



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

**A influência da remoção parcial de cotilédones no crescimento inicial de plântulas de *Magonia pubescens* submetidas a alta e baixa disponibilidade de nutrientes**

Tayara Colins Nunes

26 de julho de 2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

**A influência da remoção parcial de cotilédones no crescimento inicial de plântulas de *Magonia pubescens* submetidas a alta e baixa disponibilidade de nutrientes**

Dissertação de mestrado apresentada ao Departamento de Botânica da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Botânica

Tayara Colins Nunes  
Orientador: Prof. Dr. Augusto Cesar Franco PhD.

26 de julho de 2022

Trabalho realizado junto ao Departamento de Botânica do Instituto de Ciências  
Biológicas da Universidade de Brasília com apoio financeiro do CNPQ (processo  
311362/2019-2) , FAPDF (processo SEI 00193-00000052/2019-48), CAPES  
(processo 6461481 004/2021)

Prof. Augusto César Franco, PhD  
Orientador

---

Marcel Giovanni Costa França, PhD  
Membro externo da Banca Examinadora

---

Heloisa Sinatora Miranda, PhD  
Membro interno da Banca Examinadora

---

Thomas C. Rhys Williams, PhD  
Membro suplente da Banca Examinadora

---

“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a energia atômica: a vontade.”

Albert Einstein

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus, que me guiou nessa jornada com sabedoria, persistência e saúde.

Aos meus pais, Elizabeth e Deusdete, que sempre me apoiam em qualquer escolha.

Aos meus irmãos Douglas e Mariana, que me ajudaram nas coletas, assistindo minhas prévias de apresentação e lendo alguns trechos do trabalho. E à minha irmã Vitória, que sempre que podia ia me visitar para colocar o papo em dia.

Aos meus colegas de laboratório e disciplinas, Fernanda Kiataki, Raiane Beú, Cristili Machado, Thiago Moreira, Bruna, Laisa, André.

Ao técnico Fábio, que me ajudou nas coletas na estação e com conselhos valiosos para a vida.

Ao Mendes, que coletou a quantidade necessária de sementes para que o trabalho fosse realizado.

Aos professores do departamento, que contribuíram de forma grandiosa para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao professor Thomas e prof.<sup>a</sup> Cristiane, que me ajudaram muito com as análises e cálculos.

Aos meus amigos antigos e aos novos que a UnB me deu, com os quais tinha momentos de entretenimento, uma pausa necessária com pessoas incríveis: Wellyson, Paolo Lucas, José Cruz, Gabriel, Victor e aos meus vizinhos da Colina.

Ao meu orientador Augusto César Franco, que sempre teve muita paciência em mostrar onde e como melhorar. Muito compreensivo, empático (principalmente, nesse período de pandemia) porém firme, me falando o que precisava ouvir, para reagir em alguns momentos de desânimos.

À banca, que disponibilizou tempo para contribuir com nosso trabalho.

Ao CNPQ, FAPDF e aos recursos da Pós-graduação que contribuíram para esse trabalho.

Ver essa lista de pessoas quem sou tão grata por terem participado de forma direta ou indiretamente desse processo, me mostra que esse processo se tornou menos doloroso e solitário. Seja lá qual for a contribuição, horas de risadas, conversando várias vezes, aventuras em trilhas, coletas, dicas, etc. Só posso me sentir muito grata por tudo e todos.

## SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	9
Lista de Tabelas	10
Lista de Figuras	12
INTRODUÇÃO	15
MATERIAL E MÉTODOS	18
Caracterização da espécie alvo	18
Local de coleta	19
Germinação e obtenção das plântulas	19
Delineamento experimental	20
Crescimento vegetativo	21
Análises de açúcares solúveis totais, amido, composição de ácidos graxos transesterificados, macro e micronutrientes	21
Análise de clorofila e carotenóides	24
Análises químicas do substrato	24
Análises estatísticas	25
RESULTADOS	25
Efeito da remoção de cotilédones e aplicação de fertilizante	27
Efeitos no substrato	27
Efeitos no crescimento e na sobrevivência	27
Efeitos na biomassa	29
Efeitos nos Pigmentos foliares	31
Efeitos nas reservas de carbono	32
Efeitos na concentração de macro e micronutrientes	35
Efeitos na distribuição de macro e micronutrientes e de carbono nas sementes e plântulas.....	36
DISCUSSÃO	40
REFERÊNCIAS	45

## RESUMO

As reservas de sementes constituem uma fonte significativa de elementos minerais e de carbono para as plântulas. As árvores do Cerrado do Brasil Central estão sujeitas a seca e solos distróficos, o que sugere que plântulas recém germinadas dependem das reservas das sementes para um rápido desenvolvimento e crescimento, para melhorar as chances de sobrevivência durante a estação seca. Pouco se sabe sobre a papel das reservas para apoiar o crescimento de plântulas neste ecossistema e a capacidade em responder aos danos dos cotilédones. Contudo, espera-se que a remoção parcial dos cotilédones interfira no crescimento e investimento de biomassa aérea e radicular, com maior prejuízo em plântulas em solos com baixas reservas nutricionais. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da remoção de um dos cotilédones na morfologia da parte aérea e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*, cultivada em areia deficiente em nutrientes e enriquecida em nutrientes por 120 dias. Plântulas aos 11 dias após a germinação foram submetidas aos tratamentos: 1 cotilédone/com fertilização (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilização (1 s/fert); 2 cotilédones/com fertilização (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilização (2 s/fert). Aos 120 dias, as plântulas foram coletadas, medidas morfométricas foram realizadas e discos foliares obtidos para análise de clorofila e carotenóides. Em seguida, as plântulas foram separadas em caule, folhas e raiz, que foram secos em estufa, pesados e determinado as concentrações de macro e micronutrientes, açúcares solúveis, amido e ácidos graxos transesterificados. Para a maioria dos nutrientes (N, P, K, Mg, S, B, Cu e Zn), os estoques presentes na semente seriam suficientes para o desenvolvimento da plântula. No entanto, as quantidades de Ca, Fe e Mn encontradas na semente não seriam suficientes para suprir as necessidades das plantas nestes estágios iniciais e devendo ser obtidos do solo. Os ácidos graxos são uma importante fonte de reserva de carbono na semente mas não na plântula, sendo consumidos rapidamente nos primeiros dias após a germinação. Açúcares solúveis são uma reserva de carbono importante nas sementes e nas plântulas, enquanto o amido é mais importante como reserva de carbono na plântula do que na semente, acumulando preferencialmente no caule e raízes. Todas as plântulas de *M. pubescens* que sofreram a remoção de um dos cotilédones conseguiram sobreviver. Contudo, a remoção de um dos cotilédones levou a uma redução significativa na biomassa. A fertilização não reverteu os efeitos da remoção de um dos cotilédones e nem levou a um aumento do crescimento. Assim, o presente estudo mostrou que os cotilédones são uma importante

fonte de nutrientes minerais e carbono para o crescimento inicial das plântulas de *M. pubescens*.

**Palavras-chave:** Cerrado, crescimento vegetativo, reservas de sementes, distribuição de nutrientes, savana



## ABSTRACT

Seed reserves are a significant source of essential elements and carbon for seedlings. Trees in the Cerrado of Central Brazil are subjected to seasonal drought and dystrophic soils, which suggests that recently germinated seedlings are dependent on seed reserves for rapid development in the growing season to enhance chances of survival during the subsequent dry season. However, little is known about the role of seed mineral nutrient reserves in supporting tree seedling growth in these seasonal ecosystems and the ability of Cerrado tree seedlings to respond to cotyledon damage. Thus, it is expected that the partial removal of cotyledons interferes in the growth of shoot and root biomass, with greater impact to plants thriving in nutrient-poor soils. The aim of the present study was to determine the effects of removal of one cotyledon on the shoot and root morphology of *Magonia pubescens* seedlings, grown in nutrient-deficient and nutrient-enriched sand for 120 days. At 11 days after germination (DAG), seedlings were submitted to the following treatments: 1 cotyledon/with fertilization (1w/fert); 1 cotyledon/without fertilization (1wo/fert); 2 cotyledons/with fertilization (2 w/fert) and 2 cotyledons/without fertilization (2wo/fert). The plants were collected at 120 days after germination. Morphological data were obtained, and leaf disks taken for leaf pigment (chlorophyll and total carotenoids) analysis. The seedlings were then separated into stem, leaves and roots, the material oven dried and weighed, and macro and micronutrient, soluble sugar, starch and transesterified fatty acid concentrations determined. For most of the nutrients (N, P, K, Mg, S, B, Cu and Zn), the stocks present in the seeds would be sufficient for seedling development. However, the amounts of Ca, Fe and Mn found in seeds would not be sufficient to meet the needs of plants at these initial stages and should be acquired from the soil. Fatty acids are an important source of carbon reserve in seeds but not for the seedlings. They were consumed rapidly in the initial stages of seedling development. Soluble sugars are an important carbon reserve in seeds and the seedling, while starch is more important as a carbon source for the seedling than the seed, being present mostly in the stem and roots. All seedlings survived after experimental removal of one of the cotyledons, despite suffering significant inhibition in biomass and growth. Fertilization did not reverse the effects of removing one of the cotyledons or increased growth. Thus, the present study showed

that cotyledons are an important source of mineral nutrients and carbon for early seedling growth of *M. pubescens*.

**Keywords:** Cerrado, growth, seed reserves, nutrient distribution, savanna

## Lista de Tabelas

**Tabela 1.** Reservas de carbono (açúcares solúveis, amido e ácidos graxos) em sementes e cotilédones de *Magonia pubescens*. Os cotilédones foram extraídos de plântulas 11 dias após a germinação.....22

**Tabela 2.** Composição de ácidos graxos transesterificados em sementes e cotilédones de *Magonia pubescens*. Os cotilédones foram extraídos de plântulas 11 dias após a germinação. Média e erro padrão. Nd= ácidos graxos não detectados.....23

**Tabela 3.** Macro e micronutrientes de *Magonia pubescens* (sementes, cotilédone + embrião e cotilédones coletados no 11<sup>a</sup> dia após germinação). Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B).....23

**Tabela 4.** Caracterização das propriedades químicas dos substratos usados no experimento. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert), 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert) e areia que foi coletada para análise antes do início do experimento. Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B).....24

**Tabela 5.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para as variáveis de comprimento da parte aérea (CPA), comprimento total (CT), comprimento da raiz principal (CRP), diâmetro do caule (DC), área foliar (AF), área

radicular (AR) e número de folíolos. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  
 $P \leq 0,05$ .....25

**Tabela 6.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para as variáveis de biomassa da planta inteira (BPI), biomassa foliar (BF), razão raiz: parte aérea (R:PA), biomassa do caule (BC) e biomassa radicular (BR) em função do cotilédone (Cot), sobre fertilizante (fert). CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  $P \leq 0,05$ .....27

**Tabela 7.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para as variáveis de clorofila A, B, A+B e carotenóides. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  
 $P \leq 0,05$ .....28

**Tabela 8.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, nas concentrações de açúcares solúveis nas folhas, caule e raiz. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  
 $P \leq 0,05$ .....29

**Tabela 9.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para reservas de amido na folha, caule e raiz. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  
 $P \leq 0,05$ .....30

**Tabela 10.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de ácidos graxos transesterificados em folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  
 $P \leq 0,05$ .....32

**Tabela 11.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de macro e micronutrientes no caule, raiz e folha de *Magonia pubescens* tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2

cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert).  
 Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg),  
 enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro  
 (B).....33

### Lista de Figuras

**Figura 1.** Semente de *Magonia pubescens* com os três tegumentos (semente inteira),  
 com tegumento intermediário, tegumento interno e cotilédone + embrião. Sendo que as  
 estruturas destacadas em vermelho foram utilizadas nas análises  
 bioquímicas.....17

**Figura 2.** Plântula de *Magonia pubescens* com cotilédones abertos aos 11<sup>o</sup> dias após a  
 germinação.....19

**Figura 3.** Plântulas de *Magonia pubescens* aos 120 dias após o início dos tratamentos  
 experimentais na estação biológica, prontas para coleta. Tratamentos: A- 1  
 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert); B- 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); C- 2  
 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e D- 2 cotilédones/sem fertilizante (2  
 s/fert).....20

**Figura 4.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie *Magonia  
 pubescens*, para as variáveis de comprimento da parte aérea (CPA), comprimento total  
 (CT), comprimento da raiz principal (CRP), diâmetro do caule (DC), área foliar (AF),  
 área radicular (AR) e número total de folíolos por planta. Tratamentos: 1  
 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2  
 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras  
 diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados  
 expressos em média e erro  
 padrão.....26

