



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA



NATÁLIA MARIA CORTE REAL DE CASTRO

ESTUDO ONTOGENÉTICO EM FRUTOS E SEMENTES DE *Jatropha curcas* L.
(Euphorbiaceae)

RECIFE-PE

2014

NATÁLIA MARIA CORTE REAL DE CASTRO

**ESTUDO ONTOGENÉTICO EM FRUTOS E SEMENTES DE *Jatropha curcas* L.
(Euphorbiaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de mestre em Botânica.

Orientador:

Dr. Marcelo Francisco Pompelli

Co-orientadoras:

Dra. Emília Cristina Pereira de Arruda

Dra. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva

RECIFE-PE

2014

Ficha catalográfica

C355e Castro, Natália Maria Corte Real de
Estudo ontogenético em frutos e sementes de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) / Natália Maria Corte Real de Castro. – Recife, 2014.

72 f. : il.

Orientador: Marcelo Francisco Pompelli.

Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Recife, 2014.

Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Anatomia 2. Biocombustível 3. Pinhão-manso
4. Ontogenia I. Pompelli, Marcelo Francisco, orientador
II. Título

CDD 581

NATÁLIA MARIA CORTE REAL DE CASTRO

**ESTUDO ONTOGENÉTICO EM FRUTOS E SEMENTES DE *Jatropha curcas* L.
(Euphorbiaceae)**

Dissertação apresentada e _____ em ____/____/____

Orientador

**Dr. Marcelo Francisco Pompelli
Universidade Federal de Pernambuco**

Coorientadoras

**Dr^a. Emilia Cristina Pereira Arruda
Universidade Federal de Pernambuco**

**Dr^a. Claudia Ulisses de Carvalho Silva
Universidade Federal Rural de Pernambuco**

Examinadores

**Dr. Laurício Endres
Universidade Federal de Alagoas**

**Dr. Luiz Antônio de Souza
Universidade Estadual de Maringá**

**Dr^a. Terezinha de Jesus Rangel Câmara
Universidade Federal Rural de Pernambuco**

Suplente

**Dr^a Carmen Silvia Zickel
Universidade Federal Rural de Pernambuco**

**A Deus e à minha família,
Dedico.**

AGRADECIMENTOS

Acima de todo nome, gostaria de agradecer ao meu Senhor, se não fosse de Sua vontade nada disso teria acontecido, e por ter usado e colocado pessoas maravilhosas para me ajudar a seguir e terminar mais essa etapa da vida.

Aos meus pais, José Castro e Maria Clara, pelo apoio, por nunca duvidarem da minha capacidade e sempre pensar o que é melhor pra mim, meu muito obrigado, acho que nunca vou conseguir retribuir o amor de vocês, mas declaro que vos amo incondicionalmente.

Ao meu irmão, José Neto, por me desafiar, me fazendo sempre correr atrás para me superar. Não preciso de muitas explicações, mas você com certeza sabe que foi, é, e sempre será muito importante para minha vida.

Ao meu orientador, prof. Dr. Marcelo Pompelli, pela sua paciência e disponibilidade, por sempre estar presente em cada etapa desse trabalho. Pela cobrança que me fizeram sempre buscar o melhor.

À minha co-orientadora, prof. Dra. Emília Arruda, meu muitíssimo obrigado pelo exemplo de profissionalismo e ética, pelas conversas, inúmeras risadas, companhia, paixão pela ciência que me fez amar a anatomia. À professora Claudia Ulisses que também embarcou nesse desafio e aceitou essa co-orientação, meu muito obrigado por não poupar esforços, nem atenção para a conclusão dessa dissertação. Queria ser apenas metade da profissional e pessoa que vocês são. Enfim, obrigado por tudo, sem vocês esse trabalho não seria realmente possível.

Estendo meus agradecimentos ao Laboratório de Cultura de Tecido Vegetais - LCTV e principalmente àquelas que junto à professora Cláudia, conduzem de forma harmônica e com sucesso, Professora Terezinha Rangel e Lilia Willadino, sem vocês nada disso teria início, agradeço por acreditarem e apostarem em mim às cegas, e me ensinarem muito de fisiologia vegetal. Agradeço também, a todos aqueles que fazem parte dessa família LCTV, sem exceções.

Aos membros da banca, professores Dr. Laurício Endres, Dr. Luiz Antônio Souza, Dra. Terezinha Rangel Câmara e Dra. Carmen Zickel, por aceitarem o convite de participar e contribuir com o trabalho.

Àqueles que fazem parte do LEV, por me aceitar, compartilhar momentos incríveis e principalmente, por ensinar e ajudar na execução desse trabalho. Gostaria de agradecer em especial, à Hiram Falcão, pelo exemplo de humildade e prestatividade, além de transformar o trabalho em algo prazeroso e leve.

Ào LaVeg e sua fundadora, à qual tenho orgulho de dizer que é minha amiga, Maryana Dias, pelo dia-a-dia, pelas conversas, pelas ajudas, pela amizade tanto na alegria, quanto na tristeza, no calor e no frio. Obrigada Mary.

Às minhas amigas, Mariana Lins, Milena Barboza e Laura Melo por absolutamente tudo. Agradeço muito à Deus por ter colocado vocês no meu caminho e espero que seja eterno.

À Silvia Santos, pela sua paciência e colocar meus pés no chão, pela amizade e conversas e por “confiar” o trabalho a mim.

Aos meus amigos, Rodolfo, Bruno e Fernando pelos momentos de descontração e alegria.

Aos amigos que fazem parte do PPGB, em especial a André Dias pelo companheirismo nas disciplinas, por dividir dúvidas e trazer soluções.

Agradeço também àquela que é mais do que secretária, é psicóloga, amiga e exemplo de profissional. Kênia, obrigada pelos conselhos e atenção.

Àqueles que mesmo longe não mediram esforços para a execução desse trabalho, aos incansáveis Paul Lineker e Luan, meu muito obrigado por participar e contribuir em uma das partes mais cruciais do trabalho.

À minha avó, Neuza Côrte Real, por acreditar em mim, me mimar e me fazer sentir tão especial. Estendo esse agradecimento a todos os tios, tias, primos e primas que contribuíram direta e indiretamente na minha construção, mesmo, muitas vezes, não fazendo a menor ideia do que eu falava sobre meu trabalho.

Ao grupo do Cetene, em especial à Gabi e Josi, pela ajuda, disponibilidade e execução do trabalho.

A todos que participaram e estiveram presentes nessa etapa e que de qualquer forma contribuíram para a conclusão dessa dissertação.

À Capes pela concessão da bolsa e ao CNPq pelo auxílio a pesquisa concedido.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
<i>Biodiesel no Brasil e no mundo</i>	13
<i><u>Jatropha curcas</u> L.</i>	15
<i>Estudos anatômicos em Euphorbiaceae</i>	17
<i>Frutos e sementes</i>	18
<i>Compostos fenólicos</i>	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
MANUSCRITO – Caracterização e estudo ontogenético de frutos e sementes de <i>Jatropha curcas</i> L.	28
RESUMO.....	30
MATERIAIS E MÉTODOS	33
<i>Área de estudo e desenho experimental</i>	33
<i>Coleta e preparação de material</i>	34
<i>Ilustração botânica</i>	36
<i>Biometria dos frutos</i>	36
RESULTADOS	37
<i>Caracterização da flor</i>	37
<i>Caracterização do desenvolvimento do fruto</i>	37
<i>Caracterização do desenvolvimento da semente</i>	39
<i>Tegumentos da semente.....</i>	39
<i>Endosperma e embrião</i>	41
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO.....	46
LITERATURA CITADA.....	47
ANEXOS	50

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Estádios de desenvolvimento dos frutos de <i>Jatropha curcas</i> relacionados com as datas de antese, de coleta e DAA, evidenciando a idade e as características biométricas dos frutos em desenvolvimento.	51
Tabela 1. Compostos identificados, através de testes histoquímicos, na cutícula, tegumento e embrião (incluindo endosperma) nas sementes maduras de <i>Jatropha curcas</i> L.	52

LISTA DE FIGURAS

	Página
<p>Figura 1. Visão externa de flores e frutos de <i>Jatropha curcas</i>, em diferentes estádios de desenvolvimento. A – flor feminina; B – flor masculina; C – fruto com 13 dias após antese (DAA); D – fruto com 18 DAA; E – fruto com 22 DAA; F – fruto com 27 DAA; G – fruto com 40 DAA; H – fruto com 47 DAA; I – fruto com 54 DAA; J – fruto com 58 DAA. (pe = pétala; se = sépala; re = receptáculo; pd = pedúnculo).</p>	55
<p>Figura 2. Visão interna de flores e frutos de <i>Jatropha curcas</i>, em diferentes estádios de desenvolvimento. A – flor feminina; B – flor masculina; C – fruto com 13 dias após antese (DAA); D – fruto com 18 DAA; E – fruto com 22 DAA; F – fruto com 27 DAA; G – fruto com 40 DAA; H – fruto com 47 DAA; I – fruto com 54 DAA; J – fruto com 58 DAA. (an = antera; fi = filete; eg = estigma; et = estilete; ov = ovário; ne = nectário; ol = óvulo; ep = epicarpo; me = mesocarpo; em = endocarpo; lo – lóculo; oa = óvulo abortado; te = tegumento; es = endosperma).</p>	56
<p>Figura 3. Fotomicrografias do corte transversal do fruto de <i>Jatropha curcas</i>. A – visão geral do fruto de 04 DAA mostrando os três lóculos; B – fruto de 07 DAA; C – fruto no terceiro estágio de desenvolvimento, evidenciando feixes colaterais no centro do fruto (seta); D – Detalhe óvulo abortado. (oa = óvulo abortado). Barras = 100µm (D); 200µm (A, B e C).</p>	57
<p>Figura 4. Fotomicrografias dos pericarpos dos frutos de <i>Jatropha curcas</i> em cortes transversais corados com azul de Alcian e safranina. A – imagem do fruto e semente com 04 DAA, mostrando a fissura (seta) entre merocarpos; B – epicarpo e mesocarpo do fruto com 07 DAA; C – pericarpo do fruto com 13 DAA; D – epicarpo e mesocarpo do fruto com 18 DAA, evidenciando laticíferos (seta); E – epicarpo e mesocarpo, em frutos com 22 DAA, na região entre merocarpos; F – epicarpo e mesocarpo em frutos com 27 DAA. Barras = 20µm (B); 100µm (A, C e D), 200µm (E e F)</p>	58
<p>Figura 5. Fotomicrografias dos pericarpos dos frutos de <i>Jatropha curcas</i> em cortes transversais. A – mesocarpo e endocarpo de fruto em 40 DAA, em destaque feixes anficrivais (seta) próximo à região mais interna; B – mesocarpo e endocarpo de fruto em 47 DAA; C – epicarpo e mesocarpo de frutos com 54 DAA, mostrando o fruto mais seco e com a camada mais externa murcha; D – pericarpo apresentando lise das células em frutos totalmente maduros com 58 DAA. Barras = 100µm (C); 200µm (A, B e C).</p>	59
<p>Figura 6. <i>Jatropha curcas</i> em diferentes estádios de desenvolvimento. A – corte longitudinal do fruto e semente em 04 DAA, mostrando carúncula na semente (seta); B – corte longitudinal de fruto e semente, evidenciando dois lóculos, em 07 DAA; C - corte longitudinal dos frutos e das sementes de dois lóculos em 13 DAA, mostrando a posição anátropa, semente anátropa; D – detalhe do funículo (seta) na semente em lóculo do fruto em 18 DAA, em corte transversal; E – corte longitudinal, detalhe do cotilédone com 22 DAA evidenciando nervura cotiledonar (seta); F – detalhe do corpo do embrião em estágio cordiforme, com 27 DAA. Barras = 100µm (F), 200µm (A, B, C, D e E).</p>	60

Figura 7. Fotomicrografias da semente de *Jatropha curcas* em diferentes estádios de desenvolvimento, corados com azul de Alcian e safranina. A – detalhe do meristema radicular do embrião com 40 DAA; B – tegumento da semente com 47 DAA; C – detalhe dos cotilédones em embrião com 54 DAA; D – tegumento da semente completamente desenvolvido, com 58 DAA, mostrando a redução do tamanho da mesotesta. Barras = 100µm (B, C e D); 200µm (A). 61

Figura 8. Eletromicrografias de varredura do tegumento da semente de *Jatropha curcas*. A – visão superficial da testa, evidenciando a distribuição de concavidades nessa camada, evidenciando pontos não lignificados (setas); B – detalhe da concavidade vista na superfície da testa da semente; C – visão da estratificação do tegumento da semente, destacando a presença de concavidade, formando um poro na camada (seta); D – detalhe da estratificação de transição do tegumento da semente. (te = testa; ent = endotesta; etg = exotégmen). Barras = 50µm (B); 100µm (C e D); 1mm (A). 62

Figura 9. Fotomicrografias de estruturas presentes no tegumento das sementes de *Jatropha curcas*, coradas com safranina. A – macroesclereíde; B – fibra isolada; C – fibras arranjadas em forma de estrela; D – fibras agrupadas longitudinalmente. Barras = 20µm (A); 100µm (B, C e D). 63

CASTRO, Natália Maria Corte Real de (MSc.) Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Fevereiro, 2014. Estudo ontogenético em frutos e sementes de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). Orientador: Marcelo Francisco Pompelli; Co-orientadoras: Emília Cristina Pereira de Arruda e Cláudia Ulisses de Carvalho Silva.

RESUMO

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie lenhosa-arbustiva, pertencente à família Euphorbiaceae que se caracteriza por apresentar uma facilidade de adaptação a ambientes semiáridos, além de um rápido crescimento. Suas sementes oleaginosas despertaram interesse por serem utilizadas como matéria-prima na obtenção, principalmente, de óleo para a produção de biocombustíveis. Sabendo que a fisiologia do amadurecimento dos frutos, de um modo geral, envolve desde a produção de fotoassimilados, para a sua formação e desenvolvimento até o óleo presente na semente, o objetivo deste trabalho foi identificar as estruturas e substâncias produzidas durante a ontogenia de frutos e sementes de *J. curcas*. O material botânico foi composto por frutos em dez estádios de desenvolvimento, determinados de acordo com os dias após antese; coletados de indivíduos adultos de *J. curcas*, cultivados em campo aberto em Rio Largo - AL. A partir desse material foram realizadas secções anatómicas seriadas em micrótomo para caracterização e acompanhamento da ontogenia dos frutos e sementes do pinhão-mansão. Os frutos atingem seu máximo volume por volta de 47 DAA, mas com significativa redução a partir dos 54 DAA, quando os frutos se tornam secos e escurecidos. Em muitos casos foi possível observar a má formação ou aborto de um ou mesmo de dois óvulos. Há grande presença de laticíferos por todo mesocarpo dos frutos, podendo ser ramificados ou não, articulados ou não. As sementes se tornam completamente maduras já com 13 DAA. O tegumento é composto de testa e tégmen, onde cada um subdividido nitidamente. A camada mais externa da testa apresenta macrosclereídes, fibras e células lignificadas. Entretanto foi possível observar a existência de algumas células sem lignificação ao longo de toda semente. A partir de 18 DAA o endosperma começa a ser consumido, com consequência de um aumento do corpo do embrião, o qual se mostra totalmente desenvolvido aos 40 DAA, com a evidência de um eixo hipocótilo-radicular, além de cotilédones e primórdios caulinar e radicular. As esclereídes e fibras presentes no tegumento seminal são responsáveis pela alta rigidez nas sementes de *Jatropha curcas*, porém essa característica, ao que tudo indica, não compromete o processo germinativo da espécie.

Palavras-chave: anatomia, biocombustível, pinhão-mansão, ontogenia

CASTRO, Natália Maria Corte Real de (MSc.) Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Fevereiro, 2014. Ontogenetic study in fruits and seed of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). Orientador: Prof. Dr. Marcelo Francisco Pompelli (UFPE); Co-orientadoras: Prof. Dra. Emília Cristina Pereira de Arruda e Prof. Dra. Cláudia Ulisses de Carvalho Silva.

ABSTRACT

Jatropha curcas L. is a woody-shrubby species belonging to the Euphorbiaceae family, which is characterized by having an easy adaptation to semiarid environments, and fast growth. Its oilseeds aroused interest because they are mostly used as raw material to obtain oil for biofuel production. Knowing that the physiology of ripening of *Jatropha* fruits involves since the production of photoassimilates, to their formation and development, until the oil present in its seed, the aim of this study was to identify the structures and substances produced during ontogeny of their fruits and seeds. Botanical material, composed of fruits in ten stages of development, according with the days after anthesis, were collected from adult individuals of *J. curcas*, grown in an open field in the State of Alagoas. From this material were performed anatomical sections in serial microtome for characterization and monitoring of the ontogeny of *Jatropha* fruits and seeds. The fruits reach their maximum volume around 47 DAA, which suffers a reduction from 55 DAA, when they become dried and darkened. It was possible to see in many cases malformation or abortion of one or even two eggs. There is major presence of lactiferous all over fruit mesocarp, which may be branched or not, articulated or not. The seeds become fully ripe 13 DAA. The tegument is composed of testa and tegmen, where each one is clearly subdivided. The testa outermost layer has macrosclereids, fibers and lignified cells. However, it was observed the existence of some cells without lignification along the entire seed. Already from 18 DAA endosperm begins to be consumed, in consequence of an increase in the embryo's body, which shows fully developed after 40 DAA, with evidence of a hypocotyl-radicle axis, besides cotyledons and primordial stem and root. The sclereids and fibers present in seminal tegument are responsible for the high rigidity in *J. curcas* seeds; however this characteristic, it seems, does not affect the germination process of the species.

Keywords: anatomy, biofuel, purgint nut.

1. INTRODUÇÃO

Em um cenário atual onde a intensidade dos fenômenos climáticos extremos é cada vez mais frequentes decorrentes, direta ou indiretamente, da queima de combustíveis fósseis, a busca de fontes de energia limpa e renovável se faz necessária e urgente. A produção e o uso do biodiesel no Brasil, como fonte de energia alternativa ao diesel de origem fóssil é muito bem incentivado principalmente pelas suas vantagens de caracteres econômicos, ambientais e sociais. As pesquisas na área agrícola devem buscar a domesticação de novas espécies e aumentar a produção de óleo por hectare por meio de melhoramento genético e de práticas fitotécnicas adequadas. Nesse sentido, estudos morfofisiológicos são fundamentais para se estabelecer as bases científicas de apoio à produção vegetal, levando em consideração a elevada produtividade e qualidade do óleo em espécies promissoras, como é o caso do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.).

O pinhão-manso é uma espécie perene da família Euphorbiaceae, de fácil propagação e rápido crescimento. Essas características, bem como sua adaptabilidade em diferentes condições ambientais, direcionam a espécie no sentido da exploração comercial para a produção de óleo, principalmente aquele destinado à bioenergia. Ademais, nas regiões áridas e semiáridas, a espécie pode ser, ainda, uma boa alternativa para produtores familiares que podem, com pouca terra, produzir sementes com alto valor agregado.

É de senso comum que o sucesso da germinação e estabelecimento de uma planta em um ambiente depende, não apenas das condições abióticas como temperatura e umidade, mas também da qualidade e características das sementes, as quais podem conter substâncias químicas ou barreiras físicas que interferem ou inibem o processo germinativo. Dentre as barreiras químicas estão os compostos fenólicos, que apresentam papel importante na defesa da planta, porém quando próximos do embrião, podem causar inibição enzimática (e.g. enzimas amilolíticas), provocando, como consequência, um retardo ou uma completa inibição da germinação.

