

DANIELA PINTO DE SOUZA FERNANDES

**O ACÚMULO DE ALUMÍNIO NA PARTE AÉREA É COMUM EM  
ESPÉCIES HERBÁCEAS DO CERRADO?**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Botânica, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F363a  
2019  
Fernandes, Daniela Pinto de Souza, 1991-  
O acúmulo de alumínio na parte aérea é comum em  
espécies herbáceas do cerrado? / Daniela Pinto de Souza  
Fernandes. – Viçosa, MG, 2019.  
viii, 35 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Aristéa Alves Azevedo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 30-35.

1. Ervas - Efeito do alumínio. 2. Plantas dos cerrados.  
3. Alumínio. 4. Floresta Nacional de Paraopeba (MG).  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia  
Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Botânica. II. Título.


CDD 22. ed. 582.12

DANIELA PINTO DE SOUZA FERNANDES


**O ACÚMULO DE ALUMÍNIO NA PARTE AÉREA É COMUM EM  
ESPÉCIES HERBÁCEAS DO CERRADO?**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Botânica, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

APROVADA: 12 de março de 2019.

  
Kacilda Naomi Kuki

  
Cleberson Ribeiro

  
Aristéa Alves Azevedo  
(Orientadora)

*Aos meus pais que tanto incentivaram meus estudos. Aos meus irmãos, meu  
namorado e meus padrinhos pelo carinho e apoio.  
Dedico.*

## AGRADECIMENTO

A Deus por ser meu refúgio, por me fortalecer nos inúmeros momentos difíceis, por me proteger e iluminar meus passos nessa trajetória. E por ter colocado pessoas especiais na minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade e infraestrutura.

À FAPEMIG e CAPES pelo auxílio financeiro.

Ao Programa de Pós-graduação em Botânica.

À querida professora Aristéa que com todo seu ensinamento, atenção, competência, compreensão e exigência me fez crescer como pessoa e profissional. Sinto-me grata e honrada por ter sido sua orientada desde a iniciação científica.

Ao laboratório de Anatomia Vegetal pela ótima infraestrutura, além de terem pessoas muito especiais como as técnicas Aurora e Rosana que estão sempre dispostas a nos ajudar. E aos colegas de trabalho que, mesmo indiretamente, contribuíram com meu trabalho.

À FLONA de Paraopeba, pela permissão de acesso ao local de coleta e apoio à pesquisa.

Aos verdadeiros anjos que Deus colocou na minha vida e se tornaram muito mais que colegas de trabalho, mas grandes amigos. Em especial os “herbáceanos”, Ivan e Ana Paula que muito contribuíram para o meu trabalho, obrigada por toda ajuda, ensinamento, amizade e parceria. Ao nosso grupo de pesquisa, em especial Ivanilson, sempre disposto a ajudar. À Luana pela sua energia positiva trazendo sempre muitas risadas, apoio, ajuda e uma grande amizade. Ao Miller, Analú e Elienai pelo companheirismo. À Thamires, Danizete, Michel, Daniel, Victor, Franklin, Clara pela boa convivência no laboratório.

Aos meus pais, Gabriel e Sueli, minha base, sempre guerreiros e incentivadores, dispostos a ajudar no que fosse preciso para que eu e meus irmãos continuássemos estudando. Aprendemos com eles que a grande riqueza da vida é o conhecimento, algo que ninguém pode retirar de nós.

Aos meus irmãos, Dalila e Gabriel Filho, pelo carinho e apoio durante essa caminhada.

A meu padrinho Geraldo e minha madrinha Sônia, pelo grande incentivo e ajuda nesse percurso.

A meu namorado, Wellington, por ser um grande companheiro, sempre disposto a ajudar e apoiar, por estar comigo nos momentos mais difíceis e também celebrar ao meu lado as minhas conquistas. E pelo carinho de sua família.

A todos os meus familiares pela força.

Aos amigos pelos conselhos e por me alegrarem.

**Muito obrigada a todos vocês!**

## SUMÁRIO

RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	3
2.1 Área do estudo e coleta do material.....	3
2.2 Quantificação de Al e nutrientes na matéria seca.....	3
2.3 Análise anatômica e histolocalização do Al .....	4
2.4 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) .....	5
3 RESULTADOS .....	5
3.1 Quantificação de Al e nutrientes na matéria seca.....	5
3.2 Histoquímica.....	6
3.3 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) .....	7
3.4 Análise anatômica.....	8
4 DISCUSSÃO .....	11
5 CONCLUSÃO .....	17
6 FIGURAS E TABELAS .....	18
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	30

## RESUMO

SOUZA-FERNANDES, Daniela Pinto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2019. **O acúmulo de alumínio na parte aérea é comum em espécies herbáceas do cerrado?** Orientador: Aristéa Alves Azevedo. Coorientadora: Larisse de Freitas Silva.

O alumínio (Al) é o metal mais abundante na matriz mineral do solo e o terceiro elemento mais comum da crosta terrestre. A forma livre do alumínio ( $Al^{3+}$ ), disponível em solos ácidos é tóxica para muitas espécies e responsável por alterar a disponibilidade de diversos nutrientes essenciais no solo e conseqüentemente reduzir o crescimento e desenvolvimento das plantas. Existem dois mecanismos principais de resistência ao Al nas plantas, relatados principalmente nas plantas cultivadas: exclusão e tolerância. Embora possam atuar simultaneamente, em geral, cada espécie exibe um mecanismo preferencial, sendo menos frequente a tolerância com acúmulo de Al na parte aérea. Entretanto, o conhecimento desses mecanismos de exclusão e tolerância em plantas nativas herbáceas nos solos ácidos do cerrado é ainda incipiente. O objetivo da pesquisa foi identificar o acúmulo de Al em espécies herbáceas e determinar a localização deste elemento em caule e folhas de diferentes espécies a fim de entender melhor a distribuição deste metal nas plantas do cerrado e fornecer subsídios para esclarecer as diferentes estratégias que permitem sua sobrevivência na presença de Al. Além disso, pretendeu-se verificar se há diferenças na anatomia e no *status* nutricional de espécies acumuladoras e não acumuladoras (exclusoras) de Al. O trabalho foi desenvolvido na FLONA de Paraopeba, onde foram feitas as coletas e fixação do material para posterior processamento e confecção de lâminas histológicas. Foram coletadas 33 espécies e feitas análises: de quantificação de nutrientes (Al, Fe, N, P, K, Ca e Mg) e identificação dos sítios de acúmulo de Al, na parte aérea, mediante testes histoquímicos (em microscopia de luz). Em 7 espécies foi realizada a microanálise de Raio-X (microscopia eletrônica de varredura), para a verificação da abundância relativa de Al, Si, Fe, Mn, Ca e Mg. Foi constatado que a maioria das espécies analisadas é acumuladora de Al, segundo a quantificação química, e os testes histoquímicos mostraram que os principais sítios de acúmulo de Al foram as paredes celulares da epiderme, do parênquima clorofiliano e do colênquima, o conteúdo celular de tricomas, os cloroplastos e os núcleos das células. O teste para Al com chrome azulol S mostrou-se muito mais efetivo do que a hematoxilina; a intensidade de coloração dos testes utilizados foi

mais intensa no material não incluído em historesina e a intensidade de coloração da reação não reflete a concentração de Al nos tecidos. O EDS e a análise química foram essenciais pois revelaram a presença do Al em espécies onde este elemento não havia sido detectado pelo teste histoquímico. Para melhor interpretação dos resultados o uso das três técnicas foi essencial. Nenhum padrão nutricional típico para acumuladoras de Al e não-acumuladoras foi identificado: o perfil químico é extremamente variável nos dois grupos de plantas. A maioria das espécies possui: epiderme unisseriada com tricomas tectores e/ou glandulares; mesofilo com parênquima paliçádico e esponjoso diferenciados; presença de compostos fenólicos e feixe vascular colateral circundado por esclerênquima. De uma maneira geral, as características anatômicas estão mais associadas às famílias/táxons e não foi possível encontrar um padrão anatômico e nem um perfil químico que torne possível a distinção entre espécies acumuladoras de Al e não-acumuladoras. O acúmulo de alumínio é uma característica marcante entre as espécies herbáceas de diferentes famílias amostradas no cerrado.

## ABSTRACT

SOUZA-FERNANDES, Daniela Pinto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2019. **The accumulation of aluminum in the aerial part is common in herbaceous species of the cerrado?** Adviser: Aristéa Alves Azevedo. Co-adviser: Larisse de Freitas Silva.

Aluminum (Al) is the most abundant metal in the mineral matrix of the soil and the third most common element of the earth's crust. The free form of aluminum ( $Al^{3+}$ ) available in acid soils is toxic to many species and responsible for altering the availability of several essential nutrients in the soil and consequently reducing plant growth and development. There are two main mechanisms of resistance to Al in plants, reported mainly in cultivated plants: exclusion and tolerance. Although they can act simultaneously, in general, each species exhibits a preferential mechanism, being less frequent the tolerance with accumulation of Al in the aerial part. However, the knowledge of these mechanisms in native herbaceous plants in cerrado acid soils is still incipient. The objective of the research was to identify the accumulation of Al in herbaceous species and to determine the location of this element in stem and leaves of different species in order to better understand the distribution of this metal in plants of the cerrado and provide subsidies to clarify the different strategies that allow its survival in the presence of Al. In addition, it was sought to verify if there are differences in the anatomy and nutritional status of Al-accumulating and non-accumulating species. The work was developed in the FLONA of Paraopeba, where the samples were collected and fixed for later processing and preparation of histological slides. Thirty-three species were collected and the following analyzes were performed: nutrient quantification (Al, Fe, N, P, K, Ca and Mg); identification of Al accumulation sites in the aerial part by histochemical tests (light microscopy) and X-ray microanalysis (scanning electron microscopy) to verify the relative abundance of Al, Si, Fe, Mn, Ca and Mg. It was found that most of the analyzed species are Al-accumulating according to chemical quantification and histochemical tests showed that the main sites of Al accumulation were the cell walls of the epidermis of the chlorophyll parenchyma and the collenchyma, the cellular content of trichomes and the chloroplasts and the nuclei of the cells. The test for chrome azurol S was shown to be much more effective than hematoxylin; the staining intensity of the tests used was better in the material not embedded in historesin and the color intensity of the reaction does not reflect the concentration of Al in the

tissues. EDS and chemical analysis were essential because they revealed the presence of Al in species where this element had not been detected by the histochemical test. For better interpretation of the results, the use of the three techniques was essential. No typical nutritional *status* for Al-accumulators and non-accumulators was identified; in both groups the chemical profile of the species was extremely variable. Most species have uniseriate epidermis with tector and/or glandular trichomes; phenolic compounds; palisade and spongy parenchyma, and collateral vascular bundle surrounded by sclerenchyma. In general, the anatomical characteristics are more associated to the families / taxa. It was not possible to find neither an anatomical pattern nor a chemical profile that makes possible the distinction between accumulating and non-accumulating species. The accumulation of aluminum is a remarkable characteristic among the herbaceous species of different families in the cerrado.

## 1 INTRODUÇÃO

O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sendo os seus solos antigos, ácidos, profundos e altamente intemperizados (latossolos), com baixa fertilidade e altas concentrações de óxido de ferro e alumínio (Al) (Furley & Ratter, 1988; Paro 2013). Neste bioma, as fitofisionomias variam desde formas campestres (como o campo limpo), onde o estrato herbáceo predomina, até formações florestais (como o cerradão), no qual o estrato lenhoso é o mais abundante (Oliveira-Filho & Ratter, 2002). A flora lenhosa é constituída por árvores de troncos e galhos retorcidos e arbustos, em geral perenes; enquanto as herbáceas, que revestem as superfícies dos solos durante o período chuvoso, desaparecem na estação seca (Rizzini, 1997).

A maioria dos trabalhos desenvolvidos no cerrado trata de espécies nativas arbóreas (Haridasan, 2008; Metali et al., 2012; Malta et al. 2016). Contudo, alguns trabalhos já demonstraram que as plantas herbáceas do cerrado constituem um grupo bastante representativo, sendo que para cada espécie arbórea há de 5 a 6 espécies herbáceas nesse bioma (Mendonça *et al.*, 2008; Rossato et al. 2008; Bustamante *et al.*, 2012; Paro, 2013). No entanto, a diversidade desse estrato vem sendo subestimada em função da carência de estudos, nas diversas áreas da botânica. As herbáceas do cerrado podem ser indiferentes ao ambiente rico em metais pesados ou pouco afetadas, pela presença de concentrações elevadas desses metais (Ginocchio & Baker, 2004). Além disso, as herbáceas apresentam alta plasticidade e competitividade na natureza, uma vez que crescem rapidamente e se distribuem amplamente em solos ácidos, o que resulta em um grande acúmulo de biomassa vegetal nesses ambientes. Porém, pouco se conhece sobre os mecanismos de plantas herbáceas que permitem a sua sobrevivência em solos com altos teores de Al.

Em solos ácidos como os do cerrado, o Al é convertido para a forma de cátion trivalente (Al<sup>+3</sup>) ou Al trocável que é fitotóxica, para a maioria das espécies, e responsável pela redução na produtividade das culturas (Kochian *et al.* 2015), pois limita o crescimento e desenvolvimento das plantas (Grevenstuk & Romano 2013).