**Figura 5.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie *Magonia  
 pubescens*, para as variáveis de biomassa da planta (BP), biomassa foliar (BF),

biomassa do caule (BC), biomassa radicular (BR) e razão da raiz:parte aérea (R:PA). Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.....27

**Figura 6.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie *Magonia pubescens*, para as variáveis de clorofila A, B, carotenoides e A+B. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.....29

**Figura 7.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de açúcares solúveis totais (AST) na folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.....30

**Figura 8.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de amido na folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.....31

**Figura 9.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização em concentração de ácidos graxos transesterificados em folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1

s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).  
 Dados expressos em média e erro padrão.....32

**Figura 10.** Reservas de nutrientes minerais presentes em *Magonia pubescens* (semente inteira, cotilédone + embrião, cotilédone no 11<sup>a</sup> dia após a germinação e plântula inteira ao final do experimento) em seu respectivos tratamentos: 2 cotilédone/com fertilizante (2 c/fert); 2 cotilédone/sem fertilizante (2 s/fert). 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert) e 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B).....35

**Figura 11.** Reservas de carbono presentes em *Magonia pubescens* (semente inteira, cotilédone no 11<sup>a</sup> dia e plântula inteira ao final do experimento) em seu respectivos tratamentos: 2 cotilédone/com fertilizante (2 c/fert); 2 cotilédone/sem fertilizante (2 s/fert). 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert) e 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert).....36

## INTRODUÇÃO

Sementes variam em tamanho e massa entre as espécies, o que apresenta consequências no estabelecimento de uma plântula, bem como nos aspectos adaptativos (Malavasi e Malavasi 2001). As sementes grandes podem armazenar maior quantidade de reservas metabólicas para o crescimento das plântulas, contribuindo para um desenvolvimento inicial mais robusto, o que aumenta suas chances de sobrevivência (Moles e Westoby 2006; Metz et al. 2010; Simpson et al. 2021). Uma maior disponibilidade de compostos metabólicos nos tecidos de reserva pode permitir o desenvolvimento de sistemas radiculares mais vigorosos, capazes de explorar um maior volume de solo em locais com baixo teor nutricional ou alcançar camadas mais profundas do solo com maior disponibilidade de umidade (Daws et al. 2007; Hallett et al. 2010; Saatkamp et al. 2019).

A remoção parcial ou total dos cotilédones pode prejudicar a capacidade de estabelecimento de uma plântula, com efeitos negativos no crescimento e sobrevivência (Bonfil 1998; García-Cebrián et al. 2003; Kitajima 2003; Iortsuun et al. 2008; Santos et al. 2018), causando uma redução em altura, diâmetro do caule, biomassa da parte aérea e subterrânea, comprimento da parte aérea e número de folhas. Desta maneira, gerando desvantagens competitivas por recursos disponíveis no meio onde estão estabelecidas, devido ao seu tamanho reduzido ou sua menor área fotossintética, assim, afetando diretamente seu desenvolvimento (Giertych e Suszka 2011; Yi et al. 2019; Lapaz et al. 2020). Além da menor competitividade, pode também resultar em uma menor taxa de sobrevivência, especialmente em regiões de clima sazonal, com menor disponibilidade hídrica nas camadas mais superficiais do solo durante o período seco, em que um rápido desenvolvimento da raiz principal em direção às camadas mais profundas do solo e menos expostas a variações na disponibilidade de água, torna-se crucial para garantir o sucesso no estabelecimento (Lamont e Groom 2013).

O tecido de armazenamento da semente funciona como fonte de energia, carbono e de nutrientes minerais (Buckeridge et al. 2004). Pode-se esperar que a última

função seja especialmente importante em solos pobres em nutrientes, conforme demonstrado por Milberg e Lamont (1997), em que as espécies estudadas sofreram remoção dos cotilédones e foram cultivadas em dois tipos de solos: arenoso, de baixo teor nutricional; e argiloso, de alto teor nutricional. A remoção afetou o crescimento e sobrevivência das plântulas, sendo que os impactos foram mais desfavoráveis em solos arenosos com baixo teor nutricional. Nesse tipo de procedimento, a taxa de sobrevivência das plântulas pode ser alta, quando uma solução nutritiva balanceada é fornecida após a remoção dos cotilédones, no entanto, o seu crescimento não é totalmente compensado pela adição de nutrientes ao meio (Lamont e Groom 2002; Ramage e Williams 2002; El-Amhir et al. 2017).

O Cerrado do Brasil Central é caracterizado por marcada sazonalidade de chuvas e solos distróficos, o que sugere que as plântulas seriam dependentes das reservas de sementes para o rápido desenvolvimento destas na estação de crescimento, para aumentar as chances de sobrevivência durante a estação seca. No entanto, pouco se sabe sobre o papel das reservas de nutrientes minerais das sementes para apoiar o crescimento inicial de plântulas de espécies arbóreas nesses ecossistemas sazonais e a capacidade dessas plântulas em responder aos danos dos cotilédones. Assim sendo, realizamos um estudo experimental para examinar o papel das reservas cotiledonares na sobrevivência e no crescimento inicial de mudas de *Magonia pubescens*. Sua semente tem cerca de 3,5 g de massa fresca (Macedo et al. 2009). Portanto, é uma semente grande para uma espécie anemocórica, já que sementes dispersas pelo vento geralmente variam de 0,1 a 100 mg (Leishman et al. 2000).

Com a retirada de um dos cotilédones, pudemos investigar até que ponto a espécie pode tolerar os danos dos cotilédones e, cultivando as plântulas em areia com e sem adição de solução nutritiva, até que ponto dependem dos nutrientes do solo nesses primeiros estágios de crescimento. Esperávamos que o suporte dos cotilédones para o crescimento da raiz e da parte aérea fosse mais importante em substrato pobre em nutrientes. Devido à grande quantidade de reservas de carbono na semente, previmos que as reservas minerais seriam mais limitantes do que as reservas de carbono para a plântula recém-germinada. Esperava-se, portanto, que plântulas de *M. pubescens* com cotilédones intactos não respondessem ao aporte adicional de nutrientes ao substrato, enquanto qualquer diminuição no crescimento de plântulas com remoção parcial dos cotilédones poderia ser compensada pela adição de nutrientes minerais ao substrato. Também esperávamos mudanças na relações raiz:parte aérea, com maior investimento



no crescimento radicular em plântulas submetidas à remoção parcial de cotilédones e crescendo em substrato pobre em nutrientes.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Caracterização da espécie alvo

A espécie *M. pubescens* A.St.-Hil., da família Sapindaceae, conhecida popularmente como tingui, é uma planta arbórea decídua e heliófita (Lorenzi 1992). Ocorre em áreas de matas mesófitas e cerrado, em solos bem drenados com baixos teores de alumínio e alto teor de cálcio, sendo considerada espécie indicadora de áreas de Cerrado mesotrófico (Somner et al. 2009). A espécie varia de 5 a 10 metros de altura, apresentando madeira pesada e escura, usada na construção civil. O caule é rendilhado, com folhas compostas paripinadas e flores amarelo-esverdeadas. Seus frutos são do tipo cápsula trivalvar, marrom escuro, contendo de 8 a 25 sementes no fruto (Lorenzi 1992).

Quanto às características físicas da semente, possui asas largas e formação de camada mucilaginosa no tegumento externo, não possui dormência (Oliveira et al. 2017). A estrutura alada auxilia na ocupação de novos habitats por meio da dispersão anemocórica (Weckerle e Rutishauser 2005), e a presença de camada mucilaginosa facilita a captação de água para hidratar a semente e promover uma germinação bem-sucedida em ambientes secos (Souza et al. 2020). A semente possui altos teores de reservas lipídicas, assim, a espécie tem um grande potencial para a produção de biocombustíveis em regiões tropicais (Teixeira 2007). Quanto aos teores de reservas minerais, não tem informações na literatura. Esta espécie foi escolhida para os experimentos, por ter uma semente grande para uma espécie anemocórica e de fácil manuseio das plântulas, assim evitando maiores danos durante a remoção do cotilédone (Figura 1).



**Figura 1.** Semente de *Magonia pubescens* com os três tegumentos (semente inteira), com tegumento intermediário, tegumento interno e cotilédone + embrião. Sendo que as estruturas destacadas em vermelho foram utilizadas nas análises bioquímicas.

### **Local de coleta**

Os frutos foram coletados de quatro matrizes diferentes. Duas matrizes coletadas no mês de agosto de 2019 nas áreas de cerradão da Fazenda Jataí (15°30'38" e 16°03'12" S e 47°25'00" e 48°12'04" W); as outras duas em áreas de cerradão nos arredores de Teresina de Goiás (13°34'36" S; 47°12'23" W), em meados de setembro de 2019.

Após a coleta, as sementes foram beneficiadas, realizando uma seleção de sementes sadias e descartadas as com desenvolvimento comprometido após inspeção visual (Caldeira e Takashiki 2000). As estruturas aladas foram retiradas e as sementes armazenadas em temperatura ambiente (25-27°C), onde permaneceram cerca de sete meses, até o início dos experimentos, os quais foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da Universidade de Brasília (UnB). As sementes foram homogeneizadas em um único lote para obter amostras compostas (Giotto et al 2008).

### **Germinação e obtenção das plântulas**

Inicialmente foi realizada a mensuração de massa fresca e seca de 10 sementes. Para obter a massa seca, as sementes inteiras com tegumento foram secas em estufa de circulação fechada a 70 °C por 72h e depois pesadas em uma balança de precisão de 0,0001 g. Da mesma forma, foi medida a massa fresca e seca dos cotilédones, as quais foram obtidas 11 dias após a germinação de 10 plântulas. O material seco foi pulverizado, com auxílio de um moedor elétrico e utilizado para as análises de açúcares solúveis totais, amido, ácidos graxos transesterificados, macro e micronutrientes.

Para a obtenção de plântulas para o procedimento experimental, foram colocadas 120 sementes para embeber por 12 horas imersas em água. Depois do período de embebição, as sementes foram colocadas em seis bandejas plásticas (25x45x7 cm) com duas folhas de papel filtro, contendo 20 sementes cada. Em seguida, foram colocadas em câmara de germinação na temperatura de 26-27°C com fotoperíodo de 12 horas. As contagens do número de sementes germinadas foram realizadas todos os dias pela manhã.

O critério para considerar a semente germinada foi a protrusão de 2 mm da radícula. O experimento de germinação foi finalizado após sete dias, ao constatar que 77% das sementes já haviam germinado ou já estavam deterioradas e inviáveis para a germinação. Foram separadas 80 plântulas, no 11º dia de idade (Figura 2), sendo

removido um dos cotilédones de metade das plântulas com auxílio de uma lâmina de aço devidamente esterilizada. O momento de remoção foi determinado no 11º dia, pois neste período os cotilédones já estavam abertos, e a remoção não causaria danos ao sistema radicular.



**Figura 2.** Plântula de *Magonia pubescens* com cotilédones abertos aos 11ª dias após a germinação.

### **Delineamento experimental**

Após a remoção dos cotilédones, e no mesmo dia, as plântulas foram plantadas em substrato de areia lavada, em recipientes plásticos de 1 litro. As 80 plântulas foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x2 com quatro tratamentos: 1 cotilédone/com fertilização (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilização (1 s/fert); 2 cotilédones/com fertilização (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilização (2 s/fert). O uso da areia lavada como substrato foi para que a planta tivesse acesso somente à fonte adicional de nutrientes do fertilizante, sem uma contribuição significativa do substrato utilizado como fonte de nutrientes minerais.

A partir do dia em que o experimento foi implantado, as plantas alocadas para os tratamentos de fertilização receberam quinzenalmente 25 mL de fertilizante NPK (Forth) com composição de 13% de nitrogênio, 5% de fósforo, 3% de potássio, 1% de cálcio, 1% de magnésio, 14,8% de enxofre, 0,006% de boro, 0,005% de cobre, 0,22% ferro, 0,1% de manganês e 0,2% de zinco. Solução preparada na proporção de 10g de fertilizante para 1 litro de água. Cada plântula fertilizada recebeu um total 8 aplicações de fertilizante durante o período experimental, sendo a primeira aplicação no início do período experimental. As plântulas ficaram na casa de vegetação da Estação Experimental de Biologia da UnB, com temperaturas médias mínimas e máximas de 15°C e 31°C.

A duração do experimento foi de 120 dias, ao final as plântulas foram coletadas (Figura 3) para fazer as medições de crescimento, análises de clorofila e biomassa no

Laboratório de Ecofisiologia vegetal. Amostras do substrato foram coletadas no início e no final do experimento para análises de macro e micronutrientes.



