect of *Kalanchoe pinnata* pers. (*Crassulaceae*) on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 39, n.4, p. 201-205, 2007.

HRELIA, S.; ANGELONI, C. New mechanisms of action of natural antioxidants in health and disease. **Antioxidants**, v. 9, n. 4, 1-5, 2020.

HUNYADI, A. The mechanism(s) of action of antioxidants: From scavenging reactive oxygen/nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites. **Medicinal Research Reviews**, v. 39, n. 6, p. 2505-2533, 2019.

IGWE, S. A.; AKUNYILI, D. N. Analgesic effects of aqueous extracts of the leaves of *Bryophyllum pinnatum*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 8, p. 658-661, 2005.

JAIN, V. C.; PATEL, N. M.; SHAH, D. P.; PATEL, P. K.; JOSHI, B. H. Antioxidant and antimicrobial activities of *Bryophyllum calycinum* Salisb leaf. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 393-405, 2010.

KHANUM, R.; THEVANAYAGAM, H. Lipid peroxidation: Its effects on the formulation and use of pharmaceutical emulsions. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 5, p. 401-411, 2017.

KOLEVA, I. I.; VAN BEEK, T. A.; LINSSEN, J. P. H.; DE GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical analysis**, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

MAGALHÃES, L. M.; SEGUNDO, M. A.; REIS, S.; LIMA, J. F. L. C. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n. 1, p. 1-19, 2008.

MAJAZ, A. Q.; TATIYA, A. U.; KHURSHID, M.; NAZIM, S.; SIRAJ, S. The miracle plant (*Kalanchoe pinnata*): a phytochemical and pharmacological review. **International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy**, v. 2, n. 5, p. 1478-1482, 2011.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v.15, n. 2, p.127-130, 2001.

MUZITANO, M. F.; TINOCO, L. W.; GUETTE, C.; KAISER, C. R.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. The antileishmanial activity assessment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 18, p. 2071-2077, 2006.

- MUZITANO, M. F.; BERGONZI, M. C.; MELO, G. O. D.; LAGE, C. L. S.; BILIA, A. R.; VINCIERI, F. F.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. Influence of cultivation conditions, season of collection and extraction method on the content of antileishmanial flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 1, p. 132-137, 2011.
- NAYAK, B. S.; MARSHALL, J. R.; ISITOR, G. Wound healing potential of ethanolic extract of *Kalanchoe pinnata* Lam. Leaf – a preliminary study. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 48, n. 6, p. 572-576, 2010.
- NGUELEFACK, T. B.; NANA, P.; ATSAMO, A. D.; DIMO, T.; WATCHO, P.; DONGMO, A. B.; TAPONDJOU, L. A.; NJAMAN, D.; WANSI, S. L.; KAMANYI, A. Analgesic and anticonvulsant effects of extracts from the leaves of *Kalanchoe crenata* (Andrews) Haworth (Crassulaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, n. 1, p. 70-75, 2006.
- OGBONNIA, S. O.; ADIMEGWU, J. I.; ENWURU, V. N. Evaluation of hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of aqueous ethanolic extracts of *Treulia Africana* Decne and *Bryophyllum pinnatum* Lam. And their mixture on streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 15, p. 2535-2539, 2008.
- OJEWOLE, J. A. O. Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 1, p. 13-19, 2005.
- OKWU, D. E.; JOSIAH, C. Evaluation of the chemical composition of two Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 4, p. 357-361, 2006.
- OKWU, D. E.; NNAMDI, F. U. A novel antimicrobial phenanthrene alkaloid from *Bryophyllum pinnatum*. **E-Journal of Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 1456-1461, 2011a.
- OKWU, D. E.; NNAMDI, F. U. Two novel flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and their antimicrobial activity. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 1-10, 2011b.
- OYAZU, M. Studies on product of browning reaction – Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine,” **Japanese Journal of Nutrition**, v. 44, n. 6, p. 307-315, 1986.
- PARHAM, S.; KHARAZI, A. Z.; BAKHSHESHI-RAD, H. R.; NUR, H.; ISMAIL, A. F.; SHARIF, S.; RAMAKRISHNA, S.; BERTO, F. Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials. **Antioxidants**, v. 2, n. 12, p. 1-36, 2020.
- SALAHDEEN, H. M.; YEMITAN, O. K.; Neuropharmacological effects of aqueous leaf extract of *Bryophyllum pinnatum* in mice. **African Journal of Biomedical Research**, v. 9, n. 2, p. 101-107, 2006.
- SOBRINHO, T. J. S. P.; SILVA, C. H. T. P.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 683-689, 2008.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JUNIOR, G. M.; AYRES, C. L. S. C.; ARAUJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO, P. B. M.; BRANDAO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SUN, L.; ZHANG, J.; LU, X.; ZHANG, L.; ZHANG, Y. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extracts from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 10, p. 2689-2696, 2011.