Apesar da elevada fitotoxidez do Al e da sensibilidade de muitas espécies, existem aquelas consideradas resistentes a esse metal (Grevenstuk & Romano 2013, Kochian *et al.* 2015). Há dois mecanismos de resistência ao Al conhecidos atualmente: o primeiro envolve a redução na absorção do elemento pelas raízes mediante, por exemplo, a exudação de compostos orgânicos pelos ápices das raízes,

complexando o  $Al^{3+}$  e elevando o pH na rizosfera (Hartwig, 2007; Brunner e Sperisen, 2013) e, conseqüentemente, reduzindo a entrada do  $Al^{3+}$  nas raízes (exclusão); enquanto que no segundo (tolerância), o  $Al^{3+}$  absorvido é quelado no citosol (desintoxicação) por compostos orgânicos e armazenado nos vacúolos ou imobilizado na parede celular (sequestro) (Nunes-Nesi *et al.* 2014, Kochian *et al.* 2015). Além disso, a formação de complexos  $Al^{3+}$ /silicatos nos tecidos vegetais foi também sugerida como um possível mecanismo de desintoxicação (Hodson & Sangster, 1999; Britz *et al.*, 2002; Haridasan, 2008). Contudo, essas estratégias são pouco estudadas e conhecidas nas espécies nativas, apesar de já se saber que o Al pode ser acumulado em diferentes locais nos tecidos vegetais: parede celular, vacúolo e até mesmo em organelas, como os cloroplastos (Andrade *et al.*, 2011; Malta *et al.*, 2016). Estudos sobre os mecanismos de resistência ao Al estão sendo aprofundados em solos ácidos no Brasil utilizando espécies nativas do cerrado (Andrade *et al.* 2011; Bustamante *et al.* 2012; Malta *et al.* 2016).

A flora do cerrado é adaptada à deficiência de nutrientes e à presença do Al no solo, sendo que as espécies lenhosas acumuladoras de alumínio apresentam altos valores de Índice de Valor de Importância (IVI) nas comunidades nativas em solos distróficos, talvez devido a uma vantagem competitiva (Haridasan, 2000). A produtividade do componente herbáceo é limitada por deficiência de nutrientes e também por déficit hídrico na época seca (Vilela e Haridasan, 1994). Entretanto, os caracteres adaptativos que tornam as plantas nativas mais eficientes que as cultivadas em solos ácidos, pobres em nutrientes e com altos teores de Al, precisam ser elucidados, em especial no estrato herbáceo (Haridasan, 2008).

No cerrado da Floresta Nacional (FLONA) de Paraopeba, MG, área deste estudo, trabalhos com plantas herbáceas foram desenvolvidos por Castro (2013) e Paro (2013). Paro (2013), através de um levantamento fitossociológico, relatou uma alta diversidade de herbáceas, principalmente em fitofisionomias abertas. Já Castro (2013), com enfoque morfoanatômico, demonstrou que quatro espécies estudadas são acumuladoras de Al, com destaque para *Coccocypselum aureum* e *Borreria latifolia* que acumularam respectivamente cerca de  $5g.kg^{-1}$  e  $10 g.kg^{-1}$  de Al em suas folhas, enquanto espécies como *Trimezia juncifolia* e *Aristida riparia*, com valores de acúmulo de Al inferior a  $1g kg^{-1}$  na matéria seca, foram classificadas como não acumuladoras. Tendo em vista os resultados obtidos nos dois trabalhos anteriores, buscamos: ampliar o banco de dados sobre espécies herbáceas acumuladoras e não

acumuladoras de Al; verificar a distribuição do metal na parte aérea; entender uma possível relação entre o teor de Al e o balanço de nutrientes e identificar possíveis caracteres anatômicos que auxiliem na caracterização de plantas acumuladoras.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Área do estudo e coleta do material**

O trabalho foi desenvolvido na Floresta Nacional (FLONA) de Paraopeba, uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável, com 200 ha de cerrado, localizada no estado de Minas Gerais (19°20' S de latitude e 44°20'W de longitude, altitude de 734 m ao sul e 750 m ao norte). O clima da região é caracterizado como tropical úmido, AW pelo sistema de Koeppen, com verão chuvoso e estação seca ocorrendo de abril a setembro (SNUC, 2000; IBGE,2007; Tolentino, 2011).

As nossas coletas foram feitas em áreas de cerrado *s.s* sobre Latossolo Amarelo e Cambissolo. Realizamos cinco excursões à campo para coleta de espécies herbáceas no período de novembro a abril, épocas em que esperávamos encontrar mais espécies floridas devido ao período reprodutivo, de acordo com o levantamento de Paro (2013). Os espécimes foram coletados e tratados segundo o procedimento usual de herborização (Mori *et al.*, 1989) para incorporação ao acervo do Herbário VIC (Departamento de Biologia Vegetal, UFV). A identificação taxonômica, quando possível, foi realizada em campo. Os demais materiais foram identificados mediante consulta ao Herbário VIC e a outros herbários, por meio de literatura especializada e, quando necessário, foram enviados a especialistas. Amostramos 33 espécies pertencentes a 14 famílias (Tabela 1), sendo que, de cada espécie, foi coletada a parte aérea de 3 plantas, separando-se os caules das folhas.

### **2.2 Quantificação de Al e nutrientes na matéria seca**

As folhas e caules foram secos em estufa de ventilação forçada, a 70°C, para posterior quantificação do teor de Al, Fe, N, P, K, Ca e Mg. Após secagem, o material vegetal foi triturado em moinho tipo Wiley (3383-L10, 46 Thomas Scientific, EUA), e amostras de 0,2 g foram digeridas em solução nitroperclórica para a detecção de Al, Fe, P, K, Ca e Mg e sulfúrica para o N, segundo protocolo descrito por Tedesco *et al.*, (1995). Determinamos as concentrações de Al e os

demais nutrientes utilizando Espectrômetro de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) (OPTMA 7300 DV, Perkin Elmer), pertencente ao Laboratório do Departamento de Solos da UFV.

Para se obter matéria seca suficiente para as análises de folha e caule foi necessário criar uma amostra composta a partir de 3 repetições, por espécie. Este procedimento foi adotado para todas as espécies. Em algumas espécies, que apresentaram matéria seca menor que 0,2g por órgão, foi necessário juntar as amostras de caules e folhas e analisar a parte aérea como um todo.

### **2.3 Análise anatômica e histolocalização do Al**

A caracterização anatômica foi realizada a fim de comparar e estabelecer uma relação entre a estrutura dos órgãos com as estratégias adaptativas, em relação ao Al, das espécies estudadas. Amostras da região mediana de folhas completamente expandidas e da região do 3° a 5° entrenós foram fixadas em FAA50 (Johansen, 1940), desidratadas em série etanólica e incluídas em metacrilato (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha). Os blocos histológicos foram cortados em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2265, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA), obtendo-se secções transversais de 5 a 8 µm de espessura. Os cortes foram corados com Azul de Toluidina 0,05 %, pH 4,7 e montados, entre lâmina e lamínula, em Permount® para a caracterização anatômica (O'Brien e Mc Mully 1981).

Para detecção de Al nos tecidos vegetais, cortes incluídos em historesina e cortes obtidos em micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil), de material fixado em FAA, foram submetidos ao processo de coloração, por 1 hora, à reação com o reagente chome azulol S 0.5% (Kukachka e Miller 1980) (Andrade et al., 2011). O resultado positivo para a presença do Al é indicado pela cor azul. De acordo com a intensidade de coloração com o chrome azulol S, estabelecemos um parâmetro para reação positiva forte (++) , positiva fraca (+) ou negativa (-) (Tabela 2). Secções não submetidas à reação foram utilizadas para comparação. As observações e a captura de imagens foram realizadas em microscópio de luz (modelo Olympus® AX70TRF) com sistema U-Photo, com câmera digital acoplada (modelo: Zeiss HRC), no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV.

## 2.4 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS)

De acordo com o parâmetro de intensidade da coloração com chrome azulol S, utilizado na histoquímica, foram selecionadas sete espécies, para a análise em Microscopia Eletrônica de Varredura com espectroscopia por dispersão de energia de Raios X. A espécie com ausência de coloração foi: *Croton* sp. (Euphorbiaceae); intensidade fraca: *Pavonia* sp. (Malvaceae), *Clitonia guianensis* e *Eriosema crinitum* (Fabaceae) *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) e intensidade forte: *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae) e *Pterolepis* sp. (Melastomataceae). Amostras de caules e folhas foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (Johansen, 1940), estocadas em etanol 70% e posteriormente, desidratadas em série etanólica, para secagem ao ponto crítico (aparelho Critical Point Dryer, Modelo CPD 030, Balzers, Liechtenstein). O material foi afixado no porta-amostras e a superfície foi recoberta com carbono utilizando-se um evaporador (Quorum Q150 T, East Grinstead, West Sussex, UK) do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV. A documentação fotográfica foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV- modelo 1430 VP, LEO, Cambridge, Inglaterra) com sonda de Raio-X acoplada (IXRF systems X-EDS, 15715) sendo analisados os seguintes elementos: Al, Si, Fe, Mn, Ca, Mg, nos tecidos vegetais. Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância, com três repetições, usando o software R e as médias dos elementos comparadas, entre as espécies e entre os órgãos da parte aérea de uma mesma espécie, utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Quantificação de Al e nutrientes na matéria seca

Das 33 espécies de plantas herbáceas coletadas (Tabela 1), 29 apresentam concentração superior a 1 g de Al. kg<sup>-1</sup> de matéria seca da parte aérea. Dessas, 27 espécies foram consideradas acumuladoras de Al, enquanto as Rubiaceae *Borreria* sp. 2 e *Borreria latifolia* foram classificadas como hiperacumuladoras pois concentraram mais de 10 g de Al. kg<sup>-1</sup> de matéria seca na parte aérea. Apenas *Stylosanthes gracilis* e *Crotalaria flavicoma* (Fabaceae), *Sida linifolia* (Malvaceae) e *Deanira pallescens* (Gentianaceae), que correspondem a 12,12% das espécies, foram classificadas como não acumuladoras por apresentarem valores inferiores a 1 g de Al. kg<sup>-1</sup> de matéria seca (Fig. 3, Tabela 3).

Dentro das famílias Gentianaceae, Malvaceae e Fabaceae ocorreram espécies acumuladoras e não acumuladoras. As espécies *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae), *Calolisianthus speciosus* e *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae), *Pavonia* sp., *Sidastrum* sp. e *Peltaea* sp. (Malvaceae) são acumuladoras, enquanto as espécies *Stylosanthes gracilis* e *Crotalaria flavicoma* (Fabaceae), *Sida linifolia* (Malvaceae) e *Deanira pallescens* (Gentianaceae) foram classificadas como não acumuladoras do metal. Todas as espécies das famílias Rubiaceae e Asteraceae amostradas são acumuladoras de Al (Tabela 3).

Em oito das 15 espécies de acumuladoras, nas quais foi possível analisar caule e folhas separadamente (Fig.4). Nas Rubiaceae *Borreria latifolia*, *Borreria* sp. 2 e *Sabicea brasiliensis*, e em *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae), *Chromolaena horminoides* (Asteraceae) foi detectado mais que o dobro de Al nas folhas que no caule. Em *Borreria verticillata* (Rubiaceae) e *Borreria* sp.1 (Rubiaceae), foi encontrado aproximadamente o dobro de Al na folha que no caule (Fig. 4). No caule apenas três espécies acumularam quase o dobro de Al presente nas folhas (*Polygala angulata*, *Sidastrum* sp. e *Clitonia guianensis*). Nas demais espécies os valores de Al no caule e na folha foram semelhantes (Fig. 4).

Os nutrientes analisados tiveram ampla variação, tanto entre as espécies acumuladoras quanto entre as não acumuladoras (Tabela 3). As espécies não acumuladoras de Al foram as que apresentaram os valores mais baixos de ferro (abaixo de 0,6 g.kg<sup>-1</sup> de matéria seca), já nas acumuladoras variou entre 0,86 a 5,42 g.kg<sup>-1</sup> de matéria seca (Tabela 3). O fósforo foi o elemento que apresentou as menores concentrações, variando de 0,05 a 1,6 g.kg<sup>-1</sup> de matéria seca. As espécies hiperacumuladoras apresentam altos valores de nitrogênio e cálcio e baixos teores de potássio quando comparadas com as não acumuladoras. A quantidade de nutrientes é extremamente variável entre as espécies das diferentes famílias e até mesmo de uma mesma família. Por exemplo, em Rubiaceae os valores de nitrogênio variaram de 16,2 a 56,7 g.kg<sup>-1</sup> de matéria seca, enquanto o cálcio variou de 4,7 a 34,7 g.kg<sup>-1</sup> de matéria seca e o Fe oscilou de 1,41 a 4,33 g.kg<sup>-1</sup> de matéria seca (Tabela 3).

### 3.2 Histoquímica

Tanto para o caule quanto para as folhas da maioria das 33 espécies estudadas, o chrome azulol S proporcionou a identificação de maior número de sítios de acúmulo do Al no material não incluído em historesina (Tabela 2). Em

contrapartida, quando os materiais foram incluídos em historesina, o reagente se mostrou menos eficiente na detecção desses sítios, (Fig. 1; Tabela 2). Não houve diferença entre as técnicas histológicas para o caule em Poaceae 1, *Calolisianthus speciosus*, *Borreria* sp.1 e *Borreria* sp. 2); para a folha em *Aspilia foliaceae* e *Borreria latifolia* ou para ambos os órgãos em *Deianira pallescens*, *Mandevilla longiflora* e *Croton* sp. (Tabela 2). No material incluído, não foi detectado Al em 30,30% das espécies, enquanto a análise das amostras não incluídas revelou que apenas em 6,06% das espécies estudadas não apresentava o metal em ambos os órgãos avaliados.

Os testes histoquímicos demonstraram que das 33 espécies apenas duas (*Croton* sp. e *Mandevilla longiflora*) não apresentaram Al em seus tecidos (Tabela 2). Tanto na folha quanto no caule, os sítios de acúmulo mais frequentes foram a epiderme, parênquima clorofiliano, colênquima e floema (Fig. 2A,B). Na epiderme, observou-se maior acúmulo na parede celular (Fig. 2C), núcleos (Fig. 2C), células-guardas do estômato (Fig. 2H,I), base e conteúdo celular de tricomas tectores e glandulares (Fig. 2D,E). No parênquima clorofiliano, foi observado a presença do metal na parede celular e nos cloroplastos (Fig. 2F), enquanto no floema, tanto o elemento de tubo crivado quanto, principalmente, as células companheiras apresentavam Al. No caule, o Al também foi marcado no parênquima fundamental medular e cortical (parede celular e conteúdo celular) (Fig. 2B). Os sítios preferenciais de acúmulo, de forma geral, apresentaram intensidade de coloração maior em algumas estruturas e tecidos, tais como: cloroplastos, núcleos, parede celular (epiderme e colênquima) e, elementos do floema. A presença de Al em idioblastos mucilaginosos foi uma característica bem comum entre as herbáceas analisadas, ocorrendo nas famílias, Lythraceae, Fabaceae, Malvaceae e Rubiaceae (Fig. 2G).

