

**DANIELA PINTO DE SOUZA FERNANDES**

**O ACÚMULO DE ALUMÍNIO EM FRUTOS E SEMENTES DO CERRADO E SEU  
EFEITO NA GERMINAÇÃO EM ESPÉCIES NATIVAS**

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

Orientador: Aristéa Alves Azevedo

Coorientadores: Cléberon Ribeiro  
Denise Maria T. de Oliveira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

F363a  
2023  
Fernandes, Daniela Pinto de Souza, 1991-  
O acúmulo de alumínio em frutos e sementes do cerrado e seu efeito na germinação em espécies nativas / Daniela Pinto de Souza Fernandes. – Viçosa, MG, 2023.

1 tese eletrônica (83 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Aristéa Alves Azevedo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Biologia Vegetal, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.687>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Plantas dos cerrados - Reprodução - Efeito do alumínio.  
2. Alumínio. 3. Germinação - Efeito do alumínio. 4. Plântulas -  
Desenvolvimento - Efeito do alumínio. I. Azevedo, Aristéa  
Alves, 1949-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento  
de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Botânica.  
III. Título.

CDD 22. ed. 582.16


**DANIELA PINTO DE SOUZA FERNANDES**


**O ACÚMULO DE ALUMÍNIO EM FRUTOS E SEMENTES DO CERRADO E SEU  
EFEITO NA GERMINAÇÃO EM ESPÉCIES NATIVAS**

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

APROVADA: 31 de agosto de 2023.

Assentimento:

  
\_\_\_\_\_  
Daniela Pinto de Souza Fernandes  
Autora

  
\_\_\_\_\_  
Aristéa Alves Azevedo  
Orientadora

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

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pelas oportunidades que me foram dadas e por me dar força e coragem pra continuar até o fim.

Aos meus pais, Gabriel e Sueli, meus exemplos de vida, agradeço por todas as orações, todo esforço e incentivo para eu chegar até aqui. Aprendi com vocês que a grande riqueza da vida é o conhecimento. Aos meus irmãos, Dalila e Gabriel, pelo carinho e torcida e por serem meu suporte. Ao meu noivo, Wellington, por ser meu parceiro de vida, um grande companheiro, meu refúgio e por estar ao meu lado em todos os meus desafios e conquistas. Aos meus padrinhos, Geraldo e Sônia, pelo grande incentivo, ajuda e torcida pelas minhas conquistas. À minha avó Ana, por todas as orações e apoio. Agradeço também a todos os familiares e amigos que sempre acreditaram em mim.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade e infraestrutura.

À CAPES e FAPEMIG pelo auxílio financeiro fundamental para o desenvolvimento do trabalho.

Ao Departamento de Biologia Vegetal, principalmente ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, pela estrutura necessária para o desenvolvimento do trabalho.

À querida professora Aristéa, agradeço pelos muitos ensinamentos, pela paciência e compreensão, por acreditar em mim e por ser uma inspiração pra todos nós. Sinto-me grata e honrada por ter sido sua orientada, desde a iniciação científica até o doutorado, me fazendo crescer como pessoa e profissional.

Ao laboratório de Anatomia Vegetal, que além da ótima infraestrutura, as pessoas tornam esse ambiente mais leve e agradável para se trabalhar. Aos professores por me ajudarem sempre que foi necessário, além de todo conhecimento compartilhado. Às técnicas Aurora e Rosana por estarem sempre dispostas a me ajudar e pela amizade construída.

Agradeço aos Aristetes (João, Lucas, Victorina, Isaque e Hugo) por serem tão parceiros e especiais, pelas infinitas ajudas, pelos bons momentos de risada e descontração e por sempre acreditarem muito em mim. Ao João, em especial, por toda a ajuda, sem medir esforços, por me dar força e por ter se tornado um grande amigo, que vou levar pra vida toda. Ao Isaque pela disponibilidade em ajudar, vontade de aprender e por me permitir ensinar mesmo que errando.

Agradeço também a todos os colegas de trabalho, estudantes e estagiários, por compartilharem vivências, por sempre me ajudarem, além das boas risadas e cafezinhos. Agradeço àqueles que se tornaram especiais e que vou sempre levar comigo: Clara, Danizete, Graciele, Hugo, Luís, Letícia e Miller.

Agradeço, especialmente, ao Bruno Gonçalves por todos os ensinamentos, pela paciência e por ser tão prestativo. Foi fundamental para o desenvolvimento do trabalho.

À professora Denise Maria Trombert de Oliveira pela disponibilidade em me coorientar, por me receber carinhosamente em seu laboratório e me ensinar tanto, além de estar sempre disponível em me ajudar.

Ao professor Cléberson Ribeiro pela coorientação, por me fornecer ajuda, deixando sempre disponível seu laboratório e sala de crescimento de planta, fundamentais para o trabalho.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV, agradeço aos funcionários pelas orientações para a análise de EDS, especialmente o Gilmar E. Valente, que além de me ajudar em todas as etapas, inúmeras vezes, ainda foi fundamental durante as coletas de campo.

À FLONA de Paraopeba, pelo auxílio ao acesso ao local de coleta e apoio à pesquisa.

Ao Laboratório PlantSeR da UFMG e ao Laboratório de Genética Molecular de Plantas da UFV pela disponibilidade em desenvolver parte do trabalho.

A todos vocês, minha eterna gratidão!

## RESUMO

SOUZA-FERNANDES, Daniela Pinto, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2023. **O acúmulo de alumínio em frutos e sementes do Cerrado e seu efeito na germinação em espécies nativas.** Orientador: Aristéa Alves Azevedo. Coorientadores: Cléber Ribeiro e Denise Maria Trombert de Oliveira.

O Cerrado é um bioma com grande biodiversidade e altas concentrações de Al nos solos que pode ser translocado e acumulado na parte aérea das plantas, inclusive nos frutos. Além disso, o Al pode influenciar no processo germinativo e no estabelecimento inicial de muitas espécies cultivadas e, embora esta fase seja crucial no ciclo de vida das plantas, a ação deste elemento tem sido pouco explorada em plantas nativas. Diante disso, objetivamos verificar a presença de alumínio no fruto de espécies acumuladoras e não acumuladoras do elemento, além de buscarmos melhor compreensão sobre os efeitos deste metal na germinação de sementes e estabelecimento inicial de espécies nativas do Cerrado. As coletas foram realizadas na Flona de Paraopeba, MG. Para análise dos frutos, selecionamos espécies acumuladoras: *Miconia albicans*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia macrothyrsa* (Melastomataceae); *Coccocypselum aureum*, *Palicourea rigida*, *Rudgea viburnoides*, *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) e *Symplocos nitens* (Symplocaceae) e não acumuladoras de Al: *Chiococca alba* e *Declieuxia fruticosa* (Rubiaceae). Para germinação das sementes, foram estudadas: *Miconia ibaguensis* (Melastomataceae), *Miconia albicans* (Melastomataceae), *Coccocypselum aureum*, *Chiococca alba* (Rubiaceae), *Symplocos nitens* (Symplocaceae). Com relação aos frutos, foram analisadas a anatomia e a localização histoquímica de Al; procedemos à quantificação química de Al na matéria seca e à determinação da abundância relativa de Al, K, Ca, Mg, P, N e Fe, no pericarpo e semente em microanálise de Raio-X (MEV-EDS). Para a germinação das sementes, analisamos porcentagem de germinação e índice de taxa de germinação na ausência (0 mM de  $Al^{3+}$ ) e presença de Al (3 mM de  $Al^{3+}$ ); avaliamos a morfologia do sistema radicular (WinRhizo); anatomia e localização do Al em raízes utilizando testes histoquímicos e microanálise de Raio-X (MEV/EDS); procedemos à detecção de morte celular com Azul de Evans e de espécies reativas de oxigênio em raízes e folhas por testes histoquímicos. Os principais sítios de acúmulo de Al no pericarpo foram: conteúdo das células do floema, núcleos, paredes celulares de células da epiderme e parênquima. *Chiococca alba*, *D. fruticosa* e *S. brasiliensis* apresentaram valores abaixo de 1g/kg de Al na matéria seca do fruto, enquanto nas demais espécies os valores foram superiores, com destaque para *M. ibaguensis*, que acumulou valores maiores do que 10 g/kg de Al. A microanálise de Raio-X revelou a presença de Al nos frutos em todas as espécies estudadas, tanto no pericarpo quanto na semente, mesmo que em

baixas porcentagens. O Al foi benéfico para a germinação de *C. alba* (não acumuladora de Al); dentre as acumuladoras, *C. aureum* teve o crescimento reduzido na presença do metal; em *M. albicans*, *C. alba* e *C. aureum*, o comprimento total, área superficial e volume da raiz foram afetados negativamente pelo Al. Os principais sítios de acúmulo de Al nas raízes foram células do floema, núcleo e paredes celulares de epiderme e parênquima; não foi observada, anatomicamente, nenhuma anomalia na raiz, causada pelo Al; foram identificados radicais superóxidos na presença de Al em *C. alba* e *M. albicans*; os dados de EDS mostraram que as raízes de todas as espécies possuíram a maior porcentagem do metal no tratamento com Al e apresentaram maior porcentagem de Al que as folhas nas espécies *M. albicans*, *C. alba* e *C. aureum*. Foi observado morte celular nos ápices de raízes tratadas com Al em *C. aureum*, *M. ibaguensis* e *S. nitens*. Este trabalho aumentou a compreensão sobre o acúmulo de Al em estruturas reprodutivas; além disso, caracterizou a influência do Al na germinação e no estabelecimento inicial de espécies nativas do Cerrado, ambos assuntos em que existe grande lacuna do conhecimento.

Palavras-chave: Plantas nativas do Cerrado. Localização de Al. Órgãos reprodutivos. Processo germinativo. Desenvolvimento inicial de plântulas.

## ABSTRACT

SOUZA-FERNANDES, Daniela Pinto, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2023. **The aluminum accumulation in Cerrado fruits and seeds and its effect on germination in native species.** Adviser: Aristéa Alves Azevedo. Co-advisers: Cléber Ribeiro and Denise Maria Trombert de Oliveira.

The Cerrado is a biome with great biodiversity and high concentrations of Al in the soil that can be translocated and accumulated in the aerial part of plants, including fruits. Furthermore, Al can influence the germination process and the initial establishment of many cultivated species and, although this phase is crucial in the plant life cycle, the action of this element has been little explored in native plants. Therefore, we aimed to verify the anatomy and presence of aluminum in the fruit of accumulating and non-accumulating species of the element, in addition to seeking a better understanding of seed germination and initial establishment of species native to the Cerrado. The collections were carried out at Flona de Paraopeba, MG. To analyze the fruits, we selected accumulating species: *Miconia albicans*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia macrothyrsa* (Melastomataceae); *Coccocypselum aureum*, *Palicourea rigida*, *Rudgea viburnoides*, *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) and *Symplocos nitens* (Symplocaceae) and non-Al accumulators: *Chiococca alba* and *Declieuxia fruticosa* (Rubiaceae). For seed germination, the following were studied: *Miconia ibaguensis* (Melastomataceae), *Miconia albicans* (Melastomataceae), *Coccocypselum aureum*, *Chiococca alba* (Rubiaceae), *Symplocos nitens* (Symplocaceae). Regarding the fruits, the anatomy and histochemical location of Al were analyzed; we carried out the chemical quantification of Al in the dry matter and the determination of the relative abundance of Al, K, Ca, Mg, P, N and Fe, in the pericarp and seed in X-ray microanalysis (SEM-EDS). For seed germination, we analyzed germination percentage and germination rate index in the absence (0 mM Al<sup>3+</sup>) and presence of Al (3 mM Al<sup>3+</sup>); we evaluated the morphology of the root system (WinRhizo); anatomy and location of Al in roots using histochemical tests and X-ray microanalysis (SEM/EDS); We detected cell death with Evans Blue and reactive oxygen species in roots and leaves using histochemical tests. The main sites of Al accumulation in the pericarp were: content of phloem cells, nuclei, cell walls of epidermal cells and parenchyma. *Chiococca alba*, *D. fruticosa* and *S. brasiliensis* presented values below 1g/kg of Al in the dry matter of the fruit, while in the other species the values were higher, especially *M. ibaguensis*, which accumulated values greater than 10 g/ kg of Al. X-ray microanalysis revealed the presence of Al in the fruits of all species studied, both in the pericarp and in the seed, even in low percentages. Al was beneficial for the germination of *C. alba* (non-Al accumulator); Among the accumulators, *C. aureum* had reduced growth in

the presence of the metal; in *M. albicans*, *C. alba* and *C. aureum*, the total length, surface area and volume of the root were negatively affected by Al. The main sites of Al accumulation in roots were phloem cells, nucleus and epidermal cell walls and parenchyma; no anomaly in the root caused by Al was observed anatomically; superoxide radicals were identified in the presence of Al in *C. alba* and *M. albicans*; EDS data showed that the roots of all species had the highest percentage of the metal in the Al treatment and presented a higher percentage of Al than the leaves in the species *M. albicans*, *C. alba* and *C. aureum*. Cell death was observed in the apices of roots treated with Al in *C. aureum*, *M. ibaguensis* and *S. nitens*. This work has increased understanding of Al accumulation in reproductive structures; Furthermore, it characterized the influence of Al on the germination and initial establishment of native Cerrado species, both subjects in which there is a large gap in knowledge.

Keywords: Cerrado native plants. Location of Al. Reproductive organs. Germination process. Seedling development.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>12</b>
<b>CAPÍTULO 1 - Acúmulo de alumínio em frutos de espécies nativas do Cerrado .....</b>	<b>19</b>
RESUMO .....	19
1. INTRODUÇÃO .....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
2.1 Área de estudo e coleta do material .....	22
2.2 Anatomia do fruto e localização histoquímica de Al.....	22
2.3 Quantificação química de Al na matéria seca do fruto .....	23
2.4 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) do fruto .....	23
2.5 Estatística .....	23
3. RESULTADOS .....	24
3.1 Morfologia dos frutos.....	24
3.2 Anatomia do pericarpo .....	24
3.3 Localização histoquímica de Al no pericarpo.....	25
3.4 Quantificação química de Al em matéria seca no fruto.....	25
3.5 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) do fruto .....	25
4. DISCUSSÃO .....	26
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
6. FIGURAS E TABELAS .....	39
<b>CAPÍTULO 2 - Influência do alumínio na germinação e no desenvolvimento inicial de espécies ocorrentes do Cerrado .....</b>	<b>50</b>
RESUMO .....	50
1. INTRODUÇÃO .....	51
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	53
2.1 Coleta em campo e testes preliminares de germinação .....	53
2.2 Quantificação química de Al em matéria seca de folha e caule .....	54
2.3 Desenho experimental e germinação das sementes .....	54
2.4 Anatomia da raiz e detecção histoquímica do Al .....	55
2.5 Morte celular .....	56
2.6 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) .....	56
2.7 Espécies reativas de oxigênio.....	56

<b>2.8 Estatística</b> .....	57
<b>3 RESULTADOS</b> .....	57
3.1 Quantificação de Al em folhas e caules das plantas coletadas em campo.....	58
3.2 Germinação e desenvolvimento inicial das plântulas .....	58
3.3 Anatomia.....	58
3.4 Histoquímica .....	59
3.5 Morte celular.....	59
3.6 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) em folhas e raízes.....	59
3.7 Espécies reativas de oxigênio .....	60
<b>3.7.1 Peróxido de hidrogênio</b> .....	60
<b>3.7.2 Radical superóxido</b> .....	60
<b>4 . DISCUSSÃO</b> .....	61
<b>5 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	64
<b>6 . FIGURAS E TABELAS</b> .....	73
<b>CONCLUSÕES FINAIS</b> .....	83

## INTRODUÇÃO GERAL

O alumínio (Al) é o terceiro elemento mais abundante na crosta terrestre, ficando atrás do oxigênio e silício (Sade et al. 2016). No ambiente, ele ocorre complexado à minerais, óxidos ou silicatos (Grevenstuk e Romano 2013). No entanto, quando em solos ácidos, o Al se dissocia desses complexos estáveis e passa para sua forma de cátion trivalente ( $Al^{3+}$ ), que é fitotóxica para a maioria das espécies vegetais (Grevenstuk e Romano 2013; Bojórquez-Quintal et al. 2017). Entretanto, muitas espécies de plantas, habitantes de solos ácidos, são resistentes ao Al e conseguem completar o ciclo de vida na presença deste elemento, por possuírem diferentes mecanismos de resistência ao metal (Pilon-Smits et al. 2009; Bojórquez-Quintal et al. 2017; Muhammad et al. 2019).

De modo geral, essas plantas possuem três tipos de estratégias: 1) a exclusão do metal; 2) a tolerância interna; 3) a exclusão e tolerância atuando simultaneamente (Brunner e Sperisen 2013; Kochian et al. 2015; de Oliveira Carvalho Bittencourt et al. 2020; Cury et al. 2020; Chandra e Keshavkant 2021; de Castro et al. 2022; Ofoe et al. 2023). Dentre os mecanismos de exclusão, podemos citar a exsudação de compostos orgânicos pelos ápices radiculares, que inclusive podem ser secretados através da formação e atividade das células de borda. Como por exemplo, inclui-se os ácidos orgânicos (AOs), compostos fenólicos e mucilagem, os quais podem atuar de diferentes formas, seja complexando ao  $Al^{3+}$ , ou elevando o pH da rizosfera, tornando o metal indisponível para absorção (Hartwig 2007; Watanabe et al. 2008a e 2008b; Brunner e Sperisen 2013; Kochian et al. 2015; Maejima et al. 2017; Singh et al. 2017; Feng et al. 2019; Yang et al. 2019; Zhang et al. 2019; Ofoe et al. 2023). Já na tolerância interna, o  $Al^{3+}$  é absorvido pelas raízes, translocado para parte aérea, podendo ser complexado com AOs (ex. malato e/ou citrato) ou compostos fenólicos, armazenado nos vacúolos ou imobilizado na parede celular (Nunes-Nesi et al. 2014; Kochian et al. 2015; Wang et al. 2015; de Castro et al. 2022; Wu et al. 2022; Ofoe et al. 2023). O metal possui alta afinidade com paredes celulares de natureza pectocelulósica devido à presença de grupos carboxílicos livres aos quais o  $Al^{3+}$  se liga e, por isso, pode ser acumulado nas paredes de diferentes tecidos, como parênquima, colênquima e floema. Além disso, o metal já foi identificado em organelas de intensa atividade, como os cloroplastos e núcleo. Contudo, por mais que essas estratégias sejam conhecidas, elas são pouco estudadas e registradas entre espécies nativas do Cerrado (Haridasan et al. 1986; Andrade et al. 2011; Bressan et al. 2016; Malta et al. 2016; Nogueira et al. 2019; Cury et al. 2020; de Castro et al. 2022).

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e uma das savanas mais ricas em espécies do mundo, com mais de 12 mil espécies vegetais em cerca de 2 milhões de km<sup>2</sup> (Durigan et al. 2018). Sua vegetação cresce sobre solos profundos, altamente lixiviados, pobres em nutrientes (como Ca, N, K, Mg, P) e ricos em alumínio (Al<sup>3+</sup>) (Dezzeo et al. 2004). A diversidade florística desse bioma compõe fitofisionomias que variam desde formações florestais (Cerradão), no qual o estrato lenhoso é o mais abundante, até formações campestres (Campo limpo), onde o estrato herbáceo predomina (Oliveira-Filho & Ratter 2002). Além disso, o Cerrado possui uma riqueza muito grande de frutos nativos, com alto potencial nutricional e econômico, que permanecem muito pouco explorados.

Os frutos do Cerrado são ricos em compostos bioativos, vitaminas, carotenoides, minerais e fibras solúveis e insolúveis (Rosa 2013; Bailão et al. 2015; Schiassi et al. 2018), com diversas propriedades medicinais (Lemos et al. 2012; Rosa 2013; Sun et al. 2015; Silva et al. 2019; Corrêa et al. 2021). Devido a isso, alguns frutos já estão sendo introduzidos na alimentação humana e ganhando importância econômica (Bailão et al. 2015; Schiassi et al. 2018; Reis e Schmiele 2019; Silva et al. 2019). No entanto, poucos são os trabalhos relacionados à presença de Al nas estruturas reprodutivas e seu acúmulo em frutos (Pasta et al. 2019; Timpone e Habermann 2022) e sementes (Haridasan 2008; Rodrigues et al. 2019). Com relação as sementes, além de pouco saber sobre a presença de Al nesta estrutura, também é escasso o conhecimento sobre a influência desse metal na germinação das sementes de espécies que vivem em solos ácidos.

Nessa perspectiva, cabe ressaltar que a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial da plântula são críticos no ciclo de vida das plantas e a resistência ao Al durante essas fases é crucial para o estabelecimento de plantas que crescem em solos ácidos. Alguns estudos com espécies do Cerrado têm demonstrado o papel benéfico do Al para o processo germinativo e no estabelecimento inicial das plântulas (Mendes-Rodrigues et al. 2010; Ribeiro et al. 2010; Teixeira 2013; Rodrigues et al. 2019). Durante a germinação, a emergência da raiz primária e o desenvolvimento do sistema radicular envolvem tanto a divisão quanto a expansão celular que são processos sensíveis à toxicidade de metais, como o Al (Doncheva et al. 2005; Li et al. 2015). A raiz, por sua vez, é o órgão alvo nos estudos das estratégias de resistência ao Al<sup>3+</sup>, por estar em contato direto com o elemento no solo (Delhaize & Ryan 1995) e apresentar os primeiros sinais de toxicidade nas plantas sensíveis, sendo a inibição do crescimento o principal sintoma (Kochian et al. 2004; Doncheva et al. 2005).

Nessa pesquisa, nós apresentamos os resultados em dois capítulos: Capítulo 1 - Acúmulo de alumínio em frutos de espécies nativas do Cerrado, no qual avaliamos a anatomia e a presença de alumínio no fruto de espécies acumuladoras e não acumuladoras do elemento; e Capítulo 2 - Influência do alumínio na germinação e no desenvolvimento inicial de espécies ocorrentes no Cerrado, em que verificamos o efeito do Al na germinação e nas fases iniciais de desenvolvimento da raiz de espécies ocorrentes no Cerrado.

## REFERÊNCIAS

- Andrade LRM, Barros LMG, Echevarria GF, Amaral LIV, Cotta MG, Rossatto DR, Haridasan, Franco AC (2011) Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. *Environ Exp Bot* 70: 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.013>
- Bailão EFLC, Devilla IA, Da Conceição EC, Borges LL (2015) Bioactive compounds found in Brazilian cerrado fruits. *Int J Mol Sci* 16: 23760-23783. <https://doi.org/10.3390/ijms161023760>
- Bojórquez-Quintal E, Escalante-Magaña C, Echevarria-Machado I, Martínez-Estévez M (2017) Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. *Front Plant Sci* 8: 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01767>
- Bressan ACG, Coan AI, Habermann G (2016) 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* 404: 293-306. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2841-1>
- Brunner I, Sperisen C (2013) Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. *Front Plant Sci* 4: 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00172>
- Chandra J, Keshavkant S (2021) Mechanisms underlying the phytotoxicity and genotoxicity of aluminum and their alleviation strategies: a review. *Chemosphere* 278: 130384. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130384>
- Corrêa JGS, Bianchin M, Lopes AP, Silva E, Ames FQ, Pomini AM, Carpes ST, Rinaldi JDC, Melo RC, Kioshima E, BersaniAmado CA, Pilau EJ, Carvalho JED, Ruiz ALTG, Visentainer JV, Santin SMO (2021) Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. *J Ethnopharmacol* 273: 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113979>

- Cury NF, Silva RC, Andre MS, Fontes W, Ricart CA, Castro MS, et al. (2020) Root proteome and metabolome reveal a high nutritional dependency of aluminium in *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). *Plant Soil* 446: 125–143. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04323-3>
- De Castro LMR, Vinson CC, Da Gordo SMC et al. (2022) Molecular and physiological aspects of plant responses to aluminum: what do we know about Cerrado plants? *Braz J Bot* 45: 545–562. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00781-1>
- De Oliveira Carvalho Bittencourt BM, Da Silva CDMS, Filho SZ et al. (2020) Aluminum (Al)-induced organic acid exudation in an Al-accumulating species from the Brazilian savana. *Trees* 34: 155-162. <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01907-5>
- Delhaize E, Ryan PR (1995) Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol* 107: 315-321. <https://doi.org/10.1104/pp.107.2.315>
- Dezzeo N, Chacón N, Sano JAE & Picón G (2004) Changes in soil properties and vegetation characteristics along a forest-savanna gradient in southern Venezuela. *For Ecol Manage* 200: 183-193. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.06.016>
- Doncheva S, Amenós M, Poschenrieder C, Barceló J (2005) Root cell patterning: a primary target for aluminium toxicity in maize. *J Exp Bot* 56: 1213-1220. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri115>
- Durigan G, Pilon NAL, Assis GB, Souza FM & Baitello JB (2018) *Plantas pequenas do Cerrado: Biodiversidade Negligenciada*. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente, Instituto Florestal.
- Feng Y, Li X, Guo S, Chen X, Chen T, He Y et al. (2019) Extracellular silica nanocoat formed by layer-by-layer (LBL) self-assembly confers aluminum resistance in root border cells of pea (*Pisum sativum*). *J Nanobiotech* 17: 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12951-019-0486-y>
- Grevenstuk T, Romano A (2013) Aluminium speciation and internal detoxification mechanisms in plants: where do we stand? *Metallomics* 5: 1584-1594. <https://doi.org/10.1039/c3mt00232b>
- Haridasan M, Paviani TI, Schiavini I (1986) Localization of aluminium in the leaves of some aluminium-accumulating species. *Plant Soil* 94: 435–437. <https://doi.org/10.1007/BF02374336>
- Haridasan M (2008) Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. *Braz J Plant Physiol* 20(3): 183-195. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202008000300003>