TATSIMO, S. J. N.; TAMOKOU, J. D. D.; HAVYARIMANA, L.; CSUPOR, D.; FORGO, P.; JUDIT, H.; KUIATE, J. R.; PIERRE, T. Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum*. **BioMed Central Research Notes**, v. 5, n. 158, p.1-13, 2012.

UNUOFIN, J. O.; LEBELO, S. L. Antioxidant effects and mechanisms of medicinal plants and their bioactive compounds for the prevention and treatment of type 2 diabetes: An updated review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, Article ID 1356893, p. 1-36, 2020.

YEMITAN, O. K.; SALAHDEEN, H. M. Neurosedative and muscle relaxant activities of aqueous extract of *Bryophyllum pinnatum*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 2, p. 187-193, 2005.

EXTRATO DE *Schinus terebinthifolius* RADDI COM POTENCIAL ANTICÂNCER: UM ESTUDO PROSPECTIVO

Data de aceite: 01/04/2021

Data de submissão: 05/02/2021

Julia Samara Pereira de Souza

Bacharel em Ciências Biológicas
Universidade Potiguar, UnP
Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/8751635907204126>

Robson Edney Mariano Nascimento e Silva

Aluno do Mestrado no Programa de Pós
Graduação em Biotecnologia (PPGB)
Universidade Potiguar, UnP
Rio Grande do Norte.
<http://lattes.cnpq.br/4706478534492687>

Heryka Myrna Maia Ramalho

Doutora em Ciências Farmacêuticas
Universidade Potiguar, UnP
Rio Grande do Norte
<https://orcid.org/0000-0001-5874-3411>

RESUMO: *Schinus terebinthifolius* Raddi, também conhecida como aroeira, é uma espécie brasileira que se destaca na medicina popular. Várias partes da planta, folhas, frutos e cascas, são utilizadas para tratamento de diferentes enfermidades, como por exemplo: gastrite, úlcera, feridas, inflamação e dores, entre outros usos. Algumas plantas, por demonstrarem efeitos quimiopreventivos promissores, são utilizadas na produção de fitoterápicos e alguns desses estão sendo ao longo dos anos desenvolvidos para a prevenção do câncer. Diante do exposto, o estudo teve como objetivo obter informações

acerca de tecnologia voltada para o potencial anticancerígeno da espécie vegetal. Foi realizada uma busca nas bases de dados Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil, Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO), Espacenet e o Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos (USPTO), utilizando os descritores *Schinus terebinthifolius* cruzado com câncer e com antitumoral. Além disso, uma procura nas bases Google Acadêmico, Science Direct e PubMed também foi feita com os mesmos descritores. A pesquisa realizada demonstrou que existe apenas um registro de patente a nível nacional que trata do extrato da planta para tratamento de HPV. As demais patentes com a planta não correspondem à atividade biológica pesquisada. Já em relação aos dados visualizados nos artigos encontrados, os estudos envolvendo a planta relataram a eficácia do uso de suas diferentes partes no tratamento de células de câncer. Diante disso, há muito que se estudar sobre esta espécie, dado seu potencial farmacêutico pouco explorado.

PALAVRAS - CHAVE: Aroeira. Anticâncer. Patente.

SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI EXTRACT WITH ANTICANCER POTENTIAL: A PROSPECTIVE STUDY

ABSTRACT: *Schinus terebinthifolius* Raddi, also known as aroeira, is a Brazilian plant species that stands out in popular medicine. Various parts of the plant, leaves, fruits and bark, are used to treat different diseases, such as: gastritis, ulcers, wounds, inflammation and pain, among other uses. Some plants, as they demonstrate

promising chemo preventive effects, are used in the production of herbal medicines and some of these have been developed over the years to prevent cancer. Given the above, the study goal to obtain information about technology aimed at the anticancer potential of this plant species. A search was carried out in the databases National Institute of Industrial Property (INPI) of Brazil, World Intellectual Property Organization (WIPO), Espacenet and the United States Patent and Trademark Office (USPTO), using the descriptors *Schinus terebinthifolius* crossed with cancer and antitumor. In addition, a search on the bases of Google Scholar, Science Direct and PubMed was also done with the same descriptors. The research showed that there is only one patent registration at the national level that deals with the plant extract for the treatment of HPV. The other patents with the plant species didn't correspond to the biological activity investigated. Regarding the data seen in the articles found, studies involving the plant reported the effectiveness of using its different parts in the treatment of cancer cells. Therefore, there is a lot to study about this species, given its little-explored pharmaceutical potential.

KEYWORDS: Brazilian Pepper tree. Anticancer. Patent.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença maligna que envolve o crescimento celular anormal devido à transformação de células normais em células tumorais em uma via de múltiplos estágios que progride de lesão pré-cancerosa até o estado maligno. As mutações genéticas que ocorrem nas células após o nascimento estão fortemente relacionadas com o crescimento descontrolado de células cancerosas (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009; RAI *et al.*, 2021).

Sendo ainda, considerado como uma das principais doenças não transmissíveis que mais matam no Brasil e no mundo, o câncer se apresenta com uma alta incidência, alta taxa de mortalidade e a dificuldade de um tratamento eficaz. Fatos estes direcionados ao seu comportamento agressivo, ao organismo e ao órgão alvo, a sua fisiopatologia, aos diferentes tipos de câncer e, portanto, aos distintos e invasivos tratamentos direcionado a estas características (GONZÁLES *et al.*, 2021)

No Brasil, a incidência se encontra ainda bastante elevada, como pode ser verificado na tabela 1, que representa a incidência de câncer de acordo com cada Estado da Federação. Enquanto que a nível mundial, pode-se colocar como amostragem, a incidência de 2020, dos E.U.A, onde se apresenta com 1.806.590 de novos casos de câncer, com uma prevalência significativa para o câncer de próstata, com 191.930, seguido pelo câncer de pulmão com 116.300 e em terceiro lugar o câncer colorretal com 78.300 casos (BRASIL, 2020).

UF da residência	Casos
Total	1.921.267
11 Rondônia	14.000
12 Acre	3.081
13 Amazonas	16.449
14 Roraima	1.619
15 Pará	27.074
16 Amapá	1.956
17 Tocantins	9.215
21 Maranhão	37.845
22 Piauí	22.493
23 Ceará	103.733
24 Rio Grande do Norte	42.338
25 Paraíba	37.204
26 Pernambuco	75.725
27 Alagoas	25.736
28 Sergipe	8.065
29 Bahia	88.487
31 Minas Gerais	226.599
32 Espírito Santo	42.456
33 Rio de Janeiro	116.744
35 São Paulo	452.974
41 Paraná	159.500
42 Santa Catarina	105.235
43 Rio Grande do Sul	181.817
50 Mato Grosso do Sul	27.208
51 Mato Grosso	23.130
52 Goiás	55.134
53 Distrito Federal	15.450

Tabela 01. Painel-Oncologia – BRASIL, Casos segundo UF da residência, Ano do diagnóstico: 2013-2020.

Fontes: Sistema de Informação Ambulatorial (SIA), através do Boletim de Produção Ambulatorial Individualizado (BPA-I) e da Autorização de Procedimento de Alta, Complexidade; Sistema de Informação Hospitalar (SIH); Sistema de Informações de Câncer (SISCAN), Data de atualização dos dados: 15/01/2021

Os dados da taxa de incidência presente no DATASUS, nos últimos 10 anos, dos cânceres de próstata, pulmão e cólon, no Brasil, de acordo com a classificação Internacional de Doenças (CID-10), acompanha o cenário internacional. Tomou-se como referencial os

números de casos nos E.U.A., como representante escolhido pela sua maior incidência entre os outros países. Contudo, é importante inferir que faltaram registros desta incidência até o ano de 2020, por falta de atualização dos dados no Sistema de Informação.

De acordo com as informações disponíveis no sistema de Informação do Ministério da Saúde Brasileiro - DATASUS (2021), a taxa de mortalidade do câncer no Brasil encontra-se mais elevada que os níveis mundiais, quando se realiza o comparativo da taxa padrão de mortalidade nacional (24,24) com a taxa padrão mundial (21,98), com os dados referentes aos anos de 2009 a 2019.