### 3.3 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS)

Conforme observado na Tabela 4, a abundância relativa do Al no caule variou de 11,23% a 22,22%. Apesar desta variação as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas. Comparando a distribuição relativa de Al foram registradas diferenças significativas entre o caule e as folhas de *Eriosema crinitum* (Fabaceae), que apresentou maior abundância no caule, e em *Pterolepis* sp. (Melastomataceae), com maior abundância na folha (Tabela 4).

Considerando todos os elementos analisados nos caules das sete espécies avaliadas foram observados maiores valores percentuais para Ca, Si e Al. Em *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) e *Pterolepis* sp. (Melastomataceae) o Ca atingiu valores de percentual relativo maiores que 50% no caule, sendo que o Si apresentou o menor valor relativo em *Pterolepis* sp. (Melastomataceae), comparado as outras espécies. Nessa espécie houve diferença significativa na distribuição do Ca entre os órgãos, sendo o percentual do caule mais que o dobro das folhas (Tabela 4).

Apenas em *Pterolepis* sp. (Melastomataceae) a abundância relativa do Al nas folhas diferiu, sendo significativamente maior que de todas as outras espécies (Tabela 4). Em relação aos demais elementos analisados, observamos que o Ca e o Si juntos perfazem mais que 50% da abundância relativa na folha da maioria das espécies analisadas. Apenas em *Pavonia* sp. (Malvaceae), *Pterolepis* sp. (Melastomataceae) e *Clitonia guianensis* (Fabaceae) os valores desses elementos nas folhas são inferiores a esse percentual (44,14%; 39,23% e 38,95%, respectivamente). Enquanto no caule, apenas em *Clitonia guianensis* (Fabaceae) e *Croton* sp. (Euphorbiaceae) os valores foram menores que 50% da abundância relativa (44,85 e 46,51%, respectivamente). O Ca é o elemento mais abundante nas folhas de quatro espécies - *Pavonia* sp. (Malvaceae), *Croton* sp. (Euphorbiaceae), *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) e *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae), enquanto o Si é o mais abundante em duas espécies - *Clitonia guianensis* (Fabaceae) e *Eriosema crinitum* (Fabaceae) e o Al em apenas uma espécie (*Pterolepis* sp.) (Tabela 4).

Com relação a sobreposição de sítios, nas espécies *Pavonia* sp. (Malvaceae), *Clitonia guianensis* (Fabaceae) e *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) houve sobreposição de Al, Si e Fe em ambos os órgãos, o mesmo ocorreu nas folhas de *Croton* sp. (Euphorbiaceae) e *Pterolepis* sp. (Melastomataceae). Na espécie *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae) observamos, sobreposição em Al e Si em toda a parte aérea e em *Pterolepis* sp. (Melastomataceae) apenas no caule. Tanto caule quanto folha da espécie *Eriosema crinitum* (Fabaceae), houve sobreposição de Al, Si e Ca, assim como no caule de *Croton* sp. (Euphorbiaceae).

### 3.4 Análise anatômica

Não foi possível estabelecer uma relação entre a estrutura foliar ou caulinar com as estratégias de acúmulo de Al nas espécies herbáceas ocorrentes no cerrado. Em todas as espécies estudadas, a epiderme tanto da folha quanto do caule, é

unisseriada, variando de células mais tabulares a mais altas e de forma geral, possui a parede periclinal externa fina (75,76%). Apenas no caule de *Deianira pallescens* (Gentianaceae) foi verificado o espessamento da parede periclinal externa e interna das células epidérmicas (Fig. 6D). A presença de papilas foi registrada em *Polygala angulata* (Polygalaceae), *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae), *Borreria* sp. 1, *Borreria latifolia* e *Borreria verticillata* (Rubiaceae) (Fig. 5A,K). Na maioria das espécies foi observada a presença de estômatos no caule (81,82%), como por exemplo em *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae) (Fig. 7K) e em *Crotalaria flavicoma* (Fabaceae) (Fig. 6F). A maioria das folhas apresentam estômatos em ambas as faces (75,76% são anfiestomáticas) como em *Deianira pallescens* (Gentianaceae) (Fig. 6C) e em *Croton* sp. (Euphorbiaceae) (Fig. 5C). Apenas 24,24% das espécies possuem folhas hipostomáticas, sendo: *Mandevilla longiflora*, *Anemopaegma arvense*, Cyperaceae 1, *Calolisianthus speciosus*, *Calolisianthus amplissimus*, *Eriosema crinitum*, *Sabicea brasiliensis*, *Borreria* sp. 1 (Fig. 5B). Tanto na folha quanto no caule a forma dos tricomas varia muito, assim como a sua densidade, localização (nervura mediana e/ou limbo foliar) tipo morfológico. Observados tricomas glandulares e tectores na maioria das espécies. Tricomas tectores estrelados ocorreram nas espécies *Pavonia* sp., *Sidastrum* sp., *Peltaea* sp. e *Sida linifolia* (Malvaceae) e em *Croton* sp. (Euphorbiaceae), (Fig. 5C), enquanto tricomas unicelulares foram observados em *Prestonia erecta* e *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae) (Fig. 5A,F) e *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) e tricomas pluricelulares em *Chrysoleaena obovata* (Asteraceae) (Fig. 5E) e *Cuphea* sp. (Lythraceae). Essas estruturas estavam localizadas apenas na face abaxial, como em *Chrysoleaena obovata* (Asteraceae) e *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae) (Fig. 5A,E), ou em ambas as faces, como em *Prestonia erecta* (Apocynaceae) e *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae). Observamos a presença de uma hipoderme no caule e na folha da espécie *Stylosanthes gracilis* (Fabaceae) e apenas no caule de *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae) (Fig. 7K).

O parênquima clorofiliano presente no mesofilo e no córtex do caule, da maioria das espécies (81,82%), apresentou algumas peculiaridades. No caule, o parênquima clorofiliano ocorreu logo abaixo da epiderme, em camada contínua, na espécie *Stylosanthes gracilis* (Fabaceae) (Fig. 6H) ou intercalado com o colênquima na espécie *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae) (Fig. 7H). Na folha, este tecido se apresenta diferenciado em parênquima paliçádico e parênquima esponjoso na grande

maioria das espécies, ou seja, o mesofilo é dorsiventral (87,88%) (Fig. 5A). Nesse mesmo órgão, o mesofilo homogêneo foi observado nas espécies Poaceae 1 (Fig. 5H), *Calolisianthus amplissimus* (Fig. 5B) e *Deianira pallescens* (Gentianaceae) (Fig. 6C), mesofilo radiado (ao redor do feixe vascular) ocorreu apenas na Cyperaceae 1 (Fig. 5D). O mesofilo isobilateral ocorreu apenas na espécie *Croton* sp. (Euphorbiaceae), (Fig. 5C). No mesofilo da espécie *Borreria verticillata* (Rubiaceae), o parênquima paliádico possui uma camada de células piramidais (coletoras), (Fig. 5K). Os feixes vasculares variam conforme o órgão e as espécies estudadas. Na folha, o feixe é colateral (Fig. 5E) em 66,67% das espécies e bicolateral (Fig. 5F) em 33,33%. Nas espécies de monocotiledôneas, Poaceae 1 e Cyperaceae 1, o feixe é colateral em ambos os órgãos (Fig. 5D,H; 7D). No caule eustélico (Fig.7 A-F), das eudicotiledôneas, o feixe colateral é predominante (67,74%), sendo que apenas 32,25% desse grupo possui feixe bicolateral.

Na folha, 21,21% das espécies não apresentaram colênquima, enquanto no caule apenas as espécies Poaceae 1, *Chrysoleaena obovata* (Asteraceae) e *Crotalaria flavicoma* (Fabaceae) não apresentaram esse tecido. O colênquima foi visualizado principalmente na nervura mediana (Fig. 5F) e na região cortical mais próximo a epiderme do caule. O esclerênquima foi observado com frequência na nervura mediana (66,67%) e no córtex dos caules (69,69%), concentrando-se próximo aos feixes vasculares (Fig. 6G), na maioria das espécies, e nas margens do limbo nas espécies *Stylosanthes gracilis* e *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae) e *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae) (Fig. 6H).

Idioblastos mucilaginosos foram encontrados em várias espécies, estando presente em 33,33% das folhas (Fig. 5G,J,L; 6A,E,G) e em 21,21% dos caules (Fig. 6B; 7F,I). Houve variação na forma e localização desses idioblastos, o quais eram alongados ou isodiamétricos, e ocorriam na epiderme do caule, em uma ou em ambas as faces foliares, hipoderme de ambos os órgãos, córtex e medula. Idioblastos com parede espessa foram encontrados na medula e córtex do caule da espécie *Chrysoleaena* sp. (Asteraceae), e braquiesclereídes nesse mesmo órgão da espécie *Chrysoleaena obovata* (Asteraceae). Já os compostos fenólicos foram observados em 36,36% das folhas (Fig. 5A,F,J) e 39,39% dos caules (Fig. 7I,K), variando quanto a quantidade e localização (córtex, medula, epiderme do caule e folha, hipoderme, parênquima clorofiliano e fundamental) entre as espécies. Por exemplo, os compostos fenólicos estavam presentes na endoderme do caule de *Pterolepis* sp.

(Fig. 7J) (Melastomataceae), e na hipoderme do caule de *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae) (Fig. 7K).

Cristais de oxalato de cálcio foram encontrados em ambos os órgãos de 51,51% das espécies, sendo que nas folhas (30,30%) e nos caules (33,33%) das espécies estudadas foram encontrados drusas (Fig. 5M). Ráfides estavam presentes nas folhas e caules das Rubiaceae *Borreria* sp. 2 (Fig. 7G) e *Borreria verticillata*, e nas folhas de *Borreria latifolia*. Monocristais foram observados nas folhas e caules das espécies *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae), *Eriosema crinitum* (Fabaceae), ou apenas nas folhas, como em *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae), ou apenas nos caules, como em *Clitonia guianensis* e *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) (Fig. 7L). Em Malvaceae, todas as espécies estudadas possuem drusas na parte aérea (Fig. 7I).

Encontramos laticíferos nas folhas da Apocynaceae *Prestonia erecta* (Fig. 5O) e canal secretor na parte aérea de *Ichthyothere cunabi* e *Riencourtia longifolia* (Fig. 5 P, 7H), ambas as espécies pertencentes a família Asteraceae. Na espécie Cyperaceae 1, uma monocotiledônea, foi observado corpos silicosos próximo aos feixes vasculares desse mesmo órgão (Fig. 5D). A outra monocotiledônea Poaceae 1 apresenta células buliformes em ambas as faces e mesofilo homogêneo com bainha incolor ao redor do feixe (Fig. 5H). Os cloroplastos do caule e folhas das espécies *Cuphea* sp. (Lythraceae) e *Camarea affinis* (Malpighiaceae) apresentaram-se mais volumosos que o das demais espécies (Fig. 5G). No caule da espécie *Camarea affinis* (Malpighiaceae) e na folha da espécie *Borreria* sp. 1 (Rubiaceae) foi observado um parênquima paravenal (Fig. 5J). A presença de emergências foi constatada nos órgãos da parte aérea da Melastomataceae *Pterolepis* sp. (Fig. 5I). Quanto a forma do caule, observamos na espécie *Polygala angulata* (Polygalaceae) o caule angular (Fig. 7A), enquanto em *Clitonia guianensis* (Leguminosae) este possui formato triangular (Fig. 7B). Já nas espécies *Pterolepis* sp. (Melastomataceae), *Borreria* sp. 1, *Borreria* sp. 2, *Borreria latifolia* e *Borreria verticillata* da família Rubiaceae o caule é quadrangular, sendo que em *B. latifolia* e *B. verticillata* apresentam aletas (Fig. 7C).

#### 4 DISCUSSÃO

O acúmulo de Al mostrou ser uma característica marcante entre plantas herbáceas de diferentes famílias botânicas do cerrado estudadas, dado que 29 espécies (87%) dentre as 33 espécies amostradas, acumularam ou hiperacumularam

esse elemento. Esse trabalho permitiu ampliar o conhecimento sobre o acúmulo de Al em plantas herbáceas nativas do cerrado, uma vez que, a maior parte dessas informações se refere as espécies arbóreas desse bioma, demonstrando que o acúmulo de Al independe do hábito da planta (Jansen et al., 2002; Haridasan, 2008; Metali et al., 2012; Malta et al., 2016). De acordo com inferências filogenéticas, a acumulação de Al é uma característica primitiva, que surgiu de forma independente diversas vezes durante a evolução (Jansen *et al.*, 2002). De fato, nós amostramos espécies acumuladoras de Al entre diferentes famílias botânicas, mostrando que possivelmente ocorreu uma evolução convergente no acúmulo do elemento.

Os dados obtidos quanto ao acúmulo de Al na parte aérea permitiram classificar as espécies *Sabicea brasiliensis*, *Borreria* sp. 1 e *Borreria verticillata*, da família Rubiaceae, como espécies acumuladoras de Al, ou seja, com concentração superior a 1 g de Al por kg<sup>-1</sup> de massa seca na parte aérea, enquanto *Borreria latifolia* e *Borreria* sp.2 foram consideradas hiperacumuladoras do metal, por possuírem mais de 10 g de Al.kg<sup>-1</sup> de matéria seca na parte aérea (Chenery, 1948). Essa família botânica é tipicamente estudada e reconhecida, já em trabalhos anteriores, como acumuladora do metal (Jansen et al. 2000, 2002).

