

Título do projeto: Palmeiras acaulescentes no Parque Estadual de Vila Velha e no Parque Estadual do Cerrado, Paraná: anatomia aplicada à taxonomia

EQUIPE:

- Prof. Bruno Francisco Sant'Anna dos Santos: **DS, Departamento de Botânica/UFPR**
- Dra. Elaine Pereira da Costa Nunes: **DS, Bióloga, Departamento de Botânica/UFPR.**
- Dra. Valéria Muschner: **DS, Departamento de Botânica/UFPR.**
- Dra. Patrícia Soffiatti: **DS, Departamento de Botânica/UFPR.**
- Ariana Ceolin Barros: **Bolsista de Iniciação Científica, Departamento de Botânica/UFPR.**
- **Guilherme de Souza Sotsek: Aluno de Voluntariado Acadêmico, Departamento de Botânica/UFPR**
- **Rafael Micheli: Aluno de Voluntariado Acadêmico, Departamento de Botânica/UFPR**

Resumo:

As espécies acaulescentes da subtribo Attaleinae são reconhecidos por apresentar diversos morfotipos e/ou subespécies. Dentro desse contexto, os taxonomistas desse grupo têm utilizado a Anatomia Vegetal como ferramenta obrigatória na delimitação intraespecífica. Em território nacional, *Allagoptera campestris* forma um contínuo de Sergipe até o Paraná. Já *Syagrus graminifolia* ocorre somente nos estados de Minas Gerais e/ou Goiás enquanto *Butia microspadix*, espécie campestre, possui distribuição geográfica restrita ao Estado do Paraná e sul do Estado de São Paulo. Essas três espécies constituem, de acordo com a literatura, a vegetação do Parque Estadual de Vila Velha (PEVV) e do Parque Estadual do Cerrado (PEC), no Paraná. Dessa forma, estudos morfológicos pormenorizados desses espécimes são essenciais para correta delimitação desses taxa para confirmar sua identidade e circunscrição. Objetiva-se, dessa forma, coletar e descrever espécimes anteriormente identificadas, por outros coletores, como *A. campestris*, *B. microspadix* e *S. graminifolia* no PEVV e no PEC. Os espécimes amostrados serão fotografados e georreferenciados e amostras férteis serão coletadas para depósito em herbários indexados e determinação da identidade por especialista, que também utilizará os dados de anatomia foliar para confirmação dos taxa em estudo. A análise macroscópica das populações seguirá roteiro morfológico e biométrico específico para Areaceae. Amostras foliares também serão coletadas para estudo microscópico, de acordo com metodologias usuais em Anatomia Vegetal. A documentação fotográfica será realizada com câmera digital acoplada a microscópio de luz e eletrônico de varredura.

Palavras-chave: palmeiras, morfologia, anatomia, taxonomia.

Introdução:

A subtribo Attaleinae, maior subtribo de Cocoseae Mart., inclui 11 gêneros de palmeiras caracterizadas por apresentarem endocarpo do fruto com poros próximos ou ligeiramente abaixo da porção mediana e bráctea peduncular lenhosa (Dransfield *et al.*, 2008; Lorenzi *et al.*, 2010). Dentre os gêneros da subtribo, destacam-se *Allagoptera*, *Butia* e *Syagrus*, restritamente neotropicais (Moraes, 1996; Dransfield *et al.*, 2008; Noblick, 2017; Martins *et al.*, 2015).

As oito espécies de *Allagoptera* estão distribuídas no Brasil e Paraguai, em solos arenosos nas praias, dunas, em áreas abertas no Cerrado, em fitofisionomias campestres, savânicas e bordas de mata (Dransfield *et al.*, 2008). Para *Syagrus*, 65 espécies e 3 subespécies foram listadas na mais recente revisão do gênero (Noblick, 2017). *Butia*, de acordo com a última revisão, é formado por 24 espécies, algumas ainda de circunscrição duvidosa. Apesar de *Allagoptera*, *Butia* e *Syagrus* serem grupos monofiléticos (Gunn, 2004; Meerow *et al.*, 2009; Noblick, 2017), os três gêneros são classificados como de morfologia extremamente variável (Dransfield *et al.*, 2008), o que dificulta muito sua delimitação taxonômica (Soares *et al.*, 2014; Noblick, 2010), especialmente no que se refere aos representantes acaulescentes.