Neste sentido, estas taxas elevadas de mortalidade induziram a um esforço permanente de cientistas em realizar estudos de bioprospecção para o desenvolvimento de novos quimioterápicos, com substâncias mais eficientes e menos tóxicas, o que tem sido essencial para o tratamento dessa doença (GONZÁLES *et al.*, 2021).

Ao longo de várias décadas, os produtos naturais, especialmente, metabólitos secundários de plantas têm sido utilizados para o tratamento de doenças crônicas, incluindo o câncer (SHUKLA; MEHTA, 2015). Em todo o mundo, um número expressivo de estudos utilizando a biodiversidade, em especial as plantas, vem sendo conduzido com o intuito de testar em modelos animais a eficácia de agentes anticancerígenos (GONZÁLES *et al.*, 2021).

Diante disso, entra a biodiversidade brasileira, que é tida como um patrimônio natural, sendo considerado o país detentor da maior biodiversidade do mundo. A vegetação presente em sua extensão é comumente usada na medicina tradicional (BRASIL, 2006; PERES; VERCILLO; DIAS, 2011). Um dos gêneros presente na biodiversidade vegetal brasileira é o *Schinus*, e entre as suas espécies temos a *Schinus terebinthifolius* Raddi, também conhecida como aroeira vermelha, é uma planta da família Anacardiaceae presente no território brasileiro e introduzida em outros países da América do Sul, América Central, Europa, África e Ásia (MORTON, 1978).

Popularmente no Brasil, diversas partes dessa espécie vegetal, como por exemplo, as suas folhas, cascas e frutos, são relatadas como medicinais no tratamento de úlceras, doenças respiratórias, feridas, artrite, diarreia, inchaços linfáticos entre outros (MORTON, 1978). Sendo assim, a planta vem sendo alvo de estudos em relação as suas atividades biológicas, como a atividade antifúngica, anti-inflamatória e cicatrizante (LUCENA *et al.*, 2006; FREIRES *et al.*, 2011; ROSAS *et al.*, 2015).

O Ministério da Saúde (2009) divulgou que a espécie está na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS), ou seja, possui grande potencial de serem desenvolvidos fitoterápicos a partir da mesma, com a crescente inovação biotecnológica. Pode-se citar como exemplo algumas tecnologias utilizadas na área da biotecnologia, que são baseadas na engenharia metabólica, como a cultura *in vitro*, a radiomarcagem para rastreamento de produtos secundários e a própria manipulação de vias biossintéticas, como estratégias para melhorar cada vez mais e aumentar o rendimento em

culturas de células vegetais (GONÇALVES; ROMANO, 2018). Dessa forma, tornando a aroeira, uma planta com várias atividades biológicas, alvo de interesse nacional para a pesquisa e desenvolvimento de fármacos.

Neste contexto, a inovação faz parte de um processo que envolve o conhecimento de diversas fontes, como indústrias, universidades e laboratórios, juntamente com a aplicação de tecnologias (HSU, 2005). No meio acadêmico, a inovação é recente, teve ascensão apenas a partir do século XX, após o desenvolvimento de alguns trabalhos foi conceituada como algo comercial que envolve a invenção de algo novo ou para o aperfeiçoamento de algo existente, um produto, processo, sistema e, conseqüentemente, gerar lucro (SCHUMPETER, 1997; CAJAIBA-SANTANA, 2014; ECHALAR; LIMA; OLIVEIRA, 2020). Ainda na academia, existem diversos grupos de pesquisa e instituições públicas e privadas, focadas na intenção de desenvolver essas inovações e, para isso, fazem o uso do depósito de patentes para garantir proteção às suas descobertas (JANNUZZI; VASCONCELLOS; SOUZA, 2008).

Diante do exposto, verifica-se que a utilização de espécies vegetais com atividades anticancerígenas requer a utilização de informações obtidas em publicações científicas e patentes depositadas em bancos de dados específicos. Portanto, o objetivo do trabalho visou obter informações acerca de tecnologia voltada para o potencial anticancerígeno da *Schinus terebinthifolius* Raddi em banco de dados de artigos científicos e patentes.