Estudos anatômicos de órgãos reprodutivos, bem como a caracterização das estruturas presentes nas sementes são ferramentas importantes para o esclarecimento taxonômico e fisiológico, principalmente por trazerem informações a cerca dos padrões morfológicos intrínsecos entre táxons; indicar prováveis formas de especialização nos órgãos analisados, bem como fornecer bases seguras de compreensão de estruturas e substâncias importantes para a ontogenia da planta. Nesse contexto, os estudos ontogenéticos podem fornecer informações sobre as fases cruciais de acúmulo de reservas e definir características tegumentares que possam estar relacionadas com a dormência das sementes, orientando práticas fitotécnicas.

O presente trabalho buscou traçar um perfil entre a localização dos compostos orgânicos com o desenvolvimento embrionário. Os estudos realizados aqui devem, portanto, auxiliar a elucidar os mecanismos ligados ao acúmulo de compostos de reserva e traçar a importância dessas substâncias para o desenvolvimento do fruto e da semente. Com isso, tem-se como meta que essa dissertação permita a confecção de um artigo, intitulado “Caracterização e estudo ontogenético de frutos e sementes de *Jatropha curcas* L.”, contendo os estudos ontogenéticos que evidenciam as alterações morfológicas e anatômicas dos frutos e sementes de *J. curcas* desde a antese até a completa maturação do fruto.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Biodiesel no Brasil e no mundo

De um modo geral, os combustíveis fósseis, como o carvão, petróleo e gás natural são as principais fontes de energia utilizadas na atualidade. Porém, a queima desses combustíveis favorece diretamente o aumento da temperatura global média, principalmente devido à liberação de gases como o dióxido de carbono (CO₂) e o dióxido de enxofre (SO₂) na atmosfera (POMPELLI et al., 2011). Como consequência desse aumento da temperatura, a amplitude e a distribuição das chuvas estão sendo fortemente afetadas, assim como a elevação dos níveis dos oceanos, em decorrência do derretimento das calotas polares e o aumento na frequência e intensidade de fenômenos climáticos extremos (MARENGO et al., 2010; 2012).

Nesse cenário, a busca de fontes de energia limpa e renovável se faz necessária. Entre elas, estão os biocombustíveis que vêm sendo intensamente estudados e sua produção estimulada em muitos países do mundo. Dentre os principais biocombustíveis destacam-se o bioetanol, o biogás, o biometanol, o bio-hidrogênio e o biodiesel (GOLDEMBERG, 2008; LINDFELDT; WESTMARK, 2009; ESCOBAR et al., 2009; FONTES; FONTES, 2010). Diferentemente do óleo vegetal, o qual se refere ao óleo *in natura*, sem ter passado por nenhum processo químico, o biodiesel é um éster de ácidos graxos, obtido de fontes renováveis, em geral óleos vegetais e residuais, bem como sebos animais (GOLDEMBERG, 2008; RAMOS, 1999). O biodiesel é um combustível biodegradável, que apresenta características, assim esse biocombustível: (i) é virtualmente livre de enxofre e compostos aromáticos, (ii) apresenta um alto teor de cetanos, (iii) possui cerca de 11% de oxigênio (O₂), (iv) possui maior viscosidade e maior ponto de fulgor que o diesel convencional, (v) tem um nicho de mercado específico diretamente associado às atividades agrícolas; (vi) tem preço de mercado relativamente superior ao diesel comercial (RAMOS, 1999). Porém, com o incentivo e avanços nas pesquisas para o aproveitamento dos subprodutos, como a glicerina e a torta

residual da extração do óleo (ARROYO et al., 2013), a produção de biodiesel de pinhão-manso pode ser obtida a um preço menor e mais competitivo com o óleo diesel convencional (PARENTE, 2003).

No Brasil, estudos e testes de combustíveis alternativos e renováveis, como álcool de cana-de-açúcar, tiveram início por volta da década de 1920, com a criação do Instituto Nacional de Tecnologia (INT), o qual visou o desenvolvimento sustentável do Brasil, através da pesquisa tecnológica e estímulo da inovação (BRASIL, 1985). Porém, a produção e uso de biocombustíveis no Brasil só teve início na década de 1970 com o Programa Nacional do Álcool (Pró-álcool), o qual visava a substituição, em larga escala, dos derivados de petróleo. Mas, foi somente cinco anos mais tarde, com o Pró-óleo (Plano de produção de óleos vegetais para fins energéticos), que mesmo não atingindo seu objetivo de substituir até 30% do óleo diesel por óleos vegetais, fez com que a produção de biodiesel passasse a ganhar destaque como fonte alternativa de energia (FARIAS, 2012). Posteriormente, na década de 1980 foi lançado então o PRODIESEL, com o incentivo de outras instituições de pesquisa, além da Petrobrás e do Ministério da Aeronáutica.

No final do século XX, entretanto, o Brasil passava por um momento econômico delicado, e o preço do barril de petróleo apresentou uma forte desvalorização, chegando ao valor de US\$ 15 (CUNHA, 2006). Nesse cenário, não havia mais espaço para incentivo e fomento aos programas dedicados aos biocombustíveis e os mesmos foram, então, abandonados pelo governo e pelas empresas parceiras (PARENTE, 2003; PAHL, 2008; FARIAS, 2012). No entanto, estimulado por uma nova crise mundial do petróleo, o Brasil ressuscita seu programa de biodiesel quando, em 2004, cria o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), o qual estabeleceu a obrigatoriedade da mistura de pelo menos 2% de biodiesel ao diesel convencional, em todo país, a partir de 2008. Essa mistura geraria uma demanda anual de 2 bilhões de litros de biodiesel a serem produzidas a partir daquele ano (SEBRAE, 2009). Além do acréscimo da produção de biocombustível, esse programa também estimularia pequenos produtores rurais, concedendo redução de tributos federais para indústrias que utilizassem matérias-primas destes produtores (DUARTE, 2008). Esses investimentos foram sentidos prontamente quando o Brasil, em 210, foi elevado ao posto de segundo maior produtor de biodiesel do mundo (BRASIL, 2011), tendo a Alemanha como primeiro produtor. Atualmente, a produção e uso de biodiesel vem sendo encorajados por ecologistas e empresas de todo o mundo; de forma que o Brasil tem se tornado uma importante potência na produção do biodiesel, principalmente por sua vantagem de liderança na geração de bioenergia (FONTES; FONTES, 2010). Parte dessa liderança se deve ao fato que o Brasil apresenta uma ampla flexibilidade em relação às áreas de cultivo, solo e clima

favoráveis, bem como a diversidade das suas matérias-primas a serem empregadas (e.g., mamona, dendê ou palma, soja, girassol, babaçu, pinhão-manso, amendoim, etc.) (LIMA-FILHO et al., 2008; POMPELLI et al., 2011). Assim, o Brasil tem perfeitas condições para liderar a produção mundial de biodiesel, o que possibilitaria a substituição de até 60% da produção mundial de óleo diesel por biocombustíveis de origem vegetal (SEBRAE 2010). Nesse contexto, algumas plantas oleaginosas vêm se destacando com grande potencial para a produção de biodiesel, dentre essas, encontra-se o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (POMPELLI et al., 2011; KUMAR et al., 2012; SINGH et al., 2013).

Jatropha curcas L.

O gênero *Jatropha* possui cerca de 180 espécies amplamente distribuídas pelas Américas, Ásia e África (HENNING, 1999). *J. curcas* é uma espécie perene, monóica com flores díclinas, lenhosa-arbustiva, pertencente à família Euphorbiaceae. Embora não se conheça ao certo o seu centro de origem (ACHTEN et al., 2010), estudos indicam que a espécie é nativa dos países da América Central e do Sul, ocorrendo de forma espontânea em diversas regiões do Brasil (HELLER, 1996; BELTRÃO, 2005). *J. curcas* apresenta ampla distribuição geográfica devido a sua rusticidade, resistência a longas estiagens, sendo adaptável a condições edafoclimáticas muito variáveis (SATURNINO et al., 2005; OLIVEIRA; BELTRÃO, 2010), ocorrendo naturalmente desde a região Sudeste e Centro Oeste do Brasil até o Norte e, sobretudo, nos estados do Nordeste brasileiro, além de Goiás e Minas Gerais (EPAMIG, 2003). A espécie também é encontrada naturalmente em outros países como Índia, China e Malásia (SINGH et al., 2013; 2013).

Botanicamente, o pinhão-manso é caracterizado como um arbusto hermafrodita de crescimento rápido, embora haja registros de árvores com mais de 8 m de altura e com diâmetro do tronco de até 20 cm (SUNIL et al., 2013). Por estes motivos, fisiologicamente a espécie é caracterizada com uma árvore de porte lenhoso (KRAMER; KOSLOWSKI, 1989; SUNIL et al., 2013). A planta tem uma vida reprodutiva de cerca de 50 anos. Durante o seu crescimento inicial, desenvolve um sistema radicular pivotante com poucas raízes periféricas, variando entre 4 e 5, as quais são, em geral, curtas e pouco desenvolvidas (POMPELLI et al., 2010). Suas folhas são verdes e brilhantes, alternas, esparsas e largas, possuindo entre 6 a 15 cm de comprimento, com forma variando de cordiforme à palmatilobada, com um a seis lóbulos (GUSMÃO, 2010; SUNIL et al., 2013). Segundo a classificação de Eamus (1999), o pinhão-manso é uma espécie semidecídua, entretanto, em regiões mais inóspitas, como o sertão nordestino, a espécie costuma se comportar como uma planta caducifólia, perdendo totalmente suas folhas durante a estiagem (SINGH, et. al., 2013; 2013) Nestas localidades, a

queda quase que completa das folhas pode ser considerada como estratégia para reduzir a perda de água por transpiração, mesmo que suas folhas possam ressurgir logo após as primeiras chuvas (FERNANDES et al., 2013).

A abscisão foliar produz no seu caule numerosas cicatrizes, características da família Euphorbiaceae. O caule é castanho-acinzentado, liso, pouco resistente e ramificado desde a base (HOPPEN, 2011). O tronco e ramos possuem inúmeros vasos lactíferos, cujo látex pode atuar na cicatrização de ferimentos (CRUZ, 2010; FACT FOUNDATION, 2010).

No período de floração, *J. curcas* produz inflorescências na extremidade dos ramos com flores unissexuais (SANTOS et al., 2010). O fruto é do tipo cápsula ovóide, trilocular, com diâmetro variando entre 2,0 à 3,0 cm (POMPELLI et al., 2010), apresentando epicarpo de coloração externa marrom-escura, quando maduro. Estudos indicam que o pinhão-manso pode produzir, em média, 100, 500, 2.000 e 4.000 g de sementes por planta no primeiro, segundo, terceiro e quarto ano de cultivo, respectivamente (TOMINAGA et al., 2007). Essa produtividade, entretanto, depende das condições ambientais e espaçamento entre as plantas. Não obstante, trabalhos publicados recentemente mostram que o genótipo utilizado também interfere no rendimento e no teor de óleo das sementes (AHOTON; QUENUM, 2012; KUMAR, 2012; VENDRAME et al., 2012; SINGH et al.; 2013). Mesmo com a capacidade de se adaptar às mais diversas condições edafoclimáticas, resistindo a longos períodos de seca e crescendo em solos pouco férteis (ARRUDA et al., 2004; DIAS et al., 2007; KUMAR; SHARMA, 2008; ACHTEN et al, 2008), a produtividade de *J. curcas* pode ser afetada em locais com precipitações pluviais abaixo de 600 mm ao ano (HENING, 1999). Sendo assim, para obter alta produtividade de frutos, a planta exige solos férteis e com boas condições físicas (LAVIOLA; DIAS, 2008).

A grande importância econômica do pinhão-manso se deve ao seu potencial para a produção de óleo, devido ao alto teor encontrado nas sementes, que pode variar entre 25 e 58% (POMPELLI et al., 2010; PANDEY et al., 2012). O óleo do pinhão-manso tem sido empregado para várias finalidades devido a sua baixa acidez, boa estabilidade à oxidação e excelentes propriedades de fluidez a baixas temperaturas, sendo usado na medicina como purgativo, bem como na indústria cosmética, na fabricação de tintas e sabões (COSTA et al. 2007; TAPANES et al., 2008). Além disso, tem indicação como lubrificante e combustível usado em motores a diesel (KUMAR; SHARMA, 2008). Quando comparado a outras espécies oleaginosas (*e.g. Ricinus communis* e *Elaeis guineensis*), o óleo do pinhão-manso mostra-se superior, devido ao seu baixo custo de produção e, principalmente, sua composição rica em ácidos graxos insaturados, chegando a valores de até 73% (KUMAR; SHARMA, 2008).

A planta apresenta várias outras potencialidades, como poder ser utilizada para o controle da erosão do solo (REUBENS et al., 2011), mesmo em áreas com solos áridos, devido à estabilidade da estrutura de suas raízes, contribuindo assim para um aumento da cobertura vegetal em ambientes muito secos. Além disso, os subprodutos do pinhão-manso também podem ser aproveitados em aplicações industriais, nas quais o resíduo da extração do óleo pode ser transformado e utilizado como fertilizante natural devido, principalmente, aos altos teores de nitrogênio, potássio, fósforo e matéria orgânica presentes na torta (JONGSCHAAP et al., 2007; POMPELLI et al., 2011). A torta, resultante da extração do óleo da semente também pode ser empregada como biopesticida devido à presença de toxinas fortes, como o éster de forbol (JONGSCHAAP et al., 2007). Porém, quando isenta desta toxina, a torta pode se tornar uma rica fonte de proteínas e fibras para complementar a alimentação animal (MAKKAR; BECKER, 2008; ARROYO et al., 2013). As cascas do fruto também podem ser utilizadas como carvão vegetal e matéria-prima na fabricação de papel (POMPELLI et al., 2011).

Estudos anatômicos em Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae é heterogênea e altamente diversificada (KAPIL; BHATNAGAR, 1994) devido, principalmente, à grande variabilidade de caracteres vegetativos e florais que apresenta. Assim, uma classificação natural ou filogenética não pode levar em conta somente características morfológicas, uma vez que estes caracteres são frequentemente alterados em função dos estresses ambientais (KAPIL; BHATNAGAR, 1994). Neste sentido, os estudos anatômicos e embriológicos constituem uma importante ferramenta para a sistemática e compreensão ecofisiológica.

Entretanto, são raros os trabalhos que descrevam os caracteres anatômicos de órgãos vegetativos da família Euphorbiaceae, tendo destaque os trabalhos com *Manihot caerulescens* (MENDONÇA, 1983; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2009), bem como trabalhos com o gênero *Croton* sp. (PAOLI et al., 1995; FREITAS et al., 2001). Essa carência de estudos anatômicos sobre frutos de Euphorbiaceae constitui uma importante lacuna para os estudos estruturais, principalmente quando se considera que esta família apresenta diversos tipos morfológicos de frutos, tais como esquizocarpo, capsulídeo, drupóide e bacóide (BARROSO et al., 1999). Trabalhos mais recentes (AÑES et al., 2005) têm caracterizado morfológicamente os frutos, as sementes e o desenvolvimento das plântulas de *Jatropha elliptica*. Esse trabalho é um marco no estudo morfológico de *J. elliptica*, pois contribui com informações importantes sobre a caracterização histológica do fruto, bem como sua biometria e deiscência. A semente de *J. elliptica*, apresenta carúncula, hilo visível e rafe bem demarcada (AÑES et al., 2005),

enquanto o embrião é reto, com cotilédones planos, foliáceos e hipocótilo-radícula. A germinação dessa espécie foi classificada como do tipo epígea e fanerocotiledonar (AÑES et al., 2005), descrição também adotada para *J. curcas* (POMPELLI et al., 2010).

Frutos e sementes

Frutos e sementes têm sido objetos de estudo de muitos pesquisadores, resultando em consagradas publicações, como as de Martin (1946), Corner (1976), Roth (1977), Spjut (1994), Werker (1997) e Barroso et al. (1999). Considerando-se que frutos e sementes exibem pequena plasticidade fenotípica (AGUIAR, 2009), diversos autores têm se dedicado a ampliar as informações morfológicas e anatômicas referentes a esses órgãos. Esses estudos podem subsidiar os trabalhos taxonômicos e ecológicos (MARTINS; OLIVEIRA, 2001), uma vez que essas características apresentam valores fitotécnicos relevantes. No que diz respeito às sementes, a carência de estudos descritivos e ontogenéticos da estrutura seminal torna muito difíceis às especulações a respeito das tendências evolutivas que afetaram esse órgão (VONTEICHMAN; VANWYK, 1991). Para Martin (1946), o estudo morfológico da região interna das sementes deve ser associado aos estudos da morfologia externa; sendo a caracterização das sementes baseada em diversos caracteres morfológicos e anatômicos, como tamanho e coloração, consistência do tegumento (seco ou carnosos – sarcotesta), número de tegumentos, posição da camada mecânica no tegumento (testal ou tégmica), presença de material de reserva (albuminosa ou exalbuminosa), tipo de material de reserva (endosperma ou perisperma), tipo de endosperma (nuclear, celular ou helobial), presença de apêndices e estruturas especiais (asa, pêlo, arilo, arilóide, carúncula, estrofíolo e elaiossomo), assim como tamanho, formato, número de cotilédones e curvatura do embrião (VIDAL; VIDAL, 2007; BELTRATI; PAOLI, 2004; PAOLI, 2006). Porém, muitas dessas características não podem ser determinadas em sementes maduras, mas apenas pelo estudo do desenvolvimento dos óvulos até a completa maturação das sementes (CORNER, 1976; OLIVEIRA; PAIVA, 2005). Neste sentido, após estudos com cerca de 1290 gêneros de 155 famílias de Angiospermas, Martin (1946) promoveu uma classificação baseada na proporção dos embriões em relação ao endosperma, bem como nas diferenças de forma e posição do embrião no interior da semente.

Diversos estudos indicam que a família Euphorbiaceae apresenta frutos em forma de cápsula com deiscência explosiva, que pode ser septicida, septicida-loculicida ou loculicida; mais raramente, encontram-se frutos drupáceos, bacáceos ou samaróides (CORDEIRO, 1992; SÁTIRO; ROQUE, 2008; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2009). As sementes das espécies desta família são, em geral, carunculadas, com tegumentos membranáceos, carnosos ou pétreos; o endosperma é usualmente presente e o embrião, na maioria das vezes, é reto, com eixo

hipocótilo-radícula cônico, apresentando dois cotilédones planos, arredondados e foliáceos (CORDEIRO, 1992; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2009).

A resistência mecânica e a composição química do tegumento podem estar diretamente relacionadas com a dormência tegumentar em algumas espécies (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; BRIGGS et al., 2005). Ademais, análises anatômicas e histoquímicas são comumente utilizadas para determinar e localizar barreiras mecânicas e/ou químicas no tegumento de sementes e assim orientar métodos de quebra de dormência. Características qualitativas e quantitativas do material de reserva estão relacionadas não apenas com o potencial de uso, mas também com a longevidade das sementes e condições de armazenamento (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Compostos fenólicos

As plantas produzem uma grande variedade de substâncias, as quais, à primeira vista, não apresentariam nenhuma função envolvida nos processos de crescimento e desenvolvimento vegetal e por isso foram, primariamente, classificadas como metabólitos secundários (VICKERY; VICKERY, 1981; MAKKAR et al., 2007). Dentre esses metabólitos estão os compostos fenólicos, os quais são amplamente distribuídos no reino vegetal e definidos como produtos secundários (GERSHENZON; ENGELBERTH, 2010), contendo grupamentos fenólicos, sintetizados principalmente a partir de produtos da rota de ácido chiquímico (CHEYNIER et al., 2013). Os compostos fenólicos fazem parte de uma grande família com mais de 10000 substâncias químicas de grande heterogeneidade. Em geral, estes compostos apresentam diferentes funções nas plantas, atuando tanto na defesa contra herbivoria, como na síntese da lignina (GERSHENZON; ENGELBERTH, 2010; HOPPEN, 2011) ou nas interações planta *versus* patógeno (CHEYNIER et al., 2013). Os compostos fenólicos também são responsáveis pelas propriedades organolépticas e cores de muitas flores e frutos (CAMPANELLA, 1993; POMPELLI et al., 2007).