- Hartwig I, Oliveira AC, Carvalho FIF, Bertan I, Silva JAG, Schmidt DAM, Valério IP, Maia LC, Fonseca DAR, Reis CES (2007) Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Ciênc Agrár* 28: 219-228. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2007v28n2p219>
- Kochian LV, Piñeros MA, Liu J, Magalhaes JV (2015) Plant Adaptation to Acid Soils: The Molecular Basis for Crop Aluminum Resistance. *Annu Rev Plant Biol* 66: 23.1–23.28. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114822>
- Lemos MRB, Siqueira EMA, Arruda SF, Zambiasi RC (2012) The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]. *Food Res Int* 2(48): 592-597. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.027>
- Li LM, Qin R, Jiang W, Liu D (2015) Cytogenetical effects of aluminum on root meristem cells of *Helianthus annuus*. *Bot Sci* 93: 15-22. <https://doi.org/10.17129/botsci.230>
- Maejima E, Osaki M, Wagatsuma T and Watanabe T (2017) Contribution of constitutive characteristics of lipids and phenolics in roots of tree species in Myrtales to aluminum tolerance. *Physiol Plant* 160: 11–20. <https://doi.org/10.1111/ppl.12527>
- Malta PG, Arcanjo-Silva S, Ribeiro C, Campos NV, Azevedo AA (2016) *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant Soil* 408: 369-384. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2926-x>
- Mendes-Rodrigues C, Araújo FP, Barbosa-Souza C, Barbosa-Souza V, Ranal M, Santana DG, Oliveira PE (2010) Multiple dormancy and maternal effect on *Miconia ferruginata* (Melastomataceae) seed germination, Serra de Caldas Novas, Goiás, Brazil. *Revista Brasil Bot* 33(1): 93-105. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042010000100009>
- Muhammad N, Zvobgo G, Guo-ping Z (2019) The beneficial effects and possible mechanisms of aluminum on plant growth in acidic soil. *J Integr Agric* 18: 1518-1528. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)61991-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)61991-4)
- Nogueira MA, Bressan ACG, Pinheiro MHO, Habermann G (2019) Aluminum-accumulating Vochysiaceae species growing on a calcareous soil in Brazil. *Plant Soil* 437: 313–326. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-03978-2>
- Nunes-Nesi A, Brito DS, Inostroza-Blancheteau C, Fernie AR, Araújo WL (2014) The complex role of mitochondrial metabolism in plant aluminum resistance. *Trends Plant Sci* 19: 399-407. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.006>

- Ofoe R, Thomas RH, Asiedu SK, Wang-Pruski G, Fofana B, Abbey L (2023) Aluminum in plant: Benefits, toxicity and tolerance mechanisms. *Front Plant Sci* 13:1085998. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1085998>
- Oliveira Filho AT & Ratter JA (2002) Vegetation physiognomies and woody flora of the cerrado biomes. In: *The cerrados of Brazil* (PS Oliveira & RJ Marquis, eds.). New York: Columbia University Press, pp 91-120
- Pasta PC, Durigan G, Moraes ICF et al. (2019) Physicochemical properties, antioxidant potential and mineral content of *Miconia albicans* (Sw.) Triana: a fruit with high aluminium content. *Braz J Bot* 42: 209–216. <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00532-3>
- Pilon-Smits EAH, Quinn CF, Tapken W, Malagoli M, Schiavon M (2009) Physiological functions of beneficial elements. *Curr Opin Plant Biol* 12: 267–274. <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00532-3>
- Reis AF & Schmiele M (2019) Characteristics and potentialities of Savanna fruits in the food industry. *Braz J Food Technol* 22: e2017150. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.15017>
- Ribeiro DM, Mapeli AM, Carnelossi MAG, Delatorre CA, Barros RS (2010) Dormancy breakage of *Stylosanthes humilis* seeds by aluminium. *Seed Sci Res* 20: 145–152. <https://doi.org/10.1017/S0960258510000164>
- Rodrigues AA, Vasconcelos-Filho SC, Muller C, Rodrigues DA, Sales JF, Zuchi J, Costa AC, Rodrigues CL, Silva AA, Barbosa DP (2019) Tolerance of *Eugenia dysenterica* to aluminum: germination and plant growth. *Plants* 8: 317. <https://doi.org/10.3390/plants8090317>
- Rosa FR (2013) Atividade antioxidante de frutos do cerrado e identificação de compostos em *Bactris setosa* Mart., Palmae (tucum-do-cerrado). 146 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição Humana, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília-DF.
- Sade H, Meriga B, Surapu V, Gadi J, Sunita MSL, Suravajhala P, Kishor PBK (2016) Toxicity and tolerance of aluminum in plants: Tailoring plants to suit to acid soils. *Biometals* 29:187-210. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9910-z>
- Schiassi MCEV, Souza VR, Lago AMT, Campos LG, Queiroz F (2018) Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. *Food Chem* 245: 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>

- Silva DLS, Sousa HMS, Martins GAS, Silva JFM, Peluzio JM, Leal GF (2019) Capacidade antioxidante de frutos do cerrado. DESAFIOS Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins 6: 127-133. <https://doi.org/10.20873/uftsupl2019-6845>
- Singh S, Tripathi DK, Singh S, Sharma S, Dubey NK, Chauhan DK, et al. (2017) Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review. Environ Exp Bot 137: 177–193. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.005>
- Sun Q, Heilmann J, Konig B (2015) Natural phenolic metabolites with anti-angiogenic properties—A review from the chemical point of view. Beilstein J Org Chem 11: 249–264. <https://doi.org/10.3762/bjoc.11.28>
- Teixeira, WF (2013) Fisiologia e Bioquímica de plantas da família Melastomataceae, Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 1-124.
- Timpone LT, Habermann G (2022) Is aluminum (Al) eliminated by senescent structures of *Miconia albicans*, an Al-accumulating species from Brazilian savanna? Flora 289: 152036. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2022.152036>
- Wang L, Fan XW, Pan JL, Huang ZB and Li YZ (2015) Physiological characterization of maize tolerance to low dose of aluminum, highlighted by promoted leaf growth. Planta 242: 1391–1403. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2376-3>
- Watanabe T, Misawa S, Hiradate S and Osaki M (2008a) Characterization of root mucilage from *Melastoma malabathricum*, with emphasis on its roles in aluminum accumulation. New Phytol 178: 581–589. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02397.x>
- Watanabe T, Misawa S, Hiradate S and Osaki M (2008b) Root mucilage enhances aluminum accumulation in *Melastoma malabathricum*, an aluminum accumulator. Plant Signaling Behav 3: 603–605. <https://doi.org/10.4161/psb.3.8.6356>
- Wu Q, Tao Y, Huang J, Liu YS, Yang XZ, Jing HK et al. (2022) The MYB transcription factor MYB103 acts upstream of TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE27 in regulating aluminum sensitivity by modulating the O-acetylation level of cell wall xyloglucan in *Arabidopsis thaliana*. Plant J 111: 529–545. <https://doi.org/10.1111/tpj.15837>
- Yang J, Fan W, Zheng S (2019) Mechanisms and regulation of aluminum-induced secretion of organic acid anions from plant roots. J Zhejiang Univ Sci B 20(6): 513-527. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1900188>

Zhang X, Long Y, Huang J, Xia J (2019) Molecular mechanisms for coping with Al toxicity in plants. *Int J Mol Sci* 20(7): 1551. <https://doi.org/10.3390/ijms20071551>

## **CAPÍTULO 1 - Acúmulo de alumínio em frutos de espécies nativas do Cerrado**

### **RESUMO**

Os frutos de espécies nativas de Cerrado apresentam compostos bioativos, além de também serem ricos em vitaminas, carotenoides, minerais e fibras solúveis e insolúveis. Estas plantas crescem em solos ricos em Al e são escassos os estudos relacionados a translocação deste metal para as estruturas reprodutivas e seu acúmulo em frutos. Diante disso, nossos objetivos foram verificar a anatomia e a presença de alumínio no fruto de espécies acumuladoras e não acumuladoras do elemento. Foram estudados frutos de espécies acumuladoras: *Miconia albicans*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia macrothyrsa* (Melastomataceae); *Coccocypselum aureum*, *Palicourea rigida*, *Rudgea viburnoides*, *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae) e *Symplocos nitens* (Symplocaceae) e não acumuladoras de Al: *Chiococca alba* e *Declieuxia fruticosa* (Rubiaceae). Foram analisadas a anatomia do fruto e a localização histoquímica de Al. Procedemos à quantificação química de Al na matéria seca do fruto e determinação da abundância relativa de Al, K, Ca, Mg, P, N e Fe, no pericarpo e semente, em microanálise de Raio-X (MEV-EDS). Os principais sítios de acúmulo de Al identificados no pericarpo foram: conteúdo das células do floema, núcleos, paredes celulares de epiderme e parênquima. *Chiococca alba*, *D. fruticosa* e *S. brasiliensis* apresentaram valores abaixo de 1g/kg de Al na matéria seca do fruto, enquanto nas demais espécies os valores foram superiores, com destaque para a espécie *M. ibaguensis* que acumulou valores maiores do que 10 g/kg de Al. De acordo com a microanálise de Raio-X, foi possível identificar a presença de Al em todas as espécies, tanto no pericarpo quanto na semente, mesmo que em baixas porcentagens. Assim, podemos concluir que o Al ocorre nos frutos de todas as espécies analisadas; as espécies acumuladoras do metal na parte aérea, também acumularam mais Al nos frutos, exceto *S. brasiliensis*; nas espécies não acumuladoras do metal muito pouco Al foi detectado nos frutos; e os principais sítios de acúmulo de Al no pericarpo foram: floema (conteúdo), núcleo, parede celular (epiderme e parênquima).

Palavras-chave: Histolocalização de Al. Fruto. Pericarpo. Semente. Acúmulo de Al

## 1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é um bioma com a alta diversidade florística e grande endemismo sendo considerado um dos *hotspots* para a conservação da biodiversidade mundial (Myers et al. 2000; Mittermeier et al. 2005; Solórzano et al. 2012). Esse bioma possui sazonalidade demarcada com longos períodos de seca, alta incidência de radiação UV, ocorrência de fogo natural, solos pobres em nutrientes e com alta concentração de Al (Furley & Ratter 1988; Calixto et al. 2015; Fank-de-Carvalho et al. 2015). Em resposta a esses fatores, diversas adaptações nas espécies vegetais foram selecionadas, como por exemplo: ciclo de vida curto, estratégia observada no estrato herbáceo, que é afetado pela baixa disponibilidade de água nos períodos de estiagem (Villela e Haridasan 1994; Keeley et al. 2011); troncos retorcidos com súber espesso, que atua como isolante térmico durante a passagem do fogo (Fank-de-Carvalho et al. 2015; Vergílio & Marcati 2017); escleromorfismo, evidenciado pelas folhas coriáceas, resultantes da pobreza de nutrientes (Arens 1958) e altas concentrações de alumínio (Goodland 1971); raízes profundas (Souza et al. 2005; Palhares et al. 2010) e mecanismos de exclusão e, ou, acúmulo de alumínio em organelas e órgãos (Brunner e Sperisen 2013; Kochian et al. 2015; Bojórquez-Quintal et al. 2017; de Castro et al. 2022; Ofoe et al. 2023).

Os frutos de espécies nativas de Cerrado possuem interesse alimentar, farmacológico e até da indústria de cosméticos (Luzia 2012; Georgiev et al. 2014; Morzelle et al. 2015; Schiassi et al. 2018) por apresentarem compostos bioativos como os compostos fenólicos - incluindo flavonoides, taninos, antocianinas e compostos fenólicos simples (Schiassi et al. 2018) - que geralmente são produzidos como mecanismos de defesa em resposta aos fatores de estresse supracitados (Fank-de-Carvalho et al. 2015). Além dos compostos bioativos, os frutos também são ricos em vitaminas, carotenoides, minerais e fibras solúveis e insolúveis (Rosa 2013; Bailão et al. 2015; Schiassi et al. 2018). Numerosas pesquisas apontam suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, anticancerígena e antidegenerativa (Lemos et al. 2012; Rosa 2013; Sun et al. 2015; Silva et al. 2019; Corrêa et al. 2021). Em geral, esses estudos estão relacionados aos frutos de espécies popularmente consumidas ou de importância econômica, como pequi, mangaba, cagaita, araticum, baru, murici e buriti (Bailão et al. 2015; Schiassi et al. 2018; Reis e Schmiele 2019; Silva et al. 2019).

Além dos trabalhos relacionados às propriedades e aplicabilidade terapêutica dos frutos, outra área bastante explorada é a da botânica descritiva, que compreende os estudos da morfologia, ontogenia e anatomia (Roth 1977; Barroso et al. 1999; Souza 2006), incluindo espécies nativas ou ocorrentes no Cerrado (Julio e Oliveira 2007; Cortez e Carmello-Guerreiro

2008; Galastri e Oliveira 2010; Oliveira et al. 2014; Tölke et al. 2017; Abrao et al. 2021). Esses trabalhos enfatizam a descrição anatômica e morfológica, bem como a elucidação de mecanismos de crescimento e desenvolvimento do órgão.

Por outro lado, são escassos os estudos relacionados à influência dos fatores abióticos nas características dos frutos, sobretudo quando se trata da possibilidade da translocação do Al para as estruturas reprodutivas e seu acúmulo em frutos (Pasta et al. 2019; Timpone e Habermann 2022) e sementes (Haridasan 2008; Rodrigues et al. 2019). Em *Miconia albicans* (canela-de-velho), uma espécie acumuladora de Al na parte aérea (Haridasan 1982; Bressan et al. 2016; Malta et al. 2016; Milanez et al. 2017; Souza et al. 2018; Nogueira et al. 2019; Timpone e Habermann 2022), foi encontrada concentração elevada de Al nos frutos (Pasta et al. 2019; Timpone e Habermann 2022). Por ser um órgão muito rico em nutrientes e minerais, com propriedades antioxidantes e anti-inflamatória, Corrêa et al. (2021) alertam para os riscos relacionados à saúde devidos ao uso para finalidades diversas.

Em solos ácidos, como do Cerrado, o Al encontra-se na forma de cátion trivalente ( $Al^{3+}$ ) que é fitotóxica para a maioria das plantas (Grevestuk e Romano 2013; Bojórquez-Quintal et al. 2017); entretanto, muitas espécies nativas são resistentes ao elemento e conseguem prosperar na presença do mesmo (Pilon-Smits et al. 2009; Bojórquez-Quintal et al. 2017, Muhammad et al. 2019) mediante mecanismos de exclusão (redução na absorção do metal pelas raízes) e tolerância interna (absorção e acúmulo na parte aérea com posterior detoxificação em compartimentos celulares), sendo que estes podem ocorrer concomitantemente na mesma espécie (Brunner e Sperisen 2013; Nunes-Nesi et al. 2014; Kochian et al. 2015; Bojórquez-Quintal et al. 2017; de Oliveira Carvalho Bittencourt et al. 2020; Cury et al. 2020; Chandra e Keshavkant 2021; de Castro et al. 2022; Ofoe et al. 2023).

Espécies acumuladoras de Al ocorrem em diversas famílias botânicas, principalmente entre as eudicotiledôneas (Jansen et al. 2002; 2004a). Cerca de 80% de todas as acumuladoras de Al estão principalmente restritas às ordens Myrtales e Gentianales (Jansen et al. 2004b). Melastomataceae, Rubiaceae e Symplocaceae são reconhecidas por possuírem várias espécies acumuladoras e ampla distribuição no Cerrado (Haridasan 1982; Souza et al. 2015; Bressan et al. 2016). No Cerrado, Rubiaceae é a sétima família com maior riqueza, com cerca de 380 espécies (Mendonça et al. 2008; Delprete e Jardim 2012). Na família como um todo, mais de 30% das espécies são consideradas acumuladoras de Al por apresentarem acima de 1 g de Al  $kg^{-1}$  na matéria seca (Chenery 1948; Jansen et al. 2003). Melastomataceae também é das mais ricas famílias de Angiospermas, está bem representada no Cerrado e apresenta inúmeras

espécies acumuladoras de Al (Jansen 2002). Symplocaceae, família com cerca de 300 espécies de árvores lenhosas e arbustos (Fritsch et al. 2008), também é conhecida por incluir espécies acumuladoras de Al (Von Faber 1925; Jansen et al 2004a; Maejima et al. 2014; Schmitt et al. 2016; Silva 2019).

Diante disso, investigamos a anatomia e a presença de alumínio no fruto de espécies das famílias referidas, acumuladoras e não acumuladoras de Al, objetivando responder as perguntas: Espécies acumuladoras de alumínio acumulam o metal nos frutos? Quais são os principais sítios de acúmulo de alumínio no pericarpo? Os sítios de acúmulo variam conforme a família ou espécie? Espécies não acumuladoras de Al podem acumular Al nos frutos?

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de estudo e coleta do material

As espécies estudadas foram coletadas 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 (IBGE 2007; SNUC 2000; Tolentino 2011).

As coletas foram realizadas nas áreas de Cerrado *stricto sensu* no final do período chuvoso e começo da estação seca, de março a junho, períodos com maior riqueza de frutos. Coletamos todas as espécies com frutos em abundância, sendo que as espécies acumuladoras coletadas foram: *Coccocypselum aureum*, *Palicourea rigida*, *Rudgea viburnoides*, *Sabicea brasiliensis* (Rubiaceae), *Miconia albicans*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia macrothyrsa* (Melastomataceae) e *Symplocos nitens* (Symplocaceae). As espécies não acumuladoras foram: *Chiococca alba* e *Declieuxia fruticosa* (Rubiaceae).

### 2.2 Anatomia do fruto e localização histoquímica de Al

Amostras (n = 3) de frutos das espécies coletadas foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (Johansen, 1940) ainda em campo, desidratadas em série crescente de etanol (70% a 95%), pré-infiltradas e infiltradas com 2-hidroxietil-metacrilato (Historesin Leica, Alemanha) de acordo com Paiva et al. (2011). Após inclusão, foram obtidas secções transversais, com espessura de 5 µm, usando micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2265, Leica Microsystems Inc.,

Deerfield, USA). As secções foram coradas com azul de toluidina 0,05% em tampão acetato, pH 4,7 (O'Brien e McCully 1964 modificado), para a caracterização anatômica, e submetidas ao chrome azurolo S. para detecção histoquímica do Al (Kukachka & Miller, 1980), durante 1 h, com posterior lavagem, por 5 min, com água destilada. A presença de Al nos tecidos foi identificada pela coloração azul-arroxeadada. 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 Universidade Federal de Viçosa (UFV) e parte no Plant Secretion and Reproduction Lab (PlantSeR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

### **2.3 Quantificação química de Al na matéria seca do fruto**

Os frutos das espécies coletadas foram secos em estufa de ventilação forçada, a 70°C e triturados em moinho tipo Wiley (3383-L10, 46 Thomas Scientific, EUA). Amostras (n = 3) de 0,5 g de matéria seca foram digeridas em solução nitroperclórica (Tedesco et al. 1995) para determinação das concentrações de Al por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) (OPTMA 7300 DV, Perkin Elmer), do Laboratório do Departamento de Solos da UFV. Para as espécies *M. albicans* e *D. fruticosa* foram feitas amostras compostas devido a insuficiência de material.

### **2.4 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) do fruto**

Frutos (n = 3) das espécies coletadas foram seccionados transversalmente, fixados em FAA 50% (Johansen, 1940), por 48h, desidratados em série etílica, secos ao ponto crítico (aparelho Critical Point Dryer, Modelo CPD 030, Balzers, Liechtenstein), e posteriormente recobertos com carbono (Q150TE) para análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (modelo 1430 VP, LEO, Cambridge, Inglaterra) com sonda de Raio-X acoplada (IXRF systems X-EDS, 15715, Brookford Drive, Houston, TX, 77059), no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Foi determinada a abundância relativa de Al, K, Ca, Mg, P, N e Fe, no pericarpo e semente.

### **2.5 Estatística**

Os resultados de avaliações quantitativas foram submetidos ao agrupamento de médias pelo teste Scott Knott, utilizando o software RStudio.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Morfologia dos frutos

Os frutos das espécies analisadas apresentam uma diversidade de formas, tamanhos e cores (Figura 1). Com relação ao tipo de fruto, são carnosos, indeiscentes (Figura 1) do tipo baga para as três espécies de *Miconia*, *C. aureum* e *S. brasiliensis*; do tipo drupa em *D. fruticosa* e *R. viburnoides* e drupáceo em *C. alba*, *P. rigida* e *S. nitens*. Em *D. fruticosa* ocorrem as duas condições, frutos com uma única unidade (como evidenciado pela Figura 2G-I), uma drupa, e frutos com duas unidades idênticas à do fruto que amostramos, que constitui um esquizocarpo drupáceo com dois mericarpos. Em relação ao número de sementes, *D. fruticosa* (Figura 2G-I), *R. viburnoides* (Figura 2M-O) e *S. nitens* (Figura 3D-F) possuem apenas 1 semente; *C. alba* e *P. rigida* possuem 2 sementes; *C. aureum*, *S. brasiliensis* (Figura 3A-C), *M. albicans*; *M. ibaguensis* e *M. macrothyrsa* possuem inúmeras sementes (Figura 3 e Tabela 1). O fruto é originado de ovário ínfero em *P. rigida*, *R. viburnoides* e *S. brasiliensis*; de ovário semi-ínfero nas três espécies de *Miconia* e em *S. nitens*; e de ovário súpero em *C. alba*, *C. aureum* e *D. fruticosa*. Com relação ao número de carpelos, *S. brasiliensis* possui cinco carpelos (Figura 3A-C); *M. macrothyrsa* possui quatro; *M. ibaguensis* (Figura 3 J-L), *M. albicans* (Figura 3G-I) e *S. nitens* (Figura 3D-F) possuem três; *C. alba*, *C. aureum* e *P. rigida* possuem dois carpelos; e *D. fruticosa* (Figura 2G-I) e *R. viburnoides* (Figura 2M-O) possuem apenas um (Tabela 1).

#### 3.2 Anatomia do pericarpo

No pericarpo, a cutícula é delgada na maioria das espécies, mas é espessa em *C. alba* (Figura 4A) e *M. macrothyrsa*. A epiderme é unisseriada e delgada em todas as espécies; em *M. albicans* é papilosa e ornamentada (Figura 4B). Foram identificados tricomas em *C. aureum* (Figura 4C), *M. albicans*, *M. ibaguensis* (Figura 4D), *P. rigida*, *R. viburnoides* e *S. brasiliensis*. *Symplocos nitens* possui uma camada de hipoderme fenólica (Figura 4E).

O parênquima fundamental é constituído de células bem volumosas em todas as espécies, com arranjo mais frouxo em *C. alba* (Figura 4F). Os feixes vasculares do pericarpo são do tipo anficrival nas espécies *P. rigida* (Figura 4G) e *R. viburnoides*, e colateral em *C. aureum* (Figura 4H) e nas demais espécies. O esclerênquima é constituído por esclereídes em *M. albicans* (Figura 4B) e nas demais espécies de *Miconia*, em *R. viburnoides* e *S. nitens*; já nas espécies *P. rigida* (Figura 4I), *C. alba* e *D. fruticosa* ocorrem fibras transversais e oblíquas. Não foi observada a presença do tecido esclerenquimático no pericarpo de *C. aureum* (Figuras

4C, H) e *S. brasiliensis*. Nas espécies *S. nitens* (Figura 4E), *M. ibaguensis*, *C. aureum* e *S. brasiliensis* a coloração verde, resultante da metacromasia do azul de toluidina, indicou a presença de compostos fenólicos na epiderme em *M. ibaguensis*, na hipoderme em *S. nitens* e no parênquima em todas essas espécies. Drusas foram observadas nas espécies *M. ibaguensis* (Figura 4J), *M. albicans*, *M. macrothyrsa* e *S. nitens*; ráfides em *P. rigida* (Figura 4G, K), *C. aureum*, *D. fruticosa* e *R. viburnoides*, e areia cristalina em *C. alba* (Figura 4L) e *S. brasiliensis*.

### 3.3 Localização histoquímica de Al no pericarpo

Os principais sítios de acúmulo de Al identificados foram conteúdo das células do floema, núcleos (epiderme, parênquima e floema), paredes celulares de epiderme e parênquima, tricomas, cloroplastos e células com compostos fenólicos (Tabela 3). O conteúdo do floema e o núcleo testaram positivo para Al em *M. ibaguensis* (Figura 5D), *R. viburnoides* (Figura 5C, E), *M. albicans*, *M. macrothyrsa*, *C. aureum*, *P. rigida* e *S. nitens* (Figuras 2 e 3). O Al está presente nas paredes celulares da epiderme de *M. ibaguensis* (Figura 5A), *M. albicans*, *M. macrothyrsa*, *R. viburnoides* e *S. nitens*; na parede das células parenquimáticas de *M. ibaguensis*, (Figura 5A), *M. albicans*, *M. macrothyrsa*, e *R. viburnoides*; e nos tricomas de *M. ibaguensis* (Figura 5B), *R. viburnoides* (Figura 5E) e *M. albicans* (Figuras 2 e 3). A presença de Al nos cloroplastos foi detectada em *S. nitens* (Figura 5E), *M. albicans* e *P. rigida*. Em *M. ibaguensis*, a localização do Al foi a mesma dos compostos fenólicos, havendo superposição entre eles (Figuras 2, 3 e 5A).

### 3.4 Quantificação química de Al em matéria seca no fruto

*Chiococca alba*, *D. fruticosa* e *S. brasiliensis* apresentaram valores abaixo de 1g/kg de Al na matéria seca do fruto, enquanto nas demais espécies os valores foram superiores a esse valor, com destaque para *M. ibaguensis*, que acumulou valores maiores do que 10 g/kg de Al (Figura 6 e Tabela 4).

### 3.5 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) do fruto

Os dados de abundância relativa de Al, K, Ca, Mg, P, N e Fe estão descritos na Tabela 5 e mostram que as espécies de *Miconia* apresentaram as maiores porcentagens de Al, com maior abundância no pericarpo. Houve diferença estatística entre pericarpo e semente em *M. ibaguensis* e *M. macrothyrsa*, sendo maior porcentagem no pericarpo. Em *M. albicans*, merece destaque o acúmulo de Al em torno de 30% tanto pericarpo quanto nas sementes. Ao comparar

o pericarpo nas diferentes espécies analisadas, *M. albicans* e *M. ibaguensis* apresentaram os maiores valores para Al, diferindo de *M. macrothyrso*, que apresentou a menor porcentagem. Por outro lado, comparando as sementes, o teor de Al é diferente nas três espécies do gênero *Miconia*, *M. albicans* apresentou o maior valor do metal, seguido por *M. ibaguensis* e diferindo das demais espécies.

*Coccocypselum aureum* se destaca por possuir mais de 60% de Ca no pericarpo e 70% nas sementes, com diferença estatística com relação as demais espécies. Considerando o pericarpo, com exceção de *M. albicans*, *S. brasiliensis* e *S. nitens*, todas as demais espécies apresentam valores superiores a 37% para Ca. Ao compararmos as sementes, exceto para *C. aureum*, não houve diferença entre as espécies em relação ao teor de Ca. *Symplocos nitens* se destaca por possuir os valores mais baixos de Ca em ambas as estruturas analisadas. *Miconia macrothyrso* apresentou diferença para este elemento entre pericarpo e semente.

Analisando a abundância relativa de N, notamos que nos pericarpos das espécies de *Miconia* e *C. aureum* apresentaram os menores valores de N, enquanto nas sementes os menores valores foram registrados em *M. albicans* e *C. aureum*, diferindo de todas as outras espécies, e posteriormente, *M. ibaguensis* apresentou a menor porcentagem. Nas espécies *M. albicans*, *M. macrothyrso*, *C. aureum* houve diferença entre pericarpo e semente.