METODOLOGIA

Para a realização do presente estudo foram realizadas buscas por artigos científicos e patentes em bancos de dados específicos. Para a realização da busca dos artigos foram utilizadas bibliotecas *online*, como: Google acadêmico, Pubmed, e Science Direct. As buscas das patentes foram procedidas em bancos de patentes, sendo eles: Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO), Espacenet e o Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos (USPTO). Para a pesquisa, os descritores utilizados foram uma combinação entre o nome científico da planta (*Schinus terebinthifolius* Raddi) juntamente com os termos antitumoral, câncer e terapia anticâncer, nas línguas portuguesa e inglesa. O período de tempo utilizado em ambas as buscas foi o período completo até o ano de 2021.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi apresenta um amplo espectro de funções farmacológicas, o que a torna uma espécie com grande potencialidade para o desenvolvimento de fitofármacos. Entretanto, após uma revisão de literatura percebeu-se que poucos estudos têm analisado a função anticâncer desta espécie vegetal. Sendo

assim, instigou o nosso grupo a proceder com a busca por informações científicas que elucidassem a pergunta norteadora do trabalho.

A busca realizada nos bancos de patentes, demonstrou que para a palavra-chave *Schinus terebinthifolius* 16 resultados foram encontrados no INPI, 25 na WIPO, 3 na Espacenet e 34 na USPTO. Acrescentando o nome do autor, obtivemos 6 resultados no INPI, 14 na WIPO, 3 na Espacenet e 2 na USPTO. O nome da espécie juntamente com o termo antitumoral não rendeu nenhum resultado em nenhum dos bancos de dados. E por último, quando pesquisado o nome da espécie acrescido do termo câncer, apenas um resultado foi encontrado e deu-se no banco de dados do INPI (Tabela 2).

PALAVRAS-CHAVE	INPI	WIPO	Espacenet	USPTO	Google Acadêmico	PubMed	Science Direct
<i>Schinus terebinthifolius</i>	16	25	3	34	-	-	-
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	6	14	3	2	-	-	-
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi and antitumoral	0	0	0	0	-	-	-
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi and cancer	1	0	0	0	-	-	-
<i>Schinus terebinthifolius</i> and anticancer therapy	0	0	0	0	5	2	2

Tabela 02. Resultados da pesquisa nos bancos de patentes e artigos científicos.

Dentre as patentes analisadas, foi possível visualizar algumas atividades biológicas comumente testadas, sendo elas as atividades de neuroproteção e antioxidante que puderam ser vistas em maior quantidade com 5 patentes cada, seguidas pela atividade anti-inflamatória com 3 menções, atividade cicatrizante com 2 e a atividade anticâncer com apenas 1 (Figura 1).

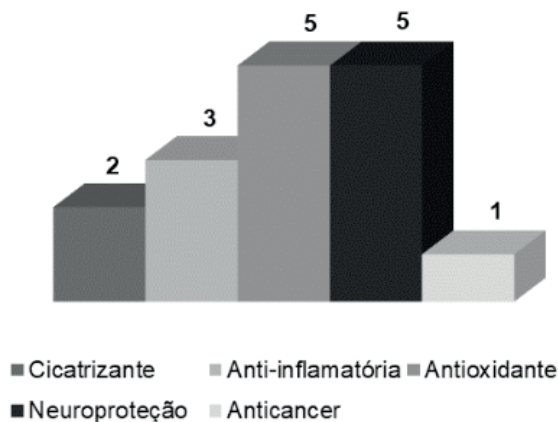


Figura 1. Atividades relacionadas a *Schinus terebinthifolius* encontradas nos bancos de patentes.

Após a análise dos dados, o resultado mais relevante para este trabalho trata-se do encontrado nos bancos de patentes do INPI e da WIPO, onde os dois apresentaram a mesma patente referente ao vírus do papiloma humano ou HPV. A patente de número PI0203897-8A2 e título “Composições farmacêuticas para o tratamento de infecções HPV utilizando extratos de *Schinus terebinthifolius* Raddi”, foi criada pelos autores Marçal de Queiróz Paulo e Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros e publicada em 2004. A mesma retrata o uso de extratos alcoólicos, hidroalcoólicos e aquosos do caule, galhos, cascas e entrecascas da *Schinus terebinthifolius* isoladamente ou em misturas para a preparação de formulações que servirão para uso como medicamento no tratamento de infecções e HPV.