Os compostos fenólicos se destacam como os principais inibidores encontrados em diferentes estruturas das sementes, interferindo, com frequência, no processo germinativo (KURAS et al., 1999). Nas sementes de arroz, por exemplo, a dormência pode ser resultado da ação dos compostos fenólicos localizados no endosperma, no embrião e na casca (AMARAL, 1992). Nas sementes de mamão, esses compostos, quando presentes na sarcotesta, são responsáveis pela germinação lenta e desuniforme (TOKUHISA et al., 2007), enquanto que, em *J. curcas*, a presença de compostos fenólicos costuma reduzir ou atrasar a germinação das sementes, caso os compostos fenólicos não sejam lixiviados previamente do contato com a semente (POMPELLI et al., 2010). Entretanto, a inibição da germinação,

promovida pelos compostos fenólicos, varia de acordo com sua localização na semente (MACIEL et al., 1992). Quando presentes na casca das sementes, os compostos fenólicos interferem no processo de germinação, por consumir o oxigênio necessário ao processo respiratório, restringindo assim, a quantidade de oxigênio que chega ao embrião (BEWLEY; BLACK, 1994; PIÑOL; PALAZÓN, 1996). A localização da estrutura que fixa o oxigênio, entretanto, não se dá unicamente no envoltório da semente, podendo ser encontrada também no embrião, como ocorre em *Curcubita* sp. (TOOLE et al., 1956). Assim, os compostos fenólicos podem atuar nos processos biológicos das sementes, como também apresentar efeitos sinérgicos no alongamento da radícula, crescimento de plântulas e no brotamento de gemas (EINHELLING et al., 1982; DIETRICH, 1986). A ação inibitória da germinação, atribuída aos compostos fenólicos pode ser explicada pela indicação desses compostos como ativadores ou inibidores do sistema enzimático, favorecendo ou não a atividade das auxinas, que atuam, em conjunto com as citocininas e o ácido abscísico na formação do embrião e na dormência da semente (GERSHENZON; ENGELBERTH, 2010).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHTEN, W. M. J. et al. *Jatropha* bio-diesel production and use. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.32, n.12, p.1063-1084, 2008.

_____. Towards domestication of *Jatropha curcas*. **Biofuels**, London, v.1, n.1, p.91-107, 2010.

AGUIAR, S.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; KINOSHITA, L. S. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v.23, n.3, p.729-737, 2009.

AHOTON, L. E.; QUENUM, F. Floral biology and hybridization potential of nine accessions of physit nut (*Jatropha curcas* L.) originating from three continents. **Tropicultura**, Bruxelles, v.30, n.4, p.193-198, 2012.

AMARAL, A. S. Aspectos da dormência em sementes de arroz. **Lavoura arrozeira**, Porto Alegre, v.45, n.405, p.3-6, 1992.

AÑES, L. M. M. et al. Caracterização morfológica dos frutos, das sementes e do desenvolvimento das plântulas de *Jatropha elliptica* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.28, n.1, p.563-568, 2005.

ARROYO, B. J. et al. Desintoxicación de la torta de *Jatropha curcas* L. como alternativa de alimento para ganado bovino. **Revista Actualidad & Divulgación Científica**, Bogotá, v. *in press*, 2013.

ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativo para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.8, n.1, p.789-799, 2004.

BARROSO, G. M. et al. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa, MG: Editora da UFV, 1999. 443p.

BELTRÃO, N. E. M. Agronegócio das oleaginosas no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.229, p.14-17, 2005.

BELTRATI, C. M.; PAOLI, A. A. S. Sementes. In: Appezzato-da-Glória, B.; Carmello-Guerreiro, S. M. **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2004. p.399-424.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BRASIL, Ministério da Indústria e Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. **Óleos vegetais: experiência de uso automotivo desenvolvido pelo programa OVEG I**. Brasília, 1985. 344p.

_____. Ministério das Minas e Energia. **Boletim mensal dos combustíveis renováveis**. n.42, 2011. Disponível em: < <http://www.mme.gov.br> >. Acesso em: 08 jun 2013.

BRIGGS, C. L.; MORRIS, E. C.; ASHFORD, A. E. Investigations into seed dormancy in *Grevillea linearifolia*, *G. buxifolia* and *G. sericea*: anatomy and histochemistry of the seed coat. **Annals of Botany**, Oxford, v.96, n.6, p.965-980. 2005.

CAMPANELLA, L. et al. Determination of phenol in wastes and water using an enzyme sensor. **The Analyst**, Cambridge, v.118, n.8, p.979-986. 1993.

CHEYNIER, V. et al. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, n. *in press*; doi 10.1016/j.plaphy.2013.05.009, 2013.

CORDEIRO, I. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Euphorbiaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.13, n.1, p.169-217, 1992.

CORNER, E. J. H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University Press, UK., 1976. 311p.

COSTA, R. A bela ou a fera? **Biodieselbr**, Curitiba, v.1, n.3, p. 16-20, 2008.

COSTA, R. V. et al. Crescimento inicial do pinhão manso em função de diferentes profundidades da cova e formas de adubação com lodo de esgoto em área degradada. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 2, nov. 2007, Brasília. **Anais...** 2007. p.77-80.

CRUZ, T. M. C. D. **Abordagem fisiológica e molecular da capacidade de tolerância à seca de *Jatropha curcas* L.:** uma planta resistente à seca. 2010. 85p. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2010.

- DIAS, L. A. S. et al. **Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.):** para produção de óleo combustível. Viçosa, MG: UFV, 2007. 40p.
- DIETRICH, S. M. C. Inibidores de crescimento. In: FERRI, M. G. (Coord.). **Fisiologia Vegetal**. 2.ed. São Paulo: EPU/EDUSP, 1986. cap.7, p.193-212.
- DUARTE, A. Esperança nacional. **Biodieselbr**, Curitiba, v.1, n.1, p.24-34, 2008.
- EAMUS, D. Ecophysiological traits of deciduous and evergreen woody species in the seasonally dry tropics. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v.14, n.1, p.11-16. 1999.
- EINHELLING, F. A.; SCHON, M. K.; RASMUSSEM, J. A. Sinergistic effects of four cinnamic acid compounds on grain sorghum. **Journal of Plant Growth Regulation**, York, v.1, n.4, p.251-258, 1982.
- EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais). **Coletânea sobre pinhão manso**. 2003. Disponível em: < http://www.agroecologia.pro.br/arquivos/aulas/saf/especies_safs/pinhao_manso.pdf > Acesso em: 29 set. 2013.
- ESCOBAR, J. C. et al. Biofuels: environment, technology and food security. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s.i], v.13, n.6-7, p.1275-1287, 2009.
- FACT FOUNDATION. **The Jatropha Handbook: from Cultivation to Application**. Netherlands: Fact, 2010. 116p.
- FARIAS, L. A. **Biodiesel: histórico, uso de impactos ambientais**. Campina Grande, 2012. Disponível em: < www.portaleducação.com.br/biologia/artigos/16994/biodiesel-historico-uso-e-impactos-ambientais >. Acesso em: 04 out. 2013.
- FERNANDES, J. D. et al. Fenologia e produção do pinhão manso cultivado com diferentes fontes de adubação. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.44, n.2, p. 339-346, 2013.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.
- FONTES, G.; A.; FONTES, K.; A. O plano nacional de biodiesel: PNPB a partir de uma análise do princípio constitucional da redução das desigualdades sociais e regionais. In Encontro Nacional do CONPEDI, 19. Fortaleza, jun. 2010. **Anais...** 2010. p.132-133.
- FREITAS, L. et al. Nectaries and reproductive biology of *Croton sarcopetalus* (Euphorbiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.136, n.1, p.267-277. 2001.
- GERSHENZON, J.; ENGELBERTH, J. E. Secondary metabolites and plant defense. In: Taiz, L.; Zeiger, E. (Eds.) **Plant Physiology**, 5 ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2010. p.369-400.
- GOLDEMBERG, J.; NIGRO, F. E. B.; COELHO, S. T. **Bioenergia no Estado de São Paulo: situação atual, Perspectivas, barreiras e propostas**, 1 ed. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 2008. 152p.

- GUSMÃO, C. A. G. **Desempenho do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) de segundo ano submetido a diferentes doses e relações NPK.** 2010. 81p. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal no Semiárido) Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2010.
- HELLER, J. **Physic nut. *Jatropha curcas* L.: promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.** 1 ed. Roma: IPGRI, 1996. 66p.
- HENNING, R. K. **The *Jatropha* System in Zambia** – Evaluation of the existing *Jatropha* activities and proposals for an implementation strategy in Southern Province of Zambia. 1999. Disponível em: <<http://www.jatropha.de/zimbabwe>>. Acesso em: 18 jun. 2012.
- HOPPEN, C. **Efeito de diferentes fontes de fitorreguladores na morfogênese de diferentes procedências e explantes de *Jatropha curcas* L. cultivados *in vitro*.** 2011. 130p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- JONGSCHAAP, R. E. E. et al. **Claims and facts on *Jatropha curcas*.** Global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Laren: Plant Research International B.V., 2007. 66p.
- KAPIL, R. N.; BHATNAGAR, A. K. The contribution of embryology to the systematic of the Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Washington, v.81, n.1, p.145-159. 1994.
- KRAMER, P. J.; KOSLOWSKI, T. **Physiology of wood plants.** New York: Academic Press, 1989. 811p.
- KUMAR, A. ***Jatropha curcas*: high yielding accessions and improvements.** Cartajena, Colômbia, 2012. Disponível em: <www.corpoica.org.co/SitioWeb/Documento/JatrophaContrataciones/RAJASTAN-PROF.KUMAR.pdf>. Acesso em: 04 out. 2013.
- KUMAR, A.; SHARMA, S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): a review. **Industrial Crops and Products**, [s.i.], v.28, n.1, p.1-10. 2008.
- KURAS, M. et al. Cytochemical localization of phenolic compounds in columella cells of the root cap in seeds of *Brassica napus* - changes in the localization of phenolic compounds during germination. **Annals of Botany**, Oxford, v.84, n.2, p.135-143, 1999.
- LAVIOLA, B. G.; DIAS, L. A. S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão manso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.5, p.1969-1975. 2008.
- LIMA-FILHO, D. O.; PRADO-SOGABE, V.; COSTA-CALARGE, T. C. Mercado de biodiesel: um panorama mundial. **Espacios**, Caracas, v.29, n.1, p.5-27, 2008.
- LINDFELT, E. G.; WESTRMARK, M. O. Biofuel production with CCS as a strategy for creating a CO₂ - neutral road transport sector. **Energy Procedia**, Washington, v.1, n.1, p.4111-4118. 2009.

MACIEL, A. S.; BORGES, E. E. L.; BORGES, R. C. G. Determinação da presença de fenóis em sementes de espécies florestais e sua relação com inibidores de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.14, n.1, p.1-8, 1992.

MAKKAR, H. P. S.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. **Plant Secondary Metabolites**. New Jersey: Humana Press, 2007. 130p.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Potential of *J. curcas* seed meal as a protein supplement to livestock feed, constraints to its utilisation and possible strategies to overcome constraints. In: GÜBITZ, G.; MITTELBAACH, M., et al. (Eds.) **Biofuels and industrial products from *Jatropha curcas***. Managua, Nicaragua: Dbv-Verlag für die Technische Universität Graz, 2008. p.190-205.

MARENGO, J. A. et al. Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. **Climate Dynamics**, [s.i.] v.35, n.6, p.1073-1097, 2010.

_____. et al. Development of regional future climate change scenarios in South America using the Eta CPTEC/HadCM3 climate change projections: climatology and regional analyses for the Amazon, São Francisco and the Paraná River basins. **Climate Dynamics**, [s.i.] v.38, n.9-10, p.1829-1848, 2012.

MARTIN, A. C. The comparative internal morphology of seeds. **The American Midland Naturalist**, Notre Dame, v.3, n.3, p.513-660, 1946.

MARTINS, M. A. G.; OLIVEIRA, D. M. T. Morfo-anatomia e ontogênese do fruto e semente de *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kuntze (Fabaceae: Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.24, n.1, p.109-121, 2001.

MENDONÇA, M. S. Estudo de plantas laticíferas. I. Aspectos anatômicos e distribuição de vasos laticíferos em *Manihot caerulescens* Pohl. **Acta Amazonica**, Amazônia, v.13, n.1, p.501-517, 1983.

OLIVEIRA, J. H. G.; OLIVEIRA, D. M. T. Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Manihot caerulescens* Pohl e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.32, n.1, p.117-129, 2009.

OLIVEIRA, S. J. C.; BELTRÃO, N. E. M. Crescimento do Pinhão Manso (*Jatropha curcas*) em função da poda e da adubação química. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.14, n.1, p.9-17, 2010.

OLIVEIRA, D. M. T.; PAIVA, E. A. S. Anatomy and ontogeny of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae: Faboideae) seed. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v.65, n.3, p.483-494, 2005.

PAHL, G. **Biodiesel: growing a new energy economy**. 2 ed. Windsor County, USA: Bill McKibben, 2008. 370p.

PANDEY, V. C. et al. *Jatropha curcas*: A potential biofuel plant for sustainable environmental development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s.i.] v.16, n.5, p.2870-2883, 2012.

PAOLI, A. A. S. Semente. In: SOUZA, L. A. (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa: Editora UEPG. 2006. p.124-200.

PAOLI, A. A. S., FREITAS, L.; BARBOSA, J. M. Caracterização morfológica dos frutos, sementes e plântulas de *Croton floribundus* Spreng. e de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.17, n.1, p.57-68, 1995.

PARENTE, E. J. S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza: Unigráfica, 2003. 66p.

PIÑOL, M.T.; PALAZÓN, J. Metabolismo secundário. In: BIETO-AZCON, J.; TALON, M. **Fisiologia y bioquímica vegetal**. Madri: McGraw-Hill, 1996. p.273-283.

POMPELLI, M. F. et al. Biotechnologies for ornamental plants: some insights to the Brazilian productive chain. **International Journal of Horticultural Science**, Budapest, v.13, n.1, p.51-59. 2007.

_____. Crise energética mundial e o papel do Brasil na problemática de biocombustíveis. **Agronomia Colombiana**, Bogotá, v.29, n.2, p.231-240, 2011.

_____. et al. Environmental influence on the physico-chemical and physiological properties of *Jatropha curcas* L. seeds. **Australian Journal of Botany**, Victoria, v.58, n.6, p.421-427, 2010.

RAMOS, L. P. Papel dos biocombustíveis no cenário Brasileiro. In: Congresso Brasileiro de Soja, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, p. 124-113, 1999.

REUBENS, B. et al. More than biofuel? *Jatropha curcas* root system symmetry and potential for soil erosion control. **Journal of Arid Environments**, Trelew, v.75, n.2, p.201-205, 2011.

ROTH, I. **Fruits of Angiosperms**. Gebrüder Borntraeger, Berlin. (Handbuch der Pflanzenanatomie), 1977, 675p.

SANTOS, C. M. et al. Fenologia e crescimento do pinhão manso cultivado na zona da mata do Estado de Alagoas, Brasil. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.11, n.3, p.201-209, 2010.

SÁTIRO, L. N.; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v.22, n.1, p. 99-118. 2008.

SATURNINO, H. M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.229, p.44-78, 2005.

SEBRAE. **Biodiesel**. Brasília: Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, n.62, 2009.

_____. **Biodiesel**. Brasília: Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, n.68, 2010.

SINGH, B. et al. Global agro-ecological challenges in commercial biodiesel production from *Jatropha curcas*: Seed productivity to disease incidence. In: BHARDWAJ, A.; ZENONE, T.

(Eds.). **Sustainable Biofuels : An Ecological Assessment of the Future Energy**. Berlin: HEP-China & De Gruyter-Germany, *v.in press*, 2013.

_____. The field performance of some accessions of *Jatropha curcas* L. (biodiesel plant) on degraded sodic land in North India. **International Journal of Green Energy**, [s.i.] v.10, n.10, p.1026-1040, 2013.

SUNIL, N. et al. Minimal descriptors for characterization and evaluation of *Jatropha curcas* L. germplasm for utilization in crop improvement. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.48, n.1, p.239-249, 2013.

SPJUT, R.W. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, New York, v.70, n.1, p.1-182. 1994.

TAPANES, N. C. et al. Transesterification of *Jatropha curcas* oil glycerides: Theoretical and experimental studies of biodiesel reaction. **Fuel**, [s.i.], v.87, n.1, p.2286-2295. 2008.

TOKUHISA, D. et al. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Semente**, Londrina, v.29, n.3, p.180–188, 2007.

TOMINAGA, N.; KAKIDA, J. E.; YASUDA, E. K. **Cultivo de pinhão manso para produção de biodiesel**. Viçosa: CPT, 2007. 220p.

TOOLE, E. H. et al. Physiology of seed germination. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.7, n.1, p.299-324, 1956.

VENDRAME, W. A. et al. Performance of *Jatropha curcas* L. accessions under different microclimate conditions in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Florida, v.125, n.1, p.9-12, 2012.

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. **Secondary plant metabolism**. Hong Kong: The Macmillan Press, 1981. 335p.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica – Organografia: Quadros Sinóticos II. de Fanerógamos**, 4, ed. Viçosa, MG: UFV, 2007. 124p.

VON TEICHMAN, I.; VAN WYK, A. E. Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachychalazy and recalcitrance. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.105, n.1, p.211-237, 1991.

WERKER, E. **Seed anatomy**. Gebrüder Borntraeger, Berlin. (Handbuch der Pflanzenanatomie), 1977, 424p.

MANUSCRITO

Manuscrito a ser submetido à revista *American Journal of Botany*, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Botânica.

1 **Running head:** Corte Real et al. - Caracterização e estudo ontogenético de frutos e sementes
2 de *Jatropha curcas* L

3

4 Caracterização e estudo ontogenético de frutos e sementes de *Jatropha curcas* L.¹

5

6 Natália Corte Real²; Laurício Endres³; Thiago C. Santos³; Mariana L. O. Campos²; Emília C.
7 P. Arruda⁴; Cláudia Ulisses⁵; Marcelo F. Pompelli^{2,6}.

8 ² Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento
9 de Botânica, CCB, Recife, PE, Brasil, 50670-901

10 ³ Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brasil,
11 57072-900

12 ⁴ Laboratório de Anatomia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil,
13 50670-901

14 ⁵ Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
15 Recife, PE, Brasil, 52171-900

16 ⁶ Autor para correspondência: Fax +55 81 2126 7803. Email: mfpompelli@gmail.com

17

18 ¹Manuscript received _____; revision accepted _____.

19

20

21

22

1 RESUMO

- 2 • *Premissa do estudo:* A fisiologia do amadurecimento dos frutos do pinhão-manso
3 (*Jatropha curcas* L.) envolve desde a produção de fotoassimilados para formação e
4 desenvolvimento do embrião até o acúmulo de óleo na semente. Diante disso, buscou-se no
5 presente trabalho identificar as estruturas envolvidas na ontogenia dos frutos e sementes de
6 *J. curcas*.
- 7 • *Métodos:* Foram coletados frutos de indivíduos adultos de *J. curcas* em dez estádios de
8 desenvolvimento, variando de acordo com os dias após a antese (DAA). A partir desse
9 material foram realizadas ilustrações botânicas à nanquim e testes histoquímicos, como
10 também, secções anatômicas seriadas para caracterizações botânicas, as quais foram
11 registradas a partir de fotomicroscópio óptico e de varredura.
- 12 • *Resultados chave:* Os frutos de pinhão-manso são deiscentes, com cocas que se fendem
13 longitudinalmente. O mesocarpo apresenta grande quantidade de laticíferos que podem ser
14 ramificados ou não, articulados ou não. Nos frutos maduros é possível observar feixes
15 colaterais na periferia do mesocarpo e feixes colaterais em U na região mais próxima ao
16 endocarpo. A testa é multisseriada com uma região mais externa lignificada com presença
17 de macroesclereídes. Na semente, a presença do funículo persiste até o 07 DAA,
18 desaparecendo com sua maturação. Inicialmente, o embrião consiste de um eixo
19 hipocótilo-radícula, dois cotilédones sésseis sendo os primórdios caulinar e radicular
20 representados pelos respectivos meristemas apicais.
- 21 • *Conclusões:* A presença de macroesclereídes e fibras presentes no tegumento da semente
22 confere à mesma, a rigidez necessária para proteção do embrião, porém, aparentemente, e
23 não interferem negativamente no processo germinativo.