Analisando cada espécie com relação aos diferentes elementos, podemos verificar que N, Ca e Al apresentaram maior abundância. Em *M. ibaguensis*, *P. rigida* e *R. viburnoides*, os elementos Al, Ca e N atingiram maiores porcentagens tanto no pericarpo quanto na semente. Ao comparar Al e Ca, as espécies *M. albicans*, *M. ibaguensis*, *C. aureum*, *P. rigida*, *R. viburnoides* apresentaram altos valores para esses elementos, em ambas as partes do fruto. Além disso, *P. rigida* se destaca por apresentar N, Ca e Al como os maiores valores, respectivamente, em ambas as estruturas (Tabela 5).

#### 4. DISCUSSÃO

Não houve correlação entre o tipo de fruto e as diferentes categorias de resistência ao Al. Por exemplo, comparando apenas as espécies de Rubiaceae, *D. fruticosa* e *R. viburnoides* possuem uma única cavidade seminal e semente, envolta pela porção interna do pericarpo que é lenhosa, formando um só pirênio; constituem, portanto, drupas (Barroso et al. 1999) típicas, embora a primeira seja uma espécie não acumuladora e a segunda acumuladora do metal. Da mesma forma, os frutos de *C. alba* e *P. rigida* são drupáceos, formando dois pirênios, embora

sejam espécies não acumuladora e acumuladora de Al, respectivamente. Por outro lado, comparando apenas as duas espécies não acumuladoras de Al, *C. alba* apresenta dois pirênios e *D. fruticosa* um ou dois, sendo na primeira espécie um fruto drupáceo e a segunda uma drupa ou esquizocarpo drupáceo. Além disso, a anatomia dos frutos dessas espécies não acumuladoras de Al é bem semelhante, o que pode estar relacionado ao fato de pertencerem a família Rubiaceae, uma vez que compartilham caracteres em comum também com espécies acumuladoras da mesma família.

Dentre as espécies estudadas, as acumuladoras de Al na parte aérea, também acumularam o metal nos frutos, exceto *S. brasiliensis* que apresentou muito pouco Al (0.24 g/kg) neste órgão. Isso já foi relatado para *M. albicans*, espécie acumuladora de Al que apresentou esse elemento nos frutos, entre 2-3 g/kg de Al (Pasta et al. 2019; Timpone e Habermann 2022). As espécies não acumuladoras de Al também apresentaram pouco desse metal nos frutos (0.09 e 0.14 g/kg). Mesmo que a amostragem de espécies não acumuladoras de Al tenha sido pequena, é de se esperar em espécie que utilizam essa estratégia de resistência ao metal, pequena concentração desse elemento nos frutos uma vez que muito pouco Al é translocado para a parte aérea nessas espécies.

A histolocalização de Al por chrome azulol S demonstrou que conteúdo do floema, núcleo, parede celular de epiderme e parênquima foram os principais sítios de acúmulo do metal, presente no pericarpo da maioria das espécies analisadas, os mesmos sítios já identificados para órgãos vegetativos (Haridasan et al. 1986; Bressan et al. 2016; Malta et al. 2016; Nogueira et al. 2019; Cury et al. 2020; Sun et al. 2020). Além disso, nas espécies não acumuladoras de Al, não foi observado sítios de acúmulo do metal com reação positiva. Uma vez que o Al foi detectado no floema, torna-se necessário averiguar se o mesmo pode ser redistribuído para os frutos por meio desse tecido de condução, já que em *Camellia oleifera* o transporte de Al pra parte aérea, via floema, já foi observado (Zeng et al. 2013).

O núcleo (epiderme, parênquima e floema) foi um sítio de acúmulo de Al predominante no pericarpo da maioria das espécies analisadas, o que também já foi observado em trabalhos anteriores com espécies acumuladoras de Al, com relação a folha, caule e raiz (Souza-Fernandes 2019; Cury et al. 2020; Sun et al. 2020; Marques 2021). Já se sabe que, na a raiz de *Camellia sinensis*, o Al é essencial para manter a integridade do DNA (Sun et al. 2020). Além disso, em raízes de *Qualea grandiflora*, foi demonstrado que o Al pode favorecer o processamento da informação genética por manter a estrutura do DNA e da cromatina (Cury et al. 2020; de Castro et al. 2022). Nenhum desarranjo na organização celular foi observado, nas

espécies acumuladoras de Al, o que nos leva a supor que esse metal desempenha papel no metabolismo dessas plantas, sendo importante para o funcionamento das células também da parte aérea.

Nos frutos, as paredes celulares da epiderme e do parênquima foram sítios bem marcantes de acúmulo de Al, como tem sido relatado para as partes vegetativas de diversas espécies (Haridasan et al. 1986; Bressan et al. 2016; Malta et al. 2016; Nogueira et al. 2019). O Al tem alta afinidade por grupos carboxila, hidroxila e fosfato (Poschenrieder et al. 2019) e as paredes celulares de constituição pectocelulósica são ricas em material carboxílico, incluindo pectina, celulose e hemicelulose, que possuem cargas negativas e uma alta afinidade para íons Al (Geng et al. 2017; Wu et al. 2022).

De acordo com a microanálise de Raio-X, foi possível identificar a presença de Al no fruto, tanto no pericarpo quanto na semente, em todas as espécies estudadas, mesmo que em baixas porcentagens. Das espécies acumuladoras de Al, as que apresentaram maiores porcentagens do metal foram as espécies de *Miconia* e, entre as não acumuladoras, *C. alba* teve as porcentagens mais baixas em ambas as estruturas. Essa análise permitiu identificar Al nas sementes e encontramos 31,82% em *M. albicans* e 13,11% em *P. rigida*, o que corrobora o que foi identificado por Haridasan (2008) em algumas espécies, especialmente *M. albicans* (6,9 g kg<sup>-1</sup>) e *P. rigida* (6,0 g kg<sup>-1</sup>).

Além disso, percebemos uma relação entre Al, Ca e N, como os elementos com maior abundância relativa. O Ca tem o papel estrutural em parede celular e como transportador de membrana e, para que isso aconteça, deve estar disponível em quantidades suficientes para as plantas (Thor 2019). No entanto, o Al compete com o Ca, tanto pelos transportadores de membrana, quanto pelos grupos carboxila da pectina, presente na parede celular (Horst et al. 2010; Thor 2019). Por outro lado, em plantas tratadas com Ca, esse elemento já foi relatado como uma alternativa para aliviar a toxicidade do Al (Ligaba-Osena et al. 2017; Rahman et al. 2018; Vasconcelos et al. 2020; Li et al. 2022).

O fruto de *M. albicans*, espécie acumuladora de Al, é muito rico em fenóis totais, que agrega uma capacidade antioxidante, além de possuir concentrações elevadas de Ca, Zn, Fe e Mg, fazendo com que esta seja uma espécie interessante para o consumo humano. No entanto, foi detectada concentração elevada de Al neste órgão (Pasta et al. 2019). Considerando que espécies acumuladoras de Al translocaram maior concentração do metal para os frutos, é importante ressaltar que muitos deles são consumidos por animais e alguns são incluídos da alimentação humana, o que alerta para risco à saúde em função do consumo. É importante

lembrar que existem alguns estudos relacionando o Al com a doença de Alzheimer (Klein 2005; Ferreira et al. 2008; Arain et al. 2015), o que indica a necessidade de mais estudos sobre este tema.

Diante disso, o Al foi encontrado nos frutos de todas as espécies; as espécies acumuladoras do metal na parte aérea, também foram as que mais acumularam Al nos frutos, exceto *S. brasiliensis*; as espécies não acumuladoras do metal também acumularam muito pouco nos frutos; e os principais sítios de acúmulo de Al no pericarpo, presentes na maioria das espécies foram: floema (conteúdo), núcleo, parede celular (epiderme e parênquima). Esses dados permitiram ampliar o conhecimento sobre o acúmulo de Al em frutos, uma vez que são raros os estudos de histolocalização e de acúmulo do metal em estruturas reprodutivas. Isso destaca a necessidade de maior compreensão sobre a translocação de Al para os frutos e sementes, além dos possíveis efeitos do consumo de frutos com Al por frugívoros e humanos e esclarecer os mecanismos de resistência das plantas acumuladoras de Al e o papel do acúmulo do metal no desenvolvimento de frutos e sementes.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrao FY, Costa HM, Fiuza TS, Romano CA, Ferreira HD, Cunha LC, Oliveira Neto JR, Paula JR (2021) Anatomical study of the leaves and evaluation of the chemical composition of the volatile oils from *Psidium guineense* Swartz leaves and fruits. Res, Soc Dev 10(6): e49110615929. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15929>
- Arain MS, Afridi HI, Kazi TG, Talpur FN, Arain MB, Kazi A, Arain SA, Ali J (2015) Correlation of aluminum and manganese concentration in scalp hair samples of patients having neurological disorders. Environ Monit Assess 187: 2–10. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4172-0>
- Arens K (1958) O Cerrado como vegetação oligotrófica. Boletim Da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Botânica 15: 57–77. <https://www.jstor.org/stable/43590561>
- Bailão EFLC, Devilla IA, Da Conceição EC, Borges LL (2015) Bioactive compounds found in Brazilian cerrado fruits. Int J Mol Sci 16: 23760-23783. <https://doi.org/10.3390/ijms161023760>
- Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF (1999) Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: Editora UFV

- Bojórquez-Quintal E, Escalante-Magaña C, Echevarria-Machado I, Martínez-Estévez M (2017) Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. *Front Plant Sci* 8: 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01767>
- Bressan ACG, Coan AI, Habermann G (2016) 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* 404: 293-306. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2841-1>
- Brunner I, Sperisen C (2013) Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. *Front Plant Sci* 4: 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00172>
- Calixto ES, Lange D, Del-Claro K (2015) Foliar anti-herbivore defenses in *Qualea multiflora* Mart. (Vochysiaceae): Changing strategy according to leaf development. *Flora* 212:19-23. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2015.02.001>
- Chandra J, Keshavkant S (2021) Mechanisms underlying the phytotoxicity and genotoxicity of aluminum and their alleviation strategies: a review. *Chemosphere* 278: 130384. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130384>
- Chenery EM (1948) Aluminium in the Plant World. *Kew Bull* 3(2): 173-183. <https://doi.org/10.2307/4119757>
- Conti E, Litt A, Wilson PG, Graham SA, Briggs BG, Johnson LAS, Sytsma KJ (1997) Interfamilial relationships in Myrtales: molecular phylogeny and patterns of morphological evolution. *Syst Bot* 22: 629–647. <https://doi.org/10.2307/2419432>
- Corrêa JGS, Bianchin M, Lopes AP, Silva E, Ames FQ, Pomini AM, Carpes ST, Rinaldi JDC, Melo RC, Kioshima E, Bersani Amado CA, Pilau EJ, Carvalho JED, Ruiz ALTG, Visentainer JV (2021) Santin Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. *J Ethnopharmacol* 273: 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113979>
- Cortez PA and Carmello-Guerreiro SM (2008) Ontogeny and structure of the pericarp and the seed coat of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) from “cerrado”, Brazil. *Revista Brasil Bot* 31(1): 71-79. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042008000100008>
- Cury NF, Silva RC, Andre MS, Fontes W, Ricart CA, Castro MS, et al. (2020) Root proteome and metabolome reveal a high nutritional dependency of aluminium in *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). *Plant Soil* 446: 125–143. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04323-3>

- De Castro LMR, Vinson CC, Da Gordo SMC et al. (2022) Molecular and physiological aspects of plant responses to aluminum: what do we know about Cerrado plants? *Braz J Bot* 45: 545–562. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00781-1>
- De Oliveira Carvalho Bittencourt BM, Da Silva CDMS, Filho SZ et al. (2020) Aluminum (Al)-induced organic acid exudation in an Al-accumulating species from the Brazilian savana. *Trees* 34: 155-162. <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01907-5>
- Delprete PG, Jardim JG (2012) Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenge. *Rodriguésia* 63: 101–128. <https://doi.org/10.1590/S2175-78602012000100009>
- Fank-de-Carvalho SM, Somavilla NS, Marchioretto MS, Bão SN (2015) Plant structure in the Brazilian neotropical savannah species. In *Biodiversity in Ecosystems—Linking Structure and Function*; Lo, Y., Blanco, J.A., Roy, S., Eds.; InTech: Rijeka, Croatia, 425–459
- Ferreira PC, Piai KA, Takayanagui AMM, Segura-Muñoz SI (2008) Alumínio como fator de risco para a doença de Alzheimer. *Ver Lat Am Enferm* 16: 151–157. <https://doi.org/10.1590/S0104-116920080001000023>
- Fritsch PW, Kelly LM, Wang Y, Almeda F, Kriebel R (2008) Revised infrafamilial classification of Symplocaceae based on phylogenetic data from DNA sequences and morphology. *Taxon* 57: 823–852. <https://doi.org/10.1002/tax.573013>
- Furley PA, Ratter JA (1988) Soil resources and plant communities of the Central Brazilian Cerrado and their development. *J Biogeogr* 15: 97-108. <https://doi.org/10.2307/2845050>
- Galastri NA, Oliveira DMT (2010) Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Vernonia platensis* (Spreng.) Less. (Asteraceae). *Acta Bot Bras* 24(1): 73-83. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000100008>
- Geng X, Horst WJ, Golz JF, Lee JE, Ding Z, Yang ZB (2017) LEUNIG \_HOMOLOG transcriptional co-repressor mediates aluminium sensitivity through PECTIN METHYLESTERASE 46-modulated root cell wall pectin methylesterification in *Arabidopsis*. *Plant J* 90: 491–504. <https://doi.org/10.1111/tpj.13506>
- Georgiev V, Ananga A, Tsoleva V (2014) Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*, 6, 391–415. <https://doi.org/10.3390/nu6010391>
- Goldenberg R, Almeda F, Sosa K, Ribeiro RC, Michelangeli FA (2015) *Rupestrea*: a new Brazilian genus of Melastomataceae, with anomalous seeds and dry indehiscent fruits. *Syst Bot* 40: 561–571. <https://doi.org/10.1600/036364415X688862>

- Goodland R (1971) Oligotrofismo e alumínio no cerrado. In: Ferri, M.G (ed), III Simpósio sobre o cerrado. pp. 44-60. EDUSP, São Paulo.
- Grevenstuk T, Romano A (2013) Aluminium speciation and internal detoxification mechanisms in plants: where do we stand? *Metallomics* 5: 1584-1594. <https://doi.org/10.1039/c3mt00232b>
- 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
- Haridasan M (1982) Aluminum accumulation by some Cerrado native species of central Brazil. *Plant Soil* 65: 265–273. <https://doi.org/10.1007/BF02374657>
- Haridasan M, Paviani TI, Schiavini I (1986) Localization of aluminium in the leaves of some aluminium-accumulating species. *Plant Soil* 94: 435–437. <https://doi.org/10.1007/BF02374336>
- Haridasan M (2008) Nutritional adaptations of native plants of the cerrado biome in acid soils. *Braz J Plant Physiol* 20(3): 183-195. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202008000300003>
- Horst WJ, Wang Y, Eticha D (2010) The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. *Ann Bot* 106(1): 185–197. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq053>
- Jansen S, Broadley MR, Robbrecht E, Smets E (2002) Aluminium hyperaccumulation in angiosperms: a review of its phylogenetic significance. *Bot Rev* 68: 235-269. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2002\)068\[0235:AHIAAR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2002)068[0235:AHIAAR]2.0.CO;2)
- Jansen S, Watanabe T, Dessen S, Smets E, Robbrecht E (2003) A Comparative study of metal levels in leaves of some Al-accumulating Rubiaceae. *Ann Bot* 91: 657–663. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg071>
- Jansen S, Watanabe T, Caris P, Geuten K, Lens F, Pyck N, Smets E (2004a) The distribution and phylogeny of aluminium accumulating plants in the Ericales. *Plant Biol* 6: 498–505. <https://doi.org/10.1055/s-2004-820980>
- Jansen S, Watanabe T, Dessen S, Robbrecht E, Smets, E (2004b). The evolution of aluminium accumulation in angiosperms. In Hemsley A R and Poole I (Eds). *The Evolution of Plant Physiology*. London: Academic Press. Pages 467-479. <https://doi.org/10.1016/B978-012339552-8/50024-X>
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. New York: McGraw- Hill, pp 523

- Julio PGS, Oliveira DMT (2007) Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Styrax camporum* Pohl. (Styracaceae), espécie de cerrado do Estado de São Paulo. *Revista Brasil Bot* 30(2): 189-203. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042007000200004>
- Keeley JE, Pausas JG, Rundel PW, Bond WJ, Bradstock RA (2011) Fire as an evolutionary pressure shaping plant traits. *Plant Sci* 15(8): 406-411. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.04.002>
- Klein GL (2005) Aluminium: new recognition of an old problem. *Curr Opin Pharmacol* 5: 637–640. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2005.07.005>
- Kochian LV, Piñeros MA, Liu J, Magalhaes JV (2015) Plant Adaptation to Acid Soils: The Molecular Basis for Crop Aluminum Resistance. *Annu Rev Plant Biol* 66: 23.1–23.28. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114822>
- Kukachka BF, Miller RB (1980) A chemical spot-test for aluminum and its value in wood identification. *IAWA Bulletin* 1: 104-109. <https://doi.org/10.1163/22941932-90000699>
- Lemos MRB, Siqueira EMA, Arruda SF, Zambiasi RC (2012) The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts [*Dipteryx alata* Vog.]. *Food Res Int* 2(48): 592-597. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.027>
- Li Z, Huang F, Hu B, Qiu M (2022) Detoxification of aluminum by Ca and Si is associated to modified root cell wall properties. *Theor Exp Plant Physiol* 34: 131–142. <https://doi.org/10.1007/s40626-022-00235-3>
- Ligaba-Osena A, Fei Z, Liu J, Xu Y, Shaff J, Lee S, Luan S, Kudla J, Kochian L, Piñeros M (2017) Loss-of-function mutation of the calcium sensor CBL1 increases aluminum sensitivity in *Arabidopsis*. *New Phytol* 214(2): 830-841. <https://doi.org/10.1111/nph.14420>
- Luzia DMM (2012) Propriedades funcionais de óleos extraídos de sementes de frutos do Cerrado brasileiro (Tese de doutorado). Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto.
- Maejima E, Hiradate S, Jansen S, Osaki M, Watanabe T (2014) Comparative analysis of aluminum accumulation in leaves of three angiosperm species. *Botany* 92: 327–331. <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0298>
- Malta PG, Arcanjo-Silva S, Ribeiro C, Campos NV, Azevedo AA (2016) *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant Soil* 408: 369-384. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2926-x>

- Marques APP (2021) Aluminum: a beneficial or essential element for the cerrado species *Borreria latifolia* (Rubiaceae)? (Tese de doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva-Júnior MC, Rezende AV, Filgueiras TS, Nogueira PE, Fagg CW (2008) Flora Vascular do Bioma: Cerrado checklist com 12.356 espécies. In: Sano SM, Almeida SP, Ribeiro JF (Eds). Cerrado: Ecologia e Flora. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. II, pp 421-442
- Milanez CRD, Marcati CR, Machado SR (2017) Trabeculae and Al-accumulation in the wood cells of Melastomataceae species from Brazilian savanna. *Botany* 95: 501–530. <https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0135>
- Mittermeier RA, Gil PR, Hoffmann M, Pilgrim JD, Brooks T, Mittermeier CG, Fonseca GAB (2005) Hotspots Revisited: Earths Biologically Richest and Most Endangered Ecoregions. México: CEMEX & Agrupacion Sierra Madre. v. I
- Morzelle MC, Bachiega P, Souza EC, Vilas Boas EVB, Lamounier ML (2015) Caracterização química e física de frutos de curriola, gabioba e murici provenientes do Cerrado brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 37, 96-103. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-036/14>
- Muhammad N, Zvobgo G, Guo-ping Z (2019) The beneficial effects and possible mechanisms of aluminum on plant growth in acidic soil. *J Integr Agric* 18: 1518-1528. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)61991-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)61991-4)
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Nogueira MA, Bressan ACG, Pinheiro MHO, Habermann G (2019) Aluminum-accumulating Vochysiaceae species growing on a calcareous soil in Brazil. *Plant Soil* 437: 313–326. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-03978-2>
- Nunes-Nesi A, Brito DS, Inostroza-Blancheteau C, Fernie AR, Araújo WL (2014) The complex role of mitochondrial metabolism in plant aluminum resistance. *Trends Plant Sci* 19: 399-407. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.006>
- O'Brien TP, Feder N, Mccully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368–373. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>
- Ofoe R, Thomas RH, Asiedu SK, Wang-Pruski G, Fofana B, Abbey L (2023) Aluminum in plant: Benefits, toxicity and tolerance mechanisms. *Front Plant Sci* 13:1085998. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1085998>

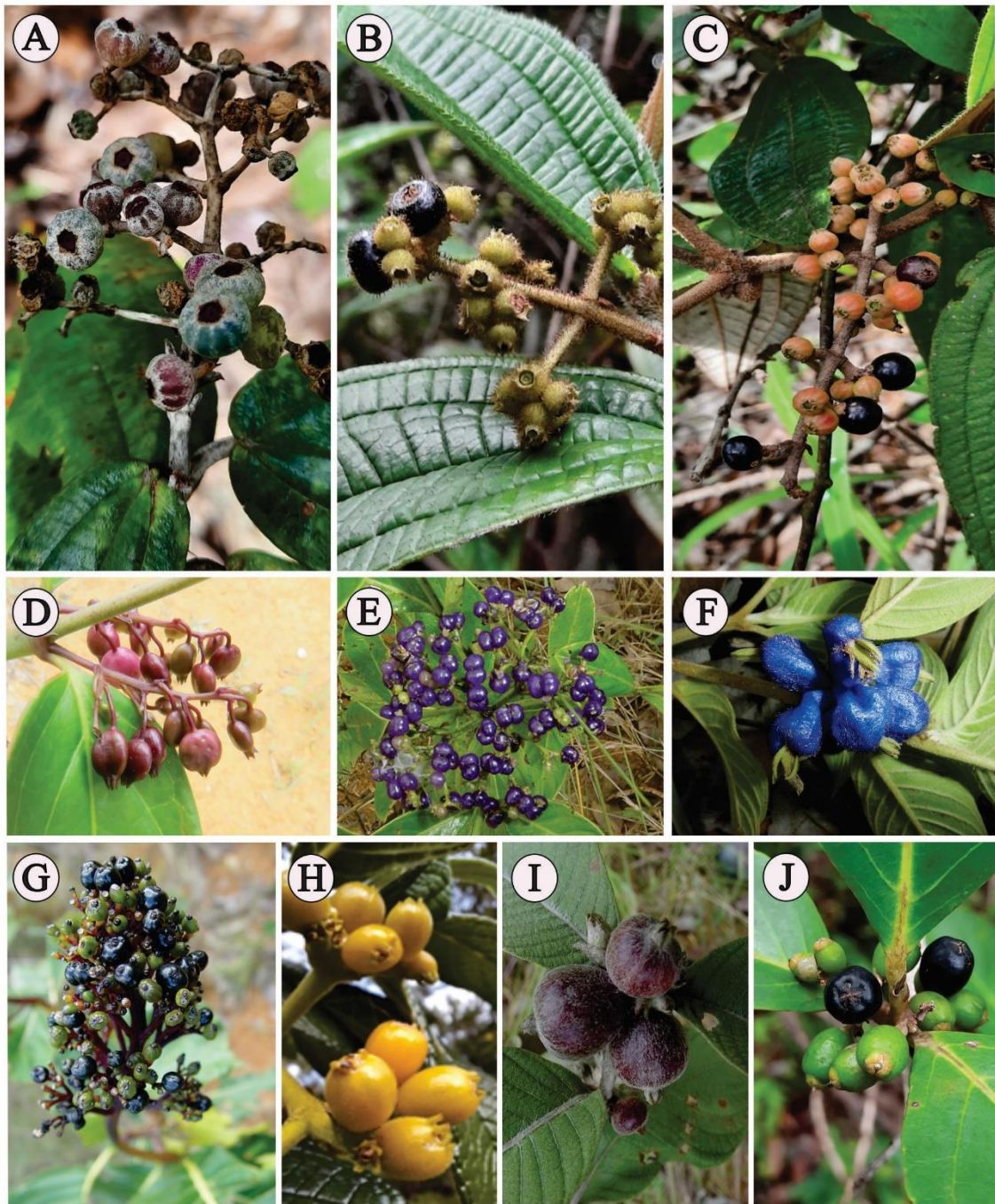
- Oliveira JHG, Iwazaki MC, Oliveira DMT (2014) Análises ontogenéticas do pericarpo de espécies de *Mimosa* Linnaeus (Fabaceae, Mimosoideae). *Hoehnea* 41(4): 483-497. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-28/2013>
- Paiva EAS, Pinho SZ de, Oliveira DMT (2011) Large Plant Samples: How to Process for GMA Embedding? In: Chiarini-Garcia H, Melo RCN (eds) *Light microscopy: methods and protocols*. New York: Springer/H. pp 37–49
- Palhares D, Franco AC, Zaidan LBP (2010) Respostas fotossintéticas de plantas de Cerrado nas estações seca e chuvosa. *R Bras Bioci* 8(2): 213–220. <https://seer.ufrgs.br/index.php/rbrasbioci/article/view/114930>
- Pasta PC, Durigan G, Moraes ICF et al. (2019) Physicochemical properties, antioxidant potential and mineral content of *Miconia albicans* (Sw.) Triana: a fruit with high aluminium content. *Braz J Bot* 42: 209–216. <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00532-3>
- Pilon-Smits EAH, Quinn CF, Tapken W, Malagoli M, Schiavon M (2009) Physiological functions of beneficial elements. *Curr Opin Plant Biol* 12: 267–274. <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00532-3>
- Poschenrieder C, Busoms S, Barcelo J (2019) How plants handle trivalente (+3) elements. *Intl J Mol Sci* 20: 3984. <https://doi.org/10.3390/ijms20163984>
- Rahman Md, Lee S, Ji HC, Kabir AH, Jones CS, Lee K (2018) Importance of Mineral Nutrition for Mitigating Aluminum Toxicity in Plants on Acidic Soils: Current Status and Opportunities. *Int J Mol Sci* 19: 3073. <https://doi.org/10.3390/ijms19103073>
- Reis AF & Schmiele M (2019) Characteristics and potentialities of Savanna fruits in the food industry. *Braz J Food Technol* 22: e2017150. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.15017>
- Renner SS (1993) Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. *Nord J Bot* 13: 519–540. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1993.tb00096.x>
- Rodrigues AA, Vasconcelos-Filho SC, Muller C, Rodrigues DA, Sales JF, Zuchi J, Costa AC, Rodrigues CL, Silva AA, Barbosa DP (2019) Tolerance of *Eugenia dysenterica* to aluminum: germination and plant growth. *Plants* 8: 317. <https://doi.org/10.3390/plants8090317>
- Rosa FR (2013) Atividade antioxidante de frutos do cerrado e identificação de compostos em *Bactris setosa* Mart., *palmae* (tucum-do-cerrado). Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição Humana, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília-DF.
- Roth I (1977) *Fruits of Angiosperms*. Berlin: Gebrüder Borntraeger.