No tocante a pesquisa realizada com artigos científicos, verificou-se que foram encontrados um número maior de publicações em periódicos científico do que patentes depositadas. Portanto, dos artigos científicos que foram encontrados na busca realizada, 5 deles reportavam a utilização de extrato ou óleo essencial de diferentes partes da planta, como folhas e frutos.

No trabalho de Oliveira *et al.* (2018) foram isolados os extratos de diclorometano e hexano, complexados com hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), dos frutos de *Schinus terebinthifolius*, e tiveram as atividades antifúngicas e antitumorais avaliadas em células Caco-2. Como resultado, na presença do extrato foi possível notar uma diminuição na viabilidade celular, levantando então, a possibilidade do mesmo ser utilizado no tratamento do câncer.

Os autores de outro estudo, Matsuo e colaboradores (2011), também avaliaram a eficácia do óleo essencial do fruto da *Schinus terebinthifolius* Raddi em células da linhagem cancerígena pulmonar. O trabalho reporta uma investigação da morte celular induzida pelo isolado da *Schinus terebinthifolius*, α -Pinoeno juntamente com a sua aplicação terapêutica.

Os autores conseguiram provar que o composto induziu a apoptose, causando ruptura do potencial mitocondrial, aumento da atividade da caspase-3, fragmentação do DNA, entre outros. Por fim, é ressaltado que o isolado se mostrou eficaz no tratamento do melanoma metastático experimental uma vez que ele reduziu a quantidade de nódulos do tumor pulmonar.

Bendaud *et al.*, (2014) verificaram que os óleos essenciais dos frutos de *Schinus terebinthifolius* foram avaliados em alguns parâmetros, incluindo a atividade anticâncer contra células de câncer de mama humano (MCF-7) e se mostrou eficaz. Os resultados obtidos sugerem que o óleo da *Schinus* possa ser utilizado para estratégias terapêuticas, como, por exemplo, no tratamento de câncer.

Os demais artigos encontrados verificaram a ação anticâncer com os extratos de folhas da espécie vegetal supracitada (QUEIRES *et al.*, 2006; FEDEL-MIYASATO *et al.*, 2014; RAMOS *et al.*, 2019). Dessa forma, os resultados comprovam através de dados científicos contidos nos estudos analisados, que a espécie vegetal, *Schinus terebinthifolius* Raddi, apresenta atividade biológica anticâncer, através da utilização de diferentes partes da planta. Portanto, verificou-se com o estudo que essa espécie vegetal pode ser utilizada como fonte de pesquisas mais avançadas sobre o potencial de ação de seus constituintes como potentes agentes anticancerígenos.

CONCLUSÃO

Em virtude do que foi mencionado, com esse estudo, foi possível observar que poucas são as patentes e artigos científicos existentes referente as palavras-chave utilizadas, o que reforça a necessidade de novos trabalhos, já que a *Schinus terebinthifolius* Raddi se mostra com um alto potencial farmacêutico por possuir em sua composição diversas propriedades que a fazem ser importante para o desenvolvimento de novos fitoterápicos.

REFERÊNCIAS

BENDAOU, Houcine *et al.* **Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils.** Journal of food Science, v. 75, n. 6, p. C466-C472, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 136 p.: il. – (Série C. Projetos, Programas e Relatórios, 1ª edição).

CAJAIBA-SANTANA, Giovany. **Social innovation: Moving the field forward. A conceptual framework.** Technological Forecasting and Social Change, v. 82, p. 42-51, 2014.

ECHALAR, Jhonny David; LIMA, Daniela da Costa Britto Pereira; OLIVEIRA, João Ferreira de. **Plano Nacional de Educação (2014–2024)—O uso da inovação como subsídio estratégico para a Educação Superior**. Ensaio: Avaliação e Políticas Públicas em Educação, v. 28, n. 109, p. 863-884, 2020.

FEDEL-MIYASATO, L. E. S. *et al.* **Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: a comparative study**. Genet Mol Res, v. 13, p. 3411-3425, 2014.

FREIRES, Irlan de Almeida *et al.* **Atividade antifúngica de *Schinusterebinthifolius* (Aroeira) sobre cepas do gênero *Candida***. Revista Odontológica do Brasil Central, v. 20, n. 52, 2011.