**Figura 3.** Plântulas de *Magonia pubescens* aos 120 dias após o início dos tratamentos experimentais na estação biológica, prontas para coleta. Tratamentos: A- 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert); B- 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); C- 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e D- 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert).

### Crescimento vegetativo

Foram separadas de forma aleatória 10 plântulas de cada tratamento para as coletas de dados de crescimento e desenvolvimento. Foi medido o comprimento da parte aérea, comprimento total (foi mensurado do ápice da folha mais alta até o ápice da raiz), comprimento da raiz principal, diâmetro do colo, número de folíolos e área foliar por planta e área total do sistema radicular.

Primeiramente, os comprimentos da parte aérea total e radicular foram medidos com auxílio de uma régua (0,05 mm); o diâmetro do colo com paquímetro digital (0,01 mm). Em seguida, para determinação da área foliar (área total dos folíolos por planta em  $\text{cm}^2$ ), foram destacados os folíolos de cada planta, digitalizados com resolução de 200 dpi, considerando as exigências do ImageJ versão para Windows V 1.8.0 (software com licença de domínio público). As raízes seguiram o mesmo procedimento.

Logo após as digitalizações, os caules, as folhas e raízes de cada planta foram colocados separadamente em sacos de papel kraft, secos em estufa a  $60^\circ\text{C}$  por 72 horas e depois pesados em balança analítica (0,0001 g) para obtenção da biomassa seca. A razão raiz: parte aérea foi calculada dividindo a massa seca do sistema radicular pela massa seca da parte aérea.

### **Análises de açúcares solúveis totais, amido, composição de ácidos graxos transesterificados, macro e micronutrientes**

O material seco foi pulverizado separadamente (semente inteira, cotilédones aos 11 dias após a germinação, folha, caule, raiz), com auxílio de um moedor elétrico e foi utilizado para determinação dos açúcares solúveis totais (AST), amido, ácidos graxos transesterificados, macro e micronutrientes. Para macro e micronutrientes também se analisou em separado a sua concentração no embrião+cotilédone na semente.

Os AST foram extraídos a partir de 10 mg de massa seca do material vegetal de 4 plântulas, cada uma com 6 repetições. A extração foi feita utilizando 500 µL de etanol 80% seguido de incubação em banho-maria a 80 °C por 20 minutos. Após a incubação a mistura foi centrifugada a temperatura ambiente a 13.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante coletado para outro microtubo. O procedimento foi repetido por quatro vezes até completar o volume aproximado de 2 mL de sobrenadante. O resíduo (pellet) foi utilizado para extrair amido, após deixar o etanol presente na amostra evaporar a noite inteira.

Os AST no extrato foram quantificados utilizando um espectrofotômetro (Thermo Spectronic, Genesys 2), sendo feita a leitura da absorbância no comprimento de onda de 490 nm. Para a curva padrão foi utilizada a glicose, nas seguintes concentrações: 0; 8; 16; 32; 64; 128 mg mL<sup>-1</sup> de acordo com o que foi descrito por Dubois et al. (1956).

A extração e quantificação do amido seguiu o método da  $\alpha$ -amilase (Amaral et al. 2007), foram utilizadas 4 plântulas com 9 repetições de cada. Na extração, 480 µL de  $\alpha$ -amilase termoestável de *Bacillus licheniformis* (120 U mL<sup>-1</sup>), diluída em tampão fosfato (pH 6,5) foram adicionadas a cada microtubo contendo o resíduo que sobrou da extração de AST. As amostras foram incubadas a 75 °C por 30 minutos. Foi adicionado o mesmo volume da solução com a enzima e repetida a incubação. Após esta incubação, foi adicionado 480 µL de amiloglucosidase de *Aspergillus niger* (30 U mL<sup>-1</sup>), diluída em tampão acetato (pH 4,5). As amostras foram incubadas a 50°C por 30 minutos. Para finalizar a reação e precipitar as proteínas, foi adicionado 100 µL de ácido perclórico (0,8M) em cada microtubo com solução.

A quantificação foi feita a partir de 20 µL do extrato pipetado em poço de microplacas de espectrofotômetro (96 poços) e adicionado de 300 µL do reagente GOD-POD (Glicose enzimática). Após 15 min, o teor de glicose foi determinado a

partir da leitura das absorvâncias em espectrofotômetro de microplaca (MAX 190, Spectra) com comprimento de onda de 505 nm. A curva padrão foi feita a partir da solução de glicose, nas concentrações de 0; 6,5; 12,5; 25 e 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Para as análises de ácidos graxos foram utilizadas 4 plântulas, com 3 repetições de cada. Os ácidos graxos foram convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos diretamente a partir de 10 mg de biomassa seca pulverizada (sementes, cotilédones, folha, raiz e caule), utilizando 0,2 mL de metanol/clorofórmio (1:2) (Laurens et al. 2012). Foi acrescentado o metanol e HCL 5% à biomassa, a reação foi feita dentro de microtubos de vidro com tampas de vedação, para evitar a evaporação dos reagentes durante a incubação. A incubação foi feita em placa aquecedora a 85 °C por uma hora. Após esse tempo, as amostras foram resfriadas à 25 °C e foi adicionado 1 mL de hexano para a extração dos ácidos graxos. Os tubos foram levemente agitados e deixados incubar por uma hora, para que os ácidos graxos fossem diluídos no hexano, formando duas fases no microtubo, a fase superior (cerca de 300  $\mu\text{L}$ ) foi retirada e pipetada em um novo tubo.

O perfil dos ácidos graxos nas amostras foi determinado em triplicata por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em um Agilent (890-5975) utilizando uma coluna de 30 metros tipo INNOWAX (Laurens et al. 2012).

Devido a quantidade limitada de biomassa para as análises de nutrientes minerais, caules e folhas das 10 plântulas foram divididos em duas amostras compostas de cinco plântulas para cada um destes dois órgãos. Para raiz, obteve-se material suficiente apenas para uma amostra composta das 10 plântulas. Para sementes e cotilédones, analisou-se as concentrações de nutrientes minerais de uma amostra composta de 10 sementes inteiras, outra formada pelo embrião e cotilédones obtidos de 10 sementes e uma outra de 10 cotilédones extraídos de plântulas 11 dias após a germinação.

As concentrações de macronutrientes e micronutrientes nas sementes, cotilédones, caule, raiz e folhas, foram determinados no Laboratório de Análise de Solo de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Cálcio, magnésio, ferro, manganês, zinco e cobre foram extraídos por digestão nitroperclórica, seguida de determinação por espectrofotometria de absorção atômica (Varian Mod. Spect. A 20). Fósforo e enxofre foram extraídos por digestão nitroperclórica, seguida de determinação por espectrofotômetro (CELM Mod. E 225 D).

O potássio foi extraído por digestão nitroperclórica, seguido por determinação fotométrica com emissão de chama (Micronal Mod. B 462). Boro foi extraído em uma mufla a 600 ° C, seguida de determinação por espectrofotômetro (CELM Mod. E 225 D) no comprimento de onda de 420 nm, usando azometina H. O cloro foi determinado por titulação com nitrato de prata usando cromato de potássio como indicador. O nitrogênio foi determinado pelo método Kjeldahl (digestão com ácido sulfúrico na presença de selênio, cobre e sódio), utilizando um destilador de Nitrogênio (MA 036 – MARCONI).

### **Análise de clorofila e carotenóides**

Quatro plântulas de cada tratamento foram utilizadas para as análises de clorofila e carotenóides. Foi retirado um disco de cada folha apical com área de 0,316 cm<sup>2</sup>, totalizando três folhas apicais de cada planta, evitando a nervura principal. Cada disco foi colocado em um eppendorf âmbar diferente com 2 mL de DMF (N,N-Dimethylmethanamide) e mantidos em refrigerador a 4°C por 48 horas. Depois desse tempo, procedeu-se a leitura em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Evolution 201) da absorvância das amostras em comprimento de onda de 663,8; 646,8 e 480 nm. As concentrações de clorofila A (CA), B (CB) e carotenóides (Cx+C) foram determinadas segundo as equações propostas por Wellburn (1994):

$$C_A = 12A_{663,8} - 3,11A_{646,8}$$

$$C_B = 20,78A_{646,8} - 4,88A_{663,8}$$

$$C_{x+C} = (1000A_{480} - 1,12 C_A - 34.07C_B) / 245$$

### **Análises químicas do substrato**

Amostras do substrato utilizado (areia) foram coletadas no início e ao final do experimento e submetidas às análises de matéria orgânica, cálcio, potássio, fósforo, zinco, manganês, boro, cobre, ferro, magnésio e nitrogênio total. Antes de coletar as amostras de substrato dos tratamentos, o substrato referente a cada tratamento foi homogeneizado em um único lote, retirado uma amostra de 500 gramas que foi seco ao ar livre por sete dias.

O teor de matéria orgânica foi quantificado pelo método de oxidação úmida, em que a matéria orgânica do solo é oxidada com uma mistura de dicromato de potássio e o



ácido sulfúrico é usado como fonte de energia para catalisar a reação de oxidação. A determinação de Ca, Mg, e micronutrientes foi realizada por espectrometria de absorção atômica. O K foi determinado por espectrometria de chama; P, S e B foram determinados por colorimetria (Embrapa 2017).

O nitrogênio total do substrato foi analisado pelo método Kjeldahl no qual o N da matéria orgânica do solo é mineralizado até amônio pela oxidação com ácido sulfúrico, em alta temperatura, na presença de uma mistura catalisadora composta por sulfato de potássio, sulfato de cobre e selênio (Embrapa 2017). Todas as análises de substrato foram realizadas em duplicata.

### **Análises estatísticas**

Os dados foram organizados em planilhas e analisados com o auxílio do programa AgroEstat, um software livre ([www.agroestat.com.br](http://www.agroestat.com.br)). Os dados foram primeiramente submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade e ao teste de Levene para homogeneidade das variâncias. Todos os dados foram transformados para restaurar a normalidade e homogeneidade das variâncias, utilizando a transformação Box-Cox.

Foi utilizada uma ANOVA de dois fatores com interação, para avaliar o impacto que os fatores (Cotilédones vs. Fertilizante) provocaram nas variáveis de interesse. O teste de Tukey foi utilizado para as comparações múltiplas. As diferenças foram consideradas significativas em  $P \leq 0,05$ .

## **RESULTADOS**

A massa seca das sementes de *M. pubescens* alcançou  $3,14 \pm 0,06$  gramas, sendo que cerca de 50% correspondeu a reservas de carbono, enquanto os cotilédones obtidos 11 dias após a germinação tiveram uma massa seca de  $1,05 \pm 0,04$  gramas sendo cerca de 31,8% de reservas de carbono. Os ácidos graxos aparecem em maior abundância na semente. Sua concentração nos cotilédones, 11 dias após a germinação, cai para aproximadamente 15% do valor medido na semente (Tabela 1). As concentrações de açúcares solúveis e amido foram semelhantes nas sementes e cotilédones coletados 11 dias após a germinação.

**Tabela 1.** Reservas de carbono (açúcares solúveis, amido e ácidos graxos) em sementes e cotilédones de *Magonia pubescens*. Os cotilédones foram extraídos de plântulas 11 dias após a germinação.

Reservas	Semente	Cotilédones
Açúcares solúveis (mg g <sup>-1</sup> )	178,2	209,3
Ácidos graxos (mg g <sup>-1</sup> )	257,50	38,90
Amido (mg g <sup>-1</sup> )	65,3	70,5

Sementes e cotilédones apresentaram composição semelhante de ácidos graxos, exceto pela ausência de ácido mirístico, eicosadienoico e eicosatrienóico nos tecidos cotiledonares (Tabela 2). Os ácidos graxos tem uma composição variada, com predomínio do ácido oleico, palmitoleico, palmítico e araquídico tanto nos cotilédones como nas sementes (Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição de ácidos graxos transesterificados em sementes e cotilédones de *Magonia pubescens*. Os cotilédones foram extraídos de plântulas 11 dias após a germinação. Média e erro padrão. Nd= ácidos graxos não detectados.