Em nosso trabalho, todas as seis espécies estudadas da família Asteraceae (*C. obovata*, *A. foliaceae*, *I. cunabi*, *R. longifolia*, *Chrysolaena* sp.e *C. horminoides*) se destacaram por acumularem Al, característica ainda pouco apontada em pesquisas anteriores. Outras três espécies da mesma família, *Ichthyothere mollis*, *Lepidaploa barbata* e *Baccharis* sp., amostradas anteriormente por Castro (2013), na mesma área do cerrado, foram também classificadas como acumuladoras. Geoghegan e Sprent (1996) haviam classificado como acumuladora de Al apenas uma espécie herbácea não identificada de Asteraceae, no cerrado.

As duas espécies de monocotiledôneas, pertencentes às famílias Poaceae 1 e Cyperaceae 1, são acumuladoras. Entretanto, Jansen et al. (2002) afirmam que a presença de espécies de monocotiledôneas acumuladoras de Al está restrita à alguns grupos, como: *Aletris* (Liliaceae), *Spathoglottis* (Orchidaceae). Nosso estudo, portanto, amplia esses dados sobre esse grupo de plantas.

Na avaliação histoquímica, em sete das 33 espécies estudadas a inclusão das amostras em historesina foi prejudicial, uma vez que o processamento interferiu na detecção de sítios de acúmulo de Al e esses não foram identificados. Para a espécie *Chrysolaena obovata* (Asteraceae) a inclusão em historesina demonstrou ser mais

eficaz na detecção de sítios de acúmulo de Al em ambos os órgãos. Em *Polygala angulata* (Polygalaceae), *Prestonia erecta* (Apocynaceae), *Aspilia foliaceae* (Asteraceae) e *Borreria latifolia* (Rubiaceae) a inclusão foi mais eficiente na detecção dos sítios de acúmulo de Al no caule, enquanto nas espécies Poaceae 1, *Calolisianthus speciosus* (Gentianaceae), *Borreria* sp.1 (Rubiaceae) e *Borreria* sp.2 (Rubiaceae) essa técnica foi mais efetiva na folha. Isso demonstra que a técnica de processamento utilizada depende da espécie a ser estudada com predominância da não inclusão, corroborando os dados de Carvalho-Júnior (2012) que trabalhou com espécies arbustivas e arbóreas do cerrado.

Comparando-se os dados da análise química com os da histoquímica, verificamos que a intensidade de coloração com o chrome azurol S não está relacionada com a concentração de Al nos tecidos. Isso pode ser observado em *Sida linifolia* (Malvaceae) que segundo a análise química apresentou baixa concentração de Al, porém obteve reação forte com o chrome azurol S. Já em outras espécies como *Sidastrum* sp. (Malvaceae) e *Pavonia* sp. (Malvaceae), que apresentaram altas concentrações de Al, houve uma reação fraca com esse reagente. Além disso, na espécie *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae) a reação foi negativa, porém altos valores do metal estavam presentes na análise química. As diferenças observadas devem refletir a forma de complexação do Al nos diferentes tecidos.

O acúmulo preferencial de Al nas folhas (56,25%), segundo a análise química, e a parede celular de diferentes tecidos como um sítio preferencial de acúmulo do metal, nos órgãos estudados, como mostrado pelo teste histoquímico com chrome azurol S, foi verificado por outros autores para espécies arbóreas do cerrado (Bressan et al., 2016; Malta et al. 2016). As paredes celulares de natureza pecto-celulósica, como um dos principais sítios de compartimentalização do Al entre várias espécies do cerrado, podem ser decorrentes de uma composição bioquímica semelhante e compartilhada por essas espécies. No entanto essa hipótese precisa ser investigada. Sabe-se que paredes celulares ricas em substâncias pécticas são capazes de complexar mais Al, devido a presença de maior número de cargas negativas ( $\text{COO}^-$ ) (Wehr et al., 2010).

O cloroplasto de plantas acumuladoras de Al do cerrado já foi identificado anteriormente como um sítio de acúmulo do metal em algumas espécies (Cuenca et al. 1991; Andrade et al., 2011; Malta et al. 2016). No entanto, as implicações do depósito deste elemento na organela, responsável pela fotossíntese, ainda não é

compreendida (Malta et al. 2016; Santana, 2017). Castro (2013) ao estudar nove espécies de herbáceas do cerrado, relatou a presença de Al nos cloroplastos de *Borreria latifolia*. Nosso estudo avaliou um número maior de espécies e mostrou que o cloroplasto é um sítio de compartimentalização de Al em 21 espécies das 29 acumuladoras avaliadas (72,41%). A presença de Al nessa organela coloca em discussão se esse elemento é benéfico para as plantas do cerrado, dado que, para algumas espécies ele estimula a fotossíntese (Bojórquez-Quintal et al., 2017).

Verificamos a presença do Al no núcleo de células tanto da folha quanto do caule, o que gera indagações sobre o papel desempenhado por esse metal nessas espécies. Não observamos qualquer desarranjo na organização celular dos tecidos como já relatado na literatura para as raízes. Nestas o acúmulo de Al no núcleo celular tem sido apontado como responsável pela redução do crescimento, em razão da sua interferência no processo de divisão celular (Silva et al., 2000; Ezaki et al. 2013).

A detecção de Al em tricomas glandulares conforme observado, por exemplo, na espécie *Eriosema crinitum* (Fabaceae), levanta a hipótese de que o metal possa ser secretado por esses apêndices epidérmicos. A secreção do metal nos tricomas foi demonstrada para espécie herbácea acumuladora de Al *Andropogon virginicus* (Ezaki et al. 2013). Nessa espécie, este mecanismo pode contribuir para a alta tolerância dessa espécie ao elemento. A presença de Al observada também nos tricomas tectores sugere que o Al possa contribuir na inibição da herbivoria. O acúmulo de metais em folhas tem sido interpretado como uma defesa química contra herbívoros e patógenos (Pollard et al., 2000; Rathinasabapathi et al., 2007). Assim, o acúmulo de Al nas folhas, em especial na epiderme, como uma estratégia anti-herbivoria em espécies do cerrado merece investigação.

Além desses principais sítios de acúmulo de Al, observamos células mucilaginosas, em espécies das famílias Fabaceae, Lythraceae, Malpighiaceae, Malvaceae e Rubiaceae. Em Malvaceae foi uma característica presente em todas as espécies analisadas. Essa é uma forte evidência de que o elemento possa estar complexado internamente com substâncias mucilaginosas (ácidos complexos ou polissacarídeos neutros de alto peso molecular com cargas negativas) acumuladas nessas células, o que promove a imobilização do Al e evita que possíveis danos ocorram aos tecidos adjacentes (Taylor et al., 1991; Li et al., 2000). Para a folha ainda não foi demonstrada nenhuma relação de complexação do Al com mucilagem,

porém para a raiz essa é uma estratégia que tem sido considerada importante na resistência ao elemento (Poschenrieder et al., 2008; Brunner e Sperisen, 2013).

Um perfil nutricional tão variado, como o verificado nas espécies estudadas, reflete diferentes estratégias de tolerância ao Al. Por exemplo, em *Pterolepis* sp. (Melastomataceae) e *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) o valor de Ca foi alto e o de Si foi baixo, já em *Croton* sp. (Euphorbiaceae) os valores desses elementos foram semelhantes. Segundo a abundância relativa dos elementos Ca e Si no MEV-EDS, esses elementos juntos representam mais que 50% da composição química da maioria das espécies analisadas. A sobreposição dos sítios de acúmulo de Al e Si verificada através da análise de MEV-EDS, nas sete espécies avaliadas, é uma forte evidência de que estes elementos estejam formando complexos estáveis e reduzindo os efeitos prejudiciais do Al nos tecidos vegetais (Tanaka et al 1987; Hodson e Evans, 1995; Kopitikke et al. 2018). Isso, provavelmente, está relacionado com o papel benéfico do Si para muitas espécies de plantas, sob condições de estresse (Liang et al., 2015). A sobreposição de sítios de Al e Si também foi verificada por Brites et al. (2002) para folha e caule de *Faramea marginata* (Rubiaceae) sendo sugerida a hipótese de que ocorra a formação de complexos Al-Si e que estes contribuam para a detoxificação interna de Al. Essa mesma hipótese também é considerada para outras espécies de Rubiaceae (Jansen et al., 2003).

A concentração de cálcio mais elevada entre as espécies, principalmente nas hiperacumuladoras, bem como a presença desse elemento em diversas estruturas do caule e da folha, como cristais, drusas, ráfides e monocristais, sugere que o cálcio atue aliviando os efeitos que poderiam ser causados pelo Al. Rahman et al. (2018) apontam que o Ca promove um deslocamento do Al na superfície da membrana plasmática através de um efeito eletrostático que, conseqüentemente, promove a restauração do Ca na superfície celular. Schmitt et al. (2016) sugeriram que o cálcio desempenha um papel no acúmulo de Al nas espécies de *Symplocos*.

Nas espécies acumuladoras de Al estudadas os níveis de Fe foram altos, enquanto nas não acumuladoras de Al os valores de Fe foram mais baixos. A quantidade de Fe encontrada nas plantas acumuladoras de Al é considerada tóxica para a maioria das plantas cultivadas, porém as plantas nativas do cerrado não parecem ser afetadas pelos altos valores desse elemento. Mesmo acumulando altos teores de Fe, o acúmulo de Al foi superior em muitas espécies acumuladoras desse metal como *Pterolepis* sp (Malastomataceae), *Calolisianthus amplissimus*

(Gentianaceae), *Chrysolaena obovata* (Asteraceae) e *Borreria* sp. 1 (Rubiaceae). Watanabe et al. (2006) concluíram, em seus estudos, que a espécie *Melastoma malabathricum* tem os mecanismos de tolerância interna de Al, inclusive usando o Al para evitar a toxicidade causada pelo Fe, permitindo que esta planta se distribua como uma espécie dominante em solos ácidos. Por outro lado, Bitvutskii et al. (2017) consideram que o Al pode interagir negativamente com a absorção ou transporte de Fe provocando sua deficiência. Em nosso estudo, não houve deficiência de Fe, uma vez que a maioria das espécies acumularam este elemento acima do nível considerado tóxico para as plantas cultivadas ( $500 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) (Marschner, 1995).

Os baixos valores de P e Mg entre a maioria das espécies amostradas, indicam que o Al pode estar complexando e competindo, respectivamente, com esses elementos. Conforme Bose et al. (2011), tanto os íons de  $\text{Al}^{3+}$  quanto  $\text{Mg}^{2+}$  têm raios hidratados semelhantes, dessa forma, os íons  $\text{Al}^{3+}$  competem por canais catiônicos permeáveis ao  $\text{Mg}^{2+}$ , transportadores de membrana e enzimas. Em *Arabidopsis* tipo selvagem (Col-0), foi mostrado que o aumento nas dosagens de Al (100 e  $500 \mu\text{M AlCl}_3$ ) levaram a uma redução da concentração de intracelular de  $\text{Mg}^{2+}$ , devido principalmente a uma diminuição do influxo causado pela inibição do Al aos canais catiônicos da membrana plasmática (Bose et al. 2013). O P é naturalmente um elemento de baixa concentração em solos do cerrado, somado a isso, o Al e o P podem se associar formando complexos Al-P, tornando o P indisponível para as plantas (Bose et al, 2015).

A estrutura anatômica dos órgãos das espécies estudadas foi analisada e não foi possível identificar nenhuma relação entre a anatomia das plantas e o fato de a planta ser acumuladora ou não acumuladora de Al, uma vez que esses grupos compartilham características em comum não existindo, portanto, um padrão anatômico com características peculiares dentro de cada grupo, o qual pudesse estar relacionada com a capacidade de acumular ou não o Al. Os caracteres anatômicos refletem muito mais características compartilhadas dentro de uma mesma família, como a ocorrência de tricomas estrelados em Malvaceae, a presença de ráfides em Rubiaceae e a presença de estrutura secretora em Asteraceae, do que um padrão entre as diferentes estratégias das plantas à presença do Al. De modo geral, os caracteres anatômicos marcantes observados entre as espécies deste estudo, como a epiderme e cutícula espessas, densa pilosidade, hipoderme desenvolvida, mesofilo dorsiventral, células esclerificadas, mucilagem, presença de cristais e tecidos vasculares

circundados por fibras, dentre outros, mostra que as espécies herbáceas apresentam características escleromórficas, assim como as espécies arbóreas, devido ao ambiente com baixo teor de nutrientes, suprimento hídrico irregular, bem como a acidez do solo e a radiação excessiva devido à alta luminosidade (Filgueiras 2002, Munhoz e Felfili 2007, Appezzato-da-Glória et al. 2008, Medeiros e Miranda 2008, Bieras e Sajo 2009).