GONÇALVES S., ROMANO A. (2018) **Abordagens Biotecnológicas para a Propagação de Plantas Anticâncer e Produção de Compostos Vitais**. Em: Akhtar M., Swamy M. (eds) *Anticancer Plants: Natural Products and Biotechnological Implements*. Springer, Cingapura.

GONZÁLEZ, Luis Bustos *et al.* **In vitro screening for growth inhibition activity on cancer cell lines of northern Chile highlands shrubs**. Ciência Rural, v. 51, n. 1, 2021.

HSU, Chiung-Wen. **Formation of industrial innovation mechanisms through the research institute**. Technovation, v. 25, n. 11, p. 1317-1329, 2005.

JANNUZZI, Anna Haydée Lanzillotti; VASCONCELLOS, Alexandre Guimarães; SOUZA, Cristina Gomes de. **Especificidades do patenteamento no setor farmacêutico: modalidades e aspectos da proteção intelectual**. Cadernos de Saúde Pública, v. 24, n. 6, p. 1205-1218, 2008.

LUCENA, Periguari Luiz Holanda de *et al.* **Avaliação da ação da Aroeira (*Schinusterebinthifolius*Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos**. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 21, p. 46-51, 2006.

MATSUO, Alisson L. *et al.* **α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (*Anacardiaceae*) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model**. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 411, n. 2, p. 449-454, 2011.

MORTON, J. F. **Brazilian Pepper: Its impact on people, animals and the environment**. Economy Botany, v. 32, p. 353-359, 1978.

OLIVEIRA, Mariana S. de *et al.* **Chemical composition and antifungal and anticancer activities of extracts and essential oils of *Schinus terebinthifolius* Raddi fruit**. RevistaFitos., v. 12, n. 2, p. 135-146, 2018.

PAULO, M. Q.; GUEIROS, M. A. A. C. **COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES HPV UTILIZANDO EXTRATOS DE SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI**. BR PI 0203897-8 A2. Depósito: 17 set. 2002. Concessão: [s.d.] Disponível em: <https://gru.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=612277&SearchParameter=SCHINUS%20TEREBINTHIFOLIUS%20RADDI%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>. Acesso em: 5 nov. 2020.

PERES, Monica Brick; VERCILLO, Ugo Eichler; DE SOUZA DIAS, Braúlio Ferreira. **Avaliação do Estado de Conservação da Fauna Brasileira e a Lista de Espécies Ameaçadas: o que significa, qual sua importância, como fazer?**. Biodiversidade Brasileira-BioBrasil, n. 1, p. 45-48, 2011.

QUEIRES, L. C. S. *et al.* **Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius*, Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells.** *Anticancerresearch*, v. 26, n. 1A, p. 379-388, 2006.

RAI, Ayushi *et al.* **Recent Advances and Implication of Bioengineered Nanomaterials in Cancer Theranostics.** *Medicina*, v. 57, n. 2, p. 91-115, 2021.

RAMOS, Dalila de Brito Marques *et al.* **Evaluation of antitumor activity and toxicity of *Schinus terebinthifolia* leaf extract and lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing mice.** *Journal of ethnopharmacology*, v. 233, p. 148-157, 2019.

ROSAS, Elaine Cruz *et al.* **Anti-inflammatory effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi hydroalcoholic extract on neutrophil migration in zymosan-induced arthritis.** *Journal of ethnopharmacology*, v. 175, p. 490-498, 2015.

SAÚDE, Ministério da. **RENISUS**. 2009. Disponível em: <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/junho/06/renisus.pdf>. Acesso em: 5 nov. 2020.

SCHUMPETER, J. **Teoria do desenvolvimento econômico: uma investigação sobre lucros, capital, crédito, juro e ciclo econômico.** 2. ed. São Paulo: Nova Cultural, 1997.

SHUKLA, Shruti; MEHTA, Archana. **Anticancer potential of medicinal plants and their phytochemicals: a review.** *Brazilian Journal of Botany*, v. 38, n. 2, p. 199-210, 2015.

STRATTON, Michael R.; CAMPBELL, Peter J.; FUTREAL, P. Andrew. **The cancer genome.** *Nature*, v. 458, n. 7239, p. 719-724, 2009.