Nomeclatura		Semente (%)	Cotilédone (%)
ácido mirístico	C14:0	0,05± 0,03	Nd
ácido palmítico	C16:0	10,8±0,45	8,80±0,6
ácido esteárico	C18:0	2,77±0,27	7,70±1,40
ácido araquídico	C20:0	9,53±0,5	7,50±1,5
ácido lignocérico	C24:0	1,94±0,26	1,8±0,01
ácido palmitoleico	C16:1	7,74±0,37	5,60±1,6
ácido oleico	C18:1	22,78±0,67	22,00±3,7
ácido eicosenoico	C20:1	2,82±0,53	4,4±0,06
ácido erúxico	C22:1	0,84±0,16	1,7±1,07
ácido oleico	C18:1-2	19,14±1,9	19,96±8,5
ácido eicosenoico	C 20:1-2	4,84±0,34	5,90±0,06
ácido erúxico	C22:1-2	4,33±0,43	3,2±0,06
ácido eicosadienoico	C20:2	0,05±0,59	Nd
ácido linoleico	C18:2	3,11±0,39	2,10±0,7
ácido α-linolênico	C18:3	0,28±0,07	3,40±2,80
ácido eicosatrienóico	C20:3	2,58±0,06	Nd
bnácido behênico	C22	4,40±0,53	4,40±1,80

Sementes, cotilédone + embrião e cotilédones coletados 11 dias após a germinação mostraram valores semelhantes de concentração para a maioria dos elementos minerais (Tabela 3). As exceções foram o boro (B) que teve valores bem mais baixos nos cotilédones coletados 11 dias após a germinação, o Cu com menor concentração em cotilédone + embrião, enquanto o Mg, N e S com maior concentração no cotilédone + embrião.

**Tabela 3.** Macro e micronutrientes de *Magonia pubescens* (sementes, cotilédone + embrião e cotilédones coletados no 11<sup>a</sup> dia após germinação). Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B).

	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
	dag/kg (%)						mg/kg				
Semente inteira	2,97	0,45	1,48	0,05	0,21	0,54	18,10	14,00	3,70	16,00	14,50
Cotilédone + embrião	3,28	0,46	1,48	0,06	0,32	1,06	18,20	10,70	4,20	13,40	13,2
Cotilédone no 11 <sup>o</sup> dia	2,97	0,46	1,60	0,08	0,16	0,74	18,80	13,70	4,20	18,10	5,70

### Efeito da remoção de cotilédones e aplicação de fertilizante

#### *Efeitos no substrato*

No início do experimento, o substrato utilizado apresentou baixas concentrações de nutrientes e pH na faixa de 5,7. A adição de fertilizante tornou o substrato mais ácido e levou a um aumento expressivo na concentração dos seguintes elementos: fósforo, potássio, enxofre, zinco e cobre. O Ca diminuiu de concentração em relação aos valores obtidos na areia, antes de aplicação dos tratamentos. Os demais elementos não foram afetados, suas concentrações se mantiveram similares entre si e em relação aos valores medidos na areia antes da aplicação dos tratamentos (Tabela 4).

**Tabela 4.** Caracterização das propriedades químicas dos substratos usados no experimento. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert), 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert) e areia que foi coletada para análise antes do início do experimento. Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B).

Tratamentos	pH	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
		g/Kg	mg/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>	cmolc/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>
Areia Pura	5,7	1,15	4,30	0,05	0,85	0,30	2,80	0,95	122,50	30,95	0,70	0,19
2 s/fert	5,9	0,80	7,00	0,07	0,55	0,25	9,50	1,55	168,00	33,10	0,50	0,08
1 s/fert	5,7	0,55	4,35	0,08	0,55	0,20	3,40	1,15	138,50	28,70	0,20	0,14
2 c/fert	4,8	1,05	28,90	0,39	0,55	0,25	227,00	2,80	136,50	34,10	1,05	0,08
1 c/fert	4,7	0,75	38,00	0,35	0,65	0,25	97,00	3,80	152,50	33,05	0,90	0,19

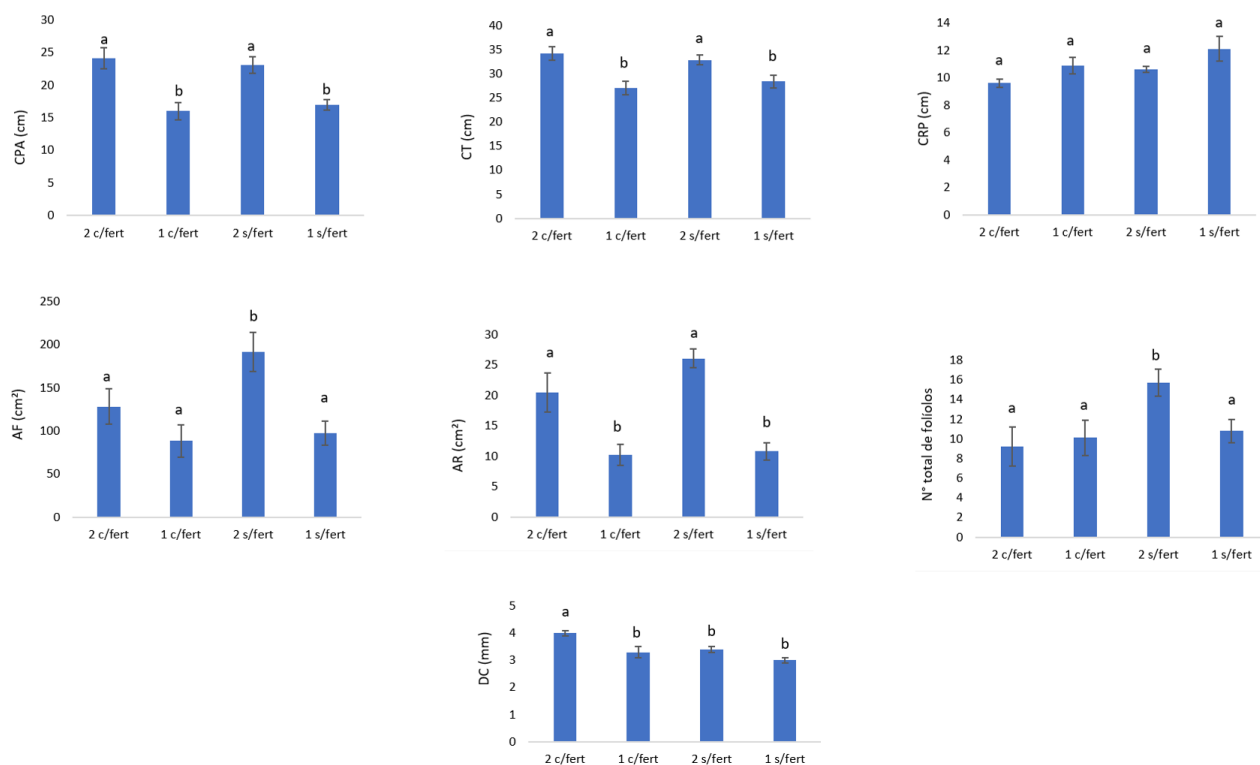
#### *Efeitos no crescimento e na sobrevivência*

A adição de nutrientes ao substrato não afetou as variáveis morfológicas medidas e também não afetou a sobrevivência das plântulas. Por outro lado, a remoção de um dos cotilédones afetou significativamente quase todas as variáveis morfológicas

medidas (Tabela 5). Comprimento da parte aérea, comprimento total e área radicular foram significativamente maiores nas plantas que permaneceram com os dois cotilédones. Estas variáveis não foram afetadas pela fertilização (Figura 4). Plântulas que mantiveram os dois cotilédones e não foram fertilizadas tiveram um maior número de folíolos e maior área foliar total do que as plântulas dos demais tratamentos, que não diferiram entre si. O diâmetro do colo foi maior para plantas fertilizadas e que mantiveram os dois cotilédones, enquanto as plântulas dos outros tratamentos não diferiram entre si para este parâmetro (Figura 4).

**Tabela 5.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para as variáveis de comprimento da parte aérea (CPA), comprimento total (CT), comprimento da raiz principal (CRP), diâmetro do caule (DC), área foliar (AF), área radicular (AR) e número de folíolos. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  $P \leq 0,05$ .

<i>Variáveis</i>	<i>Cot</i>	<i>Fert</i>	<i>Cot x Fert</i>	<i>CV%</i>
<i>CPA (cm)</i>	< 0,0001	0,879 <sup>NS</sup>	0,417 <sup>NS</sup>	5,40
<i>CT (cm)</i>	< 0,0001	0,962 <sup>NS</sup>	0,306 <sup>NS</sup>	13,06
<i>CRP (cm)</i>	0,031	0,065 <sup>NS</sup>	0,924 <sup>NS</sup>	6,80
<i>DC (mm)</i>	0,003	0,045	0,482 <sup>NS</sup>	20,90
<i>AF (cm<sup>2</sup>)</i>	0,001	0,065 <sup>NS</sup>	0,302 <sup>NS</sup>	29,10
<i>AR (cm<sup>2</sup>)</i>	< 0,0001	0,125 <sup>NS</sup>	0,335 <sup>NS</sup>	26,30
<i>Nº de folíolos</i>	0,249 <sup>NS</sup>	0,039	0,095 <sup>NS</sup>	12,70



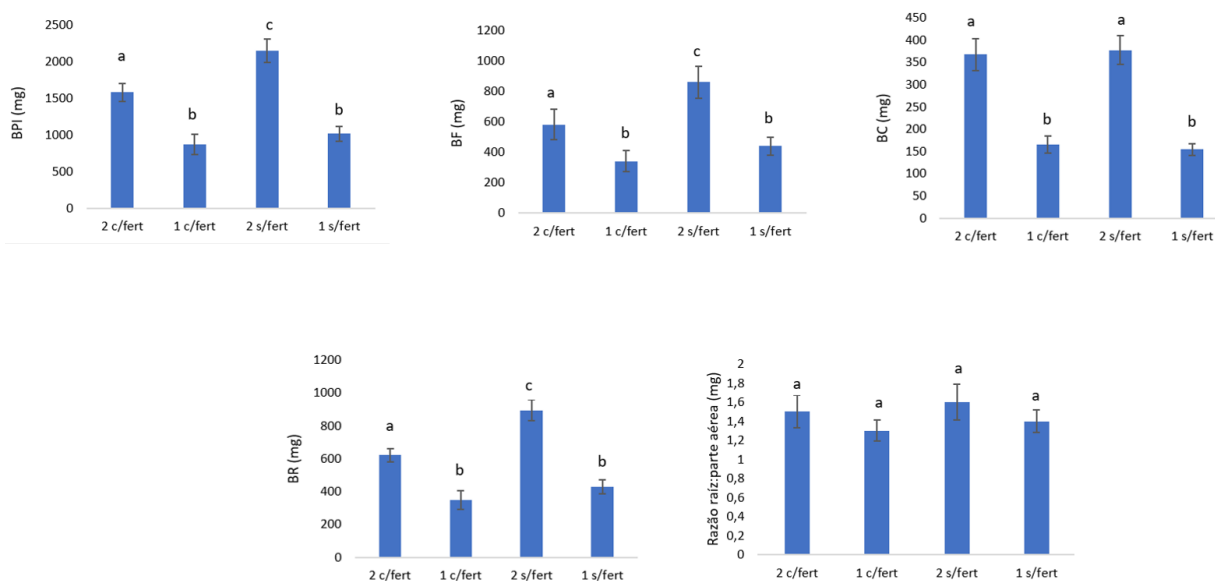
**Figura 4.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie *Magonia pubescens*, para as variáveis de comprimento da parte aérea (CPA), comprimento total (CT), comprimento da raiz principal (CRP), diâmetro do caule (DC), área foliar (AF), área radicular (AR) e número total de folíolos por planta. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.

### *Efeitos na biomassa*

A remoção de um cotilédone também afetou significativamente a acumulação de biomassa em raiz, caule, folhas e a massa total (Tabela 6). Em todos os casos, houve uma redução da massa seca das plântulas que tiveram um dos cotilédones removidos (Figura 5). A fertilização apresentou um efeito inibidor para acumulação de biomassa nas plântulas intactas, enquanto as que tiveram um cotilédone removido não responderam a aplicação de fertilizante. A razão raiz: parte aérea não foi afetada pela remoção do cotilédone ou pela fertilização (Figura 5).

**Tabela 6.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para as variáveis de biomassa da planta inteira (BPI), biomassa foliar (BF), razão raiz: parte aérea (R:PA), biomassa do caule (BC) e biomassa radicular (BR) em função do cotilédone (Cot), sobre fertilizante (fert). CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  $P \leq 0,05$ .