24 **Palavras-chave:** anatomia; biodiesel; desenvolvimento, pinhão-manso

1 O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), pertencente à família Euphorbiaceae, é uma
2 planta perene, monóica, com hábito arbóreo e de fácil propagação. Seu centro de origem é
3 ainda é incerto, embora acredite-se que a espécie seja nativa da América Central, se encontre
4 bem disseminada e adaptada pela América Tropical, Ásia e África (Henning, 1999). No
5 Brasil, a espécie ocorre naturalmente desde a região Sudeste e Centro Oeste do Brasil, até o
6 Norte e, sobretudo, nos estados do Nordeste brasileiro, além de Goiás e Minas Gerais
7 (Epamig, 2003).

8 *J. curcas* apresenta diversas características morfofisiológicas que despertam atenção.
9 Dentre elas, destaca-se sua rápida produção de flores e frutos, geralmente a partir do segundo
10 ano, e sua produtividade satisfatória por pelo menos 30 anos (Pompelli et al., 2011).
11 Entretanto, a produtividade do pinhão-manso varia conforme a região de cultivo e é
12 diretamente dependente da regularidade pluviométrica e fertilidade do solo, além de depender
13 de tratos culturais adequados (Drumond et al., 2010). *J. curcas* apresenta ainda um grande
14 potencial econômico, principalmente pelo uso de suas sementes como matéria-prima para
15 obtenção de óleo destinado à produção de biodiesel, uma vez que sua composição pode
16 encerrar até 58% de óleo (p/p) (Pompelli et al., 2010), o qual é constituição, formado por
17 cerca de 73% de ácidos graxos insaturados (Pramanik, 2003): os preferíveis pelas indústrias
18 de biodiesel (Moncaleano-Escandon et al., 2013). Além da utilização como biodiesel, o óleo
19 de *J. curcas* pode ser usado na fabricação de sabão e tinta, ou mesmo como base nas
20 indústrias farmacêutica e cosmética na produção de cremes, géis, pomadas e sabonetes
21 (Augustus et al., 2002; Kheira and Atta, 2009). Devido as suas raízes ramificadas e
22 superficiais, a espécie pode ser, ainda, empregada para evitar a erosão do solo (Reubens et al.,
23 2011). Devido a essas características, o pinhão-manso é uma boa fonte de renda alternativa

1 para produtores familiares localizados em regiões áridas e semiáridas do mundo, bem como
2 na Caatinga (Openshaw, 2000; Achten et al., 2008; Kumar and Sharma, 2008).

3 Como o principal uso comercial do pinhão-mansão são suas sementes, a formação
4 desta estrutura deve ser estudada com uma conotação botânica e bioquímica. Sabe-se que o
5 desenvolvimento dos frutos e seu padrão de qualidade são fortemente influenciados pela
6 atividade fotossintética, sendo esses órgãos de reserva, juntamente com as sementes em
7 desenvolvimento, drenos com grande capacidade de influenciar a produção de
8 fotoassimilados durante a fotossíntese (Silva et al., 2011). Dentre esses fotoassimilados estão
9 os óleos, que são a base das reservas da semente das espécies oleaginosas como os
10 representantes da família Euphorbiaceae como uma das suas principais representantes
11 (Ferreira and Borghetti, 2004).

12 A caracterização dos frutos e sementes é baseada em diversos caracteres
13 morfológicos e anatômicos, como consistência e número de tegumentos, bem como a
14 localização da camada mecânica destes, presença e tipo de material de reserva, tipo de
15 endosperma, presença de apêndices e estruturas especiais, assim como tamanho, coloração,
16 formato, número de cotilédones e curvatura do embrião (Beltrati and Paoli, 2004; Paoli, 2006;
17 Vidal and Vidal, 2007). Como a grande maioria destas características pode não ser claramente
18 visualizada em frutos e sementes maduras, estudos ontogenéticos se tornam fundamentais
19 para a completa descrição destas estruturas (Corner, 1976; Oliveira and Paiva, 2005). Por
20 meio de estudos ontogenéticos e histoquímicos é possível verificar padrões morfológicos e
21 anatômicos comuns entre táxons, indicar prováveis formas de especialização nos órgãos
22 analisados, bem como fornecer bases seguras de compreensão de estruturas e substâncias
23 importantes para o desenvolvimento da planta.

1 Ademais, os estudos anatômicos podem fornecer informações sobre o acúmulo de
2 material de reserva em sementes e definir características tegumentares que possam estar
3 relacionadas com a dormência das sementes. O conhecimento destes conceitos pode orientar
4 possíveis práticas fitotécnicas para manejo de *J. curcas*, visto que a germinação é um período
5 crítico do sucesso vegetal. Quando se pensa em estudos ontogenéticos com Euphorbiaceae, a
6 amplitude de trabalho é bastante reduzida. E quando o foco de pesquisa é *J. curcas*, inexistem
7 qualquer publicação até o momento. Nesse contexto, o presente trabalho objetivou a
8 identificação das estruturas produzidas durante a ontogenia dos frutos e sementes de *J.*
9 *curcas*, caracterizando os principais eventos que ocorrem em cada uma das fases do
10 desenvolvimento de frutos e sementes, bem como identificar as reservas presentes nas
11 sementes maduras.

12

13

MATERIAIS E MÉTODOS

14 *Área de estudo e desenho experimental*

15 Os estudos foram realizados em um cultivo experimental na Universidade Federal de Alagoas
16 (09°27'60" S; 35°49'41" W, 131 m.a.s.l.), no município de Rio Largo, AL, Brasil. A região é
17 descrita como uma planície costeira, situada na Zona da Mata alagoana, caracterizada por
18 apresentar um clima tropical com estação seca no verão, marcada entre setembro e fevereiro,
19 e período chuvoso entre os meses de maio e agosto (Pompelli et al., 2010). A precipitação
20 média anual da região é de, aproximadamente, 1500 mm, sendo o mês de junho caracterizado
21 como o mais chuvoso e novembro o mais seco (Sudene, 2012). Cumpre ressaltar que durante
22 o período avaliado (janeiro a abril de 2012), na região estudada a precipitação média mensal
23 foi de $79,7 \pm 26,9$ mm, sendo o mês de janeiro o mais chuvoso (108,2 mm) e abril o mais seco

1 (43,2 mm). No mesmo período avaliado, a temperatura média se manteve na faixa de 28°C
2 (Agritempo, 2013).

3 Plantas adultas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), com idade média de oito anos,
4 foram selecionadas para este estudo. O cultivo experimental foi obtido a partir de um banco
5 de semente, abrangendo uma ampla variedade genética. O espaçamento entre as plantas foi de
6 2 x 2 m, totalizando, aproximadamente, 2500 plantas por hectare. Anualmente, durante a
7 estação chuvosa, cada planta recebeu 170 g de fósforo como superfosfato simples. Para
8 equilibrar as taxas de S-SO₄, carregado pelo fósforo, foi utilizado calcário para complementar
9 os níveis de S e Ca. As taxas de N e K₂O foram de 350 e 170 g por planta, aplicadas,
10 respectivamente, como uréia e cloreto de potássio.

11 Os dados de precipitação e temperatura do ar durante o período do experimento foram
12 obtidos na estação Meteorológica automática do Centro de Ciências Agrárias da Universidade
13 Federal de Alagoas – UFAL (9°27'55" S, 35°49'42" W, 133 m.a.s.l.).

14

15 *Coleta e preparação de material*

16 Ramos florais terminais foram, isoladamente e aleatoriamente, marcados em indivíduos
17 adultos. A partir desse momento, o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos foi
18 acompanhado desde a antese até o dia da coleta, com a respectiva formação dos frutos. De
19 acordo com os dias após antese (DAA) (Tabela 1), frutos de dez estádios de desenvolvimento
20 foram coletados e utilizados neste estudo. Todos os frutos, independente do seu DAA, foram
21 prontamente fixados em FAA50 (Johansen, 1940) por 48 horas, seguindo-se a conservação
22 em álcool etílico 70% (Jensen, 1962). Os materiais foram, então, encaminhados ao
23 Laboratório de Anatomia Vegetal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal
24 de Pernambuco (LAVeg/UFPE) onde foram processados. Amostras do material vegetal foram

1 submetidas à desidratação em série etanol-butanol terciário (50% a 100%) em sistema de
2 vácuo. Posteriormente, o material foi transferido ao butanol puro onde permaneceu por 12h.
3 Completado o processo de desidratação, as amostras foram, então, infiltradas e incluídas em
4 parafina em série butanol-parafina (3:1, 1:1, 1:3), sendo, posteriormente, transferidas para a
5 parafina pura efetuando-se mais 2-3 trocas. Todo o procedimento de infiltração e inclusão em
6 parafina foi realizado em estufa a 60°C (para mais detalhes da técnica ver Kraus and Arduin
7 (1997).

8 Os materiais emblocados foram processados no Laboratório de Cultura de Tecidos
9 Vegetais (LCTV/UFRPE) e no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE).
10 Secções seriadas de 10 µm de espessura foram realizadas a partir de um micrótomo rotativo
11 (mod. RM 2135 – Leica, Englewood, CO, USA). Os materiais foram, então, corados com
12 dupla coloração, (i.e. 1 hora em azul de Alcian, seguindo por 20 minutos em safranina) e,
13 posteriormente, montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá (Bukatsch,
14 1972). O registro fotográfico foi obtido a partir de um fotomicroscópio óptico (mod. DM 500
15 – Leica, Englewood, CO, USA) utilizando o software de processamento de imagens Leica
16 Application Suite LA EZ, versão 2.0.0 (Leica, Englewood, CO, USA).

17 Parte dos cortes obtidos no micrótomo foram submetidos a testes histoquímicos
18 através da utilização de Sudam III (Pearce, 1972) para lipídios totais; Dicromato de potássio
19 (Gabe, 1968) para compostos fenólicos não estruturais; Lugol (Johansen, 1940) para amido;
20 Vermelho de rutênio (Johansen, 1940) para pectinas e Azul de Coomassie (Fisher, 1968) para
21 proteínas totais.

22 Para a análise das células do tegumento individualizadas, foi utilizada a técnica de
23 dissociação por meio da utilização da solução de peróxido de hidrogênio e ácido acético 1:1
24 (v/v) (Franklin, 1945) ou com hipoclorito de sódio 50% quando pertinente. Após

1 descoloração natural, o material foi lavado em água destilada até a completa remoção da
2 solução de dissociação (Franklin) ou do hipoclorito de sódio, e corado com safranina 1%
3 aquosa (Kraus and Arduin, 1997). As lâminas semi-permanentes foram montadas em
4 glicerina 50% (Purvis et al., 1964).

5 Parte do material fixado foi desidratada em séries crescentes de etanol (50%, 70%,
6 90% e 100%) e posteriormente submetida ao ponto crítico (HCP-2 – HITACHI) e
7 metalizados no Fine Coat – 1100 – JEOL. O material foi observado no MEV JEOL - JSM
8 5600LV (Núcleo de Plataforma Tecnológica-1 / Centro de Pesquisas Ageu
9 Magalhães/CPqAM-FIOCRUZ e Laboratório de Microscopia Eletrônica/ Laboratório de
10 Imunopatologia Keizo Asami/LIKA-UFPE).

11

12 ***Ilustrações botânicas***

13 Para caracterizações morfológicas foram confeccionadas ilustrações botânicas em nanquim
14 contendo os diferentes estádios de desenvolvimento dos frutos, bem como flores masculinas e
15 femininas. Para uma caracterização mais detalhada utilizou-se um estereomicroscópio com
16 câmara clara (mod. SFC-11C N2GG, Motic, British Columbia, Canada).

17

18 ***Biometria dos frutos***

19 Em cada um dos estádios após antese, o diâmetro polar e equatorial de 20 frutos foram
20 obtidos com a utilização de um paquímetro digital (Zaas Precision, Piracicaba, SP, Brasil).

21

RESULTADOS

1

Caracterização da flor

2

3 As flores de *J. curcas* são unissexuais (Fig. 1; Fig. 2) dispostas em inflorescências terminais
4 monóicas, apresentando coloração amarelo-esverdeada, além de pentâmeras. As flores
5 femininas (Fig. 1A; Fig.2A) apresentam pedúnculos longos e isolados, ovário súpero com
6 nectário em sua base, três carpelos com três estigmas bifurcados e três lóculos, produzindo,
7 cada, um óvulo. As flores masculinas (Fig. 1B; Fig. 2B) são diplostêmones, com 10 estames
8 homodínamos, unidos apenas pela base. As anteras são bitecadas e livres entre si, com
9 deiscência do tipo longitudinal.

10

Caracterização do desenvolvimento do fruto

11

12 O desenvolvimento do fruto aconteceu de modo constante ao longo dos estádios avaliados
13 cujas particularidades serão destacadas.

14 Os frutos apresentam diâmetro polar variando de 2,9 a 34 mm e diâmetro equatorial
15 variando de 1,9 a 28,6 mm, atingindo seu máximo de desenvolvimento por volta de 47 DAA.
16 Estas medidas mostram leves reduções com a desidratação dos frutos promovida a partir de
17 54 DAA, quando o fruto se torna seco e escurecido. Independente do estádio de
18 desenvolvimento, os frutos têm formato oval (Fig. 1C-J), com epicarpo apresentando
19 coloração externa variando entre verde claro (de 4 DAA a 27 DAA), amarelo citrino (de 40
20 DAA a 47 DAA) ou marrom escuro (a partir de 54 DAA). Os frutos de *J. curcas* são
21 provenientes de ovário tricarpelar e trilocular, com um óvulo em cada lóculo (Fig. 2C-J; Fig.
22 3A-B). Em alguns casos, entretanto, pode ser observada a má formação ou aborto de um
23 óvulo (Fig. 2F; 2I; Fig. 3C-D) ou mesmo dois dos óvulos (Fig. 2G).

1 Do ponto de vista anatômico, foi possível observar que a região central do fruto é
2 representada por uma coluna central persistente denominada de carpóforo, que apresenta três
3 grandes feixes colaterais, os quais correspondem aos feixes ventrais presentes no ovário da
4 flor (Fig. 3C). A partir dos septos desta estrutura é possível perceber ainda o tecido de
5 separação de cada um dos merocarpos (Fig. 3A-C; Fig.4A).

6 Quanto ao desenvolvimento do pericarpo, foi possível perceber que nos estádios
7 iniciais de desenvolvimento, o exocarpo ou epicarpo do fruto apresenta uma única camada de
8 células (Fig. 4B), apresentando cutícula delgada e estômatos ao mesmo nível das demais
9 células epidérmicas (dados não mostrados). A partir de 13 DAA é possível observar divisões
10 mitóticas periclinais da camada de células inicial com a formação de uma nova camada no
11 epicarpo, o qual torna-se, então, biestratificado (Fig. 4B). O mesocarpo é multiestratificado
12 apresentando um único estrato de células (Fig. 4A-F), resultante de divisões celulares em
13 vários planos tornando-se constituído por células parenquimáticas e isodiamétricas, nas quais
14 se observam idioblastos contendo drusas (Fig. 4C), além de grande quantidade de laticíferos e
15 feixes vasculares colaterais laterais (Fig. 4D-F). Os laticíferos estão dispersos por todo o
16 mesocarpo e podem ser ramificados ou não (Fig. 4D), bem como articulados ou não. Vale
17 salientar, ainda, que, aparentemente, os frutos mais jovens apresentam laticíferos em maior
18 número, quando comparados aos mais diferenciados. Com, aproximadamente, 27 DAA é
19 possível observar feixes colaterais, localizados na região mais externa do mesocarpo, assim
20 como na região mais interna adjacente ao endocarpo, assumindo forma de U (Fig. 5A-B). É
21 possível observar, ainda, que a partir de 54 DAA o mesocarpo torna-se mais fino, devido ao
22 colapso de algumas células, quando comparado às fases anteriores (Fig. 5C-D),
23 caracterizando a murcha do fruto, quando completamente maduro.

1 O endocarpo se caracteriza pela presença de 3 a 5 camadas de células (dados não
2 mostrados). Entretanto, com a maturação do fruto, essa camada do pericarpo mostra
3 perceptíveis modificações sendo observados dois estratos de células, um mais externo cujas
4 células tornam-se alongadas tangencial e obliquamente e um mais interno cujas células são
5 isodiamétricas (Fig. 5B). Em ambos os estratos, as células tornam-se completamente
6 espessadas a partir de 27 DAA (Fig. 5A-B;D).

7

8 *Caracterização do desenvolvimento da semente*

9 O desenvolvimento da semente, incluindo tegumentos, endosperma e embrião, nos diferentes
10 estádios, pode ser acompanhado através das figuras 6A-F e 7A-D.

11 As sementes apresentam uma carúncula esbranquiçada bastante desenvolvida, recobrando a
12 região da micrópila, formada por células parenquimáticas isodiamétricas que, provavelmente,
13 acumulam substâncias lipídicas e/ou protéicas (Fig. 6A). Além disso, são oriundas de óvulos
14 anátropos (Fig. 6C). Até 7 DAA a semente ainda permanece ligada ao fruto pelo funículo
15 (Fig. 6C-D), que desaparece a partir do 13 DAA, quando a semente se apresenta madura.

16

17 *Tegumentos da semente*

18 As sementes apresentam testa e tégmen (Fig. 7B) sendo, portanto, bitégmicas. A testa é
19 multisseriada e apresenta cerca de 8-10 camadas de células de espessura com perfeita
20 distinção entre exotesta, mesotesta e endotesta (Fig.7B; D). A exotesta é unisseriada e se
21 caracteriza pela presença de células epidérmicas, que até 22 DAA são poliédricas, tornando-se
22 alongadas e esclerificadas a partir de 27 DAA. Entretanto, algumas células da exotesta
23 permanecem sem lignificação ao longo de toda a semente (Fig. 7B; D; Fig. 8A-D). Ainda
24 nessa camada é possível visualizar esclereídes do tipo macroesclereídes (Fig. 9A), bem como

1 fibras que podem se encontrar isoladamente (Fig. 9B), ou em arranjos de estrela (Fig. 9C) ou
2 agrupadas longitudinalmente (Fig. 9D). A mesotesta é multisseriada, com células não
3 lignificadas isodiamétricas, além de apresentar muitos laticíferos e drusas. A endotesta é
4 unisseriada com células curtas, colunares, com paredes delgadas e sem espessamentos (Fig.
5 7B).

6 O tégmen é multisseriado e mais espesso em número de camadas de células, podendo
7 atingir entre 20-30 camadas. Da mesma forma que a testa, o tégmen pode ser nitidamente
8 subdividido em exotégmen, mesotégmen e endotégmen (Fig. 7B; D).