SOBRE O ORGANIZADOR

JESUS RODRIGUES LEMOS - Professor do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Delta do Parnaíba-UFDPAr (anterior UFPI/*Campus* Ministro Reis Velloso), desde março de 2007. Possui Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí, Mestrado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal de Pernambuco, Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica) pela Universidade de São Paulo e Pós-Doutorado no *Royal Botanic Gardens, Kew*, Londres. Desenvolve pesquisas na área de Botânica, com ênfase em Florística, Fitossociologia, Fitogeografia e Etnobotânica com a vegetação do semiárido brasileiro.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Amazônia 7, 52, 54, 55, 68

Anticâncer 157, 161, 162, 164, 165

Antracnose 124, 125, 126, 127, 128, 131, 133, 136, 137, 138

Apis 86, 90, 93, 94, 95, 96, 97, 98

Arborização 7, 70, 71, 72, 81, 82, 83, 84, 85

Aroeira 11, 12, 16, 18, 21, 34, 157, 160, 161, 165, 166

Árvores 7, 24, 32, 52, 53, 54, 55, 56, 68, 70, 71, 72, 74, 80, 81, 82, 83

Atividade antioxidante 140, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 155

B

Bee Products 86, 87, 97

Bioprospecção 160

Bosque 66, 67, 68, 78

Bryophyllum pinnatum 8, 140, 141, 142, 143, 152, 153, 154, 155, 156

C

Campos de altitude 37

Cerrado 6, 7, 24, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38, 41, 43, 45, 52, 53, 54, 55, 56, 82

Composición florística 58, 60, 61, 62, 63, 64, 66, 67, 68

D

Diversidade 6, 1, 8, 10, 24, 25, 26, 28, 31, 33, 35, 71, 80, 103

E

Ecopedagogia 6, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21

Educação Ambiental 6, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 70, 72

Ensino de ciências 2, 3

Especies 58, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 125, 126, 127, 131, 134, 135, 136

Estadio Sucesional 58

F

Fabaceae 24, 25, 28, 29, 30, 54, 58, 59, 63, 64, 65, 67, 84, 105, 116

fatores abióticos 115

Fenois 140, 143, 144, 146, 147, 150, 151, 152

Fitossociologia 25, 34, 167

Flavonoides 104, 140, 141, 143, 144, 146, 147, 150, 151, 152, 155
Flora 24, 25, 26, 28, 30, 31, 32, 63
Folha 8, 53, 54, 55, 85, 103, 140, 141
Frutíferas 7, 11, 14, 16, 70, 71, 72, 73, 74, 79, 80, 81, 82

G

Germinação 100, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 113, 114

H

Herbertia 37, 38, 40, 41, 42, 50, 51

I

Iridaceae 6, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 49, 50, 51

M

Mata Atlântica 6, 11, 12, 14, 16, 19, 22, 80, 113, 120

Melissopalinoologia 86

Minerária 7, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69

Monocots 38

Mora 124, 125, 126, 127, 128, 130, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138

Mudanças climáticas 26, 32, 54, 56, 100, 101, 102, 113, 115

O

Oficinas Didáticas 2, 3

P

Paisagismo 71, 72, 82, 83

Patente 14, 157, 163

Patogenicidad 124, 125, 128, 130, 131, 132, 133, 135, 136

Plantas Medicinais 6, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 141, 152, 155, 160, 164

Pólen 7, 86, 97, 98, 100, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 116, 117, 120

Práticas Pedagógicas 2, 14

Propolis 86, 87, 88, 94, 95, 97

Q

Qualea 24, 25, 29, 31, 54

R

Radicais livres 8, 140, 141, 151, 152

Reflorestamento 12, 16, 18, 21

Regeneración 7, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 68, 69

Reserva da Biosfera 6, 24, 26, 28, 32, 35, 101

Rubus Glaucus 8, 124, 125, 128, 130, 131, 133, 134, 136, 137, 138

S

Schinus terebinthifolius 16, 157, 158, 160, 161, 163, 164, 165, 166

Sustentabilidade 12, 13, 14, 23, 98

T

Temperatura 7, 27, 31, 52, 53, 54, 55, 81, 82, 83, 100, 101, 105, 106, 108, 109, 112, 113, 114, 120, 129, 130, 143, 144

Tolerância Fotossintética 52, 53, 54, 55

V

Virulencia 8, 124, 127, 128, 134

Ensino,
Pesquisa e
Inovação em
Botânica

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Ensino, Pesquisa e Inovação em Botânica

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

@atenaeditora 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 