Variáveis	Cot	Fert	Cot x Fert	CV%
<b>BPI (mg)</b>	< 0,0001	0,012	0,232 <sup>NS</sup>	21,90
<b>BF (mg)</b>	0,0003	0,024	0,540 <sup>NS</sup>	24,70
<b>BC (mg)</b>	< 0,0001	0,983 <sup>NS</sup>	0,673 <sup>NS</sup>	6,20
<b>BR (mg)</b>	< 0,0001	0,002	0,113 <sup>NS</sup>	25,30
<b>R:PA (mg)</b>	0,8946 <sup>NS</sup>	0,4527 <sup>NS</sup>	0,859 <sup>NS</sup>	32,77



**Figura 5.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie *Magonia pubescens*, para as variáveis de biomassa da planta (BP), biomassa foliar (BF), biomassa do caule (BC), biomassa radicular (BR) e razão da raiz:parte aérea (R:PA). Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.

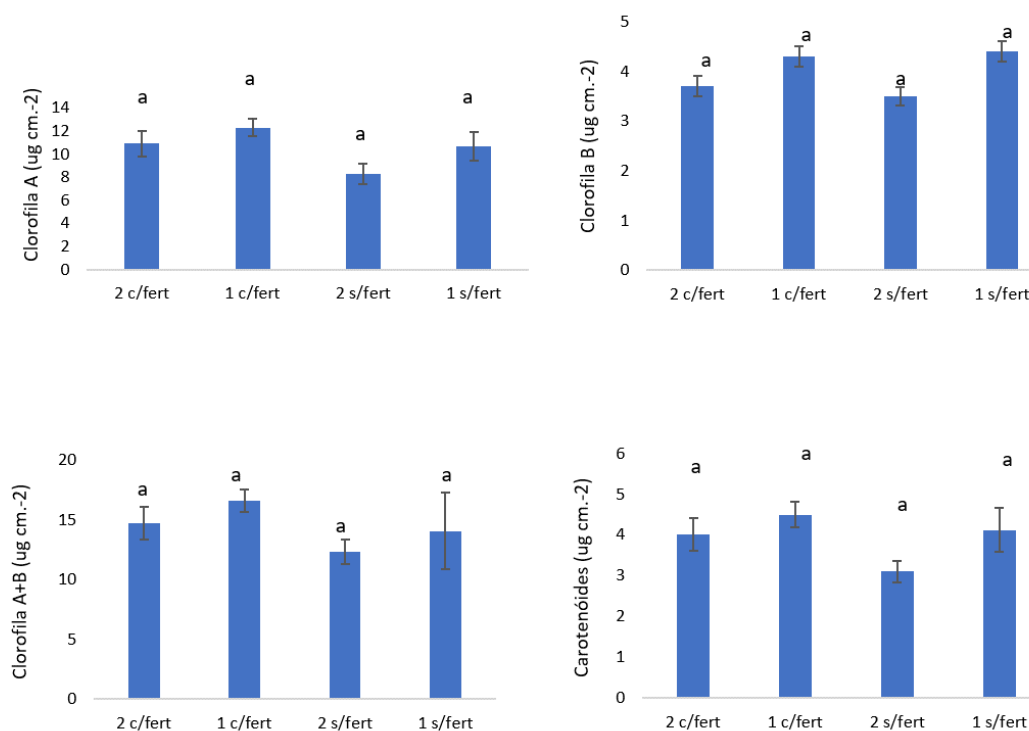
### *Efeitos nos Pigmentos foliare*

A remoção de um cotilédone e fertilização afetaram significativamente a concentração de clorofila A e carotenóides (Tabela 7). Além disso, a fertilização teve efeito na clorofila A+B. No entanto, estas diferenças não foram detectadas nas comparações pareadas efetuadas pelo teste de Tukey (Figura 6).

**Tabela 7.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para as variáveis de clorofila A, B, A+B e carotenóides. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  $P \leq 0,05$

<i>Variáveis</i>	<i>Cot</i>	<i>Fert</i>	<i>Cot x Fert</i>	<i>CV%</i>
<i>Clorofila A</i> ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	0,044	0,035	0,618 <sup>NS</sup>	3,50
<i>Clorofila B</i> ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	0,106 <sup>NS</sup>	0,685 <sup>NS</sup>	0,522 <sup>NS</sup>	16,40

<b>Clorofila A+B</b> ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	0,288 <sup>NS</sup>	0,021	0,920 <sup>NS</sup>	22,50
<b>Carotenóides</b> ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	0,036	0,046	0,571 <sup>NS</sup>	1,00



**Figura 6.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie *Magonia pubescens*, para as variáveis de clorofila A, B, carotenoides e A+B. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.

### Efeitos nas reservas de carbono

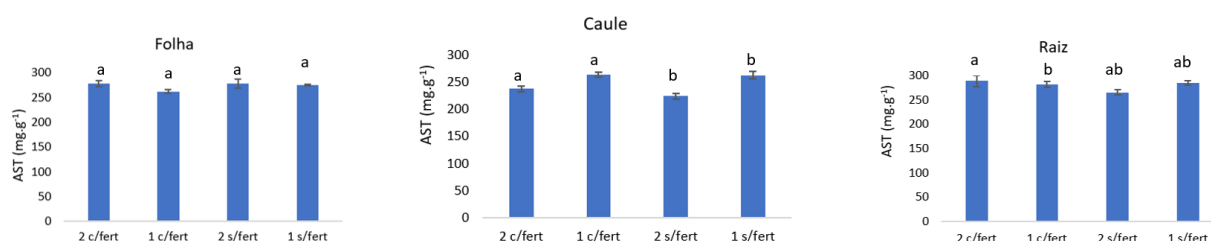
A remoção de um cotilédone não afetou significativamente a concentração de açúcares solúveis totais (AST) nos órgãos da plântula (Tabela 8). Somente o caule foi afetado positivamente pela aplicação de fertilizante ao substrato. O termo de interação não foi significativo para nenhuma das variáveis.



**Tabela 8.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, nas concentrações de açúcares solúveis nas folhas, caule e raiz. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  $P \leq 0,05$ .

Variáveis	Cot	Fert	Cot x Fert	CV %
Folha	0,440 <sup>NS</sup>	0,187 <sup>NS</sup>	0,384 <sup>NS</sup>	2,17
Caule	0,195 <sup>NS</sup>	< 0,0001	0,220 <sup>NS</sup>	13,60
Raiz	0,188 <sup>NS</sup>	0,358 <sup>NS</sup>	0,093 <sup>NS</sup>	1,46

Na folha não houve diferença entre os tratamentos nas comparações pareadas efetuadas pelo teste de Tukey (Figura 7). No caule, houve uma diferença entre os tratamento fertilizados e não fertilizados, não havendo diferença devido à remoção do cotilédone (Figura 7). Na raiz, houve diminuição de AST, no tratamento em que ocorreu a remoção com fertilização comparado ao mesmo tratamento mantendo os cotilédones.

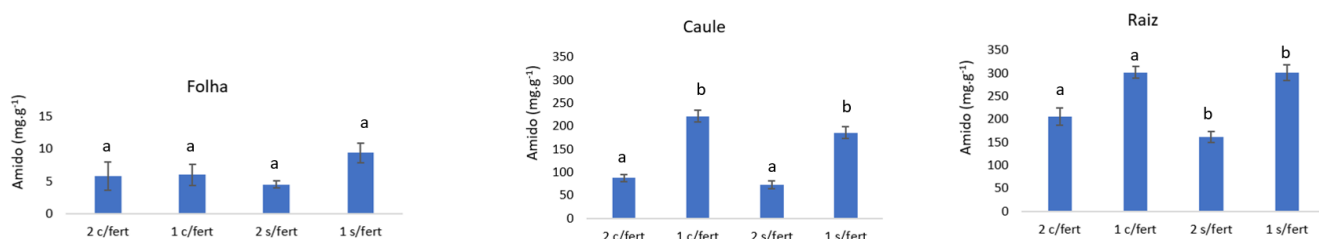


**Figura 7.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de açúcares solúveis totais (AST) na folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.

Para a concentração de amido, o termo de interação não foi significativo para nenhum dos órgãos (Tabela 9). Nas comparações pareadas, na variável folha os tratamentos não diferiram entre si (Figura 8). No caule e raiz, houve diferença entre os tratamentos fertilizados e não fertilizados, não havendo diferença na remoção dos cotilédones.

**Tabela 9.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na espécie de *Magonia pubescens*, para reservas de amido na folha, caule e raiz. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  $P \leq 0,05$ .

Variáveis	Cotilédone	Fertilizante	Cot x Fert	CV%
Folha	0,0002	0,749 <sup>NS</sup>	0,044	124,04
Caule	0,0078 <sup>NS</sup>	< 0,0001	0,9458 <sup>NS</sup>	25,15
Raiz	0,1754 <sup>NS</sup>	< 0,0001	0,210 <sup>NS</sup>	33,56

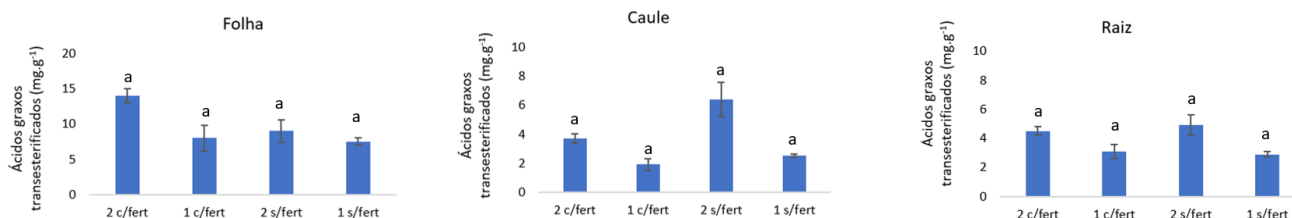


**Figura 8.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de amido na folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.

A fertilização teve efeito nas concentrações totais de ácidos graxos transesterificados da folha, caule e raiz. O fator de interação de cotilédone e fertilizante não teve influência sobre nenhuma das variáveis (Tabela 10). No entanto, as diferenças entre as médias não foram significativas, nas comparações pareadas pelo teste de Tukey (Figura 9).

**Tabela 10.** Resultados da análise de variância de dois fatores com interação sobre os efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de ácidos graxos transesterificados em folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. CV: coeficiente de variação. NS: não significativo.  $P \leq 0,05$ .

Variáveis	Cotilédone	Fertilizante	Cot x Fert	CV%
<b>Folha</b>	0,006	0,013	0,134 <sup>NS</sup>	42,50
<b>Caule</b>	0,085 <sup>NS</sup>	<0,0001	0,622 <sup>NS</sup>	40,10
<b>Raiz</b>	0,621 <sup>NS</sup>	0,001	0,505 <sup>NS</sup>	26,90



**Figura 9.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização em concentração de ácidos graxos transesterificados em folha, caule e raiz de plântulas de *Magonia pubescens*. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Dados expressos em média e erro padrão.

### Efeitos na concentração de macro e micronutrientes

A remoção de um dos cotilédones acarretou em uma redução na concentração da maioria dos nutrientes nos diferentes órgãos da plântula que não foi compensado pela fertilização (Tabela 11). As únicas exceções foram o Ca e Fe, que tiveram um aumento de concentração nas plantas que sofreram a remoção de um cotilédone. De forma geral, a aplicação da solução nutritiva não afetou a concentração de nutrientes das plântulas,

ou seja, tratamentos fertilizados e não fertilizados mantiveram concentrações semelhantes para a maioria dos nutrientes.

**Tabela 11.** Efeitos da remoção de um cotilédone e fertilização na concentração de macro e micronutrientes no caule, raiz e folha de *Magonia pubescens*. Tratamentos: 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert); 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). 2 cotilédones/com fertilizante (2 c/fert) e 2 cotilédones/sem fertilizante (2 s/fert). Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B).