9 O exotégmen é formado por uma camada de células cujas paredes inicialmente são
10 colunares e curtas, não apresentando espessamentos. Entretanto, a partir de 22 DAA, as
11 células se tornam anticlinalmente alongadas, com paredes espessadas. O mesotégmen é
12 constituído por amplas células não lignificadas parenquimáticas em intensa atividade mitótica
13 ao longo do desenvolvimento da semente, sendo encontrados feixes vasculares colaterais que
14 formam um anel em volta do embrião. Esses feixes percorrem parcialmente o mesotégmen e
15 atingem a região da calaza, que mostra colapso ao longo do desenvolvimento da semente,
16 com a maturação do embrião. O endotégmen, que delimita o embrião, apresenta-se
17 unisseriado, formado por curtas células que não apresentam espessamento de parede.

18 A partir de 27 DAA é possível identificar a presença de substâncias lipídicas (ou
19 compostos fenólicos) no tegumento da semente, assim como a presença de esclereídes no
20 mesotégmen. A partir de 40 DAA, o exotégmen, que nos estádios anteriores (até 27 DAA) era
21 formado por uma única camada de células, se apresenta agora com arranjo multiestratificado
22 (Fig. 7 B; D).

23

24

1 *Endosperma e embrião*

2 Imediatamente abaixo dos tegumentos da semente se encontra o embrião, que até 22 DAA
3 constituía uma simples estrutura esférica, caracterizada por um reduzido aglomerado de
4 células indiferenciadas, mas que a partir de 27 DAA mostra-se mais desenvolvido (Fig. 6F).
5 Concomitante ao desenvolvimento embrionário é possível observar o desenvolvimento do
6 endosperma. O endosperma é composto por amplas células parenquimáticas que armazenam
7 substâncias lipídicas e proteicas. A partir de 18 DAA, o endosperma começa a ser consumido
8 em detrimento da diferenciação dos tecidos embrionários e aumento do corpo do embrião,
9 embora grande parte do endosperma permaneça visível, uma vez que a semente de *J. curcas* é
10 classificada como endospermada.

11 A partir de 40 DAA, o embrião apresenta eixo hipocótilo-radícula, plúmula e dois
12 amplos cotilédones delgados, planos e sésseis (Fig. 6E; 7C), cujas extremidades são
13 representadas pelos meristemas apicais (Fig. 7A). Os testes histoquímicos foram realizados
14 em sementes no último estágio de desenvolvimento conforme apresentados na tabela 3.

15

16

DISCUSSÃO

17 De modo geral, são escassas as informações sobre a anatomia de órgãos reprodutivos de
18 Euphorbiaceae na literatura, devido, principalmente, à dificuldade de obtenção de material
19 para análise (Bobrov et al., 2005). Por isso, muitos trabalhos se baseiam em caracteres
20 morfológicos externos, que podem trazer informações imprecisas, ou até mesmo, errôneas.

21 Características morfológicas básicas do fruto de pinhão-mansó foram descritas por
22 Pompelli et al. (2010), os quais mencionaram a presença de uma semente dentro de cada
23 lóbulo, sendo encontradas, três sementes por fruto. Essa observação também foi relatada no
24 presente trabalho, ressaltando, porém, a ocorrência, não rara, de aborto dos óvulos em diversos

1 frutos dessa espécie. Segundo Mayhew (2006), é comum a ocorrência de abortos seletivos em
2 plantas, principalmente pela incompatibilidade genética entre os óvulos e os tubos polínicos.
3 Nesse sentido, a polinização com grãos de pólen com baixa variabilidade genética em relação
4 à flor receptora aumenta as chances de ocorrer aborto (Bressan et al., 2013). Esse fenômeno,
5 apontado por Bressan et al. (2013), pode então, explicar a perda de semente visualizada em
6 frutos de *J. curcas*, visto que essa espécie apresenta um sistema misto de reprodução,
7 combinando autofecundação, apomixia, de forma assexuada e sem troca de pólen.

8 Quando maduros, os frutos secos apresentam um mecanismo de deiscência que
9 envolve, desde a estrutura e arranjo dos tecidos do pericarpo, como a ocorrência de um tecido
10 de sutura que percorre desde o exocarpo até o endocarpo (Fahn and Zohary, 1955; Roth,
11 1977; Souza, 2006). Segundo Gagliardi et al. (2012), o arranjo das fibras e macroesclereídes
12 presentes no mesocarpo dos frutos de Euphorbiaceae estão dispostos de forma que as células
13 de uma camada estão entrelaçadas às células da outra camada. Esse entrelaçamento é
14 promovido pelo movimento da água durante o processo de desidratação que antecede a
15 deiscência (Gagliardi et al., 2012), e que leva a um aumento da pressão interna do pericarpo
16 provocando a abertura do fruto (Roth, 1977). Possivelmente, é esta desidratação ocorrida com
17 a maturação dos frutos que os deixa levemente menores do que os frutos verdes, ou verde-
18 maduros. Em geral são descritos dois tipos fundamentais de mecanismos de deiscência em
19 frutos: e.g., o higroscópico e o de turgor (Aguiar et al., 2009). O mecanismo do tipo
20 higroscópico está relacionado com o encolhimento ou distensão das paredes celulares mortas,
21 enquanto que o mecanismo do tipo turgor depende de células vivas. Assim, a partir do
22 observado nesse trabalho pode-se inferir que a deiscência de *J. curcas* é do tipo higroscópica
23 xerocásica, uma vez que, ao longo do desenvolvimento, o pericarpo sofre encolhimento e se
24 desidrata, diminuindo consideravelmente seu tamanho. Esta constatação é corroborada pelos

1 trabalhos de Gagliardi et al. (2012), os quais estudaram as espécies *Euphorbia graminea*
2 Jacq., *E. heterophylla* L., *E. hirta* e *E. prostrata* Aiton, pertencentes à família Euphorbiaceae,
3 nas quais o fenômeno da xerocasia também ocorre.

4 A lignificação do endocarpo, que ocorre nos últimos estádios de desenvolvimento,
5 contribui para a proteção e o crescimento das sementes no interior dos frutos, bem como
6 também auxilia na deiscência do mesmo, possivelmente devido à presença de uma linha de
7 deiscência que ocorre nas fibras no mesocarpo (Aguiar, Carmello-Guerreiro, and Kinoshita,
8 2009). Segundo Gagliardi et al. (2012), os frutos da família Euphorbiaceae apresentam um
9 tecido de sutura entre os carpelos, também evidenciado nesse estudo em *J. curcas*, o qual
10 formará a fenda de abertura do pericarpo, permanecendo ligados apenas pelo carpóforo, típico
11 dos frutos esquizocarpos. Essa classificação também foi encontrada em outros frutos de
12 diversas espécies das Euphorbiaceae (Barroso et al., 1999).

13 Mesmo após completa desidratação, os frutos de *J. curcas* mantêm suas sementes no
14 seu interior. Esse mecanismo é descrito, por muitos autores, como serotinia, sendo um
15 mecanismo muito comum em regiões com climatologia fortemente sazonal, em regiões de
16 solos pobres e sujeitos à uma deficiência hídrica frequente (Lamont et al., 1991). Esse
17 fenômeno também é comum no cerrado, onde as plantas são frequentemente afetadas pelo
18 fogo (Simon and Pennington, 2012).

19 As sementes das espécies da família Euphorbiaceae apresentam, em geral, uma
20 conformação muito semelhante, uma vez que todas têm um endosperma bem desenvolvido,
21 carnosos e ricos em reservas, sendo os lipídios as principais substâncias de reserva (Barroso et
22 al., 1999). As observações descritas nesse trabalho para *J. curcas* seguem o padrão relatado
23 por outros trabalhos para outras espécies da família Euphorbiaceae, e.g., *Ricinus communis*
24 (Singh, 1954), *Croton bonplandianum* (Singh and Chopra, 1970), *Manihot caerulescens* e

1 *Manihot tripartita* (Oliveira and Oliveira, 2009), *Dalechampia stipulacea* (Silva and Souza,
2 2009), que apresentam óvulos do tipo anátropos, pêndulos, bitegumentados, crassinucelados,
3 com sementes providas de carúncula e rafe bem demarcada.

4 A carúncula ou elaiossomo é uma estrutura muito comum em espécies da família
5 Euphorbiaceae (Oliveira and Oliveira, 2009). Em termos gerais, o elaiossomo mostra uma
6 região carnosa e comestível da semente, que tem como principal função atrair formigas (Lisci
7 et al., 1996). Ademais, a carúncula também pode induzir a dormência e auxiliar a absorção de
8 água do solo (Lisci et al., 1996). A presença de uma carúncula bem desenvolvida e rica em
9 compostos lipídicos parece ser uma das características das sementes de *J. curcas*. Esta
10 estrutura está envolvida no processo de mimercocoria (i.e. dispersão dos frutos/sementes,
11 tendo as formigas como vetor), como também foi destacado nas sementes de *Manihot*
12 *caerulescens* e *M. tripartita*, descrito por Oliveira and Oliveira (2009). Para essas duas
13 espécies, entretanto, os autores descrevem uma carúncula cuticulada, característica que não
14 foi observada nas sementes de *J. curcas*. Em sementes de *R. communis* a carúncula parece
15 também estar envolvida no processo de desidratação, reidratação e germinação das sementes
16 (Bianchini and Pacini, 1996).

17 A testa da semente, aparentemente, é o tegumento que mais apresenta modificações
18 ao longo do desenvolvimento, principalmente pelo colapso das células e afinamento das
19 camadas da mesotesta, como um mecanismo que promove a comunicação do embrião com o
20 meio externo depois da completa maturação da semente. Com efeito, tem-se sugerido que esta
21 estrutura possa favorecer a obtenção de água, sais e oxigênio dentre outros fatores associados
22 ao processo de germinação (Miranda et al., 2011).

23 É sabido que as macroesclereídes estão intimamente relacionadas com a
24 impermeabilidade de água das sementes (Gopinathan and Babu, 1985), podendo, algumas

1 vezes, serem consideradas como promotoras da dormência tegumentar da espécie. Essa
2 evidência parte do princípio de que a presença das macroesclereídes pode impedir a passagem
3 de água para o embrião em desenvolvimento (Ferreira et al., 2011). Entretanto, é possível que
4 em *J. curcas*, as macroesclereídes presentes no tegumento das sementes não imponham essa
5 barreira física para a passagem de água, uma vez que as sementes dessa espécie são ortodoxas
6 e apresentam um teor de água bastante elevado (~18%), o que permite uma rápida e fácil
7 captação de água quando em processo de embebição (Pompelli et al., 2010). Provavelmente,
8 essa permeabilidade encontrada nas sementes de pinhão-mansão seja possibilitada pelos
9 espaçamentos entre as células da testa, semelhantes à linha fissural (pleurograma) das
10 sementes de leguminosas e como o canal hilar, presente em Cactaceae a qual são regiões de
11 maior fragilidade na superfície do tegumento, o que também facilita a embebição da semente
12 (Margarido, 1977; Lima, 1985; Melo-Pinna et al., 1999; Orozco-Segovia et al., 2007). Ainda
13 segundo Orozco-Segovia et al. (2007), a primeira fase na germinação das sementes de
14 *Opuntia tomentosa* inicia-se pela abertura desse canal, através do qual o embrião entra em
15 contato com a água, favorecendo assim, a retomada do metabolismo e emissão da radícula.

16 Além das barreiras físicas, os frutos e sementes de *J. curcas* apresentaram uma grande
17 concentração de idioblastos contendo compostos fenólicos. Essas substâncias fenólicas,
18 quando presentes no tegumento da semente, impedem a passagem de oxigênio, levando à
19 limitação desse gás para o embrião, acarretando dormência (Taylorson and Hendricks, 1977).
20 Ademais, esse grupo de substâncias pode atuar como defesa química dos vegetais contra a
21 predação (Swain, 1979). Estas substâncias se tornam fundamentais em regiões inóspitas,
22 como ocorre nas regiões áridas e semiáridas, de onde *J. curcas* parece ser nativa. Nestas áreas,
23 a espécie encontra-se adaptada sem que exista grande predação dos frutos e sementes por
24 herbívoros, possivelmente devido a grande presença de compostos fenólicos nas sementes

1 dessa espécie (Pompelli et al., 2010). Cumpre ressaltar, entretanto, que as substâncias
2 fenólicas, por sua natureza solúvel em água, são facilmente lixiviadas das sementes de *J.*
3 *curcas* durante o processo de embebição e germinação (Pompelli et al., 2010).

4 Sendo assim, o afinamento e colapso, que ocorrem tanto no pericarpo quanto na
5 testa, bem como a presença de poros na superfície do tegumento, possivelmente estão
6 envolvidos na facilitação da passagem de substâncias, principalmente, água e oxigênio,
7 promovendo a retomada do metabolismo embrionário e emissão da radícula, garantindo o
8 sucesso da germinação

9

10

CONCLUSÃO

11

12

13

14

15

16

A ontogênese ajuda a corroborar a morfoanatomia típicas de representantes da família
Euphorbiaceae como as encontradas em *Jatropha curcas*, tais como a presença de grande
quantidade de laticíferos, com carúncula bem desenvolvida e endosperma ocupando maior
parte da semente. Sendo a garantia do sucesso do desenvolvimento embrionário relacionada
com a grande quantidade de reserva de lipídeos e proteínas, bem como a presença de um
tegumento rígido que fornece proteção ao embrião.

17

18

19

Como contribuição mais significativa, esse trabalho mostra que a rigidez do tegumento
seminal é dada pela presença de fibras e esclereides as quais certamente estão envolvidas com
o processo de germinação.

20

21

22

23

24

Sendo assim, do ponto de vista reprodutivo, esses aspectos aliados aos já conhecidos
na literatura, são determinantes para o sucesso adaptativo e competitivo dessa espécie nas
várias condições ambientais em que são expostas.

LITERATURA CITADA

- 1
- 2 ACHTEN, W. M. J., L. VERCHOT, Y. J. FRANKEN, E. MATHIJS, V. P. SINGH, R. AERTS, and B.
3 MUYS. 2008. *Jatropha* bio-diesel production and use. *Biomass Bioenerg* 32: 1063-
4 1084.
- 5 AGRITEMPO. 2013. Sistema de Monitoramento Agrometeorológico Website
6 www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario?uf=BA [accessed Apr 25 2013].
- 7 AGUIAR, S., S. M. CARMELLO-GUERREIRO, and L. S. KINOSHITA. 2009. Ontogenia e estrutura
8 do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). *Acta Bot Bras*
9 23: 729-737.
- 10 AUGUSTUS, G. D. P. S., N. M. JAYABALA, and G. J. SEILERB. 2002. Evaluation and
11 bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. *Biomass Bioenerg* 23: 161-
12 164.
- 13 BARROSO, M. B., N. P. MORIN, A. L. PEIXOTO, and C. L. F. ICHASO. 1999. Frutos e sementes.
14 Morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Editora da UFV, Viçosa.
- 15 BELTRATI, C. M., and A. A. S. PAOLI. 2004. Sementes. In B. Appezzato-da-Glória AND S.
16 M. Carmello-Guerreiro [eds.], *Anatomia Vegetal*, 399-424. UFV, Viçosa.
- 17 BIANCHINI, M., and E. PACINI. 1996. The caruncle of *Ricinus communis* L. Its development
18 and role in seed dehydration, rehydration and germination. *Int J Plant Sci* 157: 40-48.
- 19 BOBROV, A. V. F. C., P. K. ENDRESS, A. P. MELIKIAN, M. S. ROMANOV, A. N. SOROKIN, and
20 A. P. BEJERANO. 2005. Fruit structure of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). *Bot*
21 *J Linn Soc* 148: 265-274.
- 22 BRESSAN, E. A., A. M. SEBBENN, R. R. FERREIRA, T. S. GERALD LEE, and A. FIGUEIRA. 2013.
23 *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) exhibits a mixed mating system, high correlated
24 mating and apomixis. *Tree Genet Genomes* 9: 1089-1097.
- 25 BUKATSCH, F. 1972. Bemerkungen zur doppelfärbung astrablau-safranin. *Mikrokosmos* 61:
26 255-255.
- 27 CORNER, E. J. H. 1976. The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press, Cambridge.
- 28 DRUMOND, M., C. A. F. SANTOS, V. R. OLIVEIRA, J. C. MARTINS, J. B. ANJOS, and M. R. V.
29 EVANGELISTA. 2010. Desempenho agrônômico de genótipos de pinhão manso no
30 Semiárido pernambucano. *Ciência Rural* 40: 44-47.
- 31 EPAMIG. 2003. Coletânea sobre pinhão-manso Website
32 http://www.agroecologia.pro.br/arquivos/aulas/saf/especies_safs/pinhao_manso.pdf
33 [accessed 07 setembro 2013].
- 34 FAHN, A., and M. ZOHARY. 1955. On the pericarpial structure of the legumen, its evolution
35 and relation to dehiscence. *Phytomorphology* 5: 99-111.
- 36 FERREIRA, A. G., and F. BORGHETTI. 2004. Germinação: do básico ao aplicado. Artmed, Porto
37 Alegre.
- 38 FERREIRA, N. R., L. B. FRANKE, and M. C. C. MOÇO. 2011. Estudos morfo-anatômicos
39 relacionados à dormência em *Adesmia tristis* Vogel (Fabaceae). *Rev Bras Sem* 33.
- 40 FISHER, D. B. 1968. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy.
41 *Histochemie* 16: 92-96.
- 42 FRANKLIN, G. 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin
43 composites and a new macerating method of wood. *Nature* 155: 51.
- 44 GABE, M. 1968. Techniques histologiques. Masson et Cie, Paris.
- 45 GAGLIARDI, K. B., A. ROSADO, L. A. SOUZA, I. S. MOSCHETA, and A. L. M. ALBIERO. 2012.
46 Structure and development of fruits and seeds of weed species of Euphorbiaceae. *Acta*
47 *Bot Bras* 26: 38-45.

- 1 GOPINATHAN, M. C., and C. R. BABU. 1985. Structural Diversity and its Adaptive
2 Significance in Seeds of *Vigna minima* (Roxb.) Ohwi & Ohashi and its Allies
3 (Leguminosae-Papilionoideae). *Ann Bot* 56: 723-732.
- 4 HENNING, R. K. 1999. The *Jatropha* System in Zambia, Evaluation of the existing *Jatropha*
5 activities and proposals for an implementation strategy in Southern Province of
6 Zambia, Germany.
- 7 JENSEN, W. A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman, San
8 Francisco.
- 9 JOHANSEN, D. A. 1940. Plant microtechnique. 3rd ed. Paul B. Hoeber, Inc, New York.
- 10 KHEIRA, A. A., and N. M. M. ATTA. 2009. Response of *Jatropha curcas* L. to water deficit:
11 Yield, water use efficiency and oil seed characteristics. *Biomass Bioenerg* 33: 1343-
12 1350.
- 13 KRAUS, J. E., and M. ARDUIN. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal.
14 Universidade Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- 15 KUMAR, A., and S. SHARMA. 2008. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial
16 uses (*Jatropha curcas* L.): A review. *Ind Crops Prod* 28: 1-10.
- 17 LAMONT, B. B., D. C. LEMAITRE, R. M. COWLING, and N. J. ENRIGHT. 1991. Canopy seed
18 storage in woody-plants. *Bot Rev* 57: 277-317.
- 19 LIMA, M. P. M. 1985. Morfologia dos frutos e sementes dos gêneros da tribo Mimoseae
20 (Leguminosae-Mimosoideae) aplicada à Sistemática. *Rodriguesia* 37: 53-78.
- 21 LISCI, M., M. BIANCHINI, and E. PACINI. 1996. Structure and function of elaiosome in some
22 Angiosperm species. *Flora* 191: 131-141.
- 23 MARGARIDO, J. M. 1977. Aspectos anatômicos do desenvolvimento do fruto e da semente de
24 *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae). Dissertação de mestrado, Universidade
25 Federal de São Paulo, São Paulo.
- 26 MAYHEW, P. 2006. Discovering Evolutionary Ecology: Bringing together ecology and
27 evolution. Oxford University Press, Oxford.
- 28 MELO-PINNA, G. F. A., M. S. M. NEIVA, and D. C. A. BARBOSA. 1999. Estrutura do
29 tegumento seminal de quatro espécies de Leguminosae (Caesalpinioideae), ocorrentes
30 numa área de caatinga (PE Brasil). *Rev Bras Bot* 22: 375-379.
- 31 MIRANDA, R. Q., M. T. P. OLIVEIRA, R. M. CORREIA, J. S. ALMEIDA-CORTEZ, and M. F.
32 POMPELLI. 2011. Germination of *Prosopis juliflora* (Sw) DC seeds after scarification
33 treatments. *Plant Species Biol* 26: 186-192.
- 34 MONCALEANO-ESCANDON, J., B. C. F. SILVA, S. R. S. SILVA, J. A. GRANJA, M. C. J. L.
35 ALVES, and M. F. POMPELLI. 2013. Germination responses of *Jatropha curcas* L.
36 seeds to storage and aging. *Ind Crops Prod* 44: 684-690.
- 37 OLIVEIRA, D. M. T., and E. A. S. PAIVA. 2005. Anatomy and ontogeny of *Pterodon*
38 *emarginatus* (Fabaceae: Faboideae) seed. *Braz J Biol* 65: 483-494.
- 39 OLIVEIRA, J. H. G., and D. M. T. OLIVEIRA. 2009. Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo
40 de *Manihot caerulescens* Pohl e *M. tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Rev Bras*
41 *Bot* 32: 117-129.
- 42 OPENSHAW, K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise.
43 *Biomass Bioenerg* 19: 1-15.
- 44 OROZCO-SEGOVIA, A., J. MÁRQUEZ-GUZMÁN, M. E. SÁNCHEZ-CORONADO, A. GAMBOA DE
45 BUEN, J. M. BASKIN, and C. C. BASKIN. 2007. Seed anatomy and water uptake in
46 relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). *Annals of*
47 *Botany* 99: 581-592.