- Schmitt M, Boras S, Tjoa A, Watanabe T, Jansen S (2016) Aluminium Accumulation and Intra-Tree Distribution Patterns in Three *Arbor aluminosa* (*Symplocos*) Species from Central Sulawesi. PLoS One 11(2): 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149078>
- Schiassi MCEV, Souza VR, Lago AMT, Campos LG, Queiroz F (2018) Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. Food Chem 245: 305-311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>
- Silva DLS, Sousa HMS, Martins GAS, Silva JFM, Peluzio JM, Leal GF (2019) Capacidade antioxidante de frutos do cerrado. DESAFIOS Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins 6: 127-133. <https://doi.org/10.20873/uftsupl2019-6845>
- Silva, IL (2019) Contribuição das características estruturais e bioquímicas na resistência ao alumínio, em duas espécies do cerrado. 51 f. Tese (Doutorado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- SNUC - Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza (2000) Lei N° 9.985, de 18 de julho de 2000. MMA/SBF.
- Solórzano A, Pinto JRR, Felfili JM, Hay JDV (2012) Perfil florístico e estrutural do componente lenhoso em seis áreas de cerradão ao longo do bioma Cerrado. Acta Bot Bras 26(2): 328-341. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000200009>
- Souza A de, Moraes MG de, Ribeiro R de CLF (2005) Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. Acta Bot Bras 19(1): 81-90. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062005000100009>
- Souza VC, Lorenzi H (2005) Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- Souza LA (org.) (2006) Anatomia do fruto e da semente. Ponta Grossa: Editora UEPG, p 11-123
- Souza MC, Bueno PCP, Morellato LPC, Habermann G (2015) Ecological strategies of Al-accumulating and non-accumulating functional groups from the cerrado sensu stricto. Ann Acad Bras Ciên 87: 813-823. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140222>
- Souza MC, Rosa AL, Poschenrieder C, Tolr`a R, Da Costa FB (2018) Fingerprinting metabolomics in tropical mistletoes: A case study with facultative aluminum-accumulating species. Photochem Lett 25: 90-94. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.04.013>

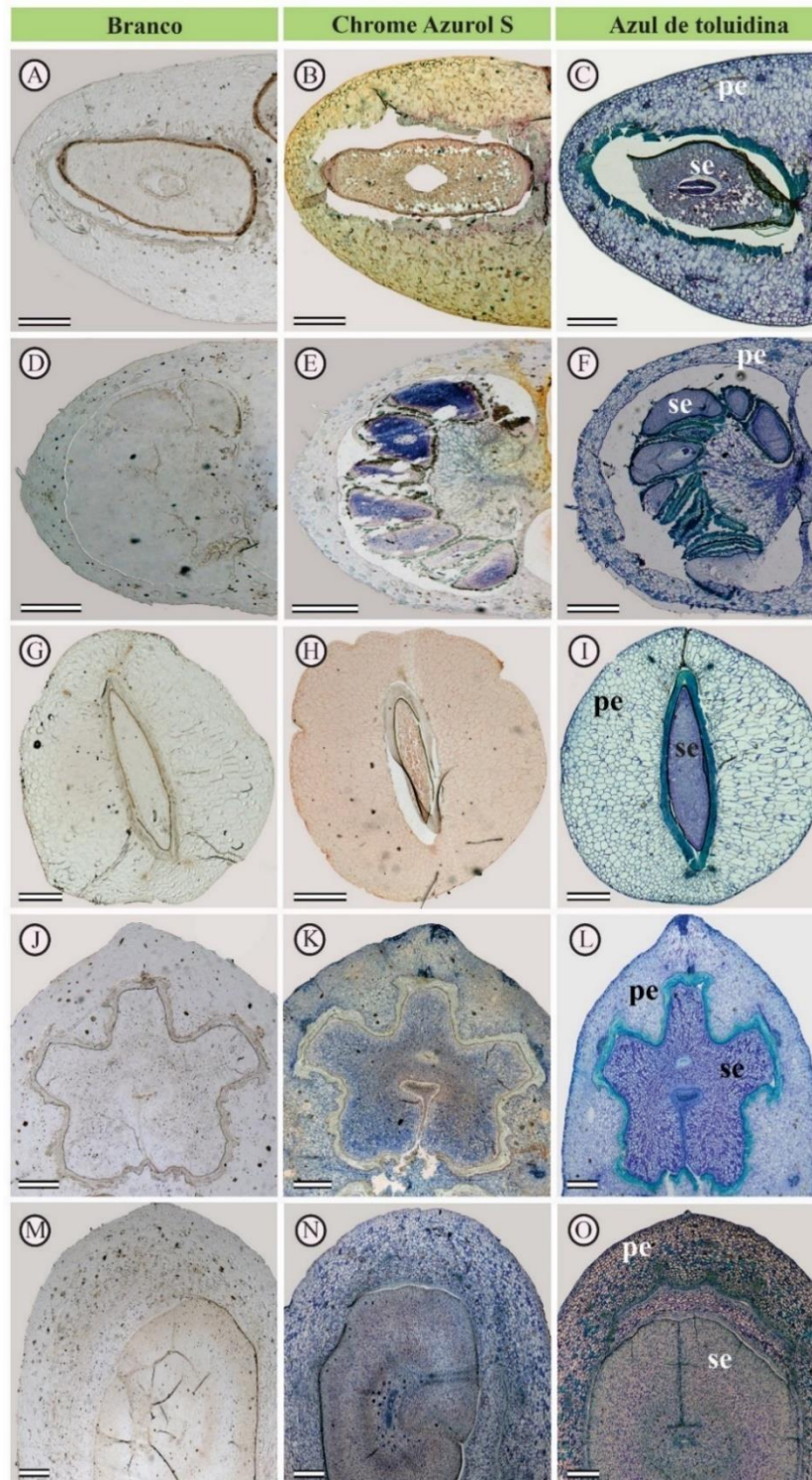
- Souza-Fernandes DP (2019) O acúmulo de alumínio na parte aérea é comum em espécies herbáceas do cerrado? Dissertation, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Stone RD (2006) Phylogeny of major lineages in Melastomataceae, subfamily Olisbeoideae: utility of nuclear glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GapC) gene sequences. *Syst Bot* 31: 107–121. <https://doi.org/10.1600/036364406775971741>
- Sun Q, Heilmann J, König B (2015) Natural phenolic metabolites with anti-angiogenic properties—A review from the chemical point of view. *Beilstein J Org Chem* 11: 249–264. <https://doi.org/10.3762/bjoc.11.28>
- Sun L, Zhang M, Liu X, Mao Q, Shi C, Kochian LV, Lion H (2020) Aluminium is essential for root growth and development of tea plants (*Camellia sinensis*). *J Integr Plant Biol* 62(7): 984-997. <https://doi.org/10.1111/jipb.12942>
- Tedesco MJ, Gianello C, Bissani CA, Bohnen H, Volkweiss SJ (1995) Análise de solo, plantas e outros materiais. 2ª edição. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp 174
- Timpone LT, Habermann G (2022) Is aluminum (Al) eliminated by senescent structures of *Miconia albicans*, an Al-accumulating species from Brazilian savanna? *Flora* 289: 152036. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2022.152036>
- Thor K (2019) Calcium-Nutrient and Messenger. *Front Plant Sci* 10: 440. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00440>
- Tolentino GS (2011) Composição e partição de nicho em gradientes de solo e luz no Cerrado. Dissertation, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Tölke EEAD, Lacchia APS, Demarco D, Carmello-Guerreiro SM (2017) Pericarp ontogeny of *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae) reveals a secretory endocarp in young stage. *Acta Bot Bras* 31(3): 319-329. <https://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0287>
- Vasconcelos CV, Costa AC, Müller C, Castoldi G, Costa AM, Barbosa KP, Rodrigues AA, Silva AA (2020) Potential of calcium nitrate to mitigate the aluminum toxicity in *Phaseolus vulgaris*: effects on morphoanatomical traits, mineral nutrition and photosynthesis. *Ecotoxicology* 29(2):203-216. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02168-6>
- Vergílio PCB, Marcati CR (2017) Adaptive and diagnostic significance of the bark of *Stryphnodendron polyphyllum* (Leguminosae) from the Cerrado. *Aust J Bot* 65: 157-171. <https://doi.org/10.1071/BT16212>

- Villela DMV, Haridasan M (1994) Response of the ground layer community of a cerrado vegetation in central Brazil to liming and irrigation. *Planta Soil* 163: 25-31. <https://doi.org/10.1007/BF00033937>
- Von Faber, VFC (1925) Untersuchungen über die physiologie der javanische solfataren-pflanzen. *Flora* 118: 89–110. [https://doi.org/10.1016/S0367-1615\(17\)32882-3](https://doi.org/10.1016/S0367-1615(17)32882-3)
- Wu Q, Tao Y, Huang J, Liu YS, Yang XZ, Jing HK et al. (2022) The MYB transcription factor MYB103 acts upstream of TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE27 in regulating aluminum sensitivity by modulating the O-acetylation level of cell wall xyloglucan in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 111: 529–545. <https://doi.org/10.1111/tpj.15837>
- Zeng QL, Chen RF, Zhao XQ, Shen RF, Noguchi A, Shinmachi F, Hasegawa I (2013) Aluminum could be transported via phloem in *Camellia oleifera* Abel. *Tree Physiol* 33: 96–105. <https://doi.org/10.1093/treephys/tps117>

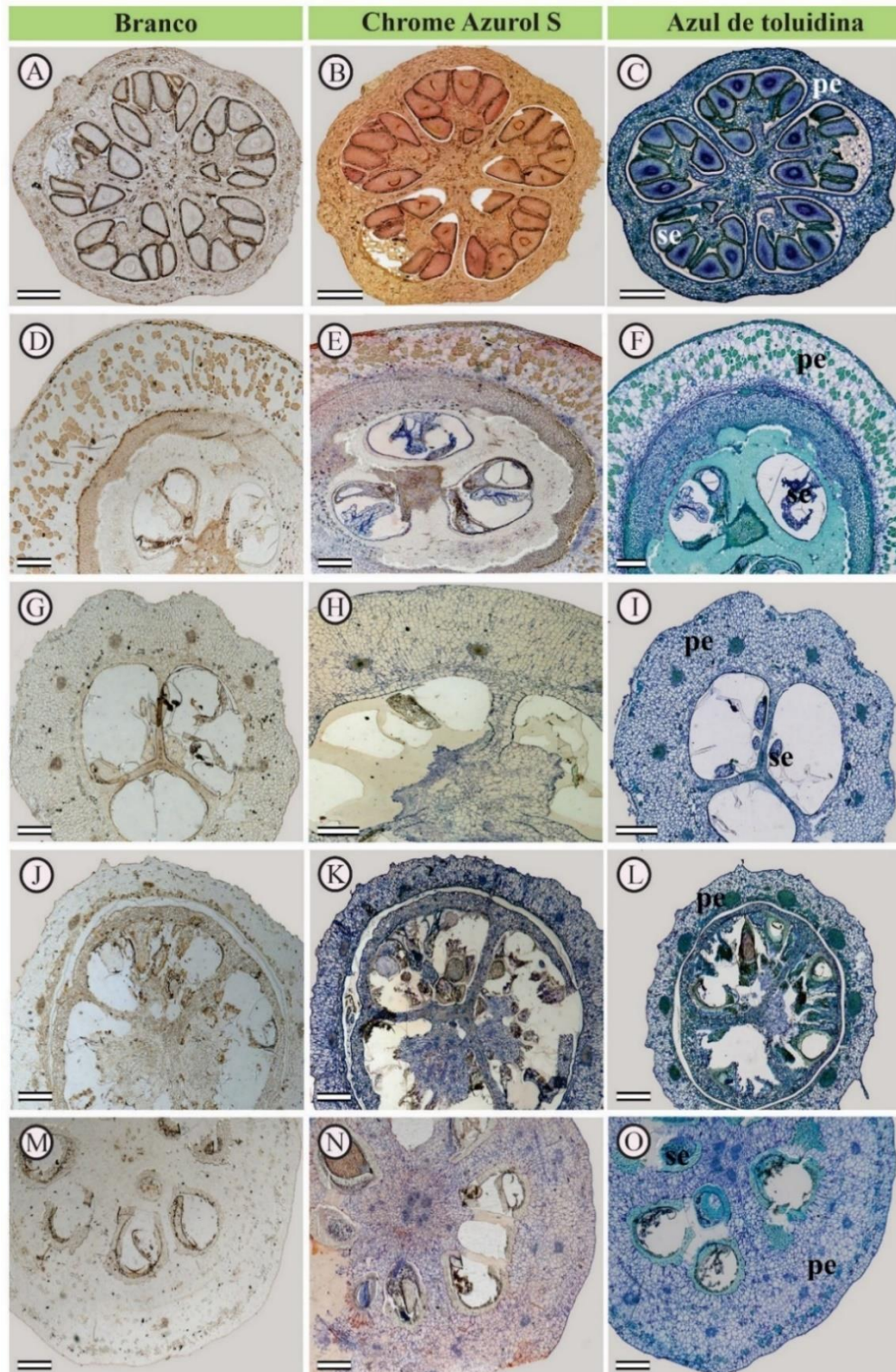
## 6. FIGURAS E TABELAS



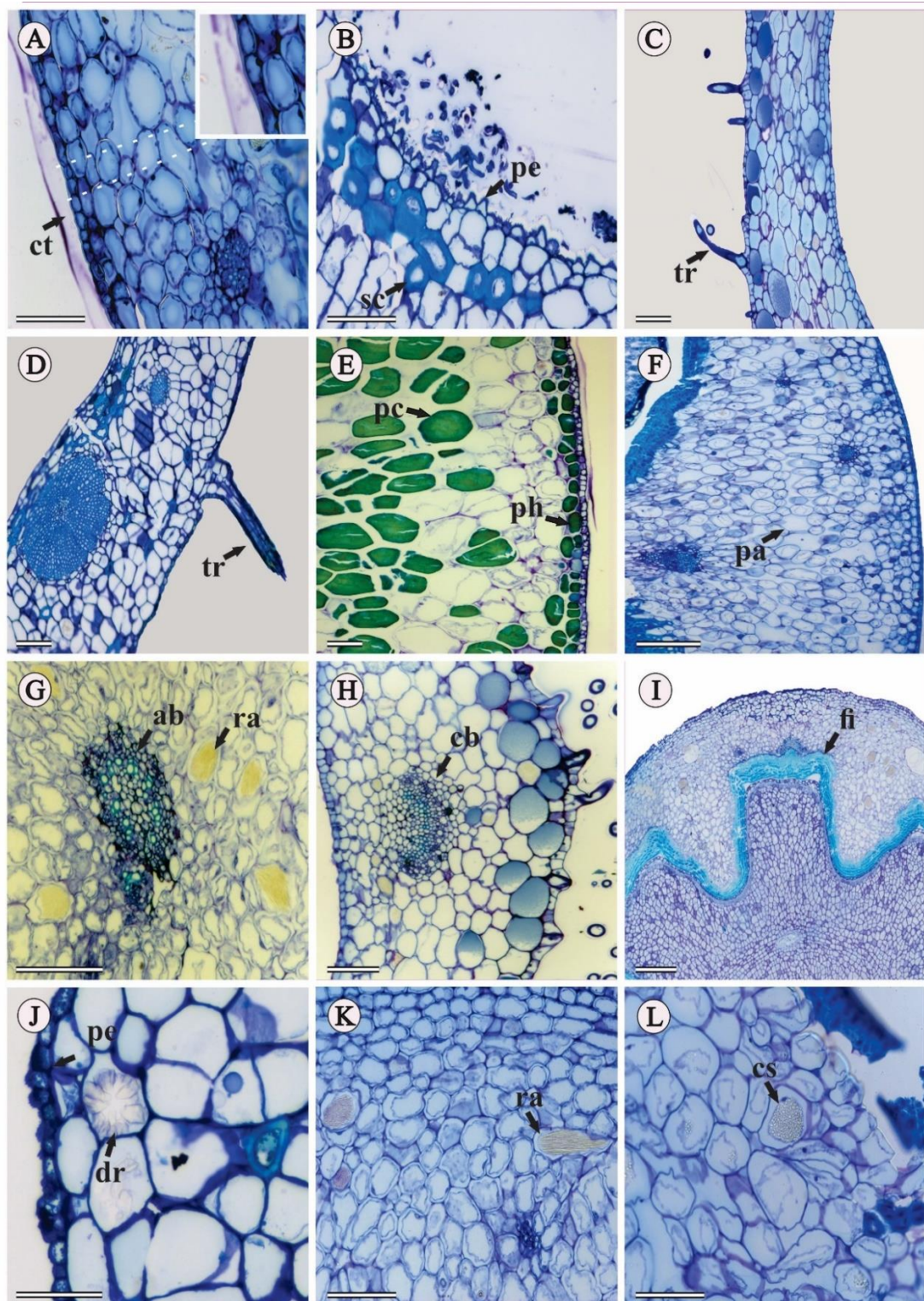
**Figura 1** - Diversidade de formas e cores de frutos coletados no Cerrado da FLONA de Paraopeba, MG. A - *Miconia albicans*, B - *Miconia ibaguensis*, C - *Miconia macrothrysa*, D - *Chiococca alba*, E - *Declieuxia fruticosa*, F - *Coccocypselum aureum*, G - *Palicourea rigida*, H - *Rudgea viburnoides*, I - *Sabicea brasiliensis*, J - *Symplocos nitens*.



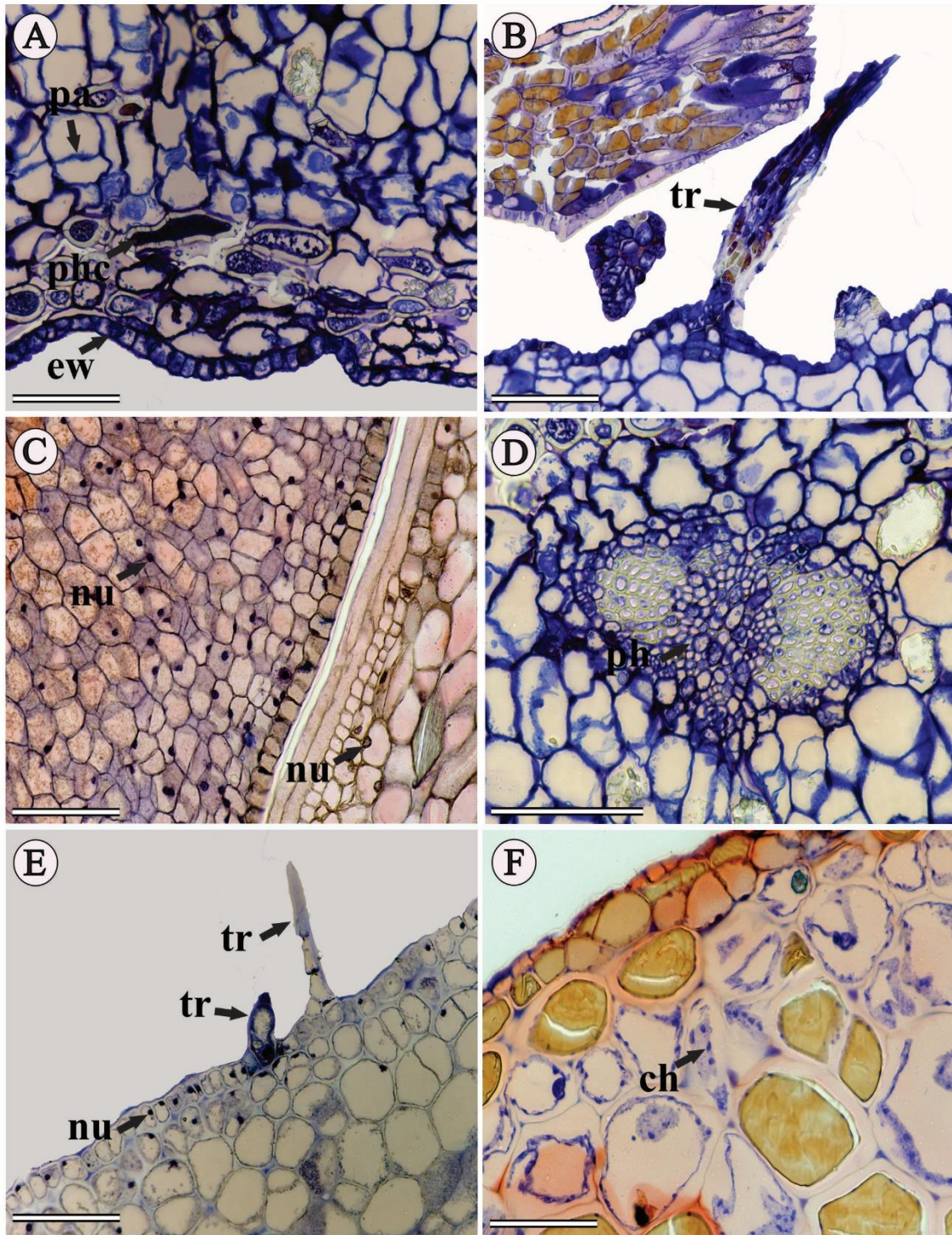
**Figura 2** – Anatomia e localização histoquímica de alumínio em frutos de espécies do Cerrado. A-C *Chiococca alba*, D-F *Coccocypselum aureum*, G-I *Declieuxia fruticosa*, J-L *Palicourea rigida*, M-O *Rudgea viburnoides*. Coluna da esquerda: cortes sem coloração; coluna central: cortes corados com chrome azurol S; coluna da direita: cortes corados com azul de toluidina para caracterização anatômica. Reação positiva (coloração azul/roxo) para Al, com uso de chrome azurol S, nas espécies *Coccocypselum aureum*, *Palicourea rigida* e *Rudgea viburnoides* no pericarpo e semente, e reação negativa em *Chiococca alba* e *Declieuxia fruticosa*. pe: pericarpo; se: semente. Barras: 500  $\mu$ m.



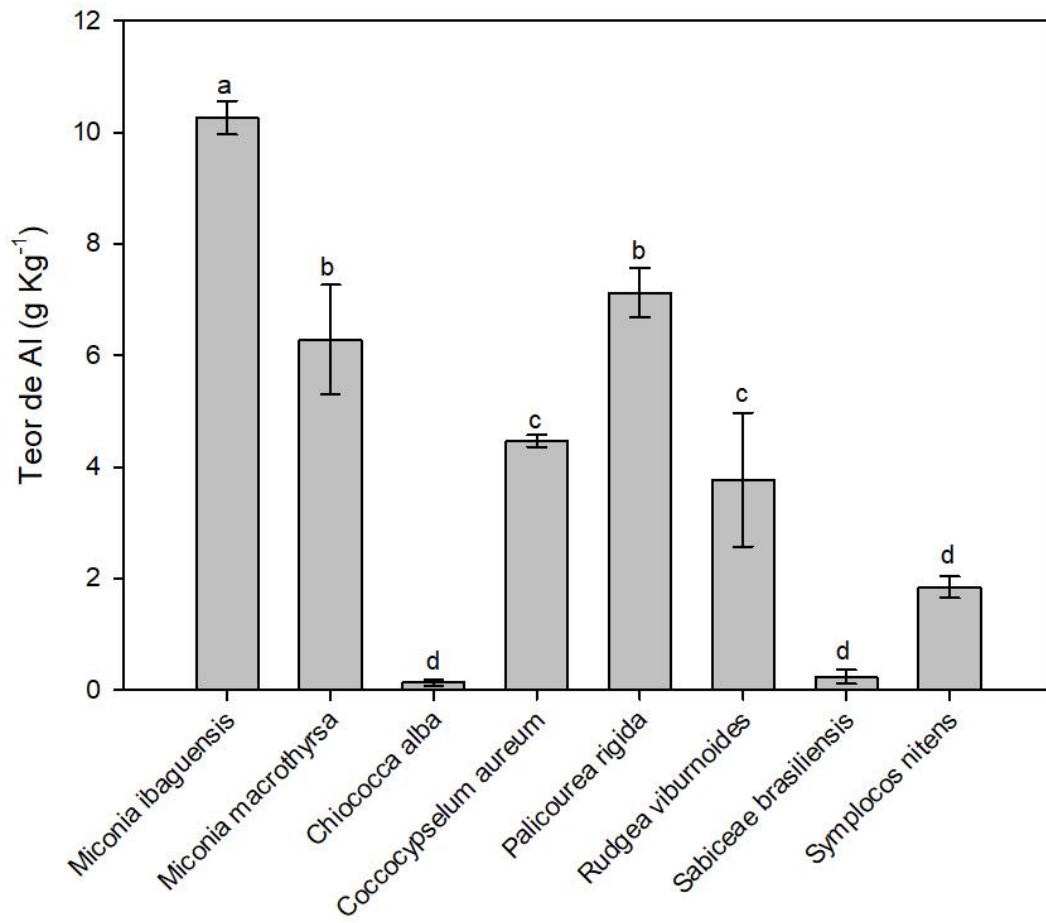
**Figura 3** – Anatomia e localização histoquímica de alumínio em frutos do Cerrado. A-C *Sabicea brasiliensis*, D-F *Symplocos nitens*, G-I *Miconia albicans*, J-L *Miconia ibaguensis*, M-O *Miconia macrothrysa*. Coluna da esquerda: cortes sem coloração; coluna central: cortes corados com chrome azurol S; coluna da direita: cortes corados com azul de toluidina para caracterização anatômica. Reação positiva para Al com uso de chrome azurol S nas espécies *Symplocos nitens*, *Miconia albicans*, *Miconia ibaguensis*, *Miconia macrothrysa* e negativa em *Sabicea brasiliensis*. pe: pericarpo; se: semente. Barras: 500  $\mu$ m.



**Figura 4:** Anatomia do pericarpo das espécies de Cerrado estudadas. A, F e L – *Chiococca alba*, B – *Miconia albicans*, C e H – *Coccocypselum aureum*, D e J – *Miconia ibaguensis*, E – *Symplocos nitens*, G, I e K – *Palicourea rigida*. Coloração com Azul de toluidina. Ab: feixe antifúngico; cb: feixe colateral; cs: areia cristalina; ct: cutícula espessa; dr: drusas; fi: fibras; pa: parênquima frouxo; pc: compostos fenólicos; pe: epiderme papilosa; phe: epiderme fenólica; ph: hipoderme fenólica; ra: ráfides; sc: esclereídes; tr: tricomas. A-E, G, H, K, L– 100  $\mu\text{m}$ ; F e I – 300  $\mu\text{m}$ ; J: 50  $\mu\text{m}$ .



**Figura 5** - Localização de alumínio em frutos (pericarpo) de espécies do Cerrado. A, B, D – *Miconia ibaguensis*, C, E – *Rudgea viburnoides* e F – *Symplocos nitens*. Ch: cloroplasto; ew: parede celular da epiderme; nu: núcleo; pa: parede celular do parênquima; ph: floema; phc: composto fenólico; tr: tricoma. Barras: 100 µm.