Tratamento	Órgãos	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Fe	Mn	Cu	B
		dag/kg (%)							mg/kg			
2 c/fert	Caule	3,05	0,37	1,32	0,56	0,18	0,26	75,60	71,20	128,40	9,70	63,10
2 c/fert	Raiz	4,03	0,41	0,78	0,23	0,13	0,30	108,10	356,50	378,60	15,00	34,35
2 c/fert	Folha	2,66	0,18	2,02	0,81	0,35	0,14	29,60	143,90	215,00	7,25	181,8
1 c/fert	Caule	0,92	0,16	0,52	0,88	0,22	0,03	13,10	84,10	56,60	5,4	23,30
1 c/fert	Raiz	1,60	0,25	0,49	0,45	0,14	0,08	17,25	635,63	192,60	7,525	16,60
1 c/fert	Folha	1,54	0,17	1,18	1,44	0,42	0,07	27,35	200,75	128,25	8,05	24,10
2 s/fert	Caule	3,25	0,42	1,36	0,40	0,18	0,24	70,30	108,40	227,20	10,90	52,40
2 s/fert	Raiz	4,14	0,42	1,00	0,21	0,13	0,37	111,25	299,55	359,60	20,25	36,35
2 s/fert	Folha	2,73	0,21	1,50	0,88	0,40	0,20	25,85	125,80	324,40	6,85	223,8
1 s/fert	Caule	1,26	0,22	0,76	0,89	0,20	0,07	13,60	252,50	59,80	6,60	18,70
1 s/fert	Raiz	1,54	0,24	0,60	0,41	0,14	0,11	12,00	1181,10	102,55	6,40	22,50
1 s/fert	Folha	1,47	0,16	1,20	0,69	0,405	0,09	27,10	199,20	141,30	6,50	33,80

### Efeitos na distribuição de macro e micronutrientes e de carbono nas sementes e plântulas

Na semente, os nutrientes minerais acumulam preferencialmente no complexo formado pelos cotilédones + embrião, ainda que haja a presença de nutrientes minerais nos tegumentos (tegumento externo, intermediário e externo) que são parte da semente (Figura 10). De fato, uma parcela considerável de S e Mg não está contida nestas duas estruturas, e, portanto, deve estar presente em quantidades proporcionalmente altas nos tegumentos que circundam o embrião + cotilédone. Contudo, para a maioria dos nutrientes (N, P, K, Mg, S, B, Cu e Zn), o estoque presente no embrião + cotilédones parece ser suficiente para suprir as necessidades da planta nesta fase inicial do desenvolvimento (Figura 10). As únicas exceções foram Ca, Fe e Mn, cuja quantidade presente na semente foi menor do que nas plântulas. Há um rápido consumo dos elementos minerais após a germinação, com uma redução substancial do conteúdo de todos os elementos nos cotilédones 11 dias após a germinação, indicando retranslocação para a plântula em formação.

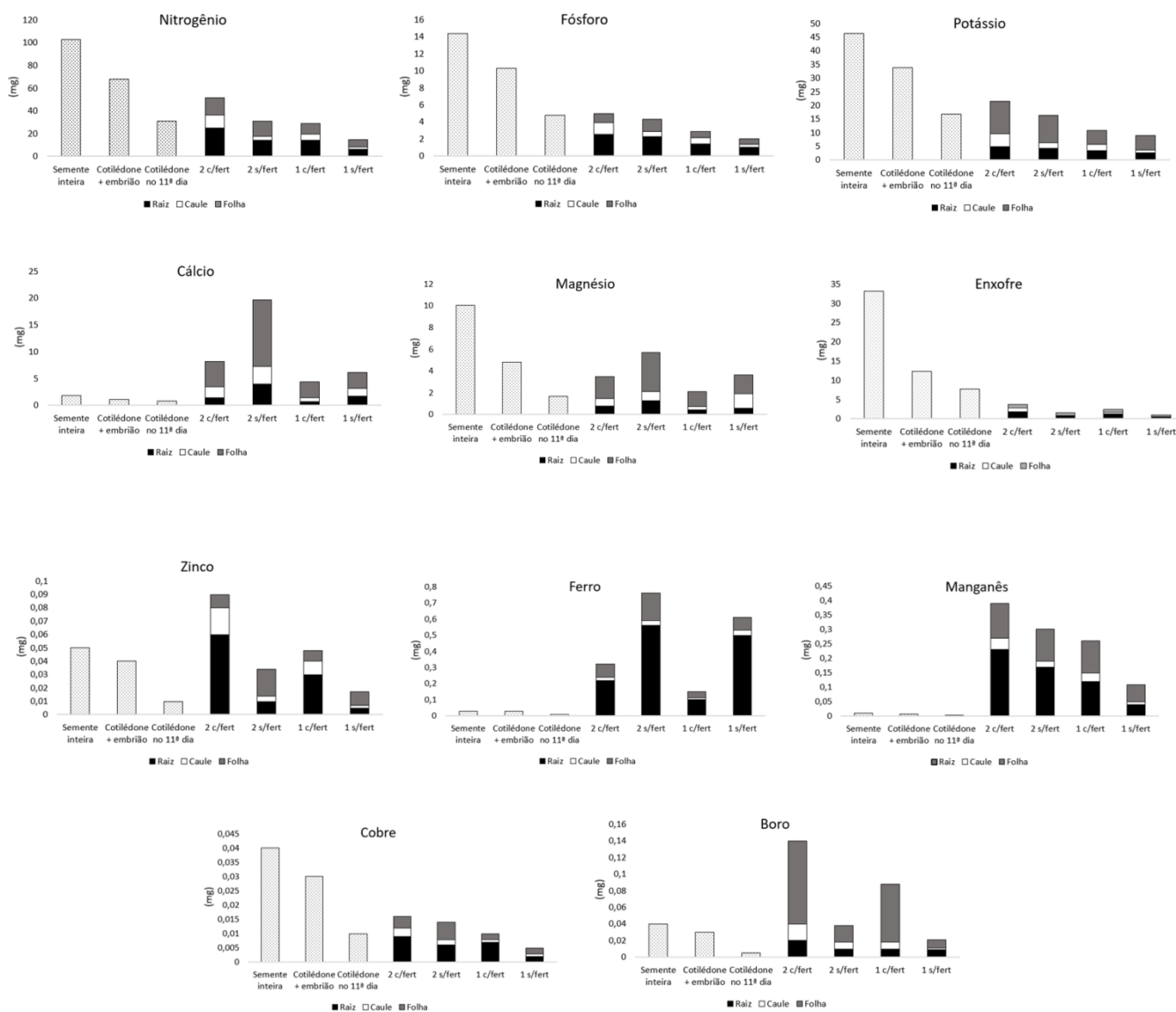
A fertilização levou a um aumento no conteúdo de N, P, K, S e Cu da plântula, enquanto a remoção de um cotilédone teve efeito contrário, levando a uma diminuição

na acumulação destes nutrientes. Desta maneira, os maiores valores destes elementos foram em: plântulas intactas fertilizadas, seguido das intactas não fertilizadas e as plântulas fertilizadas e não fertilizadas que tiveram um cotilédone removido (Figura 10). Para o Mg, a fertilização e a remoção dos cotilédones levou a uma diminuição da quantidade acumulada na plântula. A aplicação do fertilizante interferiu na absorção do Ca e Fe, cujo conteúdo foi menor nos tratamentos fertilizados em comparação com os não fertilizados, enquanto que para o Mn, a fertilização levou a um aumento na acumulação deste elemento. Para esses três nutrientes, a remoção do cotilédone levou a uma forte redução do seu conteúdo nas plantas. A fertilização levou a uma forte acumulação de B e Zn, inclusive compensando os efeitos negativos causados pela remoção do cotilédone, com as plantas fertilizadas que tiveram um dos cotilédones removidos apresentando conteúdos de B e Zn superiores ao que foi medido em plântulas intactas não fertilizadas.

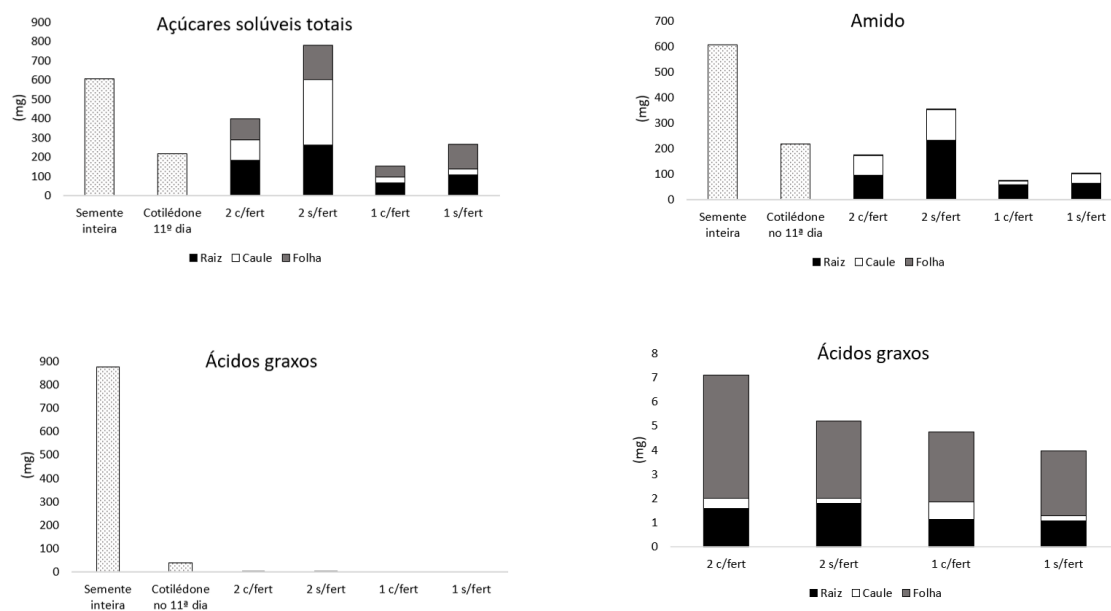
Quanto à distribuição dos nutrientes minerais entre os órgãos da planta, de K, Ca, Mg e B encontra-se em maior quantidade nos tecidos foliares, enquanto N, P, Fe, Mn, Cu e Zn acumularam preferencialmente nos tecidos radiculares.

Uma boa parte das reservas de carbono da semente já tinham sido consumidas ou retranslocadas dos cotilédones 11 dias após a germinação (Figura 11). Os ácidos graxos são uma importante reserva de carbono nas sementes, mas diminuem consideravelmente 11 dias após a germinação e são pouco relevantes como reservas de carbono nas plântulas. Uma parte substancial do carbono na forma de açúcares solúveis e amido também já tinham sido consumido ou retranslocado dos cotilédones 11 dias após a germinação. Para as plântulas coletadas ao final do experimento, houve uma maior acumulação de açúcares solúveis e amido em tratamentos não fertilizados, enquanto a remoção cotiledonar levou a uma diminuição no conteúdo destes compostos na plântula.

Quanto à distribuição das reservas de carbono na plântula ao final do experimento (Figura 11), o amido é encontrado em maiores proporções na raiz. Por outro lado, os açúcares solúveis acumularam majoritariamente no caule e raiz, enquanto os ácidos graxos se distribuíram predominantemente nas folhas e em menor escala, nos tecidos radiculares.



**Figura 10.** Reservas de nutrientes minerais presentes em *Magonia pubescens* (semente inteira, cotilédone + embrião, cotilédone no 11ª dia após a germinação e plântula inteira ao final do experimento) em seu respectivos tratamentos: 2 cotilédone/com fertilizante (2 c/fert); 2 cotilédone/sem fertilizante (2 s/fert). 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert) e 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert). Macronutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S); Micronutrientes: zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e boro (B).



**Figura 11.** Reservas de carbono presentes em *Magonia pubescens* (semente inteira, cotilédone no 11ª dia e plântula inteira ao final do experimento) em seu respectivos tratamentos: 2 cotilédone/com fertilizante (2 c/fert); 2 cotilédone/sem fertilizante (2 s/fert). 1 cotilédone/com fertilizante (1 c/fert) e 1 cotilédone/sem fertilizante (1 s/fert).

## DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que os cotilédones são uma importante fonte de nutrientes minerais e carbono para o desenvolvimento inicial das plântulas de *M. pubescens*. As plântulas que sofreram remoção de um dos cotilédones 11 dias após a germinação, tiveram uma redução acentuada no crescimento e acumulação de biomassa em um período de quatro meses, quando comparadas aos tratamentos que mantiveram os dois cotilédones. A adição de nutrientes minerais ao substrato não reverteu o impacto negativo da remoção de um dos cotilédones no desenvolvimento inicial desta espécie.

Estudos sugerem que a remoção dos cotilédones pós-germinação pode influenciar negativamente a sobrevivência das plântulas (Oliveira e Moraes 1999; Iortsuun 2007; Hu et al. 2017; Yi 2019). Em *M. pubescens*, os efeitos da remoção de um dos cotilédones 11 dias após a germinação mostraram claramente que a remoção da estrutura tem efeitos negativos significativos no desenvolvimento, mas que não foram de intensidade suficiente para levar à morte das plântulas. Mesmo após terem sofrido a remoção de um dos cotilédones, as plântulas de *M. pubescens* sobreviveram até o final do experimento. Estudos como o de Sonesson (1994); Andersson e Frost (1996), mostraram que a remoção parcial do cotilédone não afetou o crescimento e a sobrevivência das plântulas. O trabalho de Santos et al. (2018) demonstra que a remoção dos cotilédones interfere no desenvolvimento inicial, sem afetar a sobrevivência de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth ex DC. (Fabaceae), que após a germinação, no tratamento em que houve a remoção de 1 cotilédone, notou-se que o comprimento das partes aérea e subterrânea, número de folhas e massa seca das partes aérea e subterrânea, foram afetados de forma significativa e negativa, apresentando uma redução do desenvolvimento da plântula.