- 1 PAOLI, A. A. S. 2006. Semente. In L. A. Souza [ed.], Anatomia do fruto e da semente, 124-
2 200. Editora UEPG, Ponta Grossa.
- 3 PEARSE, A. G. E. 1972. Histochemistry: theoretical and applied. 3^a ed. The Williams &
4 Wilkins Company, Baltimore
- 5 POMPELLI, M. F., D. T. R. G. FERREIRA, P. P. G. S. CAVALCANTE, T. L. SALVADOR, B. S.
6 HSIE, and L. ENDRES. 2010. Environmental influence on the physico-chemical and
7 physiological properties of *Jatropha curcas* L. seeds. *Aust J Bot* 58: 421-427.
- 8 POMPELLI, M. F., A. J. OROZCO, M. T. O. OLIVEIRA, B. M. RODRIGUES, M. O. BARBOSA, M.
9 G. SANTOS, A. F. M. OLIVEIRA, et al. 2011. Crise energética mundial e o papel do
10 Brasil na problemática de biocombustíveis. *Revista Agronomía Colombiana* 29: 361-
11 371.
- 12 PRAMANIK, K. 2003. Properties and use of *Jatropha curcas* oil and diesel fuel blends in
13 compression ignition engine. *Renew Energ* 28: 239-248.
- 14 PURVIS, M. J., D. C. COLLIER, and D. WALLS. 1964. Laboratoty techniques in botany.
15 Butterworths, London.
- 16 REUBENS, B., W. M. J. ACHTEN, W. H. MAES, F. DANJON, R. AERTS, J. POESEN, and B.
17 MUYS. 2011. More than biofuel? *Jatropha curcas* root system symmetry and potential
18 for soil erosion control. *J Arid Environ* 75: 201-205.
- 19 ROTH, I. 1977. Fruits of Angiosperms. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- 20 SILVA, A. C., and L. A. SOUZA. 2009. Morphology and anatomy of the developing fruit and
21 seed of *Dalechampia stipulacea* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). *Acta Sci Biol Sci* 35:
22 425-432.
- 23 SILVA, D. M., K. T. SANTOS, and M. M. DUARTE. 2011. Eficiência fotoquímica em folhas do
24 mamoeiro (*Carica papaya* L.) cv. Golden durante o estágio reprodutivo e
25 caracterização da ontogenia dos frutos. *Rev Bras Frutic* 33: 1066-1073.
- 26 SIMON, M. F., and T. PENNINGTON. 2012. Evidence for adaptation to fire regimes in the
27 tropical savannas of the Brazilian Cerrado. *Int J Plant Sci* 173: 711-723.
- 28 SINGH, R. P. 1954. Structure and development of seeds in Euphorbiaceae: *Ricinus communis*
29 L. *Phytomorphology* 4: 118-123.
- 30 SINGH, R. P., and S. CHOPRA. 1970. Structure and development of seeds in *Croton*
31 *bonplandianum*. *Phytomorphology* 20: 83-87.
- 32 SOUZA, L. A. 2006. Fruto. In L. A. Souza [ed.], Anatomia do fruto e da semente. Editora
33 UEPG, Ponta Grossa.
- 34 SUDENE. 2012. Programa de monitoramento climático em tempo real da região Nordeste
35 Website www6.cptec.inpe.br/proclima2/balanco_hidrico/balancohidrico.shtml
36 [accessed 30 may 2012].
- 37 SWAIN, T. D. 1979. The importance of flavoloids and related compounds in fern taxonomy
38 and ecology. *Bull Torrey Bor Club* 107: 113-153.
- 39 TAYLORSON, R. B., and S. B. HENDRICKS. 1977. Dormancy in seeds. *Ann Rev Plant Phys* 28:
40 331-354.
- 41 VIDAL, W. N., and M. R. R. VIDAL. 2007. Botânica - Organografia: Quadros Sinóticos II. de
42 Fanerógamos, 124. UFV, Viçosa.

43

44

TABELA 1. Estádios de desenvolvimento dos frutos de *Jatropha curcas* relacionados com as datas de antese, de coleta e DAA, evidenciando a idade e as características biométricas dos frutos em desenvolvimento (\pm desvio padrão).

Estádio	Antese	Coleta	DAA	Diâmetro (mm)	
				Longitudinal	Equatorial
I	12/01/2012	16/01/2012	04	2,95 \pm 0,28	1,87 \pm 0,09
II	12/01/2012	19/01/2012	07	4,42 \pm 0,43	3,28 \pm 0,12
III	12/01/2012	25/01/2012	13	5,62 \pm 0,80	4,42 \pm 0,27
IV	12/01/2012	30/01/2012	18	16,51 \pm 0,74	11,31 \pm 0,40
V	12/01/2012	03/02/2012	22	26,53 \pm 1,4	19,88 \pm 0,12
VI	12/01/2012	08/02/2012	27	31,20 \pm 0,05	22,99 \pm 2,18
VII	22/02/2012	02/04/2012	40	33,91 \pm 2,87	27,70 \pm 2,07
VIII	22/02/2012	09/04/2012	47	33,94 \pm 1,26	28,57 \pm 0,97
IX	22/02/2012	16/04/2012	54	31,76 \pm 0,25	28,39 \pm 0,63
X	22/02/2012	20/04/2012	58	28,02 \pm 0,02	24,13 \pm 0,95

TABELA 2. Compostos identificados, através de testes histoquímicos, na cutícula, tegumento e embrião (incluindo endosperma) nas sementes maduras de *Jatropha curcas* L.

Teste	Composto	Coloração observada	Cutícula	Tegumento	Endosperma/embrião
Sudan III	Lipídios totais	Alaranjado	-	-	+
Dicromato de Potássio	Compostos fenólicos	Castanho-avermelhado	-	+	-
Lugol	Amido	Marrom/negro	-	-	-
Vermelho de rutênio	Pectinas	Rosa/vermelho	-	-	+
Azul de Coomassie	Proteína	Azul claro	+	-	+

Lista de legendas das figuras:

Fig. 1. Visão externa de flores e frutos de *Jatropha curcas*, em diferentes estádios de desenvolvimento. A – flor feminina; B – flor masculina; C – fruto com 13 dias após antese (DAA); D – fruto com 18 DDA; E – fruto com 22 DDA; F – fruto com 27 DAA; G – fruto com 40 DAA; H – fruto com 47 DAA; I – fruto com 54 DAA; J – fruto com 58 DAA. (pe = pétala; se = sépala; re = receptáculo; pd = pedúnculo). Para mais detalhes dos estádios de desenvolvimento, ver tabela 1

Fig. 2. Visão interna de flores e frutos de *Jatropha curcas*, em diferentes estádios de desenvolvimento. A – flor feminina; B – flor masculina; C – fruto com 13 dias após antese (DAA); D – fruto com 18 DDA; E – fruto com 22 DDA; F – fruto com 27 DAA; G – fruto com 40 DAA; H – fruto com 47 DAA; I – fruto com 54 DAA; J – fruto com 58 DAA. (an = antera; fi = filete; eg = estigma; et = estilete; ov = ovário; ne = nectário; ol = óvulo; ep = epicarpo; me = mesocarpo; em = endocarpo; lo – lóculo; ea = embrião abortado te = tegumento; es = endosperma). Para mais detalhes dos estádios de desenvolvimento, ver tabela 1.

Fig. 3. Fotomicrografias do corte transversal do fruto de *Jatropha curcas*. A – visão geral do fruto de 04 DAA mostrando os três lóculos; B – fruto de 07 DAA; C – fruto no terceiro estádio de desenvolvimento, evidenciando feixes colaterais no centro do fruto (seta); D – Detalhe óvulo abortado. (oa = óvulo abortado). Barras = 100µm (D); 200µm (A, B e C).

Fig. 4. Fotomicrografias dos pericarpos dos frutos de *Jatropha curcas* em cortes transversais corados com azul de Alcian e safranina. A – imagem do fruto e semente com 04 DAA, mostrando a fissura (seta) entre merocarpos; B – epicarpo e mesocarpo do fruto com 07 DAA; C – pericarpo do fruto com 13 DAA; D – epicarpo e mesocarpo do fruto com 18 DAA, evidenciando laticíferos (seta); E – epicarpo e mesocarpo, em frutos com 22 DAA, na região entre merocarpos; F – epicarpo e mesocarpo em frutos com 27 DAA. Barras = 20µm (B); 100µm (A, C e D), 200µm (E e F)

Fig. 5. Fotomicrografias dos pericarpos dos frutos de *Jatropha curcas* em cortes transversais. A – mesocarpo e endocarpo de fruto em 40 DAA, em destaque feixes anficrivais (seta) próximo à região mais interna; B – mesocarpo e endocarpo de fruto em 47 DAA; C – epicarpo e mesocarpo de frutos com 54 DAA, mostrando o fruto mais seco e com a camada mais externa murcha; D – pericarpo apresentando lise das células em frutos totalmente maduros com 58 DAA. Barras = 100µm (C); 200µm (A, B e C).

Fig. 6. *Jatropha curcas* em diferentes estádios de desenvolvimento. A – corte longitudinal do fruto e semente em 04 DAA, mostrando carúncula na semente (seta); B – corte longitudinal de fruto e semente, evidenciando dois lóculos, em 07 DAA; C – corte longitudinal dos frutos e das sementes de dois lóculos em 13 DAA, mostrando a posição anátropa, semente anátropa; D – detalhe do funículo (seta) na semente em lóculo do fruto em 18 DAA, em corte transversal; E – corte longitudinal, detalhe do cotilédone com 22 DAA evidenciando nervura cotiledonar (seta); F – detalhe do corpo do embrião em estágio cordiforme, com 27 DAA. Barras = 100µm (F), 200µm (A, B, C, D e E).

Fig. 7. Fotomicrografias da semente de *Jatropha curcas* em diferentes estádios de desenvolvimento, corados com azul de Alcian e safranina. A – detalhe do meristema radicular do embrião com 40 DAA; B – tegumento da semente com 47 DAA; C – detalhe dos cotilédones em embrião com 54 DAA; D – tegumento da semente completamente desenvolvido, com 58 DAA, mostrando a redução do tamanho da mesotesta. Barras = 100µm (B, C e D); 200µm (A).

Fig. 8. Eletromicrografias de varredura do tegumento da semente de *Jatropha curcas*. A – visão superficial da testa, evidenciando a distribuição de concavidades nessa camada, evidenciando pontos não lignificados (setas); B – detalhe da concavidade vista na superfície da testa da semente; C – visão da estratificação do tegumento da semente, destacando a presença de concavidade, formando um poro na camada (seta); D – detalhe da estratificação de transição do tegumento da semente. (te = testa; ent = endotesta; etg = exotégmen). Barras = 50µm (B); 100µm (C e D); 1mm (A).

Fig. 9. Fotomicrografias de estruturas presentes no tegumento das sementes de *Jatropha curcas*, coradas com safranina. A – macroesclereíde; B – fibra isolada; C – fibras arranjadas em forma de estrela; D – fibras agrupadas longitudinalmente. Barras = 20µm (A); 100µm (B, C e D).

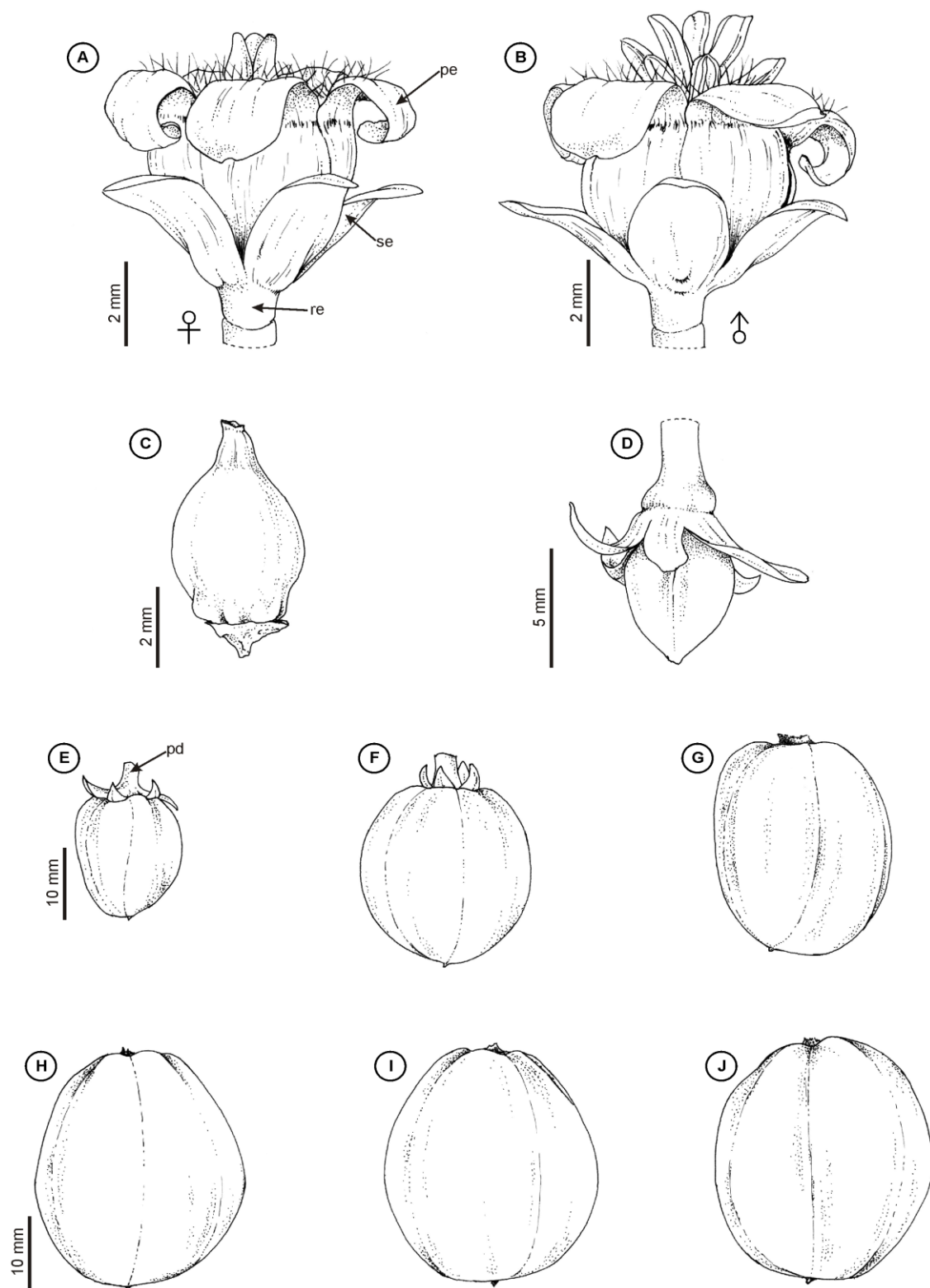


FIGURA 1. Visão externa de flores e frutos de *Jatropha curcas*, em diferentes estádios de desenvolvimento. A – flor feminina; B – flor masculina; C – fruto com 13 dias após antese (DAA); D – fruto com 18 DAA; E – fruto com 22 DAA; F – fruto com 27 DAA; G – fruto com 40 DAA; H – fruto com 47 DAA; I – fruto com 54 DAA; J – fruto com 58 DAA. (pe = pétala; se = sépala; re = receptáculo; pd = pedúnculo). Para mais detalhes dos estádios de desenvolvimento, ver tabela 1.

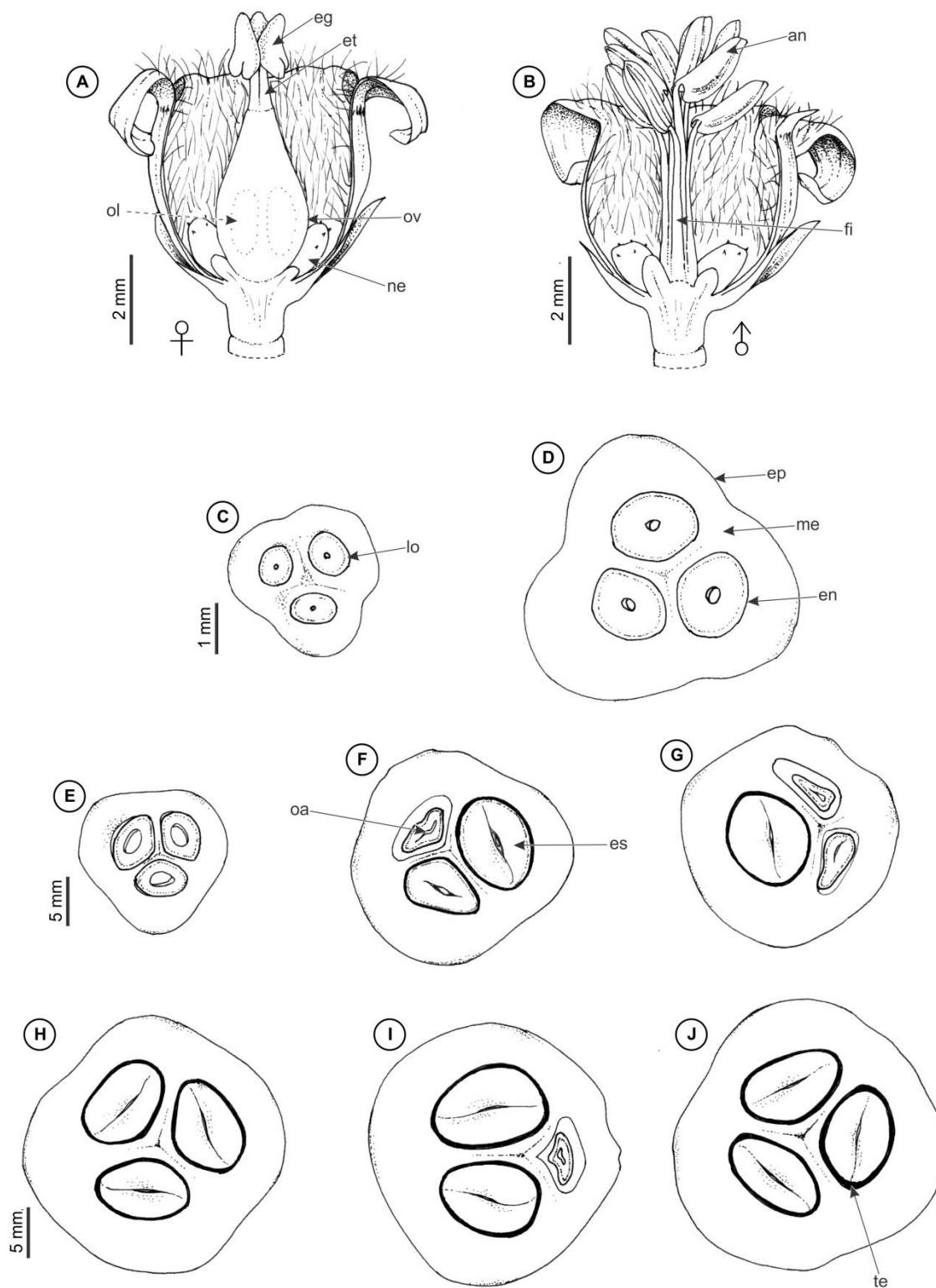


FIGURA 2. Visão interna de flores e frutos de *Jatropha curcas*, em diferentes estádios de desenvolvimento. A – flor feminina; B – flor masculina; C – fruto com 13 dias após antese (DAA); D – fruto com 18 DDA; E – fruto com 22 DDA; F – fruto com 27 DAA; G – fruto com 40 DAA; H – fruto com 47 DAA; I – fruto com 54 DAA; J – fruto com 58 DAA. (an = antera; fi = filete; eg = estigma; et = estilete; ov = ovário; ne = nectário; ol = óvulo; ep = epicarpo; me = mesocarpo; en = endocarpo; lo – lóculo; oa = óvulo abortado; es = endosperma; te = tegumento). Para mais detalhes dos estádios de desenvolvimento, ver tabela 1.