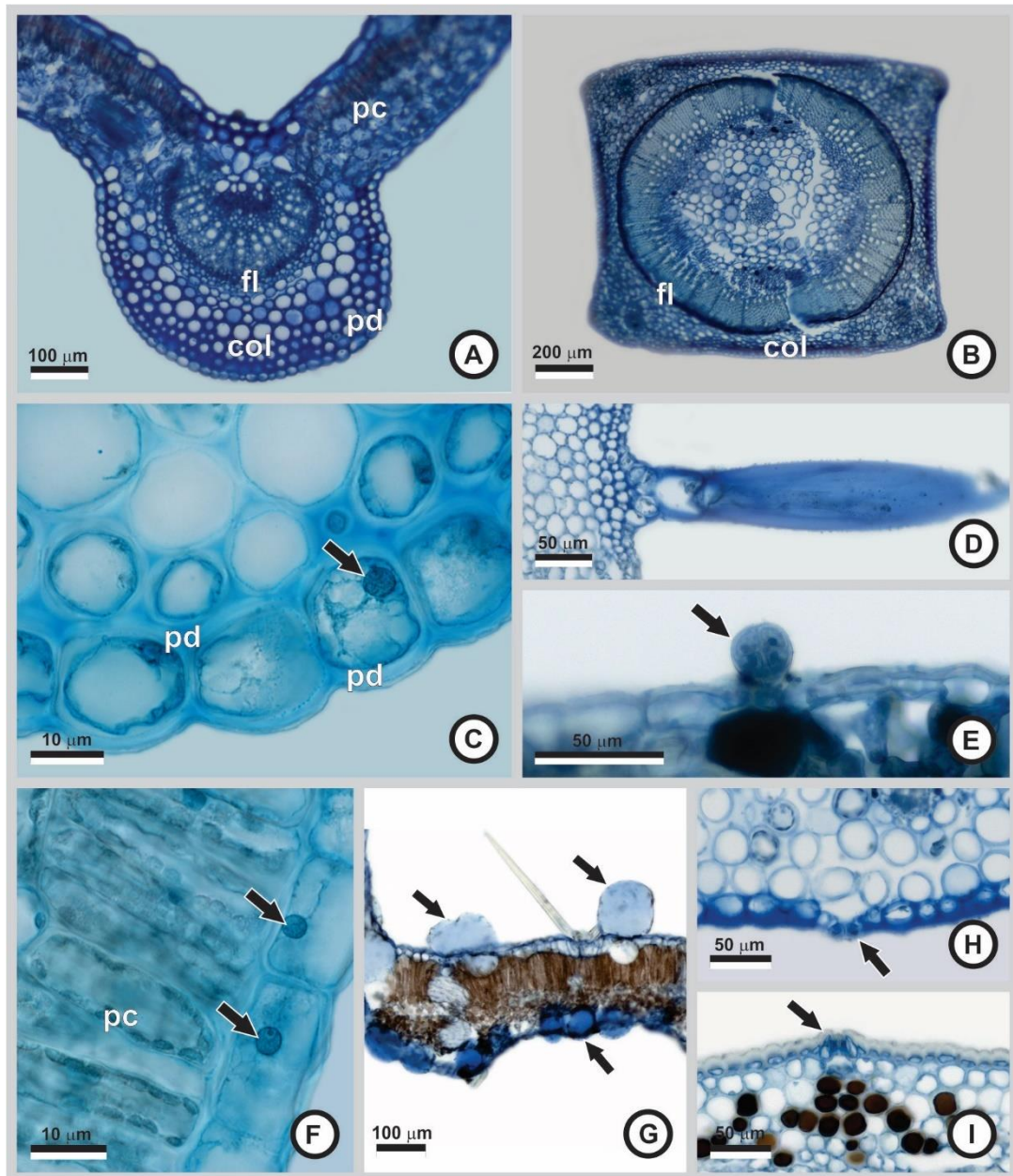
## **5 CONCLUSÃO**

No nosso trabalho a estratégia predominante entre as espécies herbáceas do cerrado é o acúmulo de Al, que ocorreu principalmente na folha. Não foi possível encontrar um padrão para o perfil químico e anatômico de espécies acumuladoras e não acumuladoras de Al, pois os caracteres anatômicos estão mais associados as famílias/táxons e nas características adaptativas dessas espécies devido ao ambiente com baixo teor de nutrientes, suprimento hídrico irregular, bem como a acidez do solo e a alta luminosidade. No teste com chrome azulol S, na grande maioria das vezes, os materiais não incluídos em historesina foram melhores para identificar a presença do Al, ao revelar maior número de sítios de acúmulo do metal. Além disso, a intensidade de coloração do chrome azulol S também foi melhor no material não incluído em historesina, sendo que esta não reflete a concentração de Al nos tecidos. Em espécies hiperacumuladoras os teores de Ca e/ou Si, com a sobreposição de sítios, sugere que tais elementos estão se complexando e dessa forma, aliviando o efeito deletério do Al nessas espécies; permitindo que essas plantas acumulem teores elevados do metal sem que o mesmo cause fitotoxidez. A análise química foi essencial para diferir as espécies acumuladoras das não acumuladoras do metal. O MEV- EDS e a análise química revelaram a presença do Al em espécies onde este elemento não havia sido detectado pelo teste histoquímico. Assim, para melhor interpretação dos resultados o uso das três técnicas é recomendado.

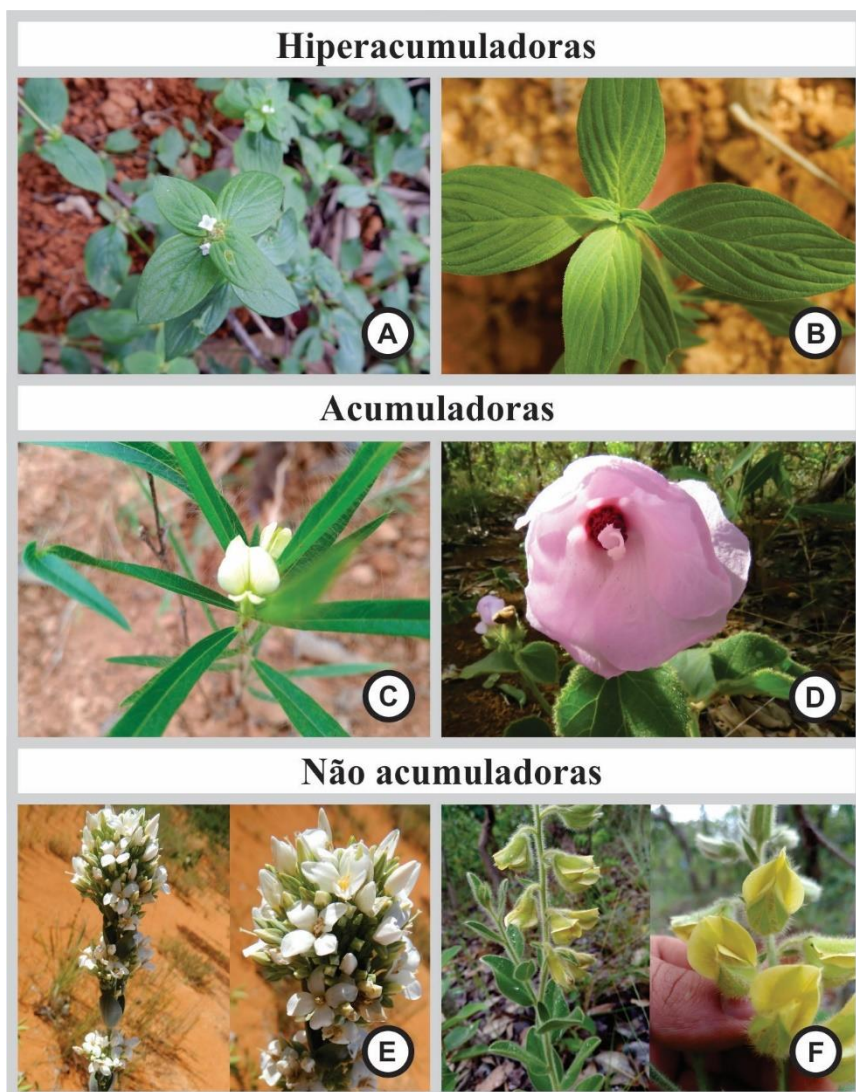
## 6 FIGURAS E TABELAS



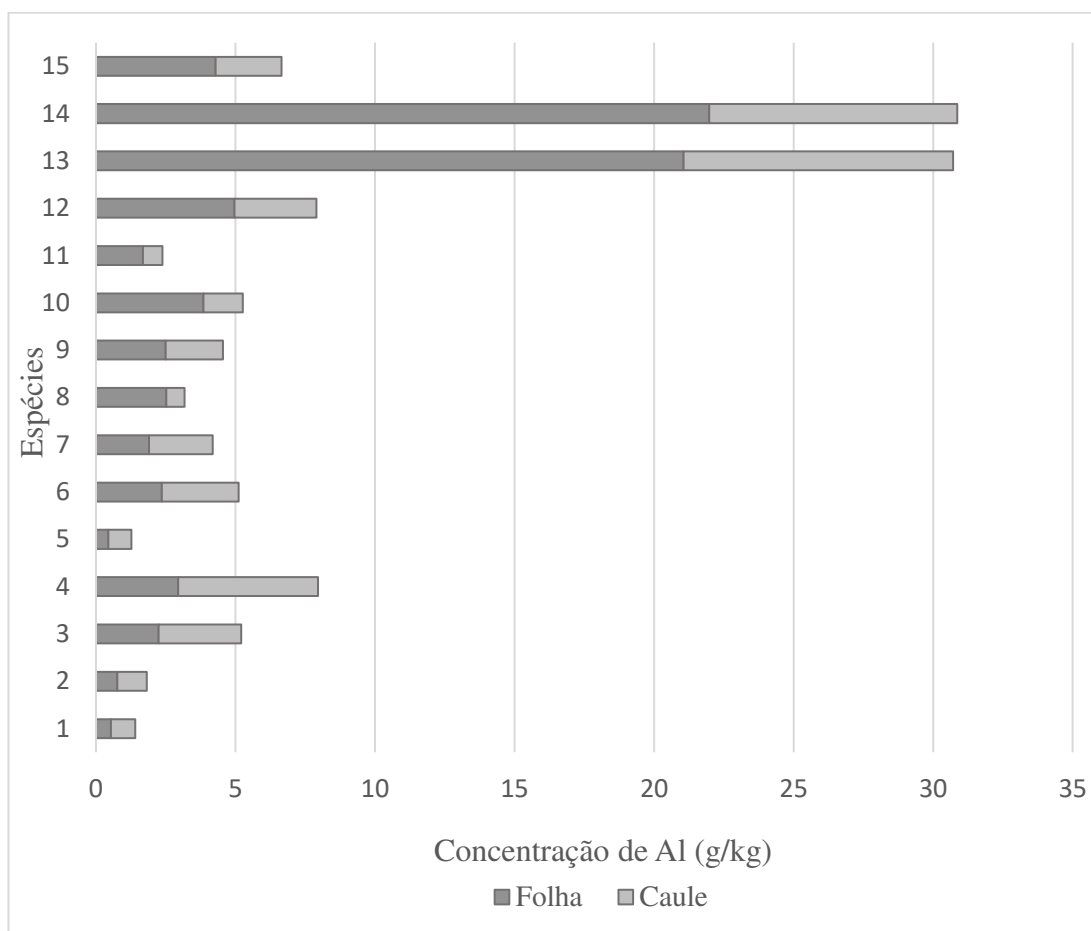
**Figura 1:** Teste histoquímico para localização do Al na nervura mediana da folha de *Clitonia guianensis* (Fabaceae). A-B = material não incluído; C-D = material incluído em metacrilato. O resultado positivo para a presença do Al é indicado pela cor azul (chrome azurol S).



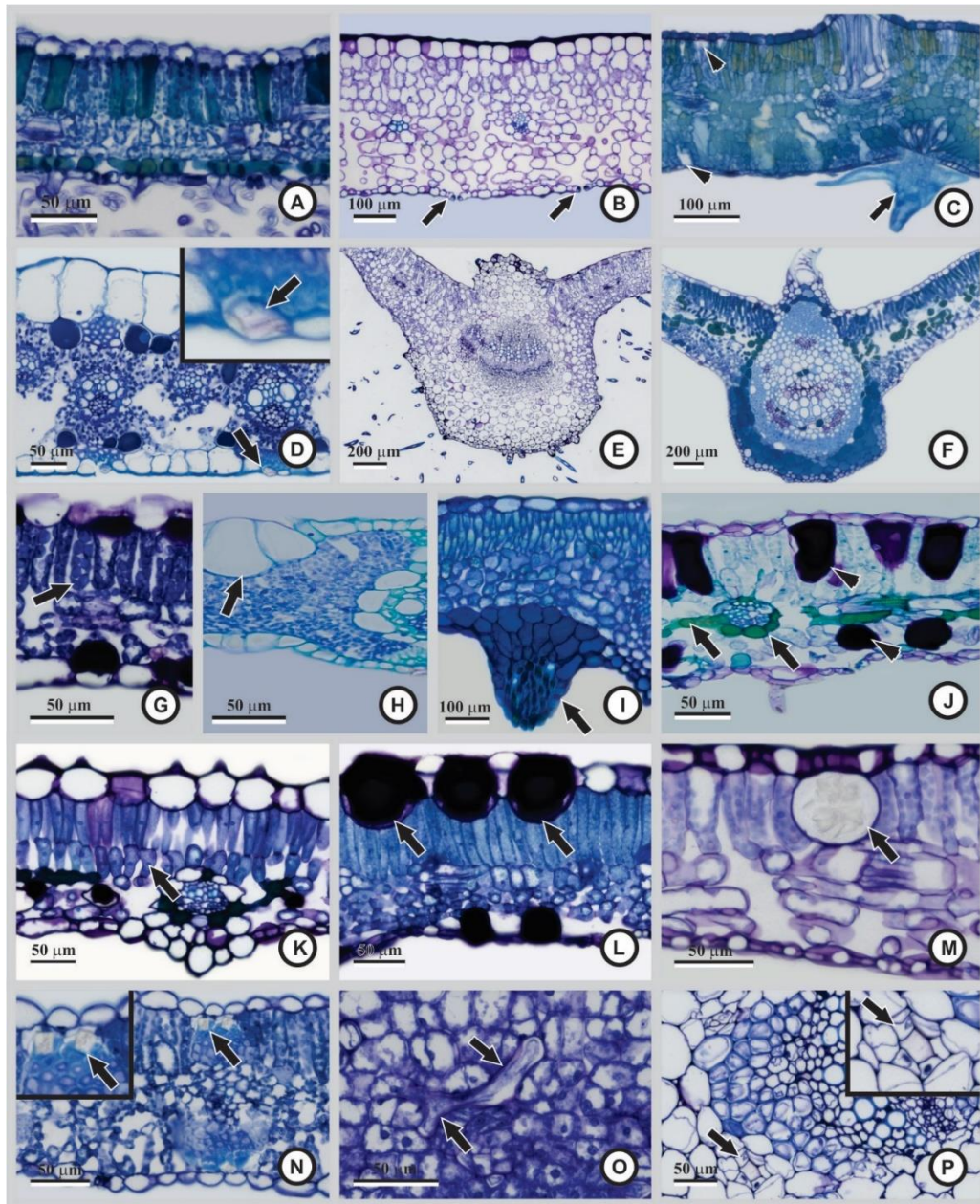
**Figura 2:** Sítios de acúmulo de alumínio em espécies herbáceas do cerrado (Histolocalização mediante reação positiva azul com Chrome Azurol S), **A, C, E, F e I** – folhas; **B e D** – caule. **A -B** – Visão geral da folha e caule de *Pterolepis* sp. (Melastomataceae), respectivamente. **C e F** – *Pavonia* sp. (Malvaceae), **C** – núcleos (seta) e paredes coradas, **F** – núcleos e cloroplastos corados. **D-E** – Tricomas corados, **D** – *Aspilia foliaceae* (Asteraceae), **E**– *Eriosema crinitum* (Fabaceae). **G** – *Peltaea* sp. (Malvaceae), idioblastos mucilaginosos corados e **H** – *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae) com células epidérmicas e células-guarda coradas. **I** – *Clitonia guianensis* (Fabaceae) com paredes pecto-celulósicas coradas e parede cutinizada sem reação positiva. Fl = Floema; col = colênquima; pd = parede celular; pc = parênquima clorofiliano.