Para *Allagoptera*, essa alta diversidade morfológica é muito expressiva em *A. campestris* (Mart.) Kuntze, sendo tão notória que a ela se atribui o termo “formas extremas”, pois apresentam espécimes adultos menores de 30 cm até espécimes com 2m de altura (Dransfield *et al.*, 2008; Lorenzi *et al.*, 2010). Na primeira revisão do gênero, Moraes (1996) reconheceu quatro espécies de *Allagoptera*: *A. arenaria* (Gomes) Kuntze, *A. brevicalyx* M. Moraes, *A. campestris* (Mart.) Kuntze e *A. leucocalyx* (Mart.) Kuntze. Contudo, Dransfield *et al.* (2008) e Lorenzi *et al.* (2010) também reconhecem uma quinta espécie: *A. caudescens* (Mart.) Kuntze. Recentemente, uma nova espécie foi reconhecida para o gênero: *A. robusta* Martins & Filg, sendo caracterizada, em sua descrição em latim, como “*Species nova affinis Allagoptera campestris*” (Martins *et al.*, 2015). *A. robusta*, além de compartilhar o mesmo ambiente com *A. campestris* no Estado de Goiás, onde foi primeiramente observada por Martins *et al.* (2015), também já foi encontrada pela equipe proponente desse projeto no Estado de Minas Gerais (UPCB 82101), onde também ocorre em conjunto com *A. campestris* (UPCB 82103) e outro espécime ainda não identificado a nível específico (UPCB 82102), todas com grande semelhança morfológica e de difícil reconhecimento. Em expedições de campo já realizadas em áreas de cerrado nos estados de Minas Gerais, Goiás e Distrito Federal, também foram observadas diferenças morfológicas marcantes entre os espécimes das diferentes populações, o mesmo ocorrendo com material depositados em herbário a que geralmente se atribui, como identidade, o binômio *A. campestris*, o que faz com que sua circunscrição ainda seja duvidosa.

Assim como *Allagoptera*, *Syagrus* faz parte dos gêneros que Noblick (2017) define como: “palmeiras não espinhosas com frutos pequenos e duros como coco”. Quase metade das espécies do gênero são denominadas “acaulescentes” (Noblick, 2017), sendo baixo o número de espécimes depositados em herbários, justificando estudos mais detalhados para o grupo (Tomlinson *et al.*, 2011). *S. graminifolia* é um desses complexos dito como “problemático” e que possui, atualmente, três subespécies descritas de morfologia variável mas que apresentam, em comum, o aspecto graminóide e o mesmo padrão na anatomia foliar (Lorenzi *et al.*, 2010; Noblick *et al.*, 2014; Noblick,

2017). Na revisão mais recente de *Syagrus*, Noblick (2017) elevou as formas verde e azul de *S. graminifolia* ao nível de subespécies, com ocorrência confirmada apenas para os estados de Minas Gerais e/ou Goiás. No entanto, *S. graminifolia* é citada por Kaehler *et al.* (2014) como uma das palmeiras que ocorrem nos cerrados do Paraná. A ausência do Paraná na lista de áreas de ocorrência do complexo *S. graminifolia* publicada na última revisão para o gênero (Noblick, 2017), provavelmente reflete um problema quando se herboriza amostras de palmeiras: características importantes para delimitação intraespecífica se perdem e as amostras ficam muito semelhantes, quando na verdade podem não ser (Noblick, 2013). Ou seja, muitas coletas ainda apresentam erros de identificação. Roteiros específicos para coleta e descrição de espécimes de Arecaceae, como o apresentado por Martins e Filguerias (2012), garante que as coletas dos espécimes sejam acompanhadas de informações completas sobre a planta, o que é fundamental para seu reconhecimento. Ou seja: confirmar a identidade das amostras herborizadas torna-se quase que impossível, sendo a anatomia foliar, um dos poucos caracteres que pode ser decisivo nessa tarefa.