O efeito da remoção pode variar em função da época de remoção, como foi o caso de *Vicia faba*, que aos 14 dias a remoção do cotilédone, além de afetar a taxa de crescimento das plântulas, causou também diminuição de suas raízes; ao passo que a remoção dos cotilédones realizada aos 18 dias não afetou o desenvolvimento das plantas (Silsbury e Silsbury 1992). O mesmo ocorreu com os cotilédones de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*); à medida que se antecipou os dias de remoção dos cotilédones, os danos foram maiores; assim, ficou evidenciada a importância das reservas cotiledonares nos primeiros dias após a germinação, durante a fase de formação da plântula (De Lapaz et al. 2017). Em nossos resultados com *M. pubescens*, apesar de uma parte substancial



das reservas de carbono e nutrientes minerais já terem sido translocadas aos 11 dias após a germinação, a remoção de um cotilédone levou a uma diminuição no desenvolvimento e acumulação de biomassa.

Em ambiente pobre em nutrientes ou exposto a períodos de seca, o rápido crescimento das raízes é necessário para garantir uma eficiente absorção de água (Kitajima 2003) e acesso a um maior volume de solo que garanta um aporte de nutrientes que seja suficiente para manter o crescimento e desenvolvimento da planta após esgotar as reservas cotiledonares. O presente estudo mostrou que houve um forte efeito da remoção do cotilédone na biomassa radicular, comprimento da raiz principal e área radicular, que não foi revertido pela adição de nutrientes ao substrato. Em um ecossistema exposto a seca sazonal como o Cerrado, a remoção parcial dos cotilédones na fase inicial de desenvolvimento, seja por herbivoria ou dano, provavelmente interferiria na capacidade de absorção de nutrientes e água durante a estação de crescimento, diminuindo o crescimento e a acumulação de reservas e, portanto, suas chances de sobreviver durante a estação seca subsequente. O que corrobora com o trabalho de Santos et. al (2018), o qual foi realizado com *Lonchocarpus sericeus*, que apesar dos tratamentos de herbivoria cotiledonar simulada não ter influenciado o comprimento da parte subterrânea, houve redução significativa na massa seca da parte subterrânea após a remoção dos cotilédones. Diferente do estudo de Bonfil (1998), que trabalhou com espécies arbóreas *Quercus rugosa* e *Quercus laurina* (Fabaceae), em que a biomassa da raiz em plântulas não diferiu com presença ou ausência de cotilédones.

Além dos efeitos negativos no crescimento radicular, a remoção de um cotilédone afetou o desenvolvimento da parte aérea, levando a uma diminuição no número de folhas e área foliar total. Assim sendo, as reservas presentes nos cotilédones de *M. pubescens* desempenham um papel crucial no desenvolvimento inicial desta espécie. Apesar de parte das reservas de carbono e nutrientes já terem sido retranslocadas para a plântula em desenvolvimento, a remoção de um dos cotilédones 11 dias após a germinação afetou de forma negativa o crescimento e desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular, e provavelmente, afetando a captação do CO<sub>2</sub>, água e nutrientes. O impacto da perda parcial ou total dos cotilédones no crescimento e na sobrevivência das plântulas deve ser muito maior em condições naturais do que em viveiros por causa de estresses bióticos e abióticos adicionais, já que em ambientes naturais as plântulas se deparam com competição, herbivoria e grandes variações nas condições climáticas e edáficas.

Quanto ao efeito da nutrição mineral no desenvolvimento da área foliar, no presente trabalho a fertilização não levou a um aumento na área foliar. Diferente do que é encontrado na literatura, em que a menor área foliar foi, geralmente, encontrada nas plantas crescidas em solo sem adubação e os maiores valores de área foliar foram encontrados em plantas cultivadas em solo adubado (Perez e Fanti 1992; Marcelino et al. 2001; Rosado et al. 2016). Watson (1965) ressalta a dependência da área foliar da nutrição mineral, dependência essa encontrada nas espécies de *Adenantha pavonina* L, típica do continente asiático (Fanti 1996) e *Platycamus regnelli*, encontrada em florestas ombrófilas com solos de média a alta fertilidade (Scalon 1992).

A expectativa era que devido a grande quantidade de reservas de carbono na semente de *M. pubescens*, as reservas minerais seriam mais limitantes do que as reservas de carbono para a plântula recém germinada. As reservas minerais presentes nas sementes são essenciais para suprir suas necessidades nutricionais durante o estágio inicial de estabelecimento no ambiente, especialmente em ambientes onde os recursos de nutrientes do solo são limitados, como nos cerrados do Brasil Central (Haridasan 2005). Em nossos resultados, verificou-se que a fertilização não reverteu os efeitos da remoção de um dos cotilédones e nem levou a um aumento do crescimento.

Como órgão de armazenamento, os cotilédones têm sido considerados como uma importante fonte de nutrientes minerais para apoiar o crescimento de plântulas especialmente em solos pobres em nutrientes (Milberg e Lamont 1997). As reservas de N, P, K, Mg, S e Cu presentes nas sementes de *M. pubescens* foram suficientes para suprir as necessidades da plântula nos primeiros meses após a germinação. Quantidades substanciais de N, P, K, Mg, S e Cu já haviam sido translocados dos cotilédones para a planta em crescimento 11 dias após a germinação. Por outro lado, Ca, Fe e Mn foram encontrados em pequenas quantidades nas sementes e cotilédones, ou seja, não houve estoque suficiente desses nutrientes para planta em formação. Estudos como o de Stock et al. (1990), com cinco espécies de Proteaceae, mostram que não há mobilização de Ca dos cotilédones, e sim do substrato. O cálcio também não foi translocado dos cotilédones em nenhuma das espécies nos experimentos de Marshall e Kozlowsk (1974), mas o Ca foi constantemente acumulado nos cotilédones, provavelmente nas paredes celulares. Provavelmente pela imobilidade de Ca em tecidos vegetais, principalmente na parte aérea (Epstein 1972; Taiz e Zeiger 2017). Quanto à translocação de Mn e Fe, apesar de estarem em menor concentração nos cotilédones, Tiffin et al. (1973) mostraram que em plântulas de *Glycine max*, a translocação de Fe e Mn indica

que foram armazenados em cotilédones e foram translocados para as plântulas, durante o crescimento inicial. No transporte de Fe dos cotilédones de *Robinia pseudoacacia* e *Acer rubrum*, Marshall e Kozlowski (1975) demonstraram que o Fe armazenado em cotilédones é mobilizado para as plântulas em crescimento rapidamente, quando estão em um ambiente com deficiência nutricional.

Raramente, os solos do Cerrado apresentam altos teores de cálcio e magnésio, nesses casos as espécies nativas apresentam teores maiores desses nutrientes (Haridasan 1992). *Magonia pubescens* é uma espécie típica do cerradão mesotrófico, com maior fertilidade do solo e menor concentração de alumínio (Neri et al. 2012). Este tipo de solo tem pH levemente ácido, com maiores concentrações de Ca, K e Mg e baixo nível de saturação de Al em comparação com solos distróficos do Cerrado. Espécies exclusivas do solo mesotrófico apresentam maiores concentrações de Ca e Mn disponíveis, pois possuem uma otimização na absorção de Ca, por sua alta exigência deste elemento, essas espécies típicas não são encontradas em solos distróficos (Araújo e Haridasan 1988).

Ao comparar os valores nutricionais dos solos mesotróficos do estudo de Araújo e Haridasan (1988) com o substrato (areia) utilizado no experimento, percebe-se que o solo mesotrófico tem maiores valores para a maioria dos nutrientes, exceto do Fe, que aparece em maior quantidade na areia utilizada no experimento, cuja concentração de Fe é semelhante aos valores encontrados em solos distróficos do cerrado. O solo mesotrófico tem uma maior fertilidade ao comparar também com outros tipos de solos do cerrado, como o latossolo vermelho escuro, sendo um solo distrófico (Fageria 2000). Apesar dos baixos níveis de Ca do substrato utilizado (areia), ainda que um pouco mais alto do que os valores encontrados em solos distróficos do cerrado (Araújo e Haridasan 1988), as plântulas de *M. pubescens* foram capazes de extrair Ca em quantidade suficiente para suprir as necessidades da planta em desenvolvimento. Os níveis de Fe e Mn do substrato também foram suficientes para suprir as necessidades da planta de *M. pubescens* nesta fase inicial de desenvolvimento.

Cerca de 50% da massa da semente é composta de reservas de carbono, sendo os ácidos graxos que tiveram uma maior concentração, seguido de AST e amido. Estes resultados são coerentes com o que foi relatado em outros estudos, que sementes anemocóricas apresentam altas concentrações de reservas de carbono, principalmente de lipídeo, evidenciando o papel crucial do empacotamento de carbono (de Melo et al. 2020).

Os ácidos graxos na semente de *M. pubescens* são em sua maioria de cadeias insaturadas, possuindo o ácido oleico em maior quantidade em sua composição. A composição dos ácidos graxos se assemelha com a encontrada na literatura, que é composto fundamentalmente por ácidos graxos de cadeias insaturadas, aproximadamente 67,5% (de Oliveira 2018). Os ácidos graxos são uma importante fonte de reserva de carbono na semente, e foram consumidos rapidamente durante a germinação e nos estágios iniciais de formação da plântula, estando presentes em baixas concentrações nos cotilédones 11 dias após a germinação, enquanto os açúcares solúveis e amido tiveram um consumo acentuado na fase inicial. Quatro meses após a germinação, já observa-se a acumulação de reservas de carbono na plântula na forma de açúcares solúveis e amido, no caule e nas raízes.

Também esperávamos mudanças na relação raiz: parte aérea, com maior investimento em massa radicular em plântulas submetidas à remoção parcial de cotilédones e crescendo em substrato pobre em nutrientes. Não houve diferença significativa na relação raiz: parte aérea entre os tratamentos, no entanto, o maior crescimento radicular foi em plantas que mantiveram os dois cotilédones e não foram fertilizadas, corroborando com a ideia de que a capacidade de produzir sementes ricas em nutrientes é uma estratégia bem-sucedida para colonizar solos pobres em nutrientes (Stock 1990). Assim como Amarante et al. (1995), a remoção dos cotilédones nas fases iniciais de desenvolvimento de *M. pubescens* afeta diretamente o sistema radicular e, conseqüentemente, todos os outros processos de desenvolvimento da planta.

Em síntese, nós fornecemos evidências de que as plântulas desta espécie de sementes grandes, depende mais do suporte nutricional dos cotilédones do que do solo durante o estabelecimento inicial. No entanto, a maior parte do Ca, Fe e Mn devem ter sido absorvido do substrato pelas raízes, o que mostra que a espécie tem uma ótima capacidade de retirada desses nutrientes de um substrato com baixa disponibilidade destes e de outros nutrientes. Os ácidos graxos são uma importante fonte de reserva de carbono na semente mas não para a plântula, sendo consumidos rapidamente nos primeiros dias após a germinação. Açúcares solúveis são uma reserva de carbono importante nas sementes e na plântula, enquanto o amido é mais importante como reserva na plântula, acumulando preferencialmente no caule e raízes. A remoção de um dos cotilédones aos 11 dias após a germinação afetou o desenvolvimento da plântula, provocando uma diminuição no crescimento e menor acumulação de biomassa. A

fertilização também teve um efeito negativo no crescimento e acumulação de biomassa, além de não aliviar os efeitos negativos da remoção de um dos cotilédones. Apesar dos impactos negativos da fertilização e remoção de um dos cotilédones no desenvolvimento da plântula, a razão raiz: parte aérea não foi afetada.

## REFERÊNCIAS

Amarante CVT, Bisognin DA, Canci PC (1995) Contribuição das folhas cotiledonares para o crescimento inicial de plantas de abóbora híbrida cv. Tetsukabuto. *Ciência Rural* 25(1):17-21. <https://doi.org/10.1590/S0103-84781995000100004>

Andersson C, Frost I (1996) Growth of *Quercus robur* seedlings after experimental grazing and cotyledons removal. *Acta Botanica Neerland* 45: 85-94.

Santos ASA, Andrade ML, Jesus Filho D, Meiado MV, Lima AT (2018) Efeito da herbivoria cotiledonar simulada em plântulas de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth ex DC. (Fabaceae). *Informativo Abrates* 28: 7-10.