**Figura 3:** Espécies herbáceas do Cerrado com diferentes estratégias em relação ao alumínio. **A-B** = espécies hiperacumuladoras; **C-D** = acumuladoras e **E-F** = não acumuladoras. **A** – *Borreria* sp2. (Rubiaceae), **B** – *Borreria latifolia* (Rubiaceae), **C** – *Eriosema crinitum* (Fabaceae), **D** – *Pavonia* sp. (Malvaceae), **E** – *Deianira pallescens* (Gentianaceae), **F** – *Crotalaria flavicoma* (Fabaceae).

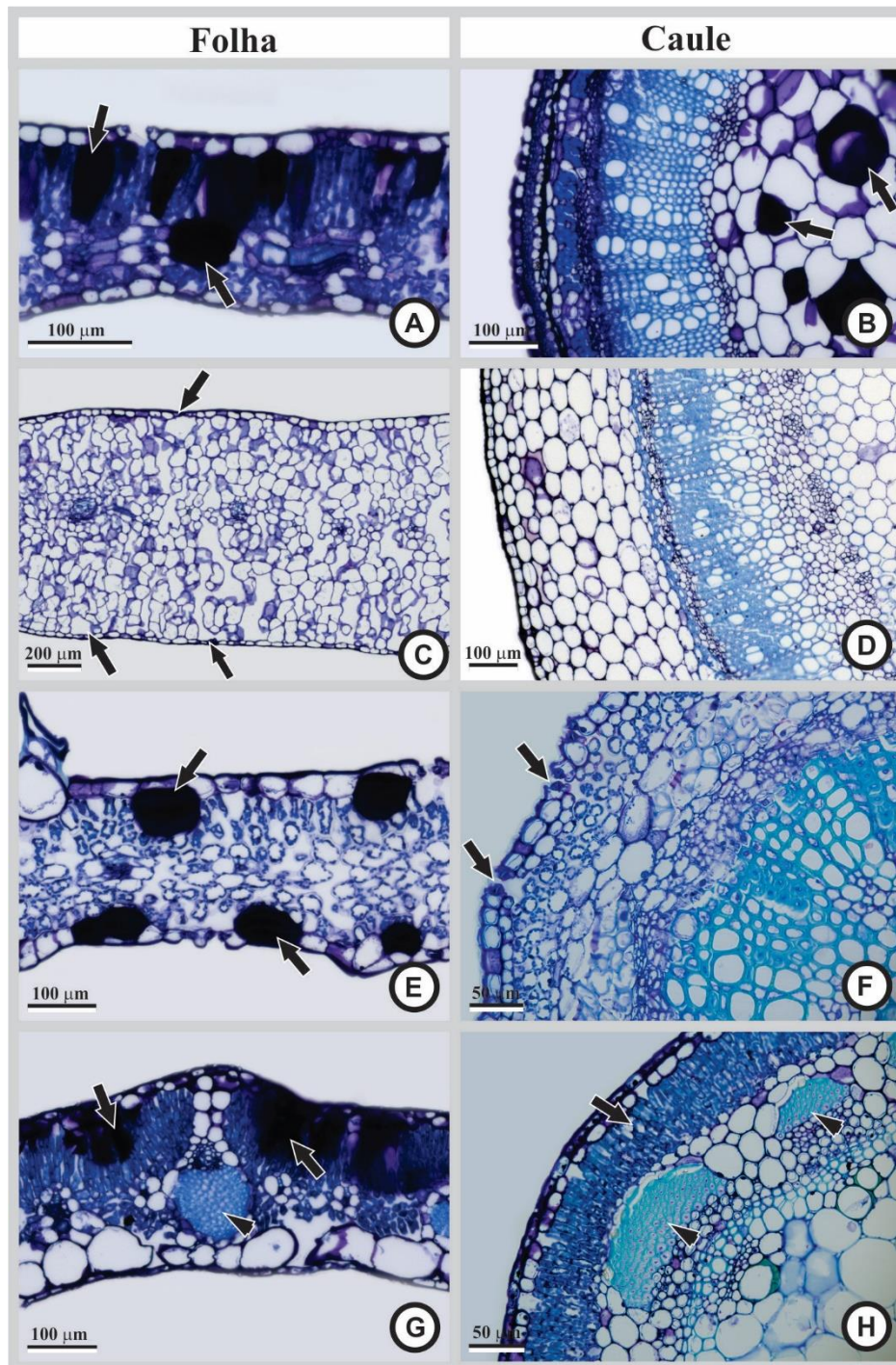


**Figura 4:** Concentração de alumínio na parte aérea de espécies herbáceas do cerrado e partição deste elemento entre caule e folhas. 1 – *Polygala angulata* (Polygalaceae), 2 – *Croton* sp. (Euphorbiaceae), 3 – *Pavonia* sp. (Malvaceae), 4 – *Sidastrum* sp. (Malvaceae), 5 – *Clitonia guianensis* (Fabaceae), 6 – *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae), 7 – *Riencourtia longifolia* (Asteraceae), 8 – *Chromolaena horminoides* (Asteraceae), 9 – *Calolisianthus speciosus* (Gentianaceae), 10 – *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae), 11 – *Sabiceae brasiliensis* (Rubiaceae), 12 – *Borreria* sp.1 (Rubiaceae), 13 – *Borreria* sp.2 (Rubiaceae), 14 – *Borreria latifolia* (Rubiaceae), 15 – *Borreria verticillata* (Rubiaceae).



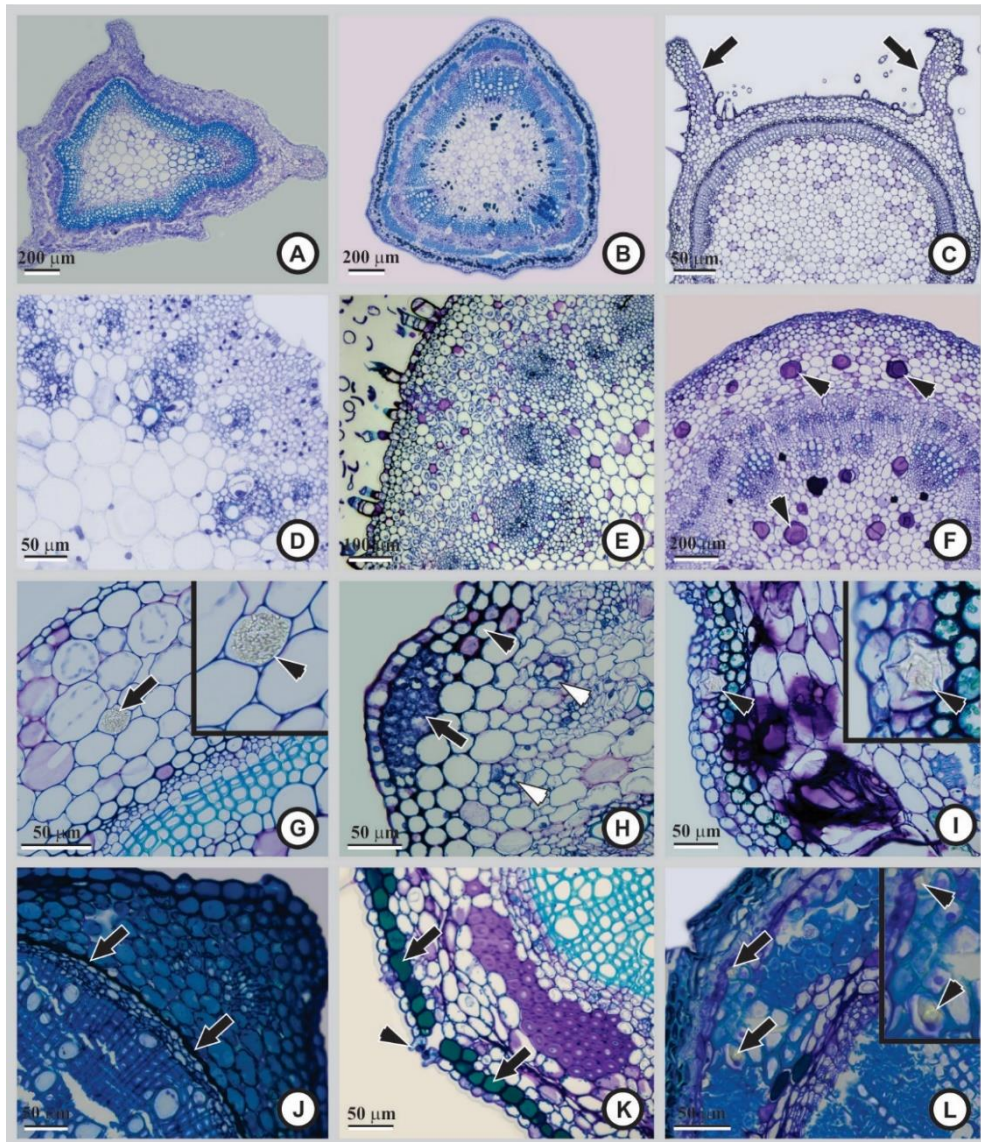
**Figura 5:** Variações na estrutura foliar de espécies herbáceas do Cerrado acumuladoras de Al (cortes transversais- microscopia de luz em azul de toluidina). **A** - *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae). Células epidérmicas papilosas, mesofilo dorsiventral, folha hipoestomática, tricomas unicelulares na face abaxial. **B** - *Calolisianthus amplissimus* (Gentianaceae). Mesofilo homogêneo, folha hipoestomática (estômatos nas setas). **C** - *Croton* sp. (Euphorbiaceae). Mesofilo isobilateral, tricomas tectores ramificados, folha anfiestomática (estômatos nas setas). **D** - Cyperaceae 1. Mesofilo radiado, anatomia Kranz, corpos silicosos (seta e maior aumento) próximo ao feixe vascular. **E** - Nervura mediana de *Chrysoleaena obovata* (Asteraceae), evidenciando feixe colateral, colênquima e tricomas tectores. **F** - Nervura mediana de *Eriosema crinitum* (Fabaceae), feixe biclateral, colênquima, esclerênquima, tricoma e idioblastos fenólicos. **G** - Cloroplastos volumosos e idioblastos mucilaginosos em *Cuphea* sp. (Lythraceae). **H** - Células buliformes e mesofilo homogêneo radiado em Poaceae 1. **I** - Emergência foliar em *Pterolepis* sp. (Melastomataceae). **J** - Parênquima paravenal em *Borreria* sp. 1 (Rubiaceae) e idioblastos mucilaginosos. **K** - Parênquima paliçádico com células coletoras em *Borreria verticillata* (Rubiaceae). **L** - Idioblastos mucilaginosos em *Peltaea* sp. (Malvaceae). **M** - Drusa (seta) em *Borreria* sp. 2 (Rubiaceae). **N** - Monocristais (seta) em

*Chamaecrista ramosa* (Fabaceae). **O** – Laticífero em *Prestonia erecta* (Apocynaceae). **P** – Canal secretor (seta e maior aumento) em *Riencourtia longifolia* (Asteraceae).



**Figura 6:** Variação na estrutura de caule e folha de plantas herbáceas do cerrado não acumuladoras de Al (cortes transversais- microscopia de luz em azul de toluidina). **A-B** – *Sida linifolia* (Malvaceae), mostrando a presença de idioblastos mucilaginosos em ambos os órgãos (setas); **C-D** – *Deianira pallescens* (Gentianaceae), **C** - mesofilo homogêneo e folha anfiestomática, **D** - espessamento da parede periclinal externa e interna das células epidérmicas; **E-F** – *Crotalaria flavicoma* (Fabaceae), **E** – idioblastos mucilaginosos (setas), **F** – estômatos no caule (setas); **G-H** – *Stylosanthes gracilis* (Fabaceae), **G** – idioblastos mucilaginosos (setas) e calota de fibras próxima ao feixe vascular

(cabeça de seta), **H** – camada contínua de parênquima clorofiliano abaixo da epiderme (setas) e calota de fibras na região cortical próximo aos feixes vasculares (cabeça de seta) .



**Figura 7:** Estrutura caular das espécies herbáceas do Cerrado acumuladoras de Al (cortes transversais - microscopia de luz em azul de toluidina). **A** – Caule angular de *Polygala angulata* (Polygalaceae). **B** – Caule triangular em *Clitonia guianensis* (Fabaceae). **C** – Caule quadrangular com aletas (setas) em *Borreria latifolia* (Rubiaceae). **D** – Estelo do tipo atactostelo e feixe vascular colateral na Poaceae 1. **E** - *Chrysolaena obovata* (Asteraceae), estelo do tipo eustelo. **F** - Idioblastos mucilaginosos (setas) em *Pavonia* sp. (Malvaceae). **G** - Ráfides (setas) em *Borreria* sp. 2 (Rubiaceae). **H** – Detalhe do caule de *Riencourtia longifolia* (Asteraceae) com parênquima clorofiliano intercalado com colênquima (setas pretas), canais secretores (setas brancas). **I** – Córtex do caule de *Peltaea* sp. (Malvaceae) mostrando idioblastos mucilaginosos, esclerênquima, idioblasto com composto fenólico e drusa (setas). **J** - *Pterolepis* sp. (Melastomataceae) evidenciando compostos fenólicos na endoderme (seta). **K** - *Mandevilla longiflora* (Apocynaceae) com estômato (cabeça de seta) e hipoderme com compostos fenólicos (seta). **L** – Monocristais (seta) em *Eriosema crinitum* (Fabaceae).