Por fim, das palmeiras acaulescentes já registradas no PEVV, destaca-se *Butia microspadix* Burret, espécie com distribuição geográfica restrita ao Estado do Paraná e a região sul do Estado de São Paulo. *B. microspadix* pertence ao complexo graminóide do gênero *Butia*, grupo de espécies de difícil delimitação. Para diferenciá-la de outras espécies do complexo, como *B. pubispatha*, caracteres muito influenciados pelo meio são utilizados, o que dificulta esse trabalho.

A Anatomia Vegetal tem sido, portanto, decisiva não só na sinonimização de nomes mas também na descrição de várias novas espécies para o gênero (Noblick, 2013). De acordo ainda com o mesmo autor, há fortes suspeitas de que ainda existam várias outras espécies de *Syagrus* acaulescentes não descritas. Para uma correta e segura circunscrição de um taxa, a busca por caracteres úteis e seguros para a taxonomia, como os dados anatômicos, também têm sido utilizados com sucesso por outros autores para gêneros de Attaleinae com grande diversidade morfológica e ampla distribuição, como Martel *et al.* (2013), Noblick (2014), Sant'Anna-Santos *et al.* (2015), Pinedo *et al.* (2016), o que tem sido de grande valia na resolução de problemas taxonômicos.

Desta forma, acredita-se que a caracterização de diferentes espécimes no campo, a partir de um estudo morfológico sistematizado (incluindo o anatômico) das plantas, possa auxiliar na correta identificação desses materiais. Desta forma, pretende-se responder as seguintes perguntas: os espécimes de *A. campestris* do PEVV e do PEC possuem caracteres morfoanatômicos exclusivos que subsidiem a hipótese de que *A. campestris* forme um complexo? *S. graminifolia* ocorre mesmo no PEVV e no PEC, o que subsidiaria a hipótese de que sua área de ocorrência seja mais extensa? Os espécimes do PEVV e do PEC de *S. graminifolia* constituem uma nova subespécie para o complexo? As amostras coletadas como *B. microspadix* no PEVV e no PEC estão corretamente identificadas? A possibilidade de ocorrência de novas espécies e/ou subespécies ainda não descritas e/ou confundidas se torna importante, uma vez que mitigaria ações de preservação das populações dessas plantas, restritamente localizadas em áreas que sofrem forte pressão antrópica, como os remanescentes de cerrado onde é característico a presença dessas populações (Moraes, 1996; Dransfield *et al.*, 2008; Lorenzi *et al.*, 2010; Kaehler *et al.*, 2014, Martins *et al.*, 2015), como o PEVV e o PEC.

Com o propósito de contribuir para o estudo da morfologia e para a taxonomia de *A. campestris*, *B. microspadix* e *S. graminifolia*, objetiva-se:

- coletar e caracterizar as populações de espécimes previamente identificados, por outros coletores, como *campestris*, *B. microspadix* e *S. graminifolia* no PEVV e no PEC;
- confirmar a identidade dos espécimes coletados;
- descrever e comparar a morfologia vegetativa e reprodutiva das populações do PEVV e do PEC com das diferentes áreas já amostradas em Minas Gerais;
- descrever e comparar a anatomia foliar das diferentes populações a serem amostradas com das diferentes áreas já amostradas em Minas Gerais;

Material e métodos

Serão realizadas expedições de campo no Parque Estadual de Vilha Velha e no Parque Estadual do Cerrado (Paraná) direcionadas por levantamentos nos herbários do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Departamento de Engenharia Florestal da UFPR e Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba, além das indicações contidas na literatura (Moraes, 1996; Lorenzi *et al.*, 2010; Kaehler *et al.*, 2014; Martins *et al.*, 2015; Noblick 2017).

O mapa de distribuição dos taxa coletados será elaborado digitalmente a partir das coordenadas obtidas por GPS utilizando o software *ArcView* do grupo de programas *ArcGIS* (Sistemas de Informação Geográfica).