Araújo GM, Haridasan MA (1988) A comparison of the nutritional status of two forest communities on mesotrophic and dystrophic soils in central Brazil. *Soil Science and Plant Analysis* 19: 1075-7089. <https://doi.org/10.1080/00103628809367996>

Bonfil C (1998) The Effects of Seed Size, Cotyledon Reserves, and Herbivory on Seedling Survival and Growth in *Quercus rugosa* and *Q. laurina* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 85:79–87. <https://doi.org/10.2307/2446557>

Buckeridge et al. (2004) Acúmulo de reservas. In: Ferreira AG, Borghetti F. (Orgs.). *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 31-50.

Caldeira SF, Tokashiki SC (2000) Efeito de beneficiamento e armazenamento na germinação de sementes de *Magonia pubescens*. *Revista Agricultura Tropical* 113: 91–105.

Daws MI, Ballard C, Mullins CE, Garwood NC, Murray B, Pearson TRH, Burslem DFRP (2007) Allometric relationships between seed mass and seedling characteristics reveal trade-offs for neotropical gap-dependent species. *Oecologia* 154: 445 – 454. <https://doi.org/10.1007/s00442-007-0848-2>

de Lapaz AM, de Melo LFS, Yoshida CHP, de Figueiredo PAM, da Silva RV, Lisboa, LAM (2017) Perda dos cotilédones em diferentes épocas no crescimento inicial do feijoeiro. *Iheringia* 72(2): 287-294.

de Melo RB, Ferreira CS, Lopes A, Vinson CC, Franco AC (2020) Dispersal mode constrains allocation of carbon and mineral nutrients in seeds of forest and savanna trees. *Plant Biol J* 22: 203-211. <https://doi.org/10.1111/plb.13075>

De Oliveira LP (2018) Estudo de oleaginosas alternativas para a produção de biodiesel e bio-óleo. Dissertação, Universidade de Brasília (UnB).

Dubois M, Gilles A, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350– 355.

El-Amhir SH, Lamont B, He T (2017) Small-seeded *Hakea* species tolerate cotyledon loss better than large-seeded congeners. *Scientific Reports* 7: 41520.

Embrapa (2017) Manual de métodos de análise de solo / Paulo César Teixeira et al., editores técnicos 3. ed. rev. e ampl. – Brasília, DF, 573 p.

Epstein E (1972) Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. New York.

Fageria NK (2000) Resposta de arroz de terras altas à correção de acidez em solo de cerrado. *Pesquisa agropecuária brasileira* 35(11): 2303-2307.

Fanti SC (1996) Comportamento germinativo sob condições de estresse e influência do sombreamento artificial e adubação química na produção de mudas de *Adenantha pavonina* L. Dissertação, Universidade de São Carlos.

García-Cebrián F, Estesó-Martínez F, Gil-Pelegrín E (2003) Influence of cotyledon removal on early seedling growth in *Quercus robur* L. *Annals of Forest Sciences* 60: 69–73. <https://doi.org/10.1051/forest:2002075>

Giertych MJ, Suszka J (2011) Consequences of cutting off distal ends of cotyledons of *Quercus robur* acorns before sowing. *Annals of Forest Science* 68: 433–442. <https://doi.org/10.1007/s13595-011-0038-6>

Giotto AC, Miranda F dos S, Munhoz CBR (2008) Aspectos da germinação e crescimento de mudas de *Magonia pubescens*. *Cerne* 15: 49-57.

Hallett LM, Standish RJ, Hobbs RJ (2011) Seed mass and summer drought survival in a Mediterranean-climate ecosystem. *Plant Ecology* 212(9):1479-1489. <https://doi.org/10.1007/s11258-011-9922-2>

Haridasan M (1992) Impactos de Processos Ecológicos: Estresse Nutricional. In: *Alternativas de Desenvolvimento dos Cerrados: Manejo e Conservação dos Recursos Naturais*. Braúlio Ferreira de Souza Dias (coordenador). Brasília, Fundação PróNatureza, Inst. Brasil. do Meio Amb. e dos Rec Nat. Ren.- IBAMA,27-30.

Haridasan M (2000) Nutrição mineral de plantas nativas do Cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12(1):54- 64.

Haridasan M, Araújo GM (2005) Perfil nutricional de espécies lenhosas de duas florestas semidecíduas em Uberlândia, MG. *Revista Brasileira de Botânica* 28:295-303. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042005000200010>.

Hu XW, Zhang R, Wu YP, Baskin CC (2017) Seedling tolerance to cotyledon removal varies with seed size, A case of five legume species. *Ecology and Evolution* 7(15): 5948–5955. <https://doi.org/10.1002/ece3.3169>.

Iortsuun DN, Chia AM, Adeola AF (2008) The effect of seed mass and cotyledon removal on the germination and growth of fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis* Hook.F.). Science World Journal 3 (1): 25 – 31. DOI: [10.4314/swj.v3i1.52062](https://doi.org/10.4314/swj.v3i1.52062)

Kitajima K (2003) Impact of Cotyledon and Leaf Removal on Seedling Survival in Three Tree Species with Contrasting Cotyledon Functions. Biotropica 35: 429-434. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2003.tb00597.x>

Lamont BB, Groom PK (2002) Green cotyledons of two *Hakea* species control seedling mass and morphology by supplying mineral nutrients rather than organic compounds. New Phytology 153:101-110.

Lamont BB, Groom PK (2013) Seeds as a source of carbon, nitrogen, and phosphorus for seedling establishment in temperate regions: a synthesis. American Journal of Plant Sciences 4: 30– 40. doi: [10.4236/ajps.2013.45A005](https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45A005).

Lapaz A de M et al. (2020) Behaviour of soybean seedlings in situations involving cotyledon removal. Bulgarian Journal of Agricultural Science 26: (2) 395-403.

Laurens LML et al (2012) Accurate and reliable quantification of total microalgal fuel potential as fatty acid methyl esters by in situ transesterification. Analytical and bioanalytical chemistry 403(1): 167–78. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-5814-0>

Leishman MR, Wright IJ, Moles AT, Westoby M (2000) The evolutionary ecology of seed size. In: Fenner M. (Ed.), Seeds: the ecology of regeneration in plant communities, 2nd edition. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp 31–57.

Lorenzi H (1992) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum.



Macedo MC de et al (2009) Biometria de frutos e sementes e germinação de *Magonia pubescens* ST.Hil (sapindaceae). Revista Brasileira de Sementes. 31(2): 202-211. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000200024>.

Malavasi UC, Malavasi MM (2001) Influência do tamanho e do peso da semente na germinação e no estabelecimento de espécies de diferentes estágios da sucessão vegetal. Floresta e Ambiente 8 (1): 211-215.

Marcelino KRA, Leite GG, Vilela L, Diogo JMS, Guerra AF ( 2001) Efeito da adubação nitrogenada e da irrigação sobre a produtividade e índice de área foliar de duas gramíneas cultivadas no cerrado. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: SBZ, p. 230-231.

Marshall PE, Kozlowski TT (1974) The role of cotyledons in growth and development of woody angiosperms. Journal Botany 52: 239–245.

Metz J, Liancourt P, Kigel J, Harel D, Sternberg M, Tielbörger K (2010) Plant survival in relation to seed size along environmental gradients: a long-term study from semi-arid and Mediterranean annual plant communities. Journal of Ecology 98: 697-704. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01652.x>

Milberg P, Lamont BB (1997) Seed/cotyledon size and nutrient content play a major role in early performance of species on nutrient poor soils. New Phytologist 137: 665–672.

Moles A, Westoby M (2006) Seed size and plant strategy across the whole life cycle. Oikos 113, 91–105. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14194.x>

Neri A, Schaefer C, Silva A, Souza A, Ferreira-Junior W, Meira-Neto J (2012) Soils in the floristic composition and community structure of a Brazilian Cerrado vegetation area, Edinburgh Journal of Botany 69: (1) 1-27. <https://doi.org/10.1017/S0960428611000382>

Oliveira DM, Mercadante-Simões MO, Ribeiro LM (2017) Ontogenesis of the winged oleaginous seeds of *Magonia pubescens* (Sapindaceae). *Flora* 229: 159-170. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.02.027>

Oliveira OF, Morais PLD (1999) Influência da remoção de cotilédones no desenvolvimento de ramificações nas axilas cotiledonares de plântulas de leguminosas. *Acta Botanica Brasilica* 13 (3): 243-249. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061999000300003>

Perez JGA, Fanti SC (1992) Crescimento e resistência à seca de leucena em solo de Cerrado. *Pesquisa agropecuária brasileira* 34 (6): 933-944.

Ramage CM, Williams RR (2002) Mineral nutrition and plant morphogenesis. In vitro cell development?. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant* 38: (2) 116-124.

Rosado TL, Gontijo I, Almeida MS, Chambela NA, Simon CP (2016) Production and tillering of grass with different sources and levels of applied nitrogen. *Revista Engenharia Na Agricultura* 24:(2) 139–146. <https://doi.org/10.13083/reveng.v24i2.664>

Saatkamp A, Cochrane A, Commander L, Guja L, Jimenez-Alfaro B, Larson J, Nicotra A, Poschlod P, Silveira FAO, Cross A, Dalziell EL, Dickie J, Erickson TE, Fidelis A, Fuchs A, Golos PJ, Hope M, Lewandrowski W, Merritt DJ, Miller BP, Miller R, Offord CA, Ooi MKJ, Satyanti A, Sommerville KD, Tangney R, Tomlinson S, Turner S, Walck JL (2019) A research agenda for seed-trait functional ecology. *New Phytologist* 221: 1764-1775. <https://doi.org/10.1111/nph.15502>

Santos ASA, Andrade ML, Filho DJ, Meiado MV, Lima AT (2018) Efeito da herbivoria cotiledonar simulada em plântulas de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth ex DC. (Fabaceae). *Informativo ABRATES* 28: (1) 7-10.

Sasaki RM, Felipe GM (1992) Remoção dos cotilédones e desenvolvimento inicial de *Dalbergia miscolobium*. *Revista Brasileira de Botânica* 15: (1) 5-16.

Scalon SPQ (1992) Estudo da germinação de sementes e produção de mudas de pau-pereira (*Platycyammus regnelli* Benth). Dissertação, Universidade de Lavras.

Silsbury H, Silsbury JH (1992) Nodulation and nitrogen fixation of faba bean (*Vicia faba* L.) as affected by removal of the cotyledons and nitrate supply. *Annals of Botany* 69:271-81. [10.4025/actasciagron.v43i1.55105](https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.55105)

Simpson KJ, Atkinson RRL, Mockford EJ, Bennett C, Osborne CP, Rees M (2021) Large seeds provide an intrinsic growth advantage that depends on leaf traits and root allocation. *Functional Ecology* 1– 11. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13871>

Somner GV, Ferrucci MS, Rosa MMT (2009) Sapindaceae: *Magonia*. In: Wanderley MGL, Shepherd GJ, Melhem TS, Giuletta AM, Martins SE. *Flora Fanerogâmica* 210.

Sonesson, LK. 1994. Growth and survival after cotyledon removal in *Quercus robur* seedling grown in different natural soil types. *Oikos* 69:65-70. <https://doi.org/10.2307/3545284>

Souza MJ, Simões MO, Ribeiro LM (2020) Secondary cell wall release: a particular pattern of secretion in the mucilaginous integument of *Magonia pubescens* seed. *American Journal of Botany* 107 (1): 31- 44. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1415>

Stock WD, Pate JS, Delfs J (1990) Influence of Seed Size and Quality on Seedling Development Under Low Nutrient Conditions in Five Australian and South African Members of the Proteaceae. *Journal of Ecology* 78 (4):1005-1020. <https://doi.org/10.2307/2260949>

Taiz L, Zeige E (2017) *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed.

Teixeira AZA (2017) Compaction characteristics of the powder from the seed coat of Tingui (*Magonia pubescens*). *Estudos De Biologia* 29: 68-69. <https://doi.org/10.7213/reb.v29i68/69.22778>

Tiffin L, Chaney RL, Ambler JE (1973) Translocation of iron from soybean cotyledons. *Plant Physiol* 52: 393-396. <https://doi.org/10.1104/pp.52.5.393>

Watson DS (1965) The physiological basis of variation in yield. *Advances in Agronomy* 4:101-145.

Wellburn AR (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Plant Physiology* 144: 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)

Yi X, Bartlow AW, Curtis R, Agosta SJ, Steele MA (2019) Responses of seedling growth and survival to post-germination cotyledon removal: An investigation among seven oak species. *Journal of Ecology* 107: 1817– 1827. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13153>