**Figura 6** - Quantificação química de alumínio em frutos coletadas no Cerrado. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott.

**Tabela 1** – Morfologia de frutos coletados no Cerrado.

	<b>Melastomataceae</b>			<b>Rubiaceae</b>				<b>Symplocaceae</b>		
	<i>Miconia albicans</i>	<i>Miconia ibaguensis</i>	<i>Miconia macrothyrsa</i>	<i>Chiococca alba</i>	<i>Coccocypselum aureum</i>	<i>Declieuxia fruticosa</i>	<i>Palicourea rigida</i>	<i>Rudgea viburnoides</i>	<i>Sabicea brasiliensis</i>	<i>Symplocos nitens</i>
Origem do ovário	Semi-ínfero	Semi-ínfero	Semi-ínfero	Súpero	Súpero	Súpero	Ínfero	Ínfero	Ínfero	Semi-ínfero
Número de carpelos	3	3	4	2	2	1	2	1	5	3
Número de sementes/fruto	20-30	30-40	30	2	20-30	1	2	1	20-30	1
Tipo de fruto carnoso	Baga	Baga	Baga	Drupáceo	Baga	Drupa / Esquizocarpo drupáceo*	Drupáceo	Drupa	Baga	Drupáceo

\* Ocorrem as duas condições, frutos com uma única unidade (como evidenciado pelas nossas imagens), uma drupa, e frutos com duas unidades idênticas à do fruto que amostramos, que constitui um esquizocarpo drupáceo com dois mericarpos.

**Tabela 2** – Caracterização anatômica do pericarpo de frutos coletados no Cerrado.

<b>Famílias</b>	<b>Melastomataceae</b>			<b>Rubiaceae</b>				<b>Symplocaceae</b>		
<b>Espécies</b>	<i>Miconia albicans</i>	<i>Miconia ibaguensis</i>	<i>Miconia macrothyrsa</i>	<i>Chiococca alba</i>	<i>Coccocypselum aureum</i>	<i>Declieuxia fruticosa</i>	<i>Palicourea rigida</i>	<i>Rudgea viburnoides</i>	<i>Sabicea brasiliensis</i>	<i>Symplocos nitens</i>
Cutícula	Delgada e ornamentada	Delgada	Espessa ornamentada	Espessa	Delgada	Espessa	Delgada	Delgada	Delgada	Delgada
Epiderme	Unisseriada delgada e papilosa	Unisseriada delgada	Unisseriada delgada	Unisseriada delgada	Unisseriada delgada	Unisseriada delgada	Unisseriada delgada	Unisseriada delgada	Unisseriada delgada	Unisseriada muito delgada, hipoderme
Tricoma	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Ausente
Parênquima fundamental	Células volumosas	Células volumosas	Células volumosas	Frouxo, células volumosas	Células volumosas	Células volumosas	Células volumosas	Células volumosas	Células volumosas	Células volumosas
Feixe vascular	Colateral	Colateral	Colateral	Colateral	Colateral	Colateral	Anficrival	Anficrival	Colateral	Colateral
Esclerênquima	Esclereídes	Esclereídes	Esclereídes	Fibras transversais e oblíquas	Ausente	Fibras transversais e oblíquas	Fibras transversais e oblíquas	Esclereídes	Ausente	Esclereídes
Cristais	Drusas	Drusas	Drusas	Areia cristalina	Ráfides	Ráfides	Ráfides	Ráfides	Areia cristalina	Drusas
Compostos fenólicos	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Presente

**Tabela 3** – Histolocalização de alumínio por chrome azulol S em espécies nativas do Cerrado. Reação positiva (+), negativa (-); estrutura não identificada (0).

Família	Espécies	Reação com chrome azulol S						
		Floema	Núcleo	Parede Celular epiderme	Parede Celular parênquima	Tricomas	Cloroplastos	Células com Compostos fenólicos
Melastomataceae	<i>Miconia macrothyrsa</i>	+	+	+	+	0	+	0
	<i>Miconia albicans</i>	+	+	+	+	+	+	0
	<i>Miconia ibaguensis</i>	+	+	+	+	+	0	+
Rubiaceae	<i>Sabicea brasiliensis</i>	-	-	-	-	-	0	-
	<i>Chiococca alba</i>	-	-	-	-	0	-	0
	<i>Coccocypselum aureum</i>	+	+	-	-	-	0	+
	<i>Declieuxia fruticosa</i>	-	-	-	-	0	0	0
	<i>Palicourea rigida</i>	+	+	-	-	+	+	0
	<i>Rudgea viburnoides</i>	+	+	+	+	+	0	0
Symplocaceae	<i>Symplocos nitens</i>	+	+	+	-	0	+	-

**Tabela 4** – Quantificação química de Al em frutos coletados no Cerrado.

FAMÍLIAS	ESPÉCIES	QUANTIFICAÇÃO Al (g/kg)
<b>Melastomataceae</b>	<i>Miconia albicans</i> *	1.21
	<i>Miconia ibaguensis</i>	10.27±0.30 A
	<i>Miconia macrothyrsa</i>	6.29±0.98 B
<b>Rubiaceae</b>	<i>Chiococca alba</i>	0.14±0.06 D
	<i>Coccocypselum aureum</i>	4.47±0.11 C
	<i>Declieuxia fruticosa</i> *	0.09
	<i>Palicourea rigida</i>	7.13±0.44 B
	<i>Rudgea viburnoides</i>	3.77±1.20 C
	<i>Sabicea brasiliensis</i>	0.24±0.12 D
<b>Symplocaceae</b>	<i>Symplocos nitens</i>	1.85±0.19 D

\*Sem a estatística pois nas duas espécies foi feita amostra composta devido a insuficiência de material. Média ± erro padrão da média. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott.

**Tabela 5** - Abundância relativa (%) de nutrientes e Al, determinada por MEV/EDS, em frutos de espécies coletadas no Cerrado.

	Al	K	Ca	Mg	P	N	Fe
<b><i>Miconia albicans</i></b>							
Pericarpo	31.15±2.40 Aa	5.66±0.84 Bb	22.51±4.60 Ca	7.87±0.23 Aa	6.03±0.48 Aa	25.14±8.15 Ba	1.62±0.22 Aa
Semente	31.82±4.01 Aa	12.66±1.66 Aa	33.94±9.46 Ba	12.19±4.22 Aa	6.40±2.49 Ca	0.00±0.00 Cb	2.99±0.77 Aa
<b><i>Miconia ibaguensis</i></b>							
Pericarpo	34.03±2.08 Aa	9.83±1.24 Aa	30.86±6.23 Ca	3.49±0.83 Ab	4.36±0.22 Ab	15.65±4.73 Ba	1.78±0.67 Ab
Semente	23.47±7.50 Bb	5.85±2.48 Bb	26.96±6.52 Ba	8.87±5.26 Aa	9.87±2.73 Ca	20.02±10.07 Ba	4.95±3.11 Aa
<b><i>Miconia macrothyrsa</i></b>							
Pericarpo	21.37±4.00 Ba	8.04±0.60 Aa	39.59±4.98 Ba	5.02±1.16 Aa	3.08±0.49 Ab	21.23±1.11 Bb	1.67±0.32 Aa
Semente	12.90±3.99 Cb	3.51±0.39 Bb	22.44±0.72 Bb	5.14±0.72 Ba	14.91±3.61 Ba	40.14±1.92 Aa	0.97±0.34 Ba
<b><i>Chiococca alba</i></b>							
Pericarpo	6.01±1.11 Ca	1.62±0.22 Ca	43.46±9.60 Ba	8.88±1.57 Aa	2.34±0.21 Ab	36.56±8.78 Aa	1.15±0.42 Aa
Semente	5.50±0.34 Ca	1.14±0.38 Ca	29.21±0.43 Ba	6.09±0.68 Ba	9.26±2.81 Ca	46.73±4.80 Aa	2.08±0.70 Ba
<b><i>Coccocypselum aureum</i></b>							
Pericarpo	6.48±1.28 Ca	0.54±0.22 Ca	60.03±4.07 Aa	4.46±1.02 Aa	2.77±0.59 Aa	24.53±3.18 Ba	1.20±0.09 Aa
Semente	12.91±0.19 Ca	1.74±0.10 Ca	71.74±0.84 Aa	6.64±0.97 Ba	3.94±0.42 Ca	0.00±0.00 Cb	3.03±0.90 Aa
<b><i>Declieuxia fruticosa</i></b>							
Pericarpo	10.85±2.39 Ca	0.74±0.26 Ca	40.43±9.06 Ba	6.79±1.40 Aa	6.99±1.45 Aa	31.86±12.07 Aa	2.34±0.88 Aa
Semente	8.65±2.11 Ca	0.56±0.23 Ca	33.41±0.71 Ba	4.54±1.41 Ba	11.51±2.41 Ca	40.19±1.38 Aa	1.14±0.20 Ba
<b><i>Palicourea rigida</i></b>							
Pericarpo	9.94±0.48 Ca	1.91±0.25 Ca	38.14±1.49 Ba	3.16±0.05 Aa	6.18±0.61 Aa	40.37±2.51 Aa	0.97±0.17 Aa
Semente	13.11±0.83 Ca	1.62±0.36 Ca	33.84±0.85 Ba	5.50±0.83 Ba	6.83±0.15 Ca	37.94±2.37 Aa	1.16±0.28 Ba
<b><i>Rudgea viburnoides</i></b>							
Pericarpo	8.34±0.11 Ca	3.22±0.15 Ca	37.04±6.51 Ba	6.62±1.42 Aa	5.46±0.65 Aa	37.87±5.73 Aa	1.46±0.67 Aa
Semente	8.45±1.34 Ca	2.16±0.51 Ca	42.76±8.75 Ba	5.51±1.33 Ba	7.81±2.09 Ca	32.37±4.33 Aa	0.95±0.44 Ba
<b><i>Sabicea brasiliensis</i></b>							
Pericarpo	6.64±1.07 Ca	3.22±0.29 Ca	31.75±5.28 Ca	10.88±0.75 Aa	5.49±0.63 Ab	40.35±6.30 Aa	1.68±0.41 Aa
Semente	6.93±0.78 Ca	4.26±0.41 Ba	22.96±0.86 Ba	12.10±0.61 Aa	16.48±0.59 Ba	35.84±2.27 Aa	1.45±0.37 Ba
<b><i>Symplocos nitens</i></b>							
Pericarpo	13.54±0.38 Ca	7.61±1.24 Aa	17.57±2.41 Ca	8.58±0.24 Aa	6.18±1.08 Ab	44.94±3.20 Aa	1.59±0.06 Aa
Semente	13.09±0.41 Ca	5.76±1.14 Ba	16.70±4.91 Ba	5.47±0.39 Ba	24.90±0.17 Aa	33.06±6.15 Aa	0.98±0.18 Ba

\*Média ± erro padrão da média. Letras maiúsculas comparam a mesma estrutura nas diferentes espécies para cada elemento. Letras minúsculas comparam as diferentes estruturas na mesma espécie para cada elemento. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott. NS: não significativo. Mg: Magnésio; Al: Alumínio; Si: Silício; P: Fósforo; Ca: Cálcio; Mn: Manganês; Fe: Ferro.

## DADOS SUPLEMENTARES

Tabela de quantificação química de Al em folhas de espécies coletadas no Cerrado.

<b>FAMÍLIAS</b>	<b>ESPÉCIES</b>	<b>QUANTIFICAÇÃO Al (g/kg)</b>
<b>Melastomataceae</b>	<i>Miconia albicans</i>	11,21 (Souza-Fernandes, 2023)
	<i>Miconia ibaguensis</i>	17,83 (Souza-Fernandes, 2023)
	<i>Miconia macrothyrsa</i>	7,85 (Souza-Fernandes, 2023)
<b>Rubiaceae</b>	<i>Chiococca alba</i>	0,19 (Souza-Fernandes, 2023)
	<i>Coccocypselum aureum</i>	9,12 (Souza-Fernandes, 2023)
	<i>Declieuxia fruticosa</i>	0,62 (Souza-Fernandes, 2023)
	<i>Palicourea rigida</i>	4,57 (Carvalho-Júnior, 2013)
	<i>Rudgea viburnoides</i>	13,53 (Malta et al. 2016)
	<i>Sabicea brasiliensis</i>	2,38 (Souza-Fernandes, 2019)
<b>Symplocaceae</b>	<i>Symplocos nitens</i>	9,91 (Souza-Fernandes, 2023)

## CAPÍTULO 2 - Influência do alumínio na germinação e no desenvolvimento inicial de espécies ocorrentes do Cerrado

### RESUMO

O Al é absorvido pelas raízes e, devido ao contato direto com o metal no solo, as respostas do órgão são cruciais no processo de desenvolvimento inicial das plantas. Apesar do grande conhecimento sobre os danos do Al no desenvolvimento de espécies cultivadas, ainda há escassas informações sobre os efeitos desse metal na germinação e no estabelecimento das plântulas do Cerrado. Assim, o objetivo do trabalho foi verificar o efeito do Al na germinação e nas fases iniciais de desenvolvimento da raiz de espécies ocorrentes no Cerrado: *Miconia ibaguensis*, *M. albicans* (Melastomataceae); *Coccocypselum aureum* e *Chiococca alba* (Rubiaceae) e *Symplocos nitens* (Symplocaceae). Foram realizadas as seguintes análises: quantificação química do teor de Al nas folhas e caules de plantas coletadas no campo; porcentagem de germinação e índice de taxa de germinação na ausência (0 mM) e presença de Al (3 mM de Al); avaliação morfológica do sistema radicular (WinRhizo); anatomia e localização do Al em raízes utilizando testes histoquímicos e microanálise de Raio-X (MEV/EDS); detecção de morte celular com Azul de Evans e de espécies reativas de oxigênio em raízes e folhas por testes histoquímicos. O Al foi benéfico para a germinação de *C. alba*, única espécie não acumuladora de Al analisada. Dentre as acumuladoras, na presença de Al, houve redução no índice de crescimento em *Coccocypselum aureum* e no comprimento total, área superficial e volume da raiz em *M. albicans*, *Chiococca alba* e *Coccocypselum aureum*. Os principais sítios de acúmulo de Al nas raízes foram: floema (conteúdo), parede celular da epiderme e núcleos (região meristemática, células do floema, epiderme e parênquima). Nenhuma anomalia estrutural causada pelo Al foi observada na raiz, embora tenham sido identificados radicais superóxidos em *Chiococca alba* e *M. albicans* e observada morte celular nos ápices de raízes tratadas com Al em *Coccocypselum aureum*, *M. ibaguensis* e *S. nitens*. Os dados de EDS mostraram maior porcentagem de Al, no tratamento com o metal, nas raízes de todas as espécies sendo que em *M. albicans*, *Chiococca alba* e *Coccocypselum aureum* a porcentagem de Al foi maior que nas folhas das plântulas. Concluímos que, a presença ou ausência de Al não interferiu na germinação de sementes de três das cinco espécies de Cerrado estudadas, no entanto, em *C. alba* o Al estimula a germinação, aumentando a porcentagem e a velocidade de germinação, além de diminuir o tempo médio para germinar. O crescimento e

desenvolvimento de *Coccocypselum aureum* foi o mais afetado, com menor comprimento da raiz, razão entre raiz e parte aérea, índice de crescimento e índice de vigor corrigido.

Palavras chave: Al em sementes. Al em raízes. Estabelecimento de plântulas no Cerrado. Espécies acumuladoras de Al. Histolocalização do Al.

## 1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é caracterizado por solos ácidos ( $\text{pH} < 5$ ), profundos, altamente lixiviados, pobres em nutrientes (como Ca, N, K, Mg, P) e ricos em alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ) (Dezzeo et al. 2004). Neste bioma, espécies de diferentes famílias botânicas, como Rubiaceae, Melastomataceae e Symplocaceae (Jansen et al., 2002), destacam-se como acumuladoras de Al, por apresentar concentrações superiores a  $1 \text{ g.kg}^{-1}$  desse elemento na matéria seca (Chenery 1948; Jansen et al. 2002) da parte aérea.

Diferentes mecanismos de resistência podem ser observados como forma de adaptação aos altos teores de  $\text{Al}^{3+}$  disponível no solo. A exclusão envolve mecanismos que evitam a absorção do metal pelas raízes, enquanto que na tolerância interna, o Al é absorvido, translocado para a parte aérea e detoxificado internamente em diferentes compartimentos celulares (Brunner e Sperisen 2013; Nunes-Nesi et al. 2014; Kochian et al. 2015; Bojórquez-Quintal et al. 2017; Furlan et al. 2020; Chandra e Keshavkant 2021; de Castro et al. 2022; Ofoe et al. 2023). Embora os sítios preferenciais de acúmulo do Al nas células vegetais sejam conhecidos (paredes celulares pectocelulósicas, vacúolo, e organelas, como cloroplastos e núcleo), as estratégias de resistência bem como o real papel do metal ainda não foram elucidadas em espécies do Cerrado, bioma com vegetação adaptada a presença de Al (Haridasan et al. 1986; Andrade et al. 2011; Bressan et al. 2016; Malta et al. 2016; Nogueira et al. 2019; Cury et al. 2020; de Castro et al. 2022).

A germinação das sementes e o desenvolvimento inicial das plântulas são fases críticas no ciclo de vida das plantas. Além disso, a resistência ao Al durante a germinação é crucial para o estabelecimento de plantas que crescem em solos ácidos, como os de Cerrado. Embora existam estudos sobre a germinação de sementes de várias espécies de Cerrado (Saboya & Borghetti 2012; Fichino 2016; Ribeiro e Kolb 2016; Escobar et al. 2018; Ribeiro et al. 2019; Dairel & Fidelis 2020), as respostas desse processo aos fatores de estresse se limitam aos efeitos do fogo e restrição hídrica, enquanto informações sobre a ação do Al são escassas. O papel benéfico do Al para o processo germinativo e estabelecimento inicial das plântulas foi

evidenciado em algumas espécies (Mendes-Rodrigues et al. 2010; Ribeiro et al. 2010; Teixeira 2013; Rodrigues et al. 2019). Em *Stylosanthes humilis* (Leguminosae), o Al atua de forma positiva na quebra da dormência das sementes, aumentando a velocidade de germinação (Ribeiro et al. 2010). Sementes de *Miconia ferruginata* (Melastomataceae), originadas de plantas estabelecidas em solos com baixos teores de Al, apresentam menor germinabilidade, o que está associado com sementes mal formadas e sem embrião, provavelmente, em consequência do baixo teor de alumínio do solo, dentre outros fatores (Mendes-Rodrigues et al. 2010). Teixeira (2013), também trabalhando com espécies de *Miconia* (Melastomataceae), observou a redução no tempo inicial de germinação em sementes de *M. fallax*. Além de ter verificado que em *M. albicans* a germinação não foi influenciada pela aplicação de doses de Al, mas houve redução do tempo médio de germinação com doses mais elevadas.

De acordo com o observado por Rodrigues et al. (2019), *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) acumula Al em seus tecidos, inclusive nas sementes, quando cultivada em solos com abundância desse metal, caso do Cerrado. Entretanto, a aplicação exógena de Al interferiu na germinação, prejudicando o estabelecimento da plântula (Rodrigues et al. 2019). Os autores sugerem a ocorrência de toxicidade embrionária, afetando a divisão celular e/ou alongamento e protrusão da raiz primária. Durante a germinação, a emergência da raiz e o desenvolvimento do sistema radicular envolvem tanto a divisão quanto a expansão celular, processos sensíveis à toxicidade de metais como o Al (Doncheva et al. 2005; Li et al. 2015).

O desenvolvimento inicial de plantas de Cerrado tem sido investigado (Carreira & Zaidan 2003; Saboya & Borghetti 2012; Silveira et al. 2013; Chaib et al. 2023), mas poucas informações são encontradas na literatura sobre a ação do Al no desenvolvimento inicial da raiz (Rodrigues et al. 2019). No entanto, as plantas absorvem o Al por meio das raízes e a literatura registra esse órgão como o mais susceptível aos efeitos tóxicos deste elemento, principalmente em espécies sensíveis ao metal (Grevnstuk & Romano 2013; Singh et al. 2017; Chandra e Keshavkant 2021). Nessas espécies, alterações morfológicas (por exemplo, crescimento reduzido) e funcionais (alterações na absorção de água e nutrientes) ocorrem inicialmente na raiz e, posteriormente, na parte aérea (Kollmeier et al. 2000; Grevnstuk e Romano 2013; Rao 2016; Rahman et al. 2018; Gavassi et al. 2020).

O ápice radicular é a parte mais sensível da raiz, respondendo a concentrações muito baixas de Al (Huang et al. 2014), e a zona de transição distal desempenha um papel crucial na detecção da toxicidade do metal (Yang e Horst 2015; Zhu et al. 2017; Zhu et al. 2019; Zhang et al. 2019; Wu et al. 2022). O Al promove mudanças no padrão de divisão, expansão e morte

celular, principalmente no meristema apical (Yang et al. 2011; Chandra e Keshavkant 2021). Além disso, esse elemento pode restringir o crescimento radicular através da desestabilização do citoesqueleto mediante a despolimerização de microtúbulos (Amenós et al. 2009; Baranova et al. 2016). O Al pode interagir com estruturas nucleares, ligando-se ao esqueleto fosfodiéster do DNA, carregado negativamente, podendo comprometer a integridade do DNA e cromossomos (Eekhout et al. 2017; Jaskowiak et al. 2018; Szurman-Zubrzycka et al. 2019).

O efeito do Al induz, ainda, a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o superóxido ( $O^{2-}$ ) e hidroxilas ( $OH^{\cdot}$ ), as quais podem provocar alterações mitocondriais e inibir o crescimento radicular (Cakmak e Horst 1991). Embora existam muitos dados sobre os efeitos deletérios do Al sobre o crescimento radicular, especialmente em espécies cultivadas, foram demonstrados efeitos positivos do Al para o crescimento e desenvolvimento das raízes em *Melastoma malabathricum* (Watanabe & Osaki 2002), *Symplocos paniculata* (Schmitt et al. 2016), *Camellia sinensis* (Sun et al. 2020) e em espécies do Cerrado como *Vochysia tucanorum* (Bressan et al. 2021) e *Qualea grandiflora* (Cury et al. 2020; Silva et al. 2023).

A escassez de informações sobre a influência do Al na germinação de sementes e estabelecimento inicial de espécies nativas do Cerrado motivou o presente estudo. Dessa forma, propomos responder as seguintes perguntas: O Al é essencial ou benéfico para a germinação de sementes de algumas espécies do Cerrado? Na ausência do metal ocorre a germinação e o desenvolvimento normal das plântulas?

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Coleta em campo e testes preliminares de germinação

As coletas foram feitas na Floresta Nacional (FLONA) de Paraopeba, MG, uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável, situada nas coordenadas geográficas de 19°20'S de latitude e 44°20'W de longitude, com altitudes entre 734m e 750m, em área de Cerrado s.s sobre Latossolo Amarelo.

As coletas foram realizadas no final do período chuvoso e começo da estação seca, de março a junho, período com maior abundância de frutos. As espécies coletadas foram: *Miconia ibaguensis* (Melastomataceae), *Miconia albicans* (Melastomataceae), *Coccocypselum aureum* (Rubiaceae), *Chiococca alba* (Rubiaceae), *Symplocos nitens* (Symplocaceae). Os frutos foram despulpados manualmente e sessenta sementes de cada espécie coletada foram desinfestadas com uma solução de hipoclorito de sódio (1%, v / v), por 5 min, e divididas em duas placas de

Petri, umedecidas com água deionizada (pH 4,0) (2,5 vezes a massa do papel seco), no tratamento sem  $\text{Al}^{3+}$  (0  $\mu\text{M}$ ) e com solução de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$  Sigma Aldrich – 06220) 3 mM (pH 4,0). Caules e folhas foram também coletados em campo e secos, em estufa de ventilação forçada, a 70°C, para posterior quantificação do teor de Al e caracterização das espécies como acumuladoras ou não acumuladoras de Al.

## **2.2 Quantificação química de Al em matéria seca de folha e caule**

As amostras de folhas e caules, coletadas em campo, das espécies selecionadas foram trituradas em moinho tipo Wiley (3383-L10, 46 Thomas Scientific, EUA) e 0,2 g foram digeridas em solução nitroperclórica (Tedesco et al. 1995). As concentrações de Al foram determinadas utilizando Espectrômetro de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) (OPTMA 7300 DV, Perkin Elmer), do Laboratório do Departamento de Solos da UFV.

## **2.3 Desenho experimental e germinação das sementes**

Duzentos e cinquenta sementes de cada espécie estudadas foram imersas em uma solução de hipoclorito de sódio (1%, v / v), por 5 min para desinfestação. O teste de germinação foi realizado de acordo com a metodologia descrita nas Regras para Análises de Sementes (Brasil 2009). As sementes foram germinadas em caixas gerbox contendo duas folhas de papel Germitest (10 x 10 cm) umedecidas com água deionizada (pH 4,0) (2,5 vezes a massa do papel seco) no tratamento sem  $\text{Al}^{3+}$  (0  $\mu\text{M}$ ) e com solução de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$  Sigma Aldrich – 06220) 3 mM (pH 4,0). A quantidade de líquido equivalente para umedecer o papel seco foi estimada de acordo com a RAS (Brasil 2009). Foram adicionadas 25 sementes de cada espécie em cada caixa gerbox, sendo que cada caixa corresponde a uma unidade amostral, e para cada tratamento foram utilizadas 5 caixas. A partir da montagem do experimento só foi adicionada água, todos os dias e após a emissão do primeiro par de folhas acrescentamos solução de Clark 1/3 de força (pH 4,0) (Clark 1975), a cada três dias. Foram consideradas como germinadas as sementes que emitiram raiz primária com 2 mm de comprimento (Nakagawa 1999; Brasil 2009) e plântulas normais as que apresentaram todas as estruturas essenciais: raiz primária, hipocótilo e cotilédone (Nakagawa 1999). A verificação da germinação foi realizada diariamente, de forma observacional, com foco nos seguintes parâmetros: Porcentagem Final de Germinação (FGP); Índice de Velocidade de Germinação (GI); Tempo Médio de Germinação (MGT); Sincronia de germinação (Sync.) (Silva et al. 2019). Para verificar o

desempenho das plântulas, foram analisados: Comprimento da Parte Aérea (SL); Comprimento da Raiz (RL); Comprimento Total (TL); Razão entre Raiz e Parte Aérea (R/S ratio); Índice de Crescimento (GI); Índice de Vigor Corrigido (CVI) (Silva et al. 2019). As caixas gerbox dos tratamentos com 0 e 3 mM de  $Al^{3+}$  foram distribuídas aleatoriamente (Delineamento Inteiramente Casualizado – DIC) mantidas em câmara de cultivo, a temperatura de  $25 \pm 1$  °C, intensidade de luz de  $200 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 80% de umidade relativa e fotoper\u00edodo de 16 h luz, at\u00e9 sua germina\u00e7\u00e3o. Tendo em vista que o tempo de germina\u00e7\u00e3o difere entre as esp\u00e9cies, o experimento para *Chiococca alba* durou 90 dias, *M. albicans*, *M. ibaguensis* e *S. nitens* 40 dias e *Coccocypselum aureum* 30 dias, prazos em que as pl\u00e2ntulas portavam cotil\u00e9dones e os dois primeiros pares de folhas. \u00c0 medida em que foi se acumulando uma quantidade de indiv\u00edduos, de cada tratamento, com o n\u00famero de repeti\u00e7\u00f5es suficientes para uma an\u00e1lise, esses foram coletados, enquanto outros continuavam a se desenvolver at\u00e9 que possu\u00edssem os dois pares de folha.