**Tabela 1:** Espécies herbáceas do cerrado da FLONA de Paraopeba, analisadas quanto as respostas ao Al.

<b>Família</b>	<b>Espécies</b>
Apocynaceae	<i>Mandevilla longiflora</i> <i>Prestonia erecta</i>
Asteraceae	<i>Aspilia foliaceae</i> <i>Chromolaena horminoides</i> <i>Chrysolaena obovata</i> <i>Chrysolaena</i> sp. <i>Ichthyothere cunabi</i> <i>Riencourtia longifolia</i>
Bignoniaceae	<i>Anemopaegma arvense</i>
Cyperaceae	Cyperaceae 1
Euphorbiaceae	<i>Croton</i> sp.
Fabaceae	<i>Chamaecrista ramosa</i> <i>Clitonia guianensis</i> <i>Crotalaria flavicoma</i> <i>Eriosema crinitum</i> <i>Stylosanthes gracilis</i>
Gentianaceae	<i>Calolisianthus amplissimus</i> <i>Calolisianthus speciosus</i> <i>Deianira pallescens</i>
Lythraceae	<i>Cuphea</i> sp.
Malvaceae	<i>Pavonia</i> sp. <i>Peltaea</i> sp. <i>Sida linifolia</i> <i>Sidastrum</i> sp.
Malpighiaceae	<i>Camarea affinis</i>
Melastomataceae	<i>Pterolepis</i> sp.
Poaceae	Poaceae 1
Polygalaceae	<i>Polygala angulata</i>
Rubiaceae	<i>Borreria</i> sp.1 <i>Borreria</i> sp.2 <i>Borreria latifolia</i> <i>Borreria verticillata</i> <i>Sabicea brasiliensis</i>

**Tabela 2.** Número de sítios de acúmulo de alumínio, detectado com chrome azurol S, em material incluído e não incluído em historesina das espécies herbáceas do cerrado.

Espécies	Órgão	Técnica		Intensidade de coloração
		Incluído	Não Incluído	
<i>Polygala angulata</i>	Folha	4	7	+
	Caule	8	7	
<i>Pavonia</i> sp.	Folha	8	9	+
	Caule	9	10	
<i>Prestonia erecta</i>	Folha	8	11	++
	Caule	9	8	
<i>Chrysolaena obovata</i>	Folha	9	8	+
	Caule	9	7	
<i>Clitonia guianensis</i>	Folha	4	7	+
	Caule	6	8	
<i>Croton</i> sp.	Folha	0	0	-
	Caule	0	0	
<i>Sidastrum</i> sp.	Folha	0	9	+
	Caule	0	10	
<i>Mandevilla longiflora</i>	Folha	0	0	-
	Caule	0	0	
<i>Aspilia foliaceae</i>	Folha	6	6	++
	Caule	8	7	
<i>Ichthyothere cunabi</i>	Folha	1	9	+
	Caule	1	9	
<i>Cuphea</i> sp.	Folha	0	8	++
	Caule	0	10	
<i>Camarea affinis</i>	Folha	3	6	+
	Caule	0	5	
<i>Riencourtia longifolia</i>	Folha	3	7	+
	Caule	4	9	
<i>Chrysolaena</i> sp.	Folha	7	8	+
	Caule	7	8	
<i>Stylosanthes gracilis</i>	Folha	0	6	+
	Caule	0	5	
<i>Peltaea</i> sp.	Folha	0	6	+
	Caule	0	6	
<i>Anemopaegma arvense</i>	Folha	5	7	+
	Caule	5	8	
Poaceae 1	Folha	8	5	++
	Caule	5	5	
<i>Chamaecrista ramosa</i>	Folha	0	4	+
	Caule	0	6	
<i>Eriosema crinitum</i>	Folha	0	7	+
	Caule	0	6	
<i>Sabicea brasiliensis</i>	Folha	0	5	+
	Caule	0	8	
Cyperaceae 1	Folha	0	5	+
	Caule	ND	ND	
<i>Crotalaria flavicoma</i>	Folha	5	7	+
	Caule	5	8	
<i>Calolisianthus speciosus</i>	Folha	7	6	++
	Caule	7	7	
<i>Deianira pallescens</i>	Folha	6	6	+
	Caule	7	7	

<i>Borreria</i> sp. 1	Folha	8	7	++
	Caule	8	8	
<i>Calolisianthus amplissimus</i>	Folha	5	6	++
	Caule	6	7	
<i>Borreria</i> sp. 2	Folha	8	7	++
	Caule	8	8	
<i>Sida linifolia</i>	Folha	7	9	++
	Caule	ND	9	
<i>Borreria latifolia</i>	Folha	8	8	++
	Caule	8	7	
<i>Borreria verticillata</i>	Folha	6	10	++
	Caule	5	9	
<i>Pterolepis</i> sp.	Folha	8	9	++
	Caule	10	8	
<i>Chromolaena horminoides</i>	Folha	7	8	++
	Caule	4	9	

\*Positiva forte (++); Positiva fraca (+); Negativa (-) / ND = Não disponível

**Tabela 3** – Quantificação de nutrientes e Al da parte aérea de espécies herbáceas do cerrado da FLONA de Paraopeba.

Família	Espécies	N (g.kg <sup>-1</sup> )	P (g.kg <sup>-1</sup> )	K (g.kg <sup>-1</sup> )	Ca (g.kg <sup>-1</sup> )	Mg (g.kg <sup>-1</sup> )	Fe (g.kg <sup>-1</sup> )	Al (g.kg <sup>-1</sup> )
Polygalaceae	1	38,6	1,3	9,5	3,2	2,1	1,40	1,42
Euphorbiaceae	2	21,2	0,9	18,6	8,9	4,8	1,10	1,82
Melastomataceae	3	9,0	0,3	3,9	3,4	1,0	1,67	7,93
	4	11,4	0,4	11,6	10,3	1,4	0,54	0,81
	5	9,6	0,3	3,2	5,2	0,9	1,24	1,69
Fabaceae	6	12,1	0,4	13,2	1,7	2,5	0,33	0,37
	7	29,0	1,0	10,8	6,6	1,9	1,45	1,26
	8	13,6	0,4	5,0	4,7	1,7	1,46	1,53
Apocynaceae	9	11,1	0,8	20,6	4,9	2,0	1,00	1,40
	10	17,6	0,9	17,6	5,6	4,8	3,36	5,11
Lythraceae	11	9,7	0,6	9,0	11,9	2,8	2,18	3,58
	12	27,5	1,3	34,3	6,7	5,2	3,84	5,20
Malvaceae	13	25,3	0,9	21,1	10,9	6,5	5,42	7,96
	14	14,1	0,6	9,1	8,8	3,1	1,82	2,68
	15	39,3	1,1	23,1	21,9	6,3	0,58	0,87
	16	34,8	1,3	11,1	2,4	2,3	2,40	4,55
Gentianaceae	17	15,0	0,7	38,8	1,1	1,3	0,20	0,24
	18	22,9	1,1	21,0	4,6	1,6	0,86	5,26
	19	18,1	0,9	22,9	8,1	3,7	1,90	3,21
	20	7,4	0,5	13,0	4,0	1,9	3,95	6,98
Asteraceae	21	9,6	0,05	20,2	3,4	3,6	1,41	2,24
	22	26,7	1,0	37,7	24,0	5,3	2,37	4,18
	23	12,5	0,5	20,3	4,6	2,4	1,30	1,34
	24	18,4	0,7	28,3	12,8	4,4	2,08	3,17
Bignoniaceae	25	17,3	0,9	4,9	3,5	1,8	1,17	1,82
Poaceae	26	7,4	0,3	5,8	0,7	0,9	1,59	1,90
Malpighiaceae	27	11,6	0,4	1,06	4,9	2,7	1,26	1,58
Cyperaceae	28	4,2	0,2	0,92	1,0	1,2	1,14	1,39
	29	16,2	0,8	1,53	4,7	2,6	1,51	2,38
	30	22,2	1,2	1,72	13,8	5,6	4,33	7,90
Rubiaceae	31	56,7	2,5	3,84	34,7	3,5	1,41	30,72
	32	43,9	1,5	2,95	23,0	2,7	1,77	30,86
	33	38,5	1,6	4,20	25,4	3,5	3,27	6,65

**Legenda:** 1 - *Polygala angulata*, 2 - *Croton* sp, 3 - *Pterolepis* sp., 4 - *Stylosanthes gracilis* 5- *Chamaecrista ramosa*, 6 - *Crotalaria flavicomis*, 7 - *Clitonia guianensis*, 8 - *Eriosema crinitum*, 9 - *Prestonia erecta*, 10 - *Mandevilla longiflora*, 11 - *Cuphea* sp., 12 - *Pavonia* sp., 13 - *Sidastrum* sp., 14 - *Peltaea* sp., 15 - *Sida linifolia*, 16 - *Calolisianthus speciosus*, 17 - *Deianira pallescens*, 18 - *Calolisianthus amplissimus*, 19 - *Chrysolaena obovata*, 20 - *Aspilia foliacea*, 21 - *Ichthyothere cunabi*, 22 - *Riencourtia longifolia*, 23 - *Chrysolaena* sp., 24 - *Chromolaena horminoides*, 25 - *Anemopaegma arvense*, 26 - Poaceae 1, 27 - *Camarea affinis*, 28 - Cyperaceae 1, 29 - *Sabicea brasiliensis*, 30 - *Borreria* sp. 1, 31 - *Borreria* sp.2, 32 - *Borreria latifolia*, 33 - *Borreria verticillata*.

**Tabela 4.** Abundância relativa (%) de nutrientes, determinada por MEV/EDS, no caule e na folha de espécies herbáceas do cerrado da FLONA de Paraopeba.

Caule

Elementos	Espécies						
	<i>Pavonia</i> sp.	<i>Clitonia guianensis</i>	<i>Croton</i> sp.	<i>Eriosema crinitum</i>	<i>Sabicea brasiliensis</i>	<i>Calolisianthus amplissimus</i>	<i>Pterolepis</i> sp.
Mg	8,02±0,85 Aab	8,82±0,38 Bab	10,23±1,49 Aa	8,77±0,68 Aabc	6,93±1,01 Abc	7,11±0,63 Abc	5,03±1,45 Ac
Al	17,32±1,84 Aa	22,22±2,17 Aa	19,87±5,31 Aa	19,14±2,51 Aa	11,23±3,76 Aa	18,36±3,14 Aa	15,01±7,10 Ba
Si	23,15±2,87 Aa	25,97±1,68 Aa	22,95±4,49 Aa	22,05±5,59 Ba	17,05±5,79 Aab	20,88±6,49 Aa	7,39±2,23 Ab
P	10,50±5,75 Bab	16,19±3,32 Ba	14,52±4,20 Aab	10,11±1,66 Aab	5,34±0,33 Bab	10,38±6,05 Aab	4,16±2,90 Bb
Ca	32,55±6,62 Abc	18,88±3,29 Ab	23,56±7,98 Ab	32,59±3,57 Abc	55,85±10,75 Aac	35,80±7,54 Abc	65,13±14,06 Aa
Mn	1,70±0,47 Aab	1,47±1,12 Aab	3,07±1,45 Aa	1,05±0,28 Aab	0,81±0,26 Ab	1,19±0,29 Aab	0,92±0,55 Ab
Fe	6,76±0,33 Aa	6,45±1,24 Aab	5,79±1,61 Aab	6,28±1,66 Aab	2,78±0,81 Aab	6,27±3,02 Aab	2,34±0,33 Ab

Folha

Elementos	Espécies						
	<i>Pavonia</i> sp.	<i>Clitonia guianensis</i>	<i>Croton</i> sp.	<i>Eriosema crinitum</i>	<i>Sabicea brasiliensis</i>	<i>Calolisianthus amplissimus</i>	<i>Pterolepis</i> sp.
Mg	9,24±0,58 Aa	10,68±0,72 Aa	9,39±6,74 Aa	5,11±1,90 Ba	6,97±1,38 Aa	5,90±0,92 Aa	4,23±0,98 Aa
Al	15,89±3,25 Aa	18,67±1,08 Aa	14,26±4,00 Aa	10,80±3,64 Ba	13,24±0,81 Aa	21,89±4,54 Aa	42,23±10,14 Ab
Si	13,82±1,48 Bbc	25,48±6,68 Ab	22,49±1,50 Abc	43,67±11,22 Aa	18,53±4,93 Abc	11,26±3,06 Abc	9,67±2,15 Ac
P	26,52±3,57 Aa	21,46±4,66 Aab	14,15±11,41 Aab	11,19±3,80 Ab	11,89±1,78 Ab	13,13±1,69 Abc	10,87±1,00 Ab
Ca	30,32±7,97 Ab	13,47±3,48 Ab	35,15±20,91 Ab	25,54±4,19 Ab	45,65±4,54 Aa	43,33±9,65 Ab	29,56±7,27 Ba
Mn	0,81±0,29 Ba	1,54±0,81 Aa	1,39±0,74 Aa	0,52±0,20 Aa	0,55±0,11 Aa	0,58±0,25 Ba	0,79±0,45 Aa
Fe	3,38±1,53 Ba	8,69±5,50 Aa	3,16±0,55 Aa	3,16±0,24 Ba	3,16±0,04 Aa	3,90±1,90 Aa	2,63±1,38 Aa

\*Média ± desvio padrão. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas compararam entre órgãos (folha e caule) e letras minúsculas compararam entre as espécies. Mg: Magnésio; Al: Alumínio; Si: Silício; P: Fósforo; Ca: Cálcio; Mn: Manganês; Fe: Ferro

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L. R. M.; BARROS L. M. G.; ECHEVARRIA, G. F.; AMARAL, L. I. V.; COTTA, M. G.; ROSSATTO, D. R.; HARIDASAN, M; FRANCO, A.C. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. *Environmental and Experimental Botany*, v. 70, p. 37-42, 2011.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. G.; CURY, M. K. M.; SOARES, ROCHA, R.; and HAYASHI, A. H. Underground systems of Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. *Journal of the Torrey Botanical Society*, v. 135, p. 103–113, 2008.