Os espécimes serão fotografados em campo utilizando câmera digital. A análise macroscópica das populações seguirá roteiro morfológico e biométrico específico para Arecaceae (Martins e Filgueiras, 2012). O material botânico coletado será prensado e devidamente seco em estufa, posteriormente serão montadas as exsicatas, registradas e incorporadas aos Herbários UPCB e UDEF (Universidade Federal do Paraná). Duplicatas serão confeccionadas para intercâmbios com outros herbários de instituições parceiras.

A análise morfológica dos exemplares será realizada à vista desarmada e com utilização de microscópio estereoscópico. O processo de identificação terá como suporte as chaves de identificação publicadas por Moraes (1996), Lorenzi *et al.* (2010) e Noblick (2017), além da análise de imagens dos exemplares *typus* depositados em herbários nacionais e internacionais e consultas a especialistas.

Amostras do terço médio das pinas apicais, medianas e basais das espécies serão fixados em FAA 50 (Formaldeído, Ácido Acético Glacial, Álcool Etílico 70%, 1:1:18 v/v) por 24 horas (Johansen 1940) e posteriormente armazenadas em etanol 70%. Serão analisadas amostras de pelo menos 3 indivíduos para cada uma das populações coletadas em áreas distintas. As amostras serão amolecidas em etilenodiamina conforme proposto por Sant'Anna-Santos *et al.* (2015).

Secções transversais e longitudinais serão obtidas em micrótomo de mesa, utilizando como suporte fragmentos de pecíolo de embaúba. Os cortes serão diretamente montados em água glicerinada (não corados) ou previamente submetidos à dupla coloração com safranina e azul de

astra. As secções submetidas à coloração em azul de astra (1%) e safranina (1%) serão montadas entre lâmina e lamínula com gelatina glicerinada (Bukatsch, 1972, modificado). Para preparação de lâminas permanentes, parte das amostras será incluída em metacrilato (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha) e secções transversais e longitudinais, com 5µm de espessura, serão obtidas em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA) com navalhas de aço e corados com azul-de-toluidina pH 4,0 (O'Brien e McCully, 1981). As lâminas obtidas serão montadas em resina sintética (Paiva *et al.*, 2006).

Para descrição da epiderme em vista frontal e obtenção do macerado do mesofilo para visualização dos corpos silicosos, fragmentos das pinas, com cerca de 1cm², serão dissociados a partir da imersão em solução de ácido nítrico 10% e ácido crômico 10% (v/v) (Jensen, 1962). O macerado do mesofilo será submetido à coloração com safranina e as lâminas permanentes serão montadas em resina sintética (Paiva *et al.*, 2006). Os fragmentos de epiderme obtidos na dissociação serão corados com azul de metileno com bórax 1% (Langeron, 1949) e as lâminas semipermanentes serão montadas em gelatina glicerinada.

Para estudo da morfologia das ceras epicuticulares fragmentos da porção mediana das pinas (0,5 cm²) serão secos ao ponto crítico (modelo Balzers CPD 030) e metalizados com ouro em Metalizador (modelo Balzers SCD 050).

A análise do material em microscópio de luz e a documentação fotográfica serão realizadas no Laboratório de Anatomia e Biomecânica Vegetal do Departamento de Botânica da UFPR. O processamento e a captura de imagens, ao microscópio eletrônico de varredura, serão realizados no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

Caracteres morfoanatômicos qualitativos considerados seguros (sem variação dentre indivíduos da mesma população) serão selecionados para elaboração da análise de similaridade fenotípica entre os espécimes estudados no PEVV e no PEC com as coletas já realizadas no Parque Estadual da Serra do Cabral, em Minas Gerais. Para tanto, após seleção dos caracteres e descrição morfoanatômica, será montada uma matriz de presença e ausência dos caracteres, procedendo-se então à análise de agrupamento (método estatístico multivariado) através do software PCCORD 5.0.

Referências

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v.61, n.8, p.255, 1972.