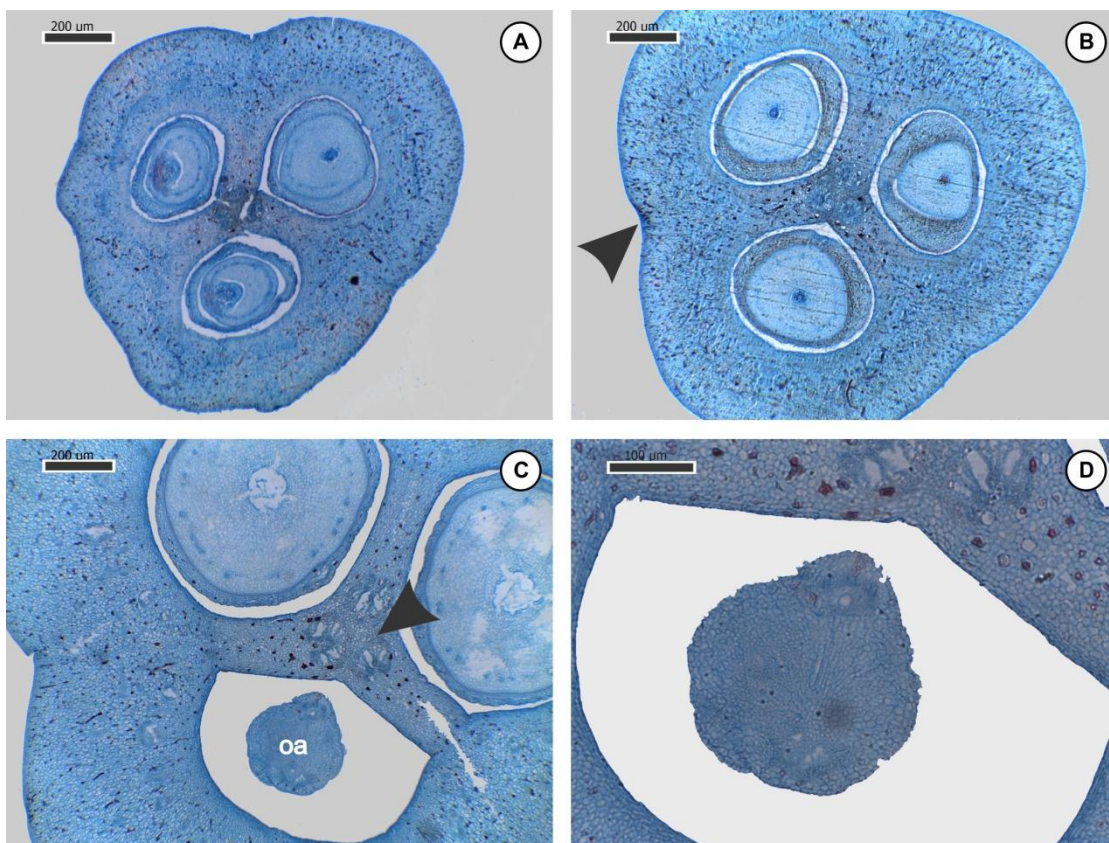


FIGURA 3. Fotomicrografias do corte transversal do fruto de *Jatropha curcas*. A – visão geral do fruto de 04 DAA mostrando os três lóculos; B – fruto de 07 DAA, destacando as entrâncias que separam os merocarpos (seta); C – fruto com 13 DAA, evidenciando feixes colaterais no centro do fruto (seta); D – detalhe óvulo abortado. (oa = óvulo abortado). Barras = 100μm (D); 200μm (A, B e C).

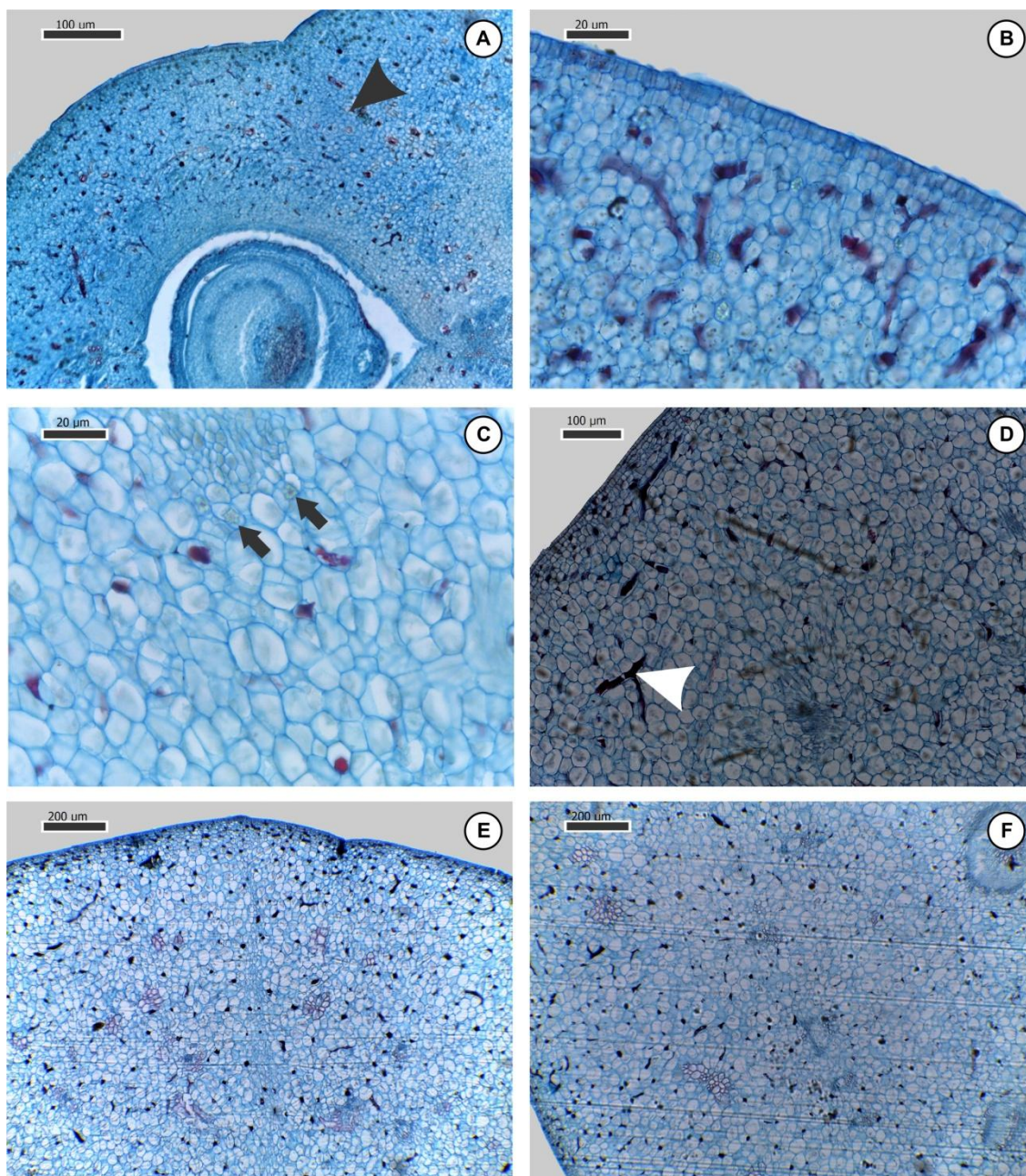


FIGURA 4. Fotomicrografias do pericarpo dos frutos de *Jatropha curcas* em cortes transversais corados com azul de Alcian e safranina. A – imagem do fruto e semente com 04 DAA, mostrando a fissura (seta) entre merocarpos; B – epicarpo e mesocarpo do fruto com 07 DAA; C – pericarpo do fruto com 13 DAA, destacando a presença de drusas (setas); D – epicarpo e mesocarpo do fruto com 18 DAA, evidenciando laticífero (seta); E – epicarpo e mesocarpo, em frutos com 22 DAA, na região entre merocarpos; F – epicarpo e mesocarpo em frutos com 27 DAA. Barras = 20μm (B e C); 100μm (A e D), 200μm (E e F).

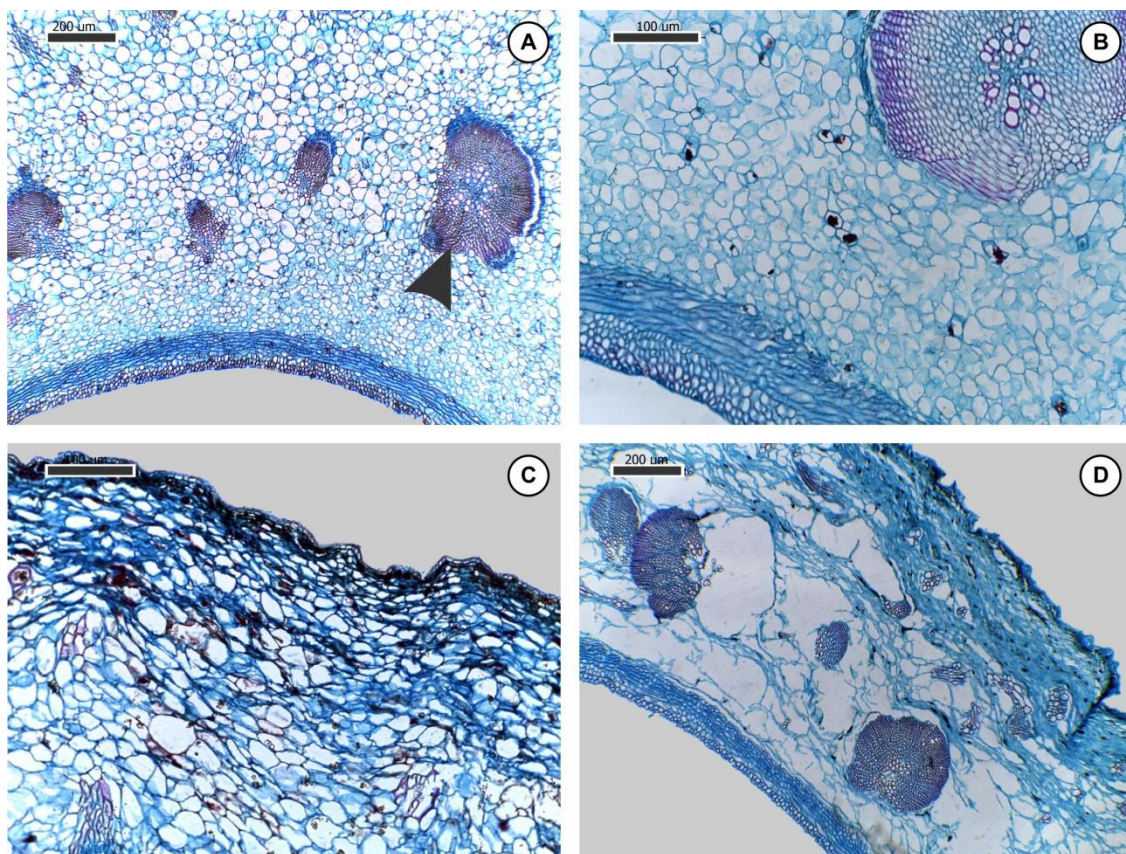


FIGURA 5. Fotomicrografias do pericarpo dos frutos de *Jatropha curcas* em cortes transversais. A – mesocarpo e endocarpo de fruto em 40 DAA, em destaque feixes colaterais em forma de U (seta) próximo à região mais interna; B – detalhe de feixe encontrado na região do mesocarpo, mais próxima ao endocarpo de fruto em 47 DAA; C – epicarpo e mesocarpo de frutos com 54 DAA, mostrando o fruto mais seco e com a camada mais externa murcha; D – pericarpo apresentando lise das células em frutos totalmente maduros com 58 DAA. Barras = 100 μ m (B e C); 200 μ m (A e D).

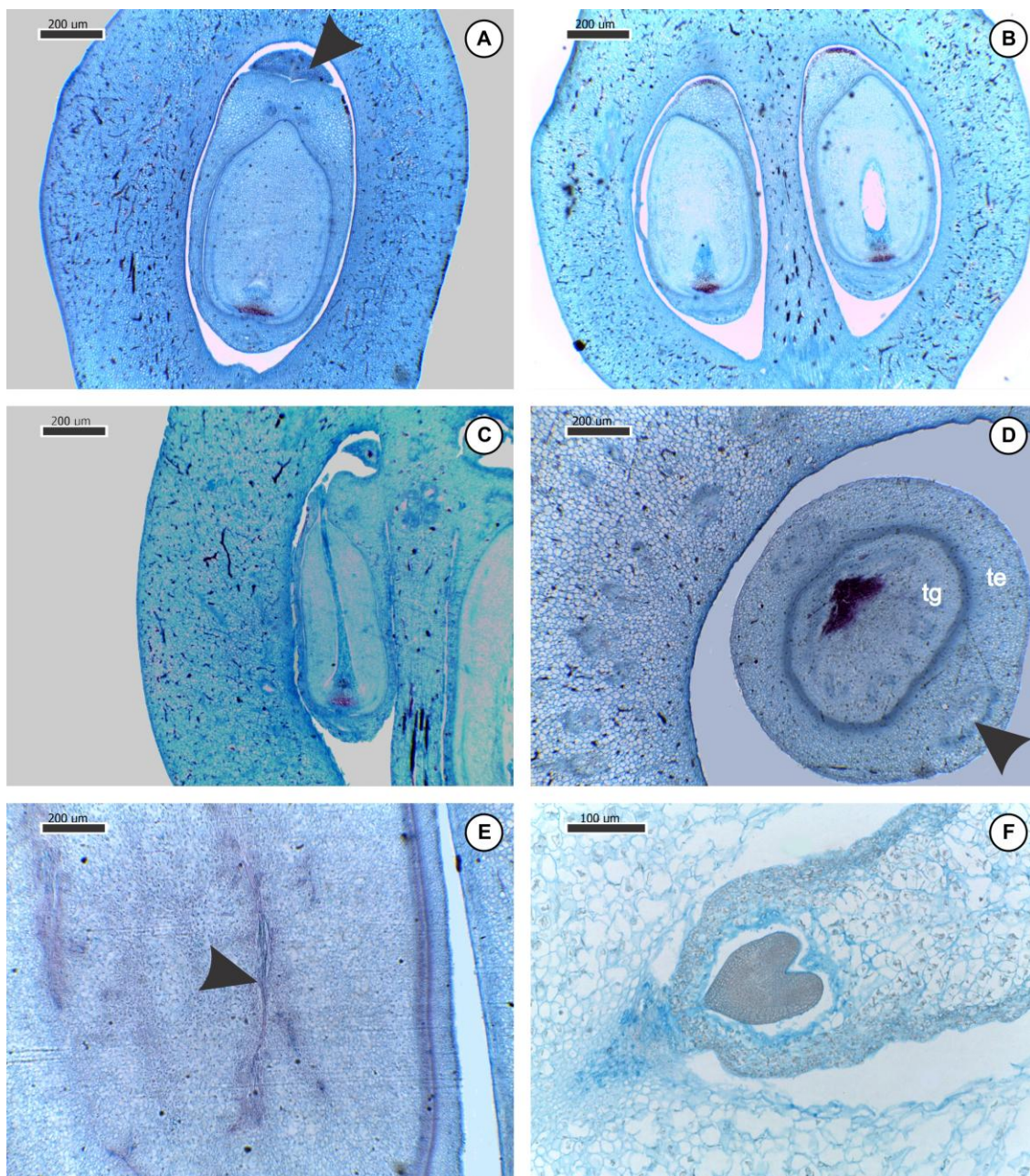


FIGURA 6. *Jatropha curcas* em diferentes estádios de desenvolvimento. A – corte longitudinal do fruto em 04 DAA, mostrando carúncula presente na semente (seta); B – corte longitudinal de fruto e semente, evidenciando dois lóculos, em 07 DAA; C – corte longitudinal dos frutos e das sementes em 13 DAA, mostrando a posição anátropa, semente anátropa; D – detalhe do feixe rafeal (seta) na semente em lóculo do fruto em 18 DAA, em corte transversal; E – corte longitudinal da semente com 22 DAA, detalhe do cotilédone, evidenciando nervura cotilédonar (seta); F – detalhe do corpo do embrião em estágio cordiforme, com 27 DAA. (te = testa; tg = tégmen). Barras = 100 μ m (F); 200 μ m (A, B, C, D e E).