BIERAS, A. C.; SAJO, M. C. Leaf structure of the cerrado (Brazilian savanna) woody plants. *Trees*, v. 23, p. 451–471, 2009.

BITYUTSKII, N. P.; YAKKONEN, K. L.; PETROVA, A. I.; SHAVARDA, A. L. Interactions between aluminium, iron and silicon in *Cucumber sativus* L. grown under acidic conditions. *Journal of Plant Physiology*, v. 218, p. 100–108, 2017.

BOJÓRQUEZ-QUINTAL, E.; ESCALANTE-MAGAÑA, C.; ECHEVARRÍA-MACHADO, I.; MARTÍNEZ ESTÉVEZ, M. Aluminum, a Friend or Foe of Higher Plants in Acid Soils. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, p.1-18, 2017.

BOSE, J.; BABOURINA, O.; RENGEL, Z. Role of magnesium in alleviation of aluminium toxicity in plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 62, p. 2251–2264, 2011.

BOSE, J.; BABOURINA, O.; SHABALA, S.; RENGEL, Z. Low-pH and aluminium resistance in *Arabidopsis* correlates with high cytosolic magnesium content and increased magnesium uptake by plant roots. *Plant Cell Physiology*, v. 54, p.1093–1104, 2013.

BOSE, J; BABOURINA, O.; MA, Y.; ZHOU, M.; SHABALA, S; RENGEL, Z. Specificity of Ion Uptake and Homeostasis Maintenance During Acid and Aluminium Stresses. In: PANDA, S. K.; BALUSKA, F. (Ed). *Aluminum Stress Adaptation in Plants*. Bonn: Springer, p. 229-251, 2015.

BRESSAN, A. C. G.; COAN, A. I.; HABERMANN, G. X-ray spectra in SEM and staining with chrome azurol S show Al deposits in leaf tissues of Al-accumulating and non-accumulating plants from the cerrado. *Plant Soil*, p. 293-306, 2016.

BRITEZ, R.M.; WATANABE, T.; JANSEN, S.; REISSMAN, C.B.; OSAKI, M. “The relationship between aluminium and silicon accumulation in leaves of *Fareamea marginata* (Rubiaceae)”. *New Phytologist*, v.156, p.437-444, 2002.

BRUNNER, I.; and SPERISEN, C. Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. *Frontiers in Plant Science*, v. 4, p. 1-12, 2013.

BUSTAMANTE, M. M. C.; BRITO, D.Q.; KOZOVITS, A.R.; LUEDEMANN, G.; MELLO, T. R. B.; PINTO, A. de S.; MUNHOZ, C.B.R.; TAKAHASHI, F.S.C. Effects of nutrient additions on plant biomass and diversity of the herbaceous-

subshrub layer of a Brazilian savanna (Cerrado). *Plant Ecology*, v. 213, p. 795–808, 2012.

CARVALHO-JÚNIOR, W. G. O. *Avaliação de técnicas de histolocalização do alumínio em folhas de espécies de Cerrado*. 2012. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CASTRO, L. M. R. *Anatomia e Histolocalização de Alumínio em Espécies Herbáceas e Subarborescentes do Cerrado*. 2013. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CHENERY, E. M. Aluminium in the Plant World. *Kew Bulletin*, v. 3, n. 2, p. 173-183, 1948.

CUENCA, G.; HERRERA, R.; MERIDA, T. Distribution of aluminum in accumulator plants by x-ray-microanalysis in *Richeria grandis* Vahl leaves from a cloud forest in Venezuela. *Plant, Cell & Environment*, v. 14, p. 437–441, 1991.

EZAKI, B.; JAYARAM, K.; HIGASHI, A.; TAKAHASHI, K. A combination of five mechanisms confers a high tolerance for aluminum to a wild species of Poaceae, *Andropogon virginicus* L. *Environmental and Experimental Botany*, v. 93, p. 35-44, 2013.

FILGUEIRAS, T. S. Herbaceous plant communities. In P. S. Oliveira and R. J. Marquis [eds.], *The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna*. New York: Columbia University Press, p. 121-139, 2002.

FURLEY, P. A. & RATTER, J. A. Soil resources and plant communities of the Central Brazilian Cerrado and their development. *Journal of Biogeography*, v. 15, p. 97-108, 1988.

GEOGHEGAN, I. E.; SPRENT, J. I. Aluminium and nutrient concentrations in species native to central Brazil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 27, p. 2925-2934, 1996.

GINOCCHIO, R. & BAKER, A. J. M. Metallophytes in Latin America: a remarkable biological and genetic resource scarcely known and studied in the region. *Revista Chilena de História Natural*, v. 77, p. 185-194, 2004.

GREVENSTUK, T.; ROMANO, A. Aluminium speciation and internal detoxification mechanisms in plants: where do we stand? *Metallomics*, v. 5, p.1584–1594, 2013.

HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 12, n.1, p.54-64, 2000.

HARIDASAN, M. Alumínio é um elemento tóxico para as plantas nativas do Cerrado? In Prado, CHBA, Casali, C. *A Fisiologia Vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral*. Editora Manole, Barueri, Brasil, 2008.

HARIDASAN, M. Nutritional adaptations of native plants of cerrado. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 20 n. 3, p. 183-195, 2008.

HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A.C.; CARVALHO, F.I.F.; BERTAN, I.; SILVA, J.A.G.; SCHMIDT, D.A.M.; VALÉRIO, I.P.; MAIA, L.C.; FONSECA, D.A.R.; REIS, C.E.S. Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Ciências Agrárias*, v. 28, p. 219-228, 2007.

HODSON, M. J.; EVANS, D. E. Aluminium/silicon interactions in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 46, p. 161–171, 1995.

HODSON, M.J.; SANGSTER, A.G. “Aluminium/Silicon interactions in conifers”. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.76, p.89-98, 1999.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA–. *Mapa de Clima*. Disponível em <<http://mapas.ibge.gov.br/clima/viewer.htm>>. Acesso em: 24 Jan. 2007.

JANSEN, S. S.; DESSEIN, R.; PIESSCHAERT, E.; ROBBRECHT, E.; SMETS, E. Aluminium accumulation in leaves of Rubiaceae: Systematic and phylogenetic implications. *Annals of Botany*. (London) v. 85, p. 91-101, 2000.

JANSEN, S.; BROADLEY, M.R.; ROBBRECHT, E.; SMETS, E. Aluminium hyperaccumulation in angiosperms: a review of its phylogenetic significance. *The Botanical Review*, v. 68, p. 235-269, 2002.

JANSEN, S.; WATANABE, T.; DESSEIN, S.; SMETS, E.; ROBBRECHT, E. A Comparative Study of Metal Levels in Leaves of Some Al-accumulating Rubiaceae. *Annals of Botany*, v. 91, p. 657-663, 2003.

JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw- Hill. p. 523, 1940.

KOCHIAN, L. V.; PIÑEROS, M. A.; LIU J.; MAGALHAES. Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. *Annual Review of Plant Biology*, v. 66, p. 23.1–23.28, 2015.

KOPITTKE, P.M.; GIANONCELLI, A.; KOUROUSIAS, G.; GREEN, K.; MCKENNA, B. A. Alleviation of Al toxicity by Si is associated with the formation of Al–Si complexes in root tissues of Sorghum. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, p. 1-9, 2018.

KUKACHKA, B.F.; MILLER, R. B. A chemical spot-test for aluminum and its value in wood identification. *IAWA Bulletin*, v.1, n.3, p.104-109, 1980.

LI, X. F.; MA, J. F.; HIRADATE, S.; MATSUMOTO, H. Mucilage strongly binds aluminum but does not prevent roots from aluminum injury in *Zea may*. *Physiologia Plantarum*, v. 108, p. 152–160, 2000.

LIANG, Y.; NIKOLIC, M.; BÉLANGER, R.; GONG, H.; and SONG, A. *Silicon in Agriculture*. Dordrecht: Springer. 2015.

MALTA, P.G.; ARCANJO-SILVA, S.; RIBEIRO, C.; CAMPOS, N.V.; AZEVEDO, A. A. *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant Soil*, v. 408, p. 369-384, 2016.

MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plant*, 2nd edn. New York: Academic, USA, 1995.

MEDEIROS, M. B. and H. S. MIRANDA. Postfire resprouting and mortality in cerrado woody plant species over a three-year period. *Edinburgh Journal of Botany*, v. 65, p. 53–68, 2008.

MENDONÇA, R.C; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA-JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P. E.; Fagg, C.W. Flora Vascular do Bioma: Cerrado checklist com 12.356 espécies. In: Sano, S.M.; Almeida, S.P.; Ribeiro, J. F. (Eds). *Cerrado: Ecologia e Flora*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. II, p. 421-442, 2008.

METALI, F.; SALIM, K.A. & BURSLEM, D.F.R.P. 2012. Evidence of foliar aluminium accumulation in local, regional and global datasets of wild plants. *New Phytologist*, v. 193, p. 637–649, 2012.

MORI, S.A.; SILVA, L.A.M.; LISBOA, G.; CORADIN, L. 1989. *Manual de manejo de herbário fanerogâmico*. 2 ed. Ilhéus: Centro de Pesquisas do Cacau.

MUNHOZ, C. B. R. AND J. M. FELFILI. Reproductive phenology of herbaceous-subshrub layer of a Savannah (Campo Sujo) In: The Cerrado Biosphere Reserve I, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 67, p. 299–307, 2007.

NUNES-NESE, A.; BRITO, D.S.; INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; FERNIE, A.R.; ARAÚJO, W. L. The complex role of mitochondrial metabolism in plant aluminum resistance. *Trends in Plant Science*, v. 19, p. 399-407, 2014.

OLIVEIRA FILHO, A. T. & RATTER, J. A. Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado biomes. In: *The cerrados of Brazil* (P. S. Oliveira & R. J. Marquis, eds.). New York: Columbia University Press, p. 91-120, 2002.

PARO, S. P. *Influência de fatores abióticos na diversidade de espécies do estrato herbáceo-subarbuscivo em Cerrado, Flona de Paraopeba, MG*. 2013. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 96 f.

POLLARD, A. J. Metal hyperaccumulation: a model system for coevolutionary studies. *New Phytologist*, v. 146, p. 179-181, 2000.

POSCHENRIEDER; GUNSE, B.; CORRALES, I.; BARCELÓ, J. A glance into aluminum toxicity and resistance in plants Charlotte. *Science of the Total Environment*, v. 400, p. 356-368, 2008.

RAHMAN, M. A.; LEE, S. H.; JI, H. C.; KABIR, A. H.; JONES, C. S. and LEE, K. W. Importance of Mineral Nutrition for Mitigating Aluminum Toxicity in Plants on Acidic Soils: Current Status and Opportunities. *International Journal of Molecular Science*, v. 19, p. 1-28, 2018.

RATHINASABAPATHI, B.; RANGASAMY, M.; FROEBA, J.; CHERRY, R. H.; MCAUSLANE, H. J.; CAPINERA, J. L.; SRIVASTAVA, M. and MA, L. Q. Arsenic hyperaccumulation in the Chinese brake fern (*Pteris vittata*) deters grasshopper (*Schistocerca americana*) herbivory. *New Phytologist*, v. 175, p. 363-369, 2007.

RIZZINI, C.T. *Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos*. São Paulo: Âmbito Cultural Edições Ltda. 2ed. Pp. 747, 1997.

ROSSATO, D. R.; TONIATO, M. T. Z & DURINGAN, G. Flora fanerogâmica não arbórea do cerrado na Estação Ecológica de Assis, Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 31, n. 3, p. 409-424, 2008.

SANTANA, B. V. N. *Acúmulo de Alumínio em Cloroplastos: Implicações Ultraestruturais e Fisiológicas*. 2017. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SCHMITT, M.; BORAS, S.; TJOA, A.; WATANABE, T.; JANSEN, S. Aluminium Accumulation and Intra-Tree Distribution Patterns in Three *Arbor aluminosa* (*Symplocos*) Species from Central Sulawesi. *Plos one*, v. 11, n. 2, p. 1-18, 2016.

SILVA, I. R.; SMYTH, T. J.; MOXLEY, D. F.; CARTER, T. E.; ALLEN, N. S. and RUFTY, T. W. Aluminum Accumulation at Nuclei of Cells in the Root Tip. Fluorescence Detection Using Lumogallion and Confocal Laser Scanning Microscopy. *Plant Physiology*, v. 123, p. 543-552, 2000.

SNUC - *Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza*. 2000. Lei Nº 9.985, de 18 de julho de 2000. MMA/SBF.

TANAKA, A.; TADANO, T.; YAMAMOTO, K.; KANAMURA, N. Comparison of toxicity to plants among  $Al^{3+}$ ,  $AlSO_4^+$ , and Al-F complex ions. *Soil Science and Plant Nutrition*, v. 33, p. 43-55, 1987.

TAYLOR, G. T. Current views of the aluminum stress response: The physiological basis of tolerance. *Current Topics in Plants Biochemistry and Physiology*, v. 10, p. 57-93, 1991.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. 2ª edição. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 174p, 1995.

TOLENTINO, G. S. *Composição e partição de nicho em gradientes de solo e luz no Cerrado*. 2011. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VILLELA, D. M. V.; HARIDASAN, M. Response of the ground layer community of a cerrado vegetation in central Brazil to liming and irrigation. *Plant and Soil*, v. 163, p.25-31, 1994.

WATANABE, T.; JANSEN, S.; OSAKI, M. Al-Fe interactions and growth enhancement in *Melastoma malabathricum* and *Miscanthus sinensis* dominating acid sulphate soils. *Plant, Cell and Environment*, v. 29, p. 2124–2132, 2006.

WEHR, J. B.; BLAMEY, F. P. C.; HANNA, J. V.; KOPITTKE, P. M.; KERVEN, G. L.; MENZIES, N. W. Hydrolysis and speciation of Al bound to pectin and plant cell wall material and its reaction with the dye Chrome-Azurol'S. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, p. 5553–5560, 2010.