#### **2.4 Anatomia da raiz e detec\u00e7\u00e3o histoqu\u00edmica do Al**

Para caracteriza\u00e7\u00e3o anat\u00f4mica da raiz e detec\u00e7\u00e3o histoqu\u00edmica de Al, amostras ( $n = 3$ ) de \u00e1pices de ra\u00edzes, de *Chiococca alba*, *Coccocypselum aureum*, *M. albicans*, *M. ibaguensis* e *S. nitens*, por tratamento, foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (Johansen 1940) e desidratadas em s\u00e9rie crescente de etanol (70% a 100%). As amostras foram pr\u00e9-infiltradas, infiltradas e inclu\u00eddas em historesina (Leica, Alemanha), de acordo com as recomenda\u00e7\u00f5es do fabricante. Posteriormente, foram seccionadas longitudinalmente, com espessura de 5  $\mu\text{m}$ , usando micr\u00f3tomo rotativo de avan\u00e7o autom\u00e1tico (modelo RM2265, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA). As sec\u00e7\u00f5es foram coradas com azul de toluidina 0,05 %, pH 4,7 (O'Brien e McCully 1964 modificado), para a caracteriza\u00e7\u00e3o anat\u00f4mica. A detec\u00e7\u00e3o histoqu\u00edmica do alum\u00ednio foi realizada utilizando chrome azurol S (Kukachka & Miller 1980), durante 1 h, com posterior lavagem, por 5 min, com \u00e1gua destilada. A rea\u00e7\u00e3o positiva para o Al \u00e9 identificada pela colora\u00e7\u00e3o azul-arroxeadada.

Para detec\u00e7\u00e3o do alum\u00ednio foram tamb\u00e9m utilizadas pl\u00e2ntulas inteiras ( $n = 3$ ), que foram imersas na solu\u00e7\u00e3o de chrome azurol S (Kukachka & Miller 1980), durante 1 h, com posterior lavagem, por 5 min, com \u00e1gua destilada. Para documenta\u00e7\u00e3o fotogr\u00e1fica foi usado um celular (Samsung M32).

As observa\u00e7\u00f5es e a captura de imagens foram realizadas em microsc\u00f3pio de luz (modelo Olympus AX70TRF) com c\u00e2mera digital acoplada (modelo: Zeiss HRC), no Laborat\u00f3rio de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Vi\u00e7osa (UFV).

## 2.5 Morte celular

Para a detecção de morte celular, três plântulas inteiras, recém germinadas, por tratamento, das espécies estudadas, foram imersas em solução aquosa de Azul de Evans 0,25 %, por 15 min. Em seguida, as amostras foram lavadas com 4 mL de água destilada por 30 min, removendo-se o excesso do corante. As plantas foram fotografadas em seguida utilizando um celular (Samsung M32) (adaptado de Ponce de Leon et al. 2007).

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

Fragmentos (n = 4) de folhas e raízes das plântulas de *Chiococca alba*, *Coccocypselum aureum*, *M. albicans*, *M. ibaguensis* e *S. nitens* foram fixados em FAA<sub>50</sub> (Johansen 1940) por 48h, desidratados em série etílica e secos ao ponto crítico (aparelho Critical Point Dryer, Modelo CPD 030, Balzers, Liechtenstein), posteriormente recobertos com carbono (Q150TE) e observadas/analizadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (modelo 1430 VP, LEO, Cambridge, Inglaterra) com sonda de Raio-X acoplada (IXRF systems X-EDS, 15715, Brookford Drive, Houston, TX, 77059), no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Foi determinada a abundância relativa de Al, Ca, N, P, K, Fe, Mg em folha e raiz.

## 2.7 Espécies reativas de oxigênio

Tendo em vista a limitação de material para análise, a detecção de radical superóxido ( $O_2^-$ ) e do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) foi realizada apenas em raízes e folhas (n = 3) de *Chiococca alba* e *M. albicans*, no Laboratório de Genética Molecular de Plantas do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da UFV.

### 2.7.1 Radical superóxido

A detecção de  $O_2^-$  foi realizada de acordo com Ramel et al. (2009): as amostras foram imersas no meio de reação (solução de 3,5 mg L<sup>-1</sup> de nitroazul de tetrazólio (NBT) em tampão fosfato (10 mM) contendo 10 mM de azida sódica (NaN<sub>3</sub>). As folhas e raízes foram clarificadas (95 °C por 5 min) com solução de ácido acético-glicerol-etanol (1:1:3, v/v). As amostras foram estocadas em solução de glicerol-etanol (1:4, v/v) até a obtenção das imagens. O radical  $O_2^-$  foi detectado pela observação da cor azul resultante da precipitação do NBT. Posteriormente, as plantas foram fotografadas em estereomicroscópio, modelo Olympus SZX7, Tokyo.

### 2.7.2 Peróxido de hidrogênio

As raízes e folhas foram infiltradas por 2 h, sob vácuo, na solução aquosa de 3,3'-diaminobenzidina (DAB) com concentração de 1,25 mg mL<sup>-1</sup> (pH 3,8). Em seguida, as amostras foram clarificadas e estocadas como descrito anteriormente para o radical O<sub>2</sub><sup>-</sup>. O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi identificado pela coloração marrom decorrente da polimerização do DAB. Posteriormente as plantas foram fotografadas em estereomicroscópio, modelo Olympus SZX7, Tokyo.

### 2.8 Estatística

A normalidade e homogeneidade dos dados foram verificadas pelos testes Shapiro-Wilk e Bartlett respectivamente ( $p < 0.05$ ). Para os dados da quantificação química de Al em folhas e caule coletados em campo foram avaliados em esquema fatorial duplo pela análise de variância e as médias, quando significativas, foram agrupadas pelo teste Scott-Knott ( $p < 0.05$ ). As análises estatísticas foram realizadas no software R x 64 4.0.5 (R Core Team, 2019).

Para os dados do experimento de germinação, os valores de contagem e crescimento foram calculados: Porcentagem final de germinação (FGP), Índice de velocidade de germinação (GI), Tempo médio de germinação (MGT) e Sincronia de germinação (Sync) com as equações descritas por Silva et al. (2019). Essas variáveis foram calculadas utilizando a função *Germcalc* do pacote SeedCalc do software R. Os valores de comprimento da raiz (RL) e comprimento da parte aérea (SL) foram inseridos no pacote SeedCalc do software R e com a função *PlantCalc* foram calculados: Comprimento médio total (TL), Razão entre raiz e parte aérea (R/S ratio), Índice de crescimento (GI) e Índice de vigor corrigido (CVI). A normalidade e homogeneidade dos dados foram verificados pelos testes Shapiro-Wilk e Bartlett respectivamente ( $p < 0.05$ ). Os valores médios obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste F ( $p < 0.05$ ). Os dados de MEV-EDS obtidos em condições experimentais foram avaliados em esquema fatorial triplo pela análise de variância e as médias quando significativas, foram comparados pelo teste Tukey ( $p < 0.05$ ). As análises estatísticas foram realizadas no software R x 64 4.0.5 (R Core Team, 2019).

## 3 . RESULTADOS

### 3.1 Quantificação de Al em folhas e caules das plantas coletadas em campo

De todas as espécies estudadas, a única com concentração de Al abaixo de  $1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de Al, no caule e na folha foi *Chiococca alba*, enquanto as demais espécies acumularam valores superiores a  $1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de Al em ambos os órgãos (Figura 1). Além disso, *M. albicans* e *M. ibaguensis* apresentaram concentrações superiores a  $10\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de Al nas folhas, sendo que, em *M. ibaguensis*, também o caule atingiu essa concentração (Figura 1).

Nas espécies de *Miconia* e em *S. nitens* houve maior acúmulo de Al nas folhas quando comparado ao caule. Em *Chiococca alba* e *Coccocypselum aureum* não houve diferenças significativas entre os órgãos (Figura 1).

### 3.2 Germinação e desenvolvimento inicial das plântulas

Com relação aos parâmetros germinativos, *Coccocypselum aureum* teve uma alta porcentagem de germinação e menor tempo médio de germinação e por outro lado, *Chiococca alba* apresentou a menor porcentagem e maior tempo para germinar. De todas as espécies analisadas, as únicas que demonstraram diferenças significativas entre os tratamentos foram *M. ibaguensis* e *Chiococca alba*. A primeira diferiu com relação ao tempo médio de germinação, de forma que a presença de Al retardou esse processo, embora com relação a porcentagem de germinação não tenha havido distinção entre os tratamentos. No entanto, para *Chiococca alba*, a presença do metal aumentou a porcentagem e a velocidade de germinação, além de diminuir o tempo médio para germinar. Para *M. albicans*, *Coccocypselum aureum* e *S. nitens*, não houve diferença entre os tratamentos para os parâmetros germinativos analisados (Tabela 1).

Ao analisarmos o desempenho das plântulas, *M. ibaguensis*, *Chiococca alba* e *Coccocypselum aureum* foram as espécies que demonstraram diferenças entre os tratamentos no seu desenvolvimento inicial. Para as duas primeiras espécies, apenas com relação ao índice de vigor corrigido, vimos diferenças entre os tratamentos, sendo que houve maior vigor das plântulas na presença de Al. Já para *Coccocypselum aureum*, na presença do metal, houve maior comprimento da parte aérea e menor comprimento da raiz, razão entre raiz e parte aérea, índice de crescimento e índice de vigor corrigido. Para *M. albicans* e *S. nitens*, não houve diferença entre os tratamentos em nenhum dos parâmetros analisados (Tabela 2).

### 3.3 Anatomia

As raízes apresentaram estrutura típica, com a coifa bem evidente, protegendo o meristema apical em todas as espécies analisadas (Figura 2). A diferenciação do procâmbio é

bem próxima da região do pró-meristema a qual é bem curta, seguida pela região de alongamento e diferenciação, ainda muito próxima da região apical (Figura 2). De forma geral, não houve grandes diferenças anatômicas entre os tratamentos nas espécies analisadas. Em *Chiococca alba*, no tratamento sem Al, observamos muitos pelos radiculares desde o ápice (Figura 2E); por outro lado, no tratamento com Al, observamos poucos ou nenhum pelo (Figura 2F). Em *M. albicans*, foi possível observar maior número de células com compostos fenólicos na região apical no tratamento com o metal (Figura 2B), quando comparado ao tratamento na ausência de Al (Figura 2A).

### 3.4 Histoquímica

No teste com chrome azurol S, no tratamento com Al, os sítios predominantes de acúmulo do metal entre as espécies foram conteúdo das células do floema e núcleo (na região meristemática, em células do floema, da epiderme e parênquima) (Tabela 3). Além desses, em *M. ibaguensis*, *Chiococca alba* e *S. nitens*, a parede celular da epiderme também foi um sítio de acúmulo. Em *Chiococca alba*, as paredes dos pelos radiculares também testaram positivo para Al (Tabela 3). No tratamento sem Al, o resultado foi negativo em todos os sítios, exceto os núcleos da região meristemática que marcaram o Al em *M. ibaguensis* e *S. nitens* (Tabela 3).

O teste em plântulas inteiras, comparando todas as espécies, mostrou de forma geral que, no tratamento com Al, a reação positiva foi mais intensa do que no tratamento sem Al. Isso é ainda mais evidente em *Chiococca alba*, *Coccocypselum aureum* e *S. nitens*. As reações positivas foram visíveis apenas na raiz (Figura 3).

### 3.5 Morte celular

Para morte celular, observamos reação positiva nas raízes do tratamento com Al, principalmente nos ápices radiculares de *Coccocypselum aureum*, *M. ibaguensis* e *S. nitens* (Figura 4).

### 3.6 Microanálise de Raio-X (MEV-EDS) em folhas e raízes

Analisando o elemento Al, ao compararmos os diferentes tratamentos da mesma espécie e órgão, todas as espécies apresentaram diferenças significativas entre as raízes no tratamento com e sem Al, com maior porcentagem do metal no tratamento com Al. Além da raiz, *Chiococca alba* também demonstrou diferença entre os tratamentos para folha, sendo maior porcentagem do metal no tratamento com Al (Tabela 4).

Houve diferença entre os órgãos no tratamento com Al em *M. albicans*, *Chiococca alba* e *Coccocypselum aureum*, sendo a porcentagem de Al maior na raiz. Para *M. albicans*, também houve diferença entre os órgãos na ausência de Al com maior porcentagem do metal na raiz (Tabela 4).

No tratamento sem Al, *S. nitens* apresentou o maior valor do metal na folha e nas demais espécies não houve diferenças significativas; na presença de Al, *S. nitens* obteve maior porcentagem de Al e *M. albicans* e *Coccocypselum aureum* as menores porcentagens. Por outro lado, para a raiz, na ausência de Al, *S. nitens* obteve as maiores porcentagens de Al e *Coccocypselum aureum* as menores e, considerando a raiz na presença de Al, *Chiococca alba* e *S. nitens* apresentaram as maiores porcentagens de Al e *M. ibaguensis* a menor (Tabela 4).

Comparando os diferentes tratamentos da mesma espécie e órgão, além do Al, observamos diferenças com relação ao K, Ca, N e F. Ao analisamos as folhas, observamos que em *M. albicans*, no tratamento com Al houve mais abundância de K e Ca e, em *Chiococca alba*, no tratamento com Al, obteve menor porcentagem de Ca. Já ao analisarmos a raiz, vimos diferença entre os tratamentos em *M. albicans* e *M. ibaguensis* em que, no tratamento com o metal, ocorreu menor abundância de K; em *Chiococca alba*, no tratamento com Al, a raiz apresentou maior porcentagem relativa de K, N e Fe e menor porcentagem de Ca; em *Coccocypselum aureum*, houve maior abundância de Fe no tratamento com Al; finalmente, em *S. nitens*, a diferença entre os tratamentos se deu com uma maior abundância de N e Fe na presença do metal (Tabela 4).

### **3.7 Espécies reativas de oxigênio**

#### **3.7.1 Peróxido de hidrogênio**

Em *Chiococca alba*, não foi possível observar reações para peróxido de hidrogênio nos tratamentos com e sem Al (Figura 5A-D). Em *M. albicans*, a presença de peróxido de hidrogênio, evidenciada pela coloração marrom, foi verificada por meio de pontos ao longo da folha e marcações mais intensas nos ápices do órgão (Figura 5E, G, H), apesar de não observamos diferenças entre os tratamentos (Figura 5).

#### **3.7.2 Radical superóxido**

A presença de radicais superóxidos se tornou visível por marcações em azul, principalmente em folhas mais jovens e na região do meristema apical, tanto para *Chiococca alba* quanto para *M. albicans* (Figura 6). Houve diferença entre os tratamentos, de forma que

foi possível observar um maior acúmulo desses radicais, em ambas as espécies na presença de Al (Figura 6).

#### 4 . DISCUSSÃO

*Chiococca alba* foi a única espécie, dentre as estudadas, considerada não acumuladora de Al por apresentar valores muito abaixo de  $1\text{g.kg}^{-1}$  de Al tanto na folha quanto no caule (Chenery 1948). Dentre as espécies acumuladoras, destacam-se as espécies de *Miconia*; por acumularem valores superiores a  $10\text{g.kg}^{-1}$  de Al na folha e em *M. ibaguensis*, também no caule, por isso, foram classificadas como hiperacumuladoras do metal (Chenery 1948). As folhas de *Coccocypselum aureum* e *S. nitens* também se destacam por alcançarem concentrações altas bem próximas a  $10\text{g.kg}^{-1}$  de Al, como já detectado em outros trabalhos (Jansen et al. 2004; Castro 2013; Maejima et al. 2014; Schmitt et al. 2016; Silva 2019; Viana 2021).

*Chiococca alba* apresentou o maior tempo médio e a menor percentagem de germinação entre as espécies estudadas, o que pode indicar a presença de algum mecanismo de dormência. Embora *Chiococca alba* seja uma espécie não acumuladora de Al, o metal atuou como um elemento benéfico, uma vez que aumentou a porcentagem e a velocidade de germinação, além de diminuir o tempo médio para germinar. Assim como observado em *Stylosanthes humilis* (Leguminosae), o Al provavelmente atua de forma positiva na quebra da dormência das sementes (Ribeiro et al. 2010). Nesta espécie, os autores verificaram que a ação do Al na quebra de dormência não depende da biossíntese ou ação do etileno e pode ser consequência da geração de uma condição estressante desencadeando a produção de espécies reativas de oxigênio, hipótese que deve ser investigada em *Chiococca alba*. O efeito positivo do Al tem sido relatado para espécies de Melastomataceae acumuladoras de Al como *Miconia fallax* e *Miconia albicans*, (Teixeira 2013). Em *Miconia ferruginata* (Melastomataceae) os baixos teores de Al no solo foram relacionados à má formação das sementes, que não germinam pela ausência de embrião (Mendes-Rodrigues et al. 2010). Entretanto, os dados aqui obtidos mostram que a ausência de Al não alterou os parâmetros de germinação de *M. albicans*, *Coccocypselum aureum* e *S. nitens*, já em *M. ibaguensis* reduziu o tempo médio de germinação sem, contudo, alterar os outros parâmetros.

Analisando os dados de desenvolvimento inicial, apenas em *Coccocypselum aureum* observamos interferência no crescimento. *Coccocypselum aureum* é uma espécie acumuladora de Al, de germinação rápida e alta porcentagem de germinação; no entanto, quando analisamos o desempenho das plântulas, o Al atuou reduzindo o desenvolvimento da raiz e o índice de

crescimento das plântulas e, por outro lado, aumentou a parte aérea na presença do metal. Por ser uma semente muito pequena e com pouca reserva, o maior investimento na parte aérea garante a fotossíntese e crescimento da plântula. Em *Coccocypselum aureum* foram relatados efeitos benéficos do Al com aumento do teor de clorofilas a e b, da taxa fotossintética, da condutância estomática, da transpiração, das concentrações de glicose, frutose, amido na raiz e de proteínas na raiz e na folha (Viana 2021).

Os dados de crescimento e desenvolvimento de raiz para as demais espécies estão de acordo com as observações anatômicas, já que não foram observadas anomalias nem atraso no crescimento em função da aplicação do Al. Corroborando os nossos resultados, em *Q. grandiflora* (Cury et al. 2020), *Vochysia tucanorum* (Bressan et al. 2021) e *Qualea grandiflora* (Silva et al. 2023), a presença de Al estimulou o crescimento radicular, aumentando o comprimento da raiz e o número de ramificações. Silva et al. (2023) também demonstraram, em *Q. grandiflora*, que o Al aumentou a biomassa radicular e a sua ausência comprometeu a integridade da raiz. A presença de raízes saudáveis expostas ao Al pode ser um efeito positivo que esse elemento promove em seu crescimento e desenvolvimento, conforme demonstrado por Bressan et al. (2021) e Silva et al. (2023).

Os principais sítios de acúmulo de Al presentes nas raízes da maioria das espécies, demonstrados pela reação com chrome azurol S, foram os núcleos (no pró-meristema, procâmbio e protoderme), a parede celular da protoderme e do procâmbio. A presença de Al nos núcleos em células de plantas cultivadas pode causar sérios danos nessa estrutura como o enrijecimento da fita dupla hélice do DNA, comportamento irregular do núcleo durante a mitose, formação de cromossomos pegajosos, dentre outras anormalidades cromossômicas e nucleares (Matsumoto 1991; Qin et al. 2010). No entanto, nenhum trabalho demonstrou a ocorrência desses efeitos negativos do Al em espécies nativas de Cerrado e/ou adaptadas a presença de Al no solo. Em estudos com *Camellia sinensis*, espécie acumuladora de Al, foi demonstrada a essencialidade desse metal na manutenção da integridade do DNA (Sun et al. 2020). Em *Q. grandiflora*, o Al pode favorecer o processamento da informação genética, mantendo a estrutura do DNA e da cromatina (Cury et al. 2020; de Castro et al. 2022). Isso nos leva a crer que o Al é importante para o metabolismo das espécies adaptadas a ambientes com altas concentrações desse metal, uma vez que o núcleo foi um sítio de acúmulo em todas as espécies analisadas. Entretanto, só experimentos com a finalidade específica de avaliar como o metal está complexado nos núcleos e se desempenha alguma função poderão esclarecer esta questão.

Nas espécies estudadas, as paredes celulares pectocelulósicas foram sítios preferenciais de acúmulo de Al, isso se dá pelo fato de as paredes serem ricas em pectinas, celulose e hemiceluloses, que possuem cargas negativas (grupos carboxílicos) e uma alta afinidade aos íons Al (Geng et al. 2017; Wu et al. 2022). O Al altera as características da parede celular em espécies sensíveis, em especial a sua extensibilidade, e inibe o alongamento da raiz (Horst et al. 2010) devido à diminuição da produção de proteínas envolvidas na síntese de carboidratos, como verificado em cultivar sensível de arroz (Wang et al. 2013). Por outro lado, em *Q. grandiflora*, espécie acumuladora de Al, houve aumento das proteínas relacionadas à síntese de parede celular na presença do metal (Cury et al. 2020), o que também foi constatado em cultivar tolerante de arroz (Wang et al. 2013). Desta forma, o estudo do papel do Al no metabolismo das proteínas envolvidas na síntese de carboidratos poderá fornecer subsídios para o melhor entendimento da resistência ao Al em plantas nativas adaptadas a solos ácidos.

O estresse causado por Al ativa o sistema antioxidante e induz a rápida produção de ROS e seu acúmulo, como uma forma de atenuar os danos causados pelo metal (Huang et al. 2014; Furlan et al. 2018). O teste histoquímico foi positivo para peróxido de hidrogênio em *M. albicans*, em ambos os tratamentos, e mais intensamente para radicais superóxidos em *Chiococca alba* e *M. albicans* na presença de Al. Estudos demonstraram que, dependendo da concentração, o Al pode se tornar tóxico, mesmo em espécies acumuladoras de Al, como em *Styrax camporum*, que teve seu desenvolvimento normal na ausência ou em baixas concentrações de Al e que, no entanto demonstrou sinal de toxicidade ao metal, na concentração mais alta (1480  $\mu\text{M}$  Al) testada (Bressan et al. 2020). O mesmo foi observado para *Eugenia dysenterica*, em que houve um aumento da atividade das enzimas antioxidantes com o aumento das doses de Al (200 e 400  $\mu\text{mol Al}^{3+} \text{L}^{-1}$ ), como um mecanismo de defesa contra a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (Rodrigues et al. 2019). Os nossos resultados histoquímicos não foram promissores, necessitando de uma maior amostragem do material para ser feita a quantificação, o que poderá ser realizado em trabalhos futuros.

De acordo com os dados de microanálise de Raio-X, as raízes de todas as espécies aqui estudadas apresentaram a maior porcentagem do metal no tratamento com Al. Em *M. albicans*, *Chiococca alba* e *Coccocypselum aureum*, a raiz também apresentou maior porcentagem de Al que as folhas. Essa presença de Al em raízes de espécies do Cerrado já foi relatada em *M. albicans*, *Q. grandiflora*, *Rudgea viburnoides* e *Vochysia tucanorum*, espécies acumuladoras de Al, e também em não acumuladoras, como *Caryocar brasiliensis* e *Xylopia aromatica* (Malta et al. 2016; Timpone e Habermann 2022; Zaia et al. 2022).

A identificação de morte celular nas raízes do tratamento com Al, principalmente nos ápices radiculares de *Coccocypselum aureum*, *M. ibaguensis* e *S. nitens*, espécies acumuladoras de Al, necessita ser investigada com técnicas mais apuradas, como citometria de fluxo, pois parece questionável que espécies acumuladoras de Al, adaptadas a solos ácidos, apresentem morte celular induzida pelo metal. Em raízes de *Q. grandiflora*, espécie acumuladora de Al, não houve a expressão de proteínas associadas à morte celular (Cury et al. 2020) nos tratamentos com e sem Al (150 µM).

Diante disso, concluímos que a presença ou ausência de Al não interferiu na germinação de sementes de três das cinco espécies de Cerrado estudadas. Por outro lado, o metal atuou de maneira benéfica para *Chiococca alba*, proporcionando o aumento na percentagem de germinação em menor tempo. Em *M. ibaguensis*, o Al ampliou o tempo médio de germinação sem alterar a percentagem de germinação. O desenvolvimento das plântulas ocorreu sem anomalias morfoanatômicas, na presença do Al, mas com redução nos parâmetros de crescimento da raiz em *M. albicans* e *Coccocypselum aureum*.