DRANSFIELD, J.; UHL, N.W.; ASMUSSEN, C.B.; BAKER, W.J.; HARLEY, M.M.; LEWIS, C.E. **Genera Palmarum: The evolution and classification of palms**. Kew: Royal Botanic Gardens. 2008, 732p.

GUNN, B.F. 2004. The phylogeny of the Cocoseae (Arecaceae) with emphasis on *Cocos nucifera*. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.91, p. 505-552.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York, McGraw- Hill. 1940, 528p.

KAEHLER, M.; GOLDENBERG, R.; EVANGELISTA, P.H.L.; RIBAS, O.S.; VIEIRA, A.O.S.; HATSCHBACH, G.G. 2014. **Plantas Vasculares do Paraná**. Curitiba, Departamento de Botânica. 2014. 190p.

LANGERON, M. 1949. *Précis de microscopie*. Paris: Masson & Cie.

LORENZI, H.; NOBLICK, L.R.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora brasileira. Lorenzi: Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 2010, 384p.

MARTINS, R.C.; FILGUEIRAS, T. 2012. Roteiro morfológico para coleta de palmeiras (Arecaceae) no cerrado. **Heringeriana**, v.4, n.1, p.51-59.

MARTINS, R.C.; FILGUEIRAS, T.; GRACIANO-RIBEIRO, D., SOMAVILLA, N.S. 2015. A new species of *Allagoptera* (Arecaceae) from the Cerrado of central Brazil. **Phytotaxa**, v.197, n.2, p.115-124.

MEEROW, A.W., NOBLICK, L., BORRONE, J.W., COUVREUR, T.L.P., MAURO-HERRERA, M., HAHN, W.J., KUHN, D.N., NAKAMURA, K., OLEAS, N.H. & SCHNELL, R.J. 2009. Phylogenetic analysis of seven WRKY genes across the Palm subtribe Attaleinae (Arecaceae) identifies *Syagrus* as sister group of Coconut. **PloS ONE** 4, v.10, e7353. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0007353>.

MORAES, M. *Allagoptera* (Palmae). 1996. **Flora Neotropica Monograph** v.73, p.1-34. New York Botanical Garden.

NOBLICK, L. 2013. Leaflet anatomy verifies relationships within *Syagrus* (Arecaceae) and aids in identification. **PhytoKeys**, v.26, p.75-99.

NOBLICK, L. 2014. *Butia*: what we think we know about the genus. **The palm journal**, v.208, p.5-23.

NOBLICK, L. 2017. A revision of the genus *Syagrus* (Arecaceae). **Phytotaxa**, v.294, n.1, p.001-262.

NOBLICK, L.; LORENZI, H.; SOUZA, V.C. 2014. Four new taxa of acaulescent *Syagrus* (Arecaceae). **Phytotaxa**, v.188, n.1, p.001-013.

O'BRIEN, P.P.; MCCULLY, M.E. **The study of plants structure principles and selected methods**. Melbourne, Termarcarphi Pty. Ltda. 1981, 357p.

PAIVA, J. G. A.; S. M. FRANK-DE-CARVALHO, M. P. MAGALHÃES & D. GRACIANO-RIBEIRO. 2006. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasílica* 20: 257-264.

PINEDO, A.S.; MARTINS, R.C.; OLIVEIRA, R.C.; GOMES, S.M. 2016. Leaf anatomy in *Allagoptera* (Arecaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, p.1-15.

SANT'ANNA-SANTOS, B.F., CARVALHO-JÚNIOR, W.G.O., AMARAL, V.B. 2015. *Butia capitata* (Mart.) Becc. lamina anatomy as a tool for taxonomic distinction from *B. odorata* (Barb. Rodr.) Noblick comb. nov (Arecaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n.1, p.71-81.

SOARES, K.P., LONGHI, S.J., NETO, L.W., ASSIS, L.C. 2014. Palmeiras (Arecaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Rodriguésia**, v.65, n.1, p.113-139.

TOMLINSON P.B. HORN, J.W.; FISHER, J.B. 2011. The anatomy of palms. Arecaceae – Palmae. Clarendon Press, Oxford, 276p.