## 5 . REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amenós M, Corrales I, Poschenrieder C, Illéš P, Balůška F and Barceló J (2009) Different effects of aluminum on the actin cytoskeleton and brefeldin a sensitive vesicle recycling in root apex cells of two maize varieties differing in root elongation rate and aluminum tolerance. *Plant Cell Physiol* 50: 528–540. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcp013>
- Andrade LRM, Barros LMG, Echevarria GF, Amaral LIV, Cotta MG, Rossatto DR, Haridasan, Franco AC (2011) Al-hyperaccumulator Vochysiaceae from the Brazilian Cerrado store aluminum in their chloroplasts without apparent damage. *Environ Exp Bot* 70: 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.013>
- Baranova EN, Christov NK, Kurenina LV, Khaliluev MR, Todorovska EG and Smirnova EA. (2016) Formation of atypical tubulin structures in plant cells as a nonspecific response to abiotic stress. *Bulgarian J Agric Sci* 22: 987–992. <https://www.agrojournal.org/22/06-17.html>
- Brasil (2009) Regras para Análise de Sementes. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Brasília: MAPA/SDA/ACS 399.
- Bressan ACG, Coan AI, Habermann G (2016) 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* 404: 293–306. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2841-1>

- Bressan ACG, Silva GS, Banhos OFAA, Tanaka FAO, Habermann G (2020) Physiological, anatomical and ultrastructural effects of aluminum on *Styrax camporum*, a native Cerrado woody species. *J Plant Res* 133: 625–637. <https://doi.org/10.1007/s10265-020-01210-2>
- Bressan ACG, Bittencourt BMOC, Silva GS, Habermann G (2021) Could the absence of aluminum (Al) impair the development of an Al accumulating woody species from Brazilian savanna? *Theor Exp Plant Physiol* 33: 281–292. <https://doi.org/10.1007/s40626-021-00216-y>
- Bojórquez-Quintal JEA, Sánchez-Cach LA, Ku-González Á, De Los Santos-Briones C, Medina-Lara MDF, Echevarría-Machado I, et al. (2014) Differential effects of aluminum on in vitro primary root growth, nutrient content and phospholipase c activity in coffee seedlings (*Coffea arabica*). *J Inorganic Biochem* 134: 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.01.018>
- Brunner I, Sperisen C (2013) Aluminum exclusion and aluminum tolerance in woody plants. *Front Plant Sci* 4: 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00172>
- Cakmak L, Horst WJ (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol Plant* 83: 463-468. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x>
- Carreira RC e Zaidan LBP (2003) Estabelecimento e crescimento inicial de *Miconia albicans* (Sw.) Triana e *Schizocentron elegans* Meissn., sob fotoperíodos controlados. *Hoehnea* 30(2): 155-161.
- Castro LMR (2013) Anatomia e histolocalização de alumínio em espécies herbáceas e subarbustivas do Cerrado. Dissertação (Mestrado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1-75.
- Chandra J, Keshavkant S (2021) Mechanisms underlying the phytotoxicity and genotoxicity of aluminum and their alleviation strategies: a review. *Chemosphere* 278: 130384. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130384>
- Chaib AM, Gomes AS, Borghetti F (2023) Early development of two savanna tree species under simulated dry spells. *Flora* 301: 152241. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2023.152241>
- Chenery EM (1948) Aluminium in the Plant World. *Kew Bull* 3(2): 173-183. <https://doi.org/10.2307/4119757>
- Clark RB (1975) Characterization of phosphatase of intact maize roots. *J Agric Food Chem* 23: 458–460. <https://doi.org/10.1021/jf60199a002>

- Cury NF, Silva RC, Andre MS, Fontes W, Ricart CA, Castro MS, et al. (2020) Root proteome and metabolome reveal a high nutritional dependency of aluminium in *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). *Plant Soil* 446: 125–143. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04323-3>
- De Castro LMR, Vinson CC, da Gordo SMC et al. (2022) Molecular and physiological aspects of plant responses to aluminum: what do we know about Cerrado plants? *Braz J Bot* 45: 545–562. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00781-1>
- Dairel M, Fidelis A (2020). How does fire affect germination of grasses in the Cerrado? *Seed Sci Res* 30(4): 1–9. <https://doi.org/10.1017/S0960258520000094>
- Dezzeb N, Chacón N, Sano JAE, Picón G (2004) Changes in soil properties and vegetation characteristics along a forest-savanna gradient in southern Venezuela. *For Ecol Manage* 200: 183-193. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.06.016>
- Doncheva S, Amenós M, Poschenrieder C, Barceló J (2005) Root cell patterning: a primary target for aluminium toxicity in maize. *J Exp Bot* 56: <https://doi.org/10.1093/jxb/eri115>
- Eekhout T, Larsen P, De Veylder L (2017) Modification of DNA checkpoints to confer aluminum tolerance. *Trends Plant Sci* 22: 102–105. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.003>
- Escobar DFE, Silveira FAO, Morellato LPC (2018) Timing of seed dispersal and seed dormancy in Brazilian savanna: two solutions to face seasonality. *Ann Bot* 121: 1197–1209. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy006>
- Fichino BS, Dombrosky JRG, Pivello VR, Fidelis A (2016) Does Fire Trigger Seed Germination in the Neotropical Savannas? Experimental Tests with Six Cerrado Species. *Biotropica* 48(2): 181–187. <https://doi.org/10.1111/btp.12276>
- Furlan F, Borgo L, Rabelo FHS, Rossi ML, Martinelli AP, Azevedo RA et al. (2018) Aluminum-induced stress differently modifies *Urochloa* genotypes responses on growth and regrowth: root-to-shoot Al-translocation and oxidative stress. *Theor Exp Plant Physiol* 30: 141–152. <https://doi.org/10.1007/s40626-018-0109-2>
- Furlan F, Borgo L, Rabelo FHS, Rossi ML, Linhares FS, Martinelli AP et al. (2020) Aluminum-induced toxicity in *Urochloa brizantha* genotypes: A first glance into root Al-apoplastic and -symplastic compartmentation, Al-translocation and antioxidant performance. *Chemosphere* 243: 125362. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125362>

- Gavassi MA, Dodd IC, Puértolas J, Silva GS, Carvalho RF, Habermann G (2020) Aluminum-induced stomatal closure is related to low root hydraulic conductance and high ABA accumulation. *Environ Exp Bot* 179: 104233. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104233>
- Geng X, Horst WJ, Golz JF, Lee JE, Ding Z, Yang ZB (2017) LEUNIG\_HOMOLOG transcriptional co-repressor mediates aluminium sensitivity through PECTIN METHYLESTERASE 46-modulated root cell wall pectin methylesterification in *Arabidopsis*. *Plant J* 90: 491–504. <https://doi.org/10.1111/tpj.13506>.
- Grevenstuck T, Romano A (2013) Aluminium speciation and internal detoxification mechanisms in plants: where do we stand? *Metallomics* 5: 1584-1594. <https://doi.org/10.1039/c3mt00232b>
- Haridasan M, Paviani TI, Schiavini I (1986) Localization of aluminium in the leaves of some aluminium-accumulating species. *Plant Soil* 94: 435–437. <https://doi.org/10.1007/BF02374336>
- Horst WJ, Wang Y, Eticha D (2010) The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. *Ann Bot* 106: 187–197. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq053>
- Huang W, Yang X, Yao S, Lwinoo T, He H, Wang A et al. (2014) Reactive oxygen species burst induced by aluminum stress triggers mitochondria dependent programmed cell death in peanut root tip cells. *Plant Physiol. Biochem* 82: 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.037>
- Jansen S, Broadley MR, Robbrecht E, Smets E (2002) Aluminium hyperaccumulation in angiosperms: a review of its phylogenetic significance. *Bot Rev* 68: 235-269. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2002\)068\[0235:AHIAAR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2002)068[0235:AHIAAR]2.0.CO;2)
- Jansen S, Watanabe T, Caris P, Geuten K, Lens F, Pyck N, Smets E (2004) The distribution and phylogeny of aluminium accumulating plants in the Ericales. *Plant Biol* 6: 498–505. <https://doi.org/10.1055/s-2004-820980>
- Jaskowiak J, Tkaczyk O, Slota M, Kwasniewska J, Szarejko I (2018) Analysis of aluminum toxicity in *hordeum vulgare* roots with an emphasis on DNA integrity and cell cycle. *PLoS One* 13: 18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193156>
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. New York: McGraw- Hill, pp 523

- Kochian LV, Piñeros MA, Liu J, Magalhaes JV (2015) Plant Adaptation to Acid Soils: The Molecular Basis for Crop Aluminum Resistance. *Annu Rev Plant Biol* 66: 23.1–23.28. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114822>
- Kollmeier M, Felle HH, Horst WJ (2000) Genotypical differences in aluminum resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone. Is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminum? *Plant Physiol* 122: 945-956. <https://doi.org/10.1104/pp.122.3.945>
- Kukachka BF, Miller RB (1980) A chemical spot-test for aluminum and its value in wood identification. *IAWA Bulletin* 1: 104-109. <https://doi.org/10.1163/22941932-90000699>
- Li LM, Qin R, Jiang W, Liu D (2015) Cytogenetical effects of aluminum on root meristem cells of *Helianthus annuus*. *Bot Sci* 93: 15-22. <https://doi.org/10.17129/botsci.230>
- Malta PG, Arcanjo-Silva S, Ribeiro C, Campos NV, Azevedo AA (2016) *Rudgea viburnoides* (Rubiaceae) overcomes the low soil fertility of the Brazilian Cerrado and hyperaccumulates aluminum in cell walls and chloroplasts. *Plant Soil* 408: 369-384. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2926-x>
- Maejima E, Hiradate S, Jansen S, Osaki M, Watanabe T (2014) Comparative analysis of aluminum accumulation in leaves of three angiosperm species. *Botany* 92: 327–331. <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0298>
- Matsumoto M (1991) Biochemical mechanism of the toxicity of Al and the sequestration of Al in plant cells. *Plant-soil interactions at low pH* 825–838. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-3438-5\\_93](https://doi.org/10.1007/978-94-011-3438-5_93)
- McCormack ML, Dickie IA, Eissenstat DM, Fahey TJ, Fernandez CW, Guo D, Helmisaari HS, Pregitzer KS, Pritchard SG, Rewald B, Zadworny M (2015) Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. *New Phytol* 207: 505-518. <https://doi.org/10.1111/nph.13363>
- Mendes-Rodrigues C, Araújo FP, Barbosa-Souza C, Barbosa-Souza V, Ranal M, Santana DG, Oliveira PE (2010) Multiple dormancy and maternal effect on *Miconia ferruginata* (Melastomataceae) seed germination, Serra de Caldas Novas, Goiás, Brazil. *Revista Brasil Bot* 33(1): 93-105. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042010000100009>
- Meng-Ben W, Qiang Z (2009) Issues in using the WinRHIZO system to determine physical characteristics of plant fine roots. *Acta Ecol Sin* 29: 136-138. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2009.05.007>

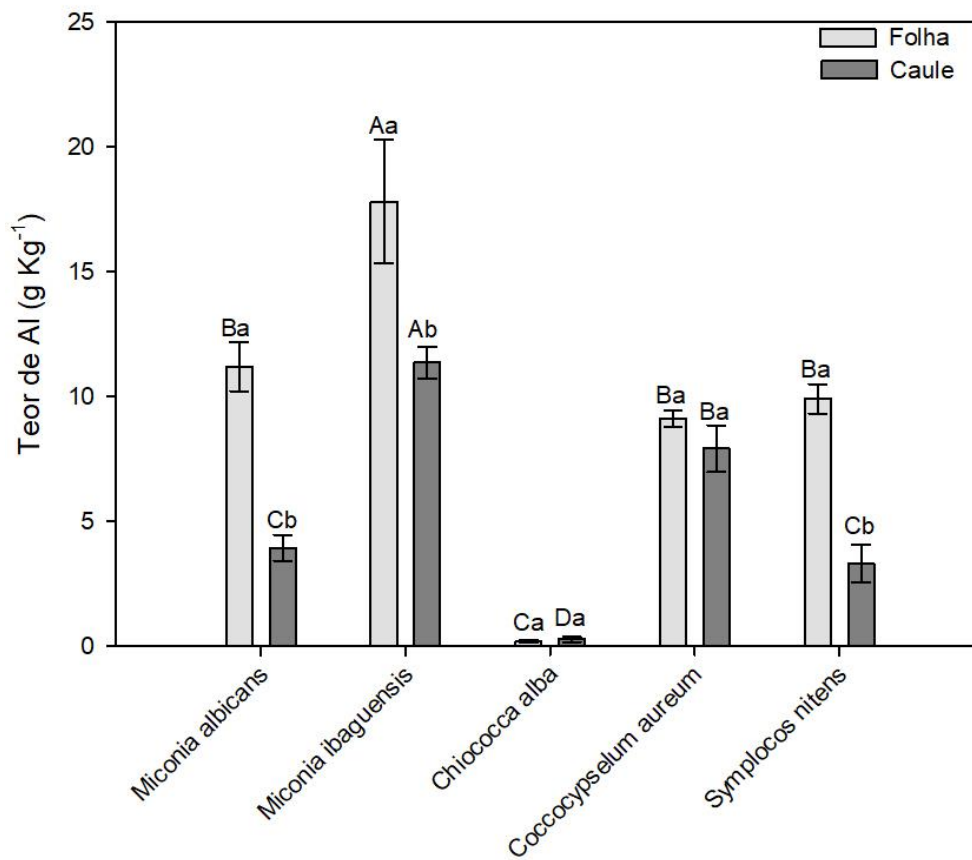
- Nakagawa J (1999) Testes de vigor baseados nos desempenhos das plântulas. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES
- Nogueira MA, Bressan ACG, Pinheiro MHO, Habermann G (2019) Aluminum-accumulating Vochysiaceae species growing on a calcareous soil in Brazil. *Plant Soil* 437: 313–326. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-03978-2>
- Nunes-Nesi A, Brito DS, Inostroza-Blancheteau C, Fernie AR, Araújo WL (2014) The complex role of mitochondrial metabolism in plant aluminum resistance. *Trends Plant Sci* 19: 399-407. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.12.006>
- O'Brien TP, Feder N, Mccully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368–373. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>
- Ofoe R, Thomas RH, Asiedu SK, Wang-Pruski G, Fofana B, Abbey L (2023) Aluminum in plant: Benefits, toxicity and tolerance mechanisms. *Front Plant Sci*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1085998>
- Ponce de Leon I, Oliver JP, Castro A, Gaggero C, Bentacor M, Vidal S (2007) *Erwinia carotovora* elicitors and *Botrytis cinerea* activate defense responses in *Physcomitrella patens*. *Plant Biol* 7: 52-63. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-7-52>
- Qin R, Jiao Y, Zhang S, Jiang W, Liu D (2010) Effects of aluminum on nucleoli in root tip cells and selected physiological and biochemical characters in *Allium cepa* var. *agrogarum* L. *BMC Plant Biol* 10: 225–235. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-225>
- Rao IM, Miles JW, Beebe SE, Horst WJ (2016) Root adaptations to soils with low fertility and aluminium toxicity. *Ann Bot* 118: 593-605. <https://doi.org/10.1093/aob/fmw073>
- Rahman MA, Lee Sang-Hoon, Ji HC, Kabir AH, Jones CS, Lee Ki-Won (2018) Importance of mineral nutrition for mitigating aluminum toxicity in plants on acidic soils: current status and opportunities. *Int J Mol Sci* 19: 4-28. <https://doi.org/10.3390/ijms19103073>
- Ramel F, Sulmon C, Bogard M, Couée I, Gouesbet G (2009) Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in *Arabidopsis thaliana* plantlets. *BMC Plant Biol* 9: 28-46. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-28>
- Ribeiro DM, Mapeli AM, Carnelossi MAG, Delatorre CA, Barros RS (2010) Dormancy breakage of *Stylosanthes humilis* seeds by aluminium. *Seed Sci Res* 20: 145–152. <https://doi.org/10.1017/S0960258510000164>

- Ribeiro JWF, Kolb RM (2016) Distinct germination responses may contribute to the distribution pattern of two *Moquiniastrum* species in different phytophysiognomies from the Brazilian savanna. *Flora* 223: 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.06.001>
- Ribeiro RM, Tessarolo G, Soares TN, Teixeira IR, Nabout JC (2019) Global warming decreases the morphological traits of germination and environmental suitability of *Dipteryx alata* (Fabaceae) in Brazilian Cerrado. *Acta Bot Bras* 33(3): 446-453. <https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0288>
- Rodrigues AA, Vasconcelos-Filho SC, Muller C, Rodrigues DA, Sales JF, Zuchi J, Costa AC, Rodrigues CL, Silva AA, Barbosa DP (2019) Tolerance of *Eugenia dysenterica* to aluminum: germination and plant growth. *Plants* 8: 317. <https://doi.org/10.3390%2Fplants8090317>
- Saboya P and Borghetti F (2012) Germination, initial growth, and biomass allocation in three native Cerrado species. *Braz J Bot* 35(2): 129-135. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042012000200002>
- Schmitt M, Boras S, Tjoa A, Watanabe T, Jansen S (2016) Aluminium Accumulation and Intra-Tree Distribution Patterns in Three Arbor aluminosa (*Symplocos*) Species from Central Sulawesi. *PLoS One* 11(2): 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149078>
- Silva, IL (2019) Contribuição das características estruturais e bioquímicas na resistência ao alumínio, em duas espécies do cerrado. Tese (Doutorado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1-51
- Silva LJ, Medeiros AD, Oliveira AMS (2019) SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. *J Seed Sci* 41(2): 250-257. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42n2217267>
- Silva GS, Rodrigues JS, Carvalho BMO, Gavassi MA, Bressan ACG, Habermann G (2023) Absence of aluminium compromises root integrity, reduces leaf hydration and Rubisco performance in *Qualea grandiflora*, an Al-accumulating species. *Plant Biol* 25(5): 740-749. <https://doi.org/10.1111/plb.13535>
- Silveira CES, Palhares D, Pereira LAR, Pereira KBD, Silva FAB (2013) Strategies of plant establishment of two Cerrado species: *Byrsonima basiloba* Juss. (Malpighiaceae) and *Eugenia dysenterica* Mart. ex DC (Myrtaceae). *Plant Species Biol* 28: 130–137. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2012.00366.x>

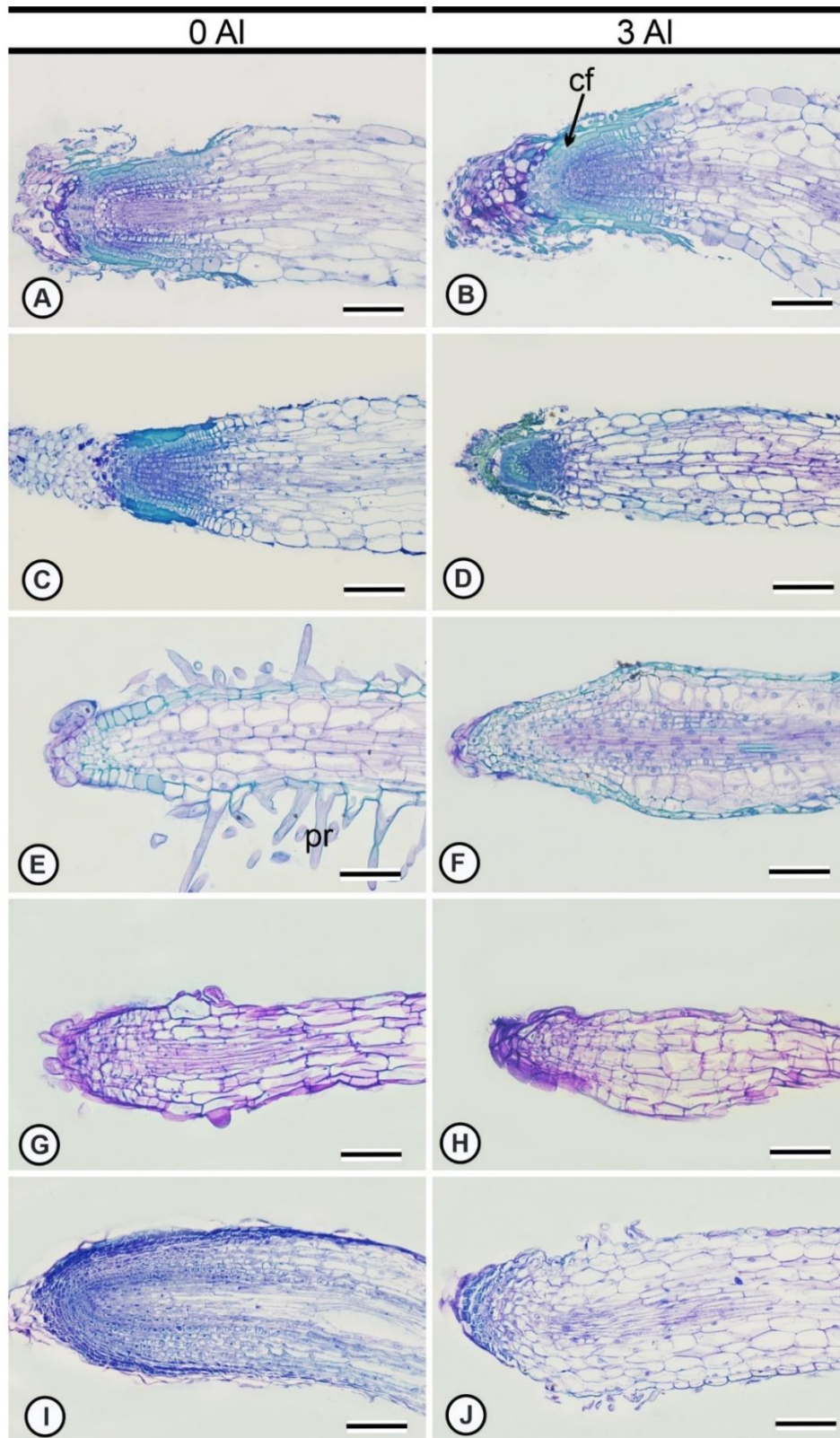
- Singh S, Tripathi DK, Singh S, Sharma S, Dubey NK, Chauhan DK, Vaculik M (2017) Toxicity of aluminum on various levels of plant cells and organism: a review. *Environ Exp Bot* 137: 177–193. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.005>
- Sun L, Zhang M, Liu X, Mao Q, Shi C, Kochian LV, Lion H (2020) Aluminium is essential for root growth and development of tea plants (*Camellia sinensis*). *J Integr Plant Biol* 62(7): 984–997. <https://doi.org/10.1111/jipb.12942>
- Szurman-Zubrzycka M, Nawrot M, Jelonek J, Dziekanowski M, Kwasniewska J, Szarejko I (2019) ATR, a DNA damage signaling kinase, is involved in aluminum response in barley. *Front Plant Sci* 10: 1299. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01299>
- Tedesco MJ, Gianello C, Bissani CA, Bohnen H, Volkweiss SJ (1995) Análise de solo, plantas e outros materiais. 2ª edição. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp 174.
- Teixeira, WF (2013) Fisiologia e Bioquímica de plantas da família Melastomataceae, Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. 1-124.
- Timpone LT, Habermann G (2022) Is aluminum (Al) eliminated by senescent structures of *Miconia albicans*, an Al-accumulating species from Brazilian savanna? *Flora* 289: 152036. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2022.152036>.
- Viana IB (2021) Ação do alumínio (Al) em *Coccolypselum aureum* (Rubiaceae), espécie do cerrado acumuladora de al: uma abordagem morfofisiológica. Tese (Doutorado em Botânica), Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 1-66.
- Wang CY, Shen RF, Wang C, Wang W (2013) Root protein profile changes induced by Al exposure in two rice cultivars differing in Al tolerance. *J Proteom* 78: 281–293. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.09.035>
- Watanabe T, Osaki M (2002) Influence of aluminum and phosphorus on growth and xylem sap composition in *Melastoma malabathricum* L. *Plant Soil* 237: 63–70. <https://doi.org/10.1023/A:1013395814958>
- Wu Q, Tao Y, Huang J, Liu YS, Yang XZ, Jing HK, et al. (2022) The MYB transcription factor MYB103 acts upstream of TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE27 in regulating aluminum sensitivity by modulating the O-acetylation level of cell wall xyloglucan in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 111: 529–545. <https://doi.org/10.1111/tpj.15837>

- Yang JL, Zhu XF, Peng YX, Zheng C, Li GX, Liu Y, Shi YZ, Zheng SJ (2011) Cell wall hemicellulose contributes significantly to aluminum adsorption and root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 155: 1885-1892. <https://doi.org/10.1104/pp.111.172221>
- Yang Z-B, Horst WJ (2015) Aluminum-induced inhibition of root growth: roles of cell wall assembly, structure, and function. In: S. Panda and F. Balůska (eds) *Aluminum Stress Adaptation in Plants. Signaling and Communication in Plants*, 1st vol 24. Switzerland: Springer Cham. pp 253–274 [https://doi.org/10.1007/978-3-319-19968-9\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-19968-9_13)
- Zaia M, Timpone LT, Habermann G (2022) Do aluminum (Al)-accumulating species from the Brazilian savanna accumulate Al in the roots? *Trees* 36: 1677–1685. <https://doi.org/10.1007/s00468-022-02301-4>
- Zhang JR, Li DX, Wei J, Ma WN, Kong XY, Rengel Z et al. (2019) Melatonin alleviates aluminum-induced root growth inhibition by interfering with nitric oxide production in *Arabidopsis*. *Environ Exp Bot* 161: 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.08.014>
- Zhu XF, Wan JX, Wu Q, Zhao XS, Zheng SJ and Shen RF (2017) PARVUS affects aluminium sensitivity by modulating the structure of glucuronoxylan in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 40: 1916–1925. <https://doi.org/10.1111/pce.12999>
- Zhu CQ, Cao XC, Zhu LF, Hu WJ, Hu AY, Abliz B, et al. (2019) Boron reduces cell wall aluminum content in rice (*Oryza sativa*) roots by decreasing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation. *Plant Physiol Biochem* 138: 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019>

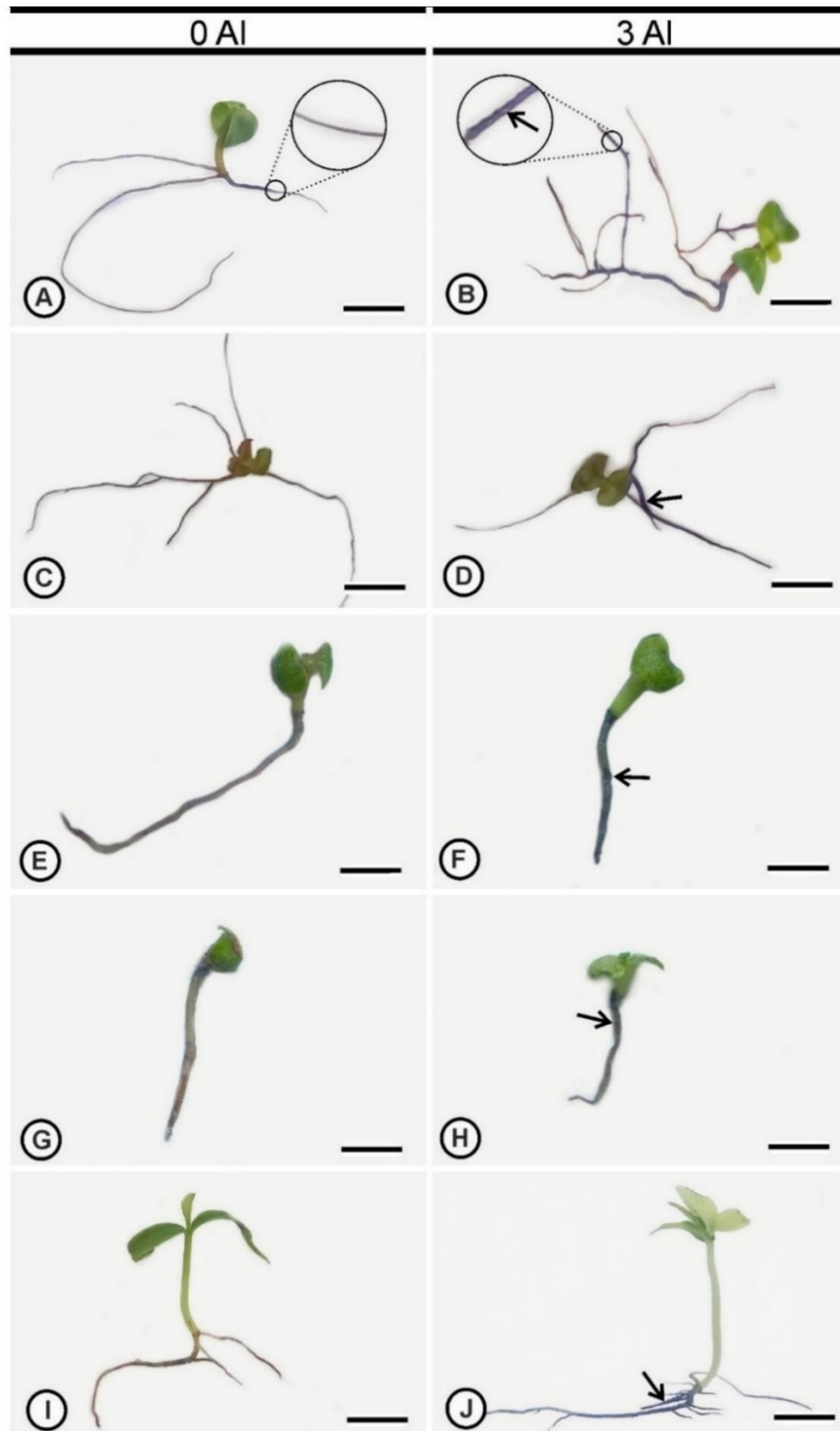
## 6 . FIGURAS E TABELAS



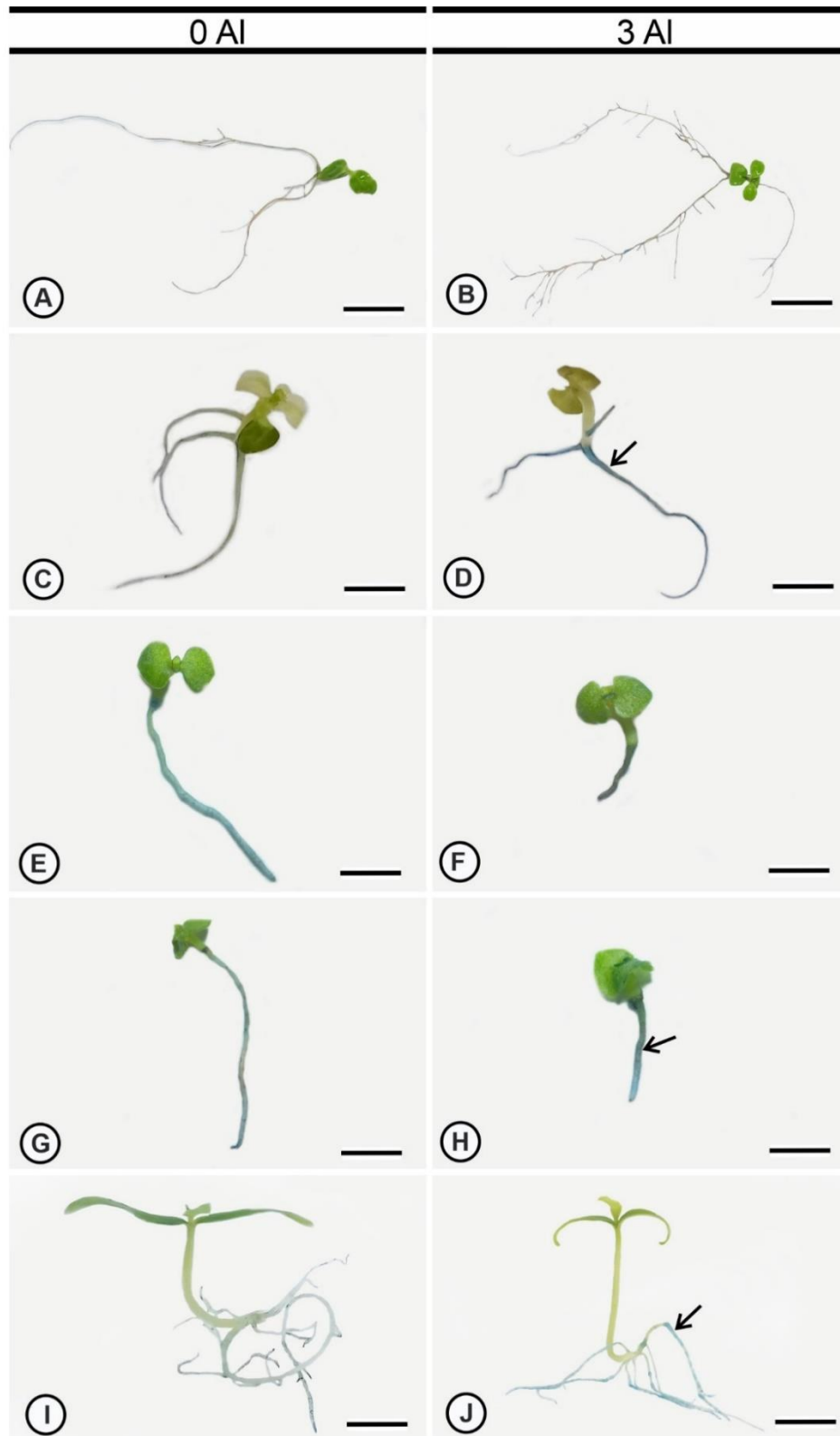
**Figura 1:** Quantificação química de Al em folha e caule de espécies coletadas no Cerrado da FLONA de Paraopeba, MG. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Skott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas comparam espécies para o mesmo órgão, enquanto letras minúsculas comparam órgãos dentro da mesma espécie. As barras representam o erro padrão ( $n = 3$ ).



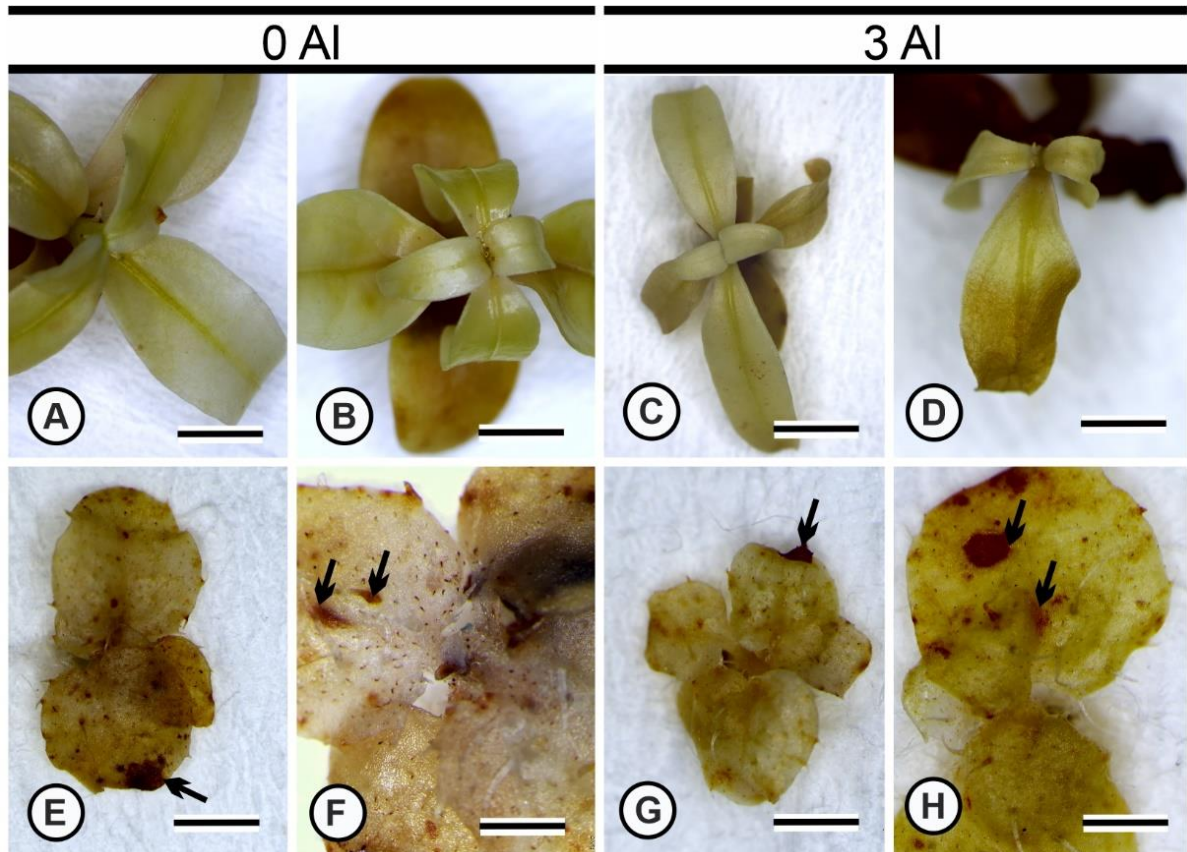
**Figura 2** – Ápice radicular de plântulas de espécies nativas do Cerrado cujas sementes foram germinadas na ausência (coluna à esquerda) e presença (coluna a direita) de Al (3mM). Cortes longitudinais corados com Azul de toluidina. A-B *Miconia albicans*, C-D *Miconia ibaguensis*, E-F *Chiococca alba*, G-H *Coccocypselum aureum*, I-J *Symplocos nitens*. Cf: células fenólicas, pr: pelos radiculares. Barras: A, B, E-H (50  $\mu$ m); C, D, I e J (75  $\mu$ m).



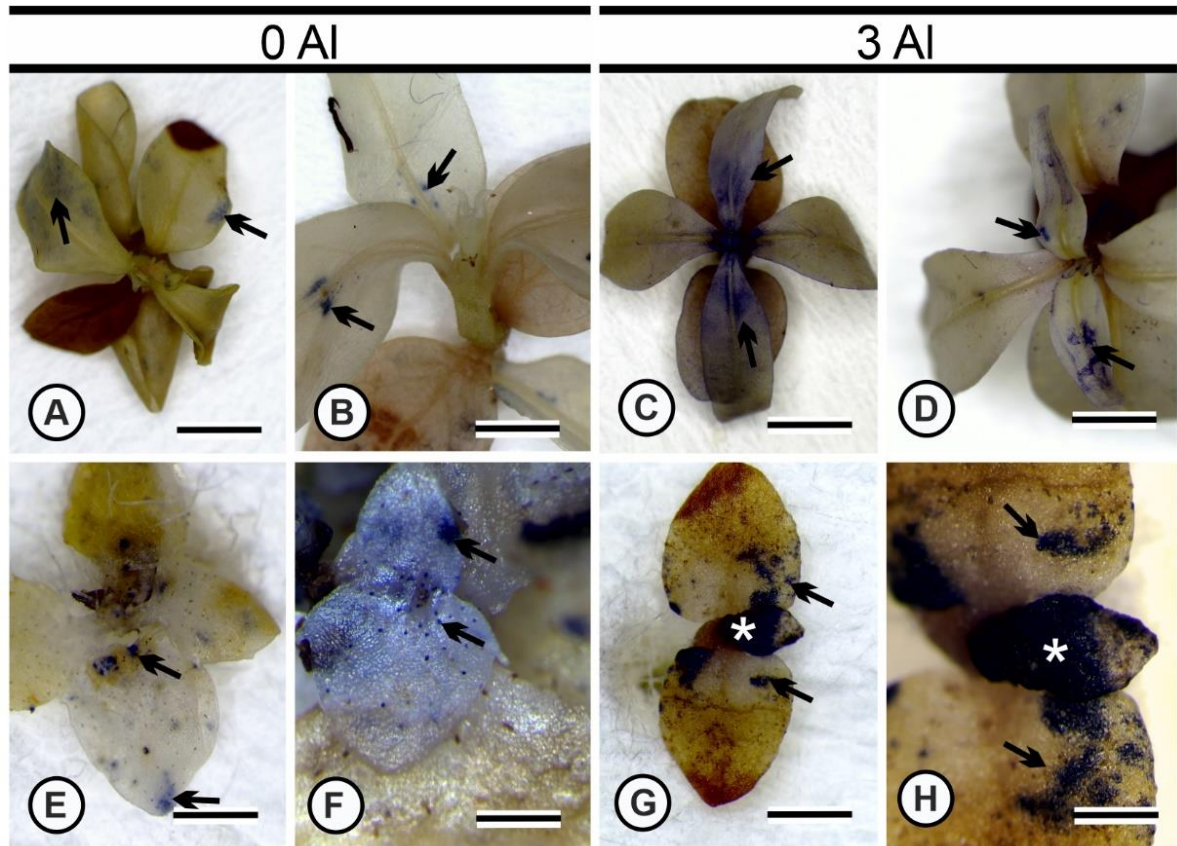
**Figura 3** – Localização de Al com chrome azurol S em plântulas de espécies nativas do Cerrado cujas sementes foram germinadas na ausência ou presença de Al (3 mM). Tratamentos 0mM (coluna à esquerda) e 3mM de Al (coluna a direita). Resultado positivo demonstrado pela coloração azul-arroxeadada como apontado pelas setas. A-B *Chiococca alba*, C-D *Coccocypselum aureum*, E-F *Miconia albicans*, G-H *Miconia ibaguensis*, I-J *Symplocos nitens*. Barras: A e B (6mm), C e D (4mm), E-H (5mm), I e J (6mm).



**Figura 4** – Identificação de morte celular com azul de Evans em plântulas (raiz, caule e folha) de espécies nativas do Cerrado cujas sementes foram germinadas na ausência ou presença de Al (3 mM). Tratamentos 0mM (coluna à esquerda) e 3mM de Al (coluna a direita). Resultado positivo demonstrado pela coloração azul, como apontado pela seta. A-B *Chiococca alba*, C-D *Coccocypselum aureum*, E-F *Miconia albicans*, G-H *Miconia ibaguensis*, I-J *Symplocos nitens*. Barras: A-B (8mm), C e D (4mm), E-H (5mm), I e J (6mm).



**Figura 5** – Detecção de peróxido de hidrogênio utilizando teste com 3,3' diaminobenzidina (DAB), em plântulas de espécies nativas do Cerrado cujas sementes foram germinadas na ausência ou presença de Al (3 mM). Teste positivo demonstrado pela coloração marrom, conforme apontado pelas setas em E-H. A-D *Chiococca alba* e E-H *Miconia albicans*. A, B, E, F tratamento sem alumínio. C, D, G, H Tratamento com 3 mM de alumínio. Barras: A-D (3000 µm), E e G (1500 µm) e F e H (500 µm).



**Figura 6** – Detecção de radical superóxido utilizando teste com nitroazul de tetrazólio (NBT), em plântulas de espécies nativas do Cerrado cujas sementes foram germinadas na ausência ou presença de Al (3 mM). Teste positivo demonstrado pela coloração azul, conforme apontado pelas setas de A-H e de forma mais intensa pelo asterisco em G e H. A-D *Chiococca alba* e E-H *Miconia albicans*. A, B, E, F tratamento sem alumínio. C, D, G, H Tratamento com 3 mM de alumínio. Barras: A-D (3000  $\mu\text{m}$ ), E e G (1000  $\mu\text{m}$ ), F e H (500  $\mu\text{m}$ ).

**Tabela 1** - Parâmetros germinativos de espécies nativas do Cerrado cujas sementes foram germinadas na ausência ou presença de Al (3 mM). Avaliações feitas 90 dias após semeadura para *C. alba*, 40 dias para *M. albicans*, *M. ibaguensis* e *S. nitens* e 30 dias para *C. aureum*.

	FGP (%)	GI	MGT (days)	Sync.
<i>Miconia albicans</i>				
No Al	65.6±5.15 A	0.694±0.067 A	26.60±0.66 A	0.039±0.014 A
Plus Al	58.4±4.66 A	0.599±0.064 A	27.95±0.89 A	0.032±0.011 A
<i>Miconia ibaguensis</i>				
No Al	36.80±1.95 A	0.40±0.03 A	25.62±1.84 B	0.059±0.026 A
Plus Al	44.80±5.42 A	0.37±0.03 A	31.89±1.24 A	0.047±0.011 A
<i>Chiococa alba</i>				
No Al	13.6±5.74 B	0.061±0.025 B	56.41±2.34 A	0.007±0.006 A
Plus Al	32.31±2.19 A	0.18±0.015 A	46.35±1.73 B	0.058±0.036 A
<i>Coccocypselum aureum</i>				
No Al	98.66±0.81 A	5.85±0.23 A	6.92±0.43 A	0.168±0.015 A
Plus Al	98.66±1.33 A	5.42±0.54 A	7.58±0.98 A	0.145±0.039 A
<i>Symplocos nitens</i>				
No Al	28.00±3.57 A	0.49±0.083 A	15.89±0.65 A	0.126±0.029 A
Plus Al	29.60±6.01 A	0.46±0.082 A	17.27±1.11 A	0.113±0.056 A

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste t Student ( $P < 0.05$ ). Porcentagem final de germinação (FGP), Índice de velocidade de germinação (GI), Tempo médio de germinação (MGT) e Sincronia de germinação (Sync).

**Tabela 2** - Desempenho de plântulas, com cotilédones e dois pares de folhas, de espécies nativas do Cerrado cujas sementes foram germinadas na ausência ou presença de Al (3 mM). Avaliações feitas 90 dias após semeadura para *C. alba*, 40 dias para *M. albicans*, *M. ibaguensis* e *S. nitens* e 30 dias para *C. aureum*.

	SL (cm)	RL (cm)	TL (cm)	R/S ratio	GI	CVI
<i>Miconia albicans</i>						
No Al	0.208±0.24 A	1.202±0.39 A	1.41±0.40 A	5.626±1.46 A	110.21±35.52 A	232.08±15.78 A
Plus Al	0.248±0.01 A	1.067±0.26 A	1.314±0.25 A	4.47±1.15 A	98.48±24.02 A	210.351±23.37 A
<i>Miconia ibaguensis</i>						
No Al	0.163±0.011 A	0.875±0.245 A	1.038±0.244 A	5.48±1.48 A	80.37±22.10 A	131.105±5.69 B
Plus Al	0.225±0.042 A	0.843±0.207 A	1.068±0.224 A	4.011±1.26 A	78.07±18.78 A	158.884±5.88 A
<i>Chiococa alba</i>						
No Al	6.21±0.73 A	7.08±0.75 A	13.29±1.48 A	1.155±0.017 A	699.3±74.90 A	107.373±7.13 B
Plus Al	4.77±0.58 A	5.75±0.54 A	10.52±1.13 A	1.26±0.054 A	565.200±55.34 A	222.605±12.39 A
<i>Coccocypselum aureum</i>						
No Al	0.358±0.044 B	1.33±0.083 A	1.69±0.100 A	3.88±0.41 A	123.46±7.56 A	381.271±5.22 A
Plus Al	0.688±0.043 A	0.916±0.018 B	1.60±0.056 A	1.34±0.069 B	89.32±1.95 B	357.692±1.34 B
<i>Symplocos nitens</i>						
No Al	2.86±0.24 A	2.25±0.011 A	5.12±0.29 A	0.82±0.06 A	231.36±10.85 A	129.34±2.12 A
Plus Al	2.81±0.18 A	2.23±0.15 A	5.04±0.31 A	0.80±0.03 A	229.18±15.05 A	136.28±3.11 A

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste t Student ( $P < 0.05$ ). Comprimento da parte aérea (SL), Comprimento da raiz (RL), Comprimento médio total (TL), Razão entre raiz e parte aérea (R/S ratio), Índice de crescimento (GI) e Índice de vigor corrigido (CVI).

**Tabela 3 -** Histolocalização de Al com chrome azurol S em raízes de plântulas, com cotilédones e dois pares de folhas, oriundas de sementes germinadas na ausência e presença (3 mM) de Al.

Família	Espécies	Tratamento	chrome azurol S			
			Floema	Núcleo	Parede celular epiderme	Pelos
Melastomataceae	<i>Miconia albicans</i>	semAl	-	-	-	0
		comAl	+	+	-	0
	<i>Miconia ibaguensis</i>	semAl	-	+	-	0
		com Al	+	+	+	0
Rubiaceae	<i>Chiococca alba</i>	semAl	-	-	-	-
		com Al	+	+	+	+
	<i>Coccocypselum aureum</i>	semAl	-	-	-	-
Symplocaceae	<i>Symplocos nitens</i>	semAl	-	+	-	0
		com Al	+	+	+	0

- negativo para Al; + positivo para Al; 0: estrutura ausente.

**Tabela 4 -** Abundância relativa (%) de nutrientes, determinada por MEV/EDS, em folhas e raízes de plântulas, com cotilédones e dois pares de folhas, oriundas de sementes germinadas na ausência e presença (3 mM) de Al.

ESPÉCIES	TRATAMENTOS	ÓRGÃOS	Al	K	Ca	Mg	P	N	Fe
<i>Miconia albicans</i>	0 mM Al	Folha	3,90±0,89 Bb	36,00±3,38 Aa	12,90±1,06 Ca	7,90±0,52 Ba	8,66±0,68 Ba	30,28±3,58 Aa	1,14±0,17 Ba
		Raiz	8,16±1,19 ACa	29,90±1,82 Bca*	12,63±1,96 Ca	8,12±1,43 Aa	3,61±0,27 Bb	33,80±3,10 ABca	1,91±0,19 ABa
	3 mM Al	Folha	4,61±0,59 Cb	16,32±2,61 Bca*	24,34±2,27 Aba*	6,51±0,30 Ba	8,38±0,59 BCa	37,58±2,97 Aa	1,06±0,13 Bb
		Raiz	13,47±1,26 ABa*	16,82±2,48 Bca	17,62±3,29 ABa	7,25±2,25 Aa	6,02±1,78 Ba	32,84±4,06 Aa	2,31±0,70 Bca
<i>Miconia ibaguensis</i>	0 mM Al	Folha	3,12±0,25 Ba	31,62±3,09 Ab	19,63±2,88 BCa	7,23±0,33 Ba	6,09±0,35 BCa	32,15±0,87 Aa	0,76±0,10 Ba
		Raiz	5,43±0,51 BCa	48,23±2,16 Aa*	8,97±0,27 Cb	6,24±0,79Aa	2,02±0,12 Bb	27,66±1,82 BCa	1,43±0,14 ABa
	3 mM Al	Folha	6,42±0,44 BCa	25,15±3,16 Bca	27,04±1,53 ABa	6,32±0,50 Ba	4,74±0,30 CDa	28,89±3,16 Aa	1,29±0,16 ABa
		Raiz	10,21±1,37 Ba*	27,73±5,32 Aba	15,12±3,74 ABb	4,75±0,59 Aa	2,98±0,32 Ba	34,96±2,19 Aa	1,97±0,43 Ca
<i>Chiococca alba</i>	0 mM Al	Folha	6,59±0,56 Ba	11,52±2,52 Ba	33,78±2,36 Aa*	8,26±1,14 Ba	10,01±1,47 Ba	22,86±4,32 ABb	1,59±0,27 ABb
		Raiz	10,43±0,23 ABa	6,08±1,62 Ca	24,47±2,42 ABb*	7,48±0,68 Aa	3,34±0,60 Bb	45,88±1,77 Aa	2,78±0,44 Aa
	3 mM Al	Folha	11,28±0,81 ABb*	19,22±3,52 Bca	17,70±2,16 Ba	9,80±0,39 Ba	13,29±0,52 ABb	14,17±7,91 Bb	1,80±0,21 ABb
		Raiz	17,87±2,42 Aa*	17,68±2,41 Ba*	9,58±0,94 Bb	6,67±0,71 Ab	4,35±0,81 Ba	35,02±1,69 Aa*	4,73±0,75 Aa*
<i>Coccocypselum aureum</i>	0 mM Al	Folha	3,79±0,36 Ba	41,96±1,27 Aa	27,97±1,75 ABa	6,92±0,61 Ba	1,78±0,14 Ca	15,86±2,15 Ba	0,76±0,04 Ba
		Raiz	3,00±0,11 Ca	42,04±1,78 ABa	29,21±1,55 Aa	7,00±0,96 Aa	1,04±0,06 Ba	16,68±2,01 Ca	0,68±0,06 Ba
	3 mM Al	Folha	4,16±0,20 Cb	49,23±3,54 Aa	26,69±3,93 ABa	5,99±0,26 Ba	2,30±0,27 Da	8,44±1,51 Ba	1,21±0,10 ABb
		Raiz	15,82±3,86 ABa*	34,58±1,38 Ab	21,88±3,29 Aa	5,71±1,05 Aa	1,58±0,11 Ba	16,13±3,61 Ba	3,16±0,61 BCa*
<i>Symplocos nitens</i>	0 mM Al	Folha	16,94±0,89 Aa	9,28±3,87 Ba	31,99±4,33 Aa	19,36±2,31 Aa	16,91±2,35 Aa	0,00±0,00 Cb	2,97±0,18 Aa
		Raiz	13,39±2,98 Aa	13,09±6,54 Ca	14,39±3,67 BCb	10,48±0,96 Ab	14,06±3,55 Aa	24,49±5,75 BCa	2,63±0,48 Aa
	3 mM Al	Folha	15,72±0,94 Aa	10,60±4,87 Ca	28,43±3,44 Aa	16,79±1,57 Aa	16,14±1,26 Aa	5,55±3,78 Bb	2,52±0,46 Ab
		Raiz	18,04±1,60 Aa*	4,47±1,75 Ca	11,95±1,42 ABa	8,35±1,21 Ab	15,34±1,73 Aa	34,13±2,29 Aa*	3,69±0,31 ABa*

\*Média ± erro padrão da média. Letras maiúsculas comparam diferentes espécies dentro do mesmo órgão e dose. Letras minúsculas comparam diferentes órgãos dentro da mesma espécie e dose. Asterisco compara diferentes doses dentro da mesma espécie e órgão. Tratamentos com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Al: Alumínio; K: Potássio; Ca: Cálcio; Mg: Magnésio; P: Fósforo; N: Nitrogênio; Fe: Ferro.

## CONCLUSÕES FINAIS

Com exceção de *S. brasiliensis*, todas as demais espécies acumuladoras de Al, na parte vegetativa, translocaram Al para os frutos enquanto as não acumuladoras do metal apresentaram muito pouco Al neste órgão. Os principais sítios de acúmulo de Al no pericarpo na maioria das espécies foram: floema (conteúdo), núcleo, parede celular (epiderme e parênquima).

A presença de Al atuou de maneira benéfica para a germinação de *Chiococca alba*, proporcionando o aumento na percentagem de germinação em menor tempo. A presença ou ausência do metal não interferiu na germinação de sementes de três das cinco espécies de cerrado estudadas. O desenvolvimento das plântulas ocorreu sem anomalias morfoanatômicas, mas com redução nos parâmetros de crescimento da raiz em *M. albicans* e *C. aureum*.

Este trabalho permitiu ampliar o conhecimento sobre o acúmulo de Al em frutos e sobre o efeito do Al na germinação e no desenvolvimento inicial de espécies nativas do Cerrado, eventos cruciais no ciclo de vida das plantas e muito pouco explorados na literatura. Mesmo com os incrementos gerados por este trabalho, serão necessários investimentos para maior compreensão sobre a translocação de Al e seu papel no desenvolvimento de frutos e sementes.