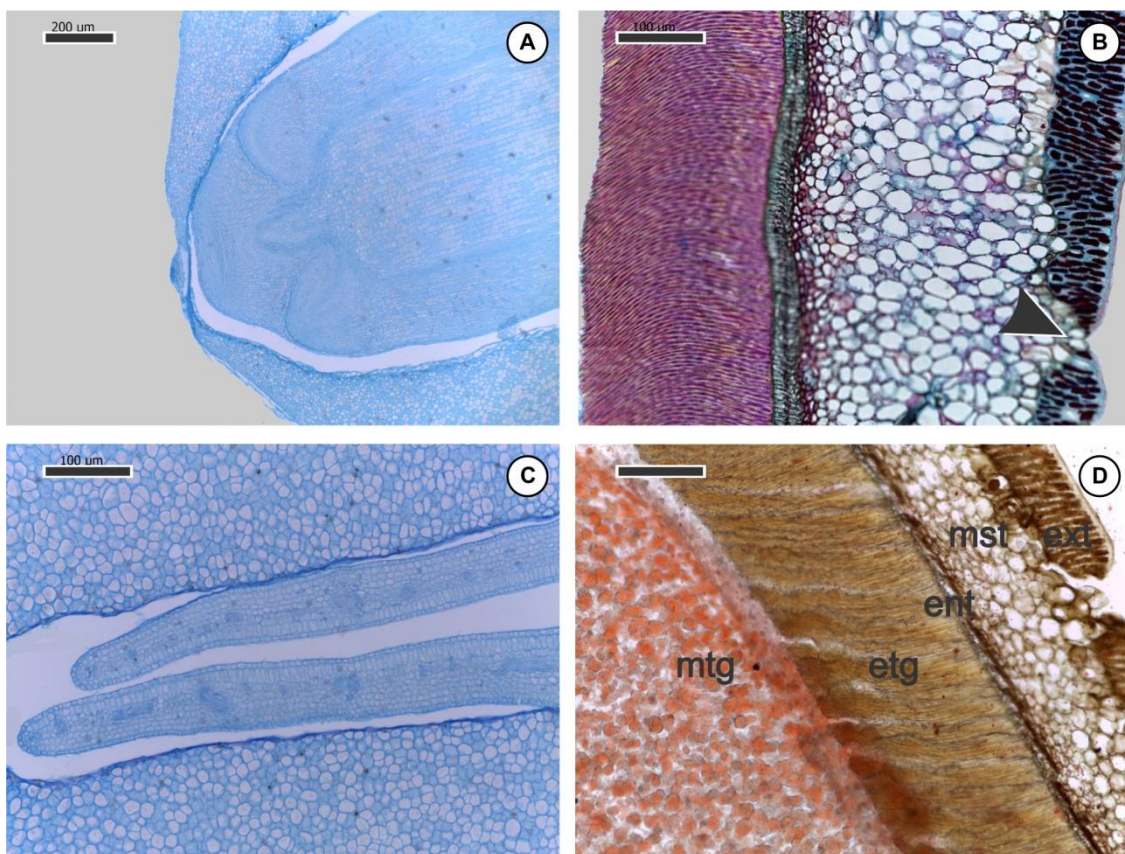


FIGURA 7. Fotomicrografias da semente de *Jatropha curcas* em diferentes estádios de desenvolvimento. A – detalhe do meristema radicular do embrião com 40 DAA; B – tegumentos da semente com 47 DAA, evidenciando região com ausência de lignificação da testa (seta); C – detalhe dos cotilédones em embrião com 54 DAA; D – tegumentos da semente completamente maduros com 58 DAA resultante do teste com Sudan III, mostrando a redução do tamanho da mesotesta. (ext = exotesta; mst = mesotesta; ent = endotesta; etg = exotégmen; mtg = mesotégmen). Barras = 100µm (B, C e D); 200µm (A).

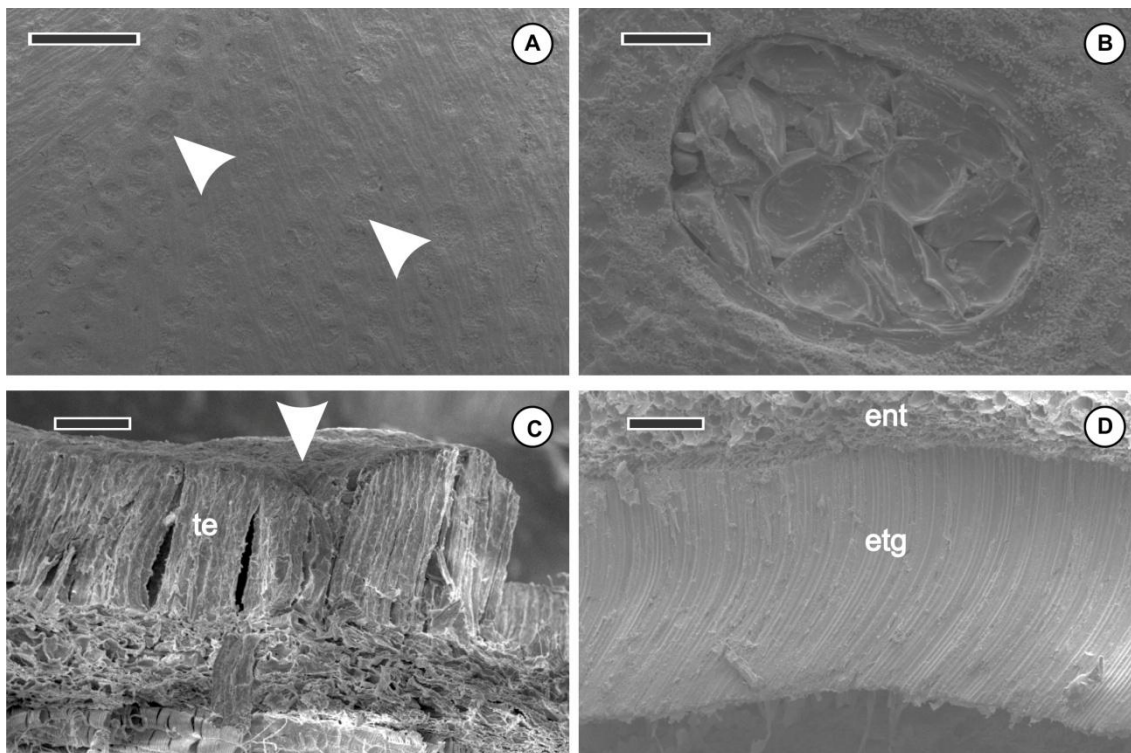


FIGURA 8. Eletromicrografias de varredura do tegumento da semente de *Jatropha curcas*. A – visão superficial da testa, evidenciando a distribuição de concavidades nessa camada, evidenciando pontos não lignificados (setas); B – detalhe da concavidade vista na superfície da testa da semente; C – visão da estratificação do tegumento da semente, destacando a presença de concavidade, formando um poro na camada (seta); D – detalhe da estratificação de transição do tegumento da semente. (te = testa; ent = endotesta; etg = exotégmen). Barras = 50 μ m (B); 100 μ m (C e D); 1mm (A).

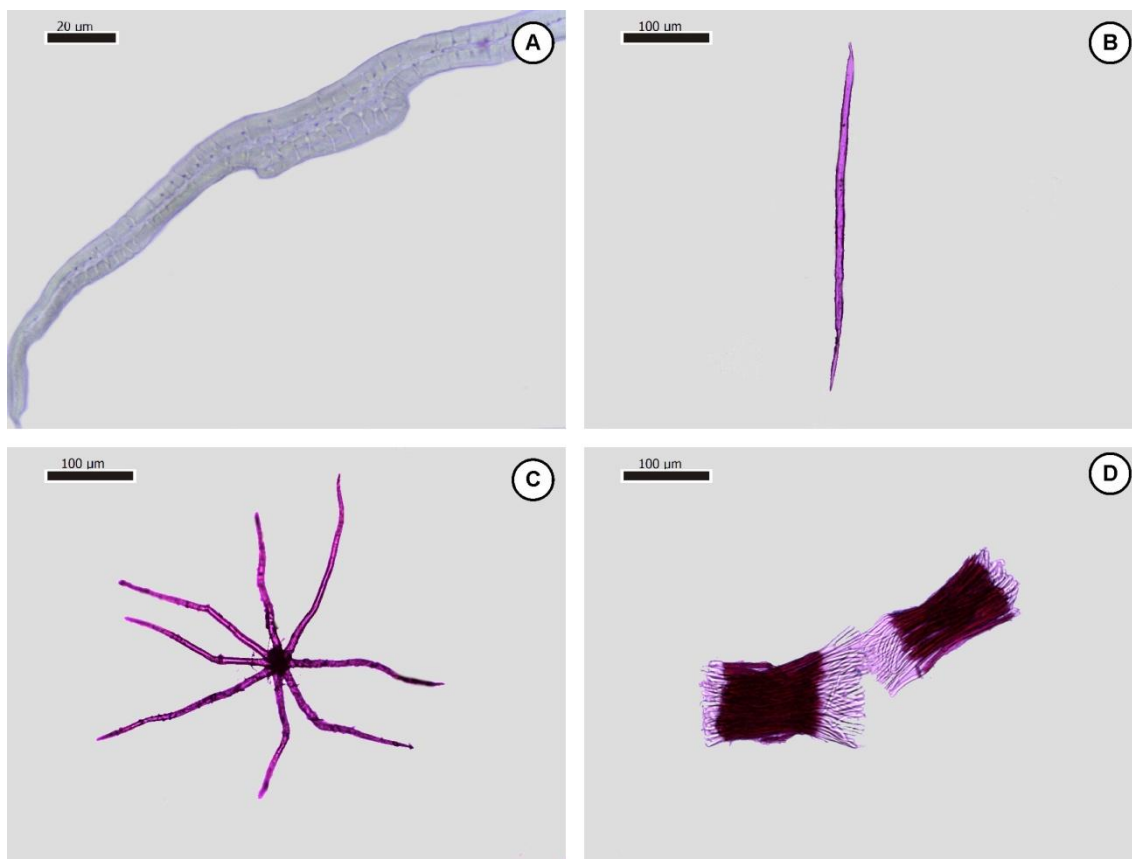


FIGURA 9. Fotomicrografias de estruturas presentes no tegumento das sementes de *Jatropha curcas*, coradas com safranina. A – macroesclereíde; B – fibra isolada; C – fibras arranjadas em forma de estrela; D – fibras agrupadas longitudinalmente. Barras = 20µm (A); 100µm (B, C e D).

ANEXOS

Normas da revista *American Journal of Botany*

American Journal of Botany

Instructions for Authors

Scope and Aims of the Journal

Review Procedure and Policy || Data Origin || Data Access || Nomenclature || Vouchers || General Instructions and Requirements || Open Access Policy || Article Types||

Manuscript Preparation|| Cover/Response Letter||Author Agreement Form||

Manuscript Content||Title Page||Footnote Page||Abstract Page||Text||Literature Cited||

||Tables||Appendices||Figure Legends||Figures/Illustrations||

||Online Supplemental Materials||Abbreviations, Units, and Symbols||

Copyright and Color Agreement||Contact the Editorial Office||

For *Applications in the Plant Sciences Instructions for Authors*, see http://www.botany.org/apps/APPS_Author_Instructions.html.

SCOPE AND AIMS OF THE JOURNAL

The *American Journal of Botany* (*AJB*) publishes peer-reviewed, innovative, significant research of interest to a wide audience of plant scientists in all areas of plant biology, all levels of organization, and all plant groups and allied organisms. *AJB* requires authors to frame their research questions and discuss their results in terms of major questions of plant biology. In general, papers that are too narrowly focused, purely descriptive, natural history, broad surveys, or that contain only preliminary data will not be considered.

Review Procedure and Policy

Manuscripts are reviewed by scholars with expertise in the research area. Reviewers, Associate Editors, and the Editor-in-Chief evaluate manuscripts for innovations in, significant contributions to, and noteworthy advances in the theoretical or conceptual bases of the subdisciplines of plant biology, and/or novel insights of general relevance to fundamental questions of biology (see http://www.botany.org/ajb/AJB_Reviewer_Instructions.pdf for review criteria).

Manuscripts may be returned without review if the English needs significant improvement. Typically, authors have two opportunities to produce an acceptable manuscript: the original submission and one revision in which to address the criticisms and concerns of the reviewers and editors.

Correspondence and notifications regarding manuscripts will be through e-mail, directed through the editorial office (ajb@botany.org). All reviewer comments and author revisions are handled electronically using Editorial Manager (<http://ajb.edmgr.com>). Copyediting queries and page proofs (e-galleys) are also provided electronically.

Final acceptance of a manuscript is contingent upon compliance with Journal requirements. Manuscripts other than Special Invited Papers are generally published in the order of receipt, within subject areas, of the final, accepted version or of the corrected proof. With the Journal's online *AJB* Advance Access feature, articles that have undergone complete peer review and copyediting, as well as full review by the authors, will be posted as soon as possible.

The Journal editors expect authors to follow the ethics guidelines of the Botanical Society of America (BSA) (www.botany.org/governance/ethics.php).

- **Copyrighted Material and Plagiarism**—If copyrighted material is reproduced in the manuscript, full attribution must be provided in the text; proof of permission must be sent to the Editorial Office. It is the responsibility of the authors, not the BSA or the editors or reviewers, to ensure that proper attribution is given to data and/or text previously published elsewhere. If suspicion is raised about the originality of the material (unattributed to source), the Editorial Office may check the manuscript for plagiarism. In cases where plagiarism is verified, the manuscript will be returned without further review without the possibility of re-submission. Self-plagiarism (i.e., the use of identical sentences from previously published papers by the same author) is also not acceptable.
- **Conflict of Interest**—Authors are responsible for recognizing and disclosing any duality of interest that could be perceived to bias their work, acknowledging all financial support and any other personal connections. All funding sources, including the research funder and grant number, must be given in the acknowledgements section.

Data Origin—When using unpublished data owned or created by a researcher who is not the author or a co-author, a formal statement from the owner of the data must be sent to the Editorial Office acknowledging the use of the data and granting formal permission.

Data Access—*AJB* requires that supporting data be deposited in an appropriate repository to facilitate reader access prior to submission of the manuscript. Genetic information, such as DNA, RNA, or protein sequences, should be submitted to an appropriate data bank, such as GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) or EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/embl/>).

Alignments used to produce phylogenies must be submitted to TreeBase (<http://www.treebase.org>), Dryad (<http://datadryad.org/>), or to *AJB* to be published with the paper as supplementary material. The data matrices must be in an editable format (i.e., text files) for reanalysis by any interested readers following publication. Authors are encouraged to archive all sequences generated from next-generation sequencing techniques in a suitable public repository, such as the Sequence Read Archive of NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>), the Sequence Read Archive of ENA (http://www.ebi.ac.uk/ena/about/sra_submissions), or Dryad. Ecological data or software information may also be deposited into Dryad or a similar publicly available site. Media files may also be housed on Figshare (<http://figshare.com/>). If necessary, raw data files (e.g., DNA sequences, gel images, chromatograms, data matrices), and/or electropherograms may be requested by the editors during the review process.

The data matrices must be in an editable format (i.e., text files) for reanalysis by anyone interested. Phylogenetic analyses will generally only be considered if the phylogeny is used to test explicit evolutionary and/or ecological hypotheses or morphological associations—essentially a significant discussion of the impact and/or use of the phylogeny.

Nomenclature—*AJB* requires that nomenclature for all extant and extinct species conform to the current International Code of Nomenclature of Algae, Fungi and Plants. Taxonomic authorities are given at first mention in the text (not in the manuscript title). Authors should refer to the International Plant Names Index (<http://www.ipni.org/index.html>) or Tropicos (<http://www.tropicos.org/>) for accepted authority names. Conventions adopted by the scientific community must be used for genetic symbols and nomenclature.

Use conventions adopted by the scientific community for genetic symbols and nomenclature.

Vouchers—At the time of submission, supporting genetic and voucher specimen information must be provided, preferably for each population sampled, as appropriate (see Appendices below). Plant vouchers are defined here as mounted herbarium specimens that are permanently housed in an accessible herbarium or museum and that are identified by unique accession numbers; vouchers may be requested for review by future investigators to verify the identity of the material used in the study (especially if taxonomic rearrangements occur in the future). In discussions of morphological character states, access to the data must be provided.

Manuscripts that report data from individual populations must include the GPS coordinates for each of the populations sampled. A waiver of this requirement may be granted for rare, threatened, or endangered species, as explained in the cover letter. Accuracy must be provided to the nearest second, or the fifth decimal place if using decimal degrees. If vouchers or GPS coordinates are unavailable, an explanation must be provided in the cover letter, as well as within the article itself. Exceptions to the voucher requirement will be assessed by the editors.

General Instructions and Requirements

Before submitting manuscripts, please review all instructions and refer to recent issues of *AJB*.

To take advantage of the free-page-charge policy, at least one author must be a member of the BSA when the manuscript is submitted for review as well as during the year of publication (except for Special Invited Papers). Authors who are not members of the BSA may also submit manuscripts for consideration: a mandatory page charge of \$150 per printed (or equivalent PDF) page is assessed. Page charges must be paid prior to a manuscript going into production, based on the estimated number of printed (or PDF) pages.

AJB requires that at least one colleague whose first language is English critically read and edit the manuscript before submission. Manuscripts may be returned without review if the English needs significant improvement.

Open Access Policy

AJB authors have the option to make their accepted paper freely available online immediately upon publication. The fee for Open Access is \$1500 (discounted to \$500 if the author's institution subscribes to the Journal). Contact the Editorial Office at ajb@botany.org for more information.

Submission process

Submit your manuscript via the online submission and review system, Editorial Manager, at <http://ajb.edmgr.com>. First-time users need to register for an account at this URL using their active e-mail addresses. The same Username and Password created on Editorial Manager are used to log in as an author or as a reviewer. [If there are any difficulties in the login or submission process, contact the Editorial Office at ajb@botany.org for assistance.]

There is a mandatory charge for more than five changes made on proofs resulting from mistakes made by the author(s). Author(s) who require a figure replacement in the e-galleys stage, unless the error was caused by the *AJB* editorial staff or the compositor, will be charged \$25 for each figure replacement or correction.

Authors are encouraged to submit figures in color when doing so enhances the presentation of the scientific information. Due to the cost of printing color, however, the editor may recommend using black and white if the information is just as clear when presented this way..

Article Types

In addition to Research Papers, *AJB* publishes the following:

Special Invited Papers—These are mostly reviews of limited scope on timely subjects written for a general, albeit well-informed, audience. Special Invited Papers are typically solicited by the Editor-in-Chief, the Special Papers Editor, or an Associate Editor. Discuss ideas for unsolicited Special Papers with the Editor-in-Chief or the Special Papers Editor. Manuscripts are subject to the usual review process. Benefits for Special Invited Papers include rapid publication, no page charges, and free membership in the BSA for one year. In the introduction, succinctly explain why your paper is of interest to the general biological community.

Brief Communications—These are short papers (2–5 printed pages) reporting significant new findings that do not warrant standard full-length treatment with the usual main headings, or that provide scholarly commentaries, corrections, criticisms, or alternative interpretations of results presented in published papers. “Opinion” papers that are unsupported by new data or reanalysis of published data are unacceptable. Brief Communications are subject to normal review. Publication will be expedited. Membership requirements and page charges are not waived.

Invited Commentary—All invited commentaries are paired with a forthcoming paper, usually on the suggestion of an Associate Editor or the Editor-in-Chief. These 3- to 5-page articles discuss the contributions and significance of the research paper relative to accepted or emerging paradigms in the subject. Membership requirements and page charges are waived.

Manuscript Preparation

A cover letter, an author agreement form, a manuscript file, and separate files for figures should be uploaded at <http://ajb.edmgr.com>. The manuscript file includes in the following order: Title Page, Footnote Page, Abstract Page, Text, Literature Cited, Tables, Appendices, and Figure Legends.

For manuscript files, MS Word (.doc) format is preferred, but Rich Text Format (.rtf) files are acceptable for review as well.

The Editorial Manager online submission system automatically inserts line numbers to facilitate review comments, so line numbers are not required in the manuscript file.

Double-space and left justify the margin of the entire manuscript, including Literature Cited, Appendices, Figure Legends, and Tables, using continuous pagination.

Leave at least a 2.5-cm margin on all sides. Place a header with last name(s) of author(s) and page number in upper right corner.

Number figures and tables in the order discussed in the text.

Cover/Response Letter

Include a cover letter that describes the questions addressed or hypotheses tested, the major contribution of your paper to your discipline, and how this contribution is of interest to a broad audience. List any papers on related topics by any of the authors that have been published within the past year or that are in review or in press. For a revision, include a letter detailing your response to all the review comments.

Author Agreement Form

Upon initial submission of a manuscript, the corresponding author must fill out an author agreement form and either upload an electronic version at the online submission site or mail or fax a hard copy to the Editorial Office in St. Louis, Missouri (**American Journal of Botany**, P.O. Box 299, St. Louis, MO 63166-0299, USA; 1-314-577-9515). The author agreement form is available online at http://www.botany.org/ajb/AJB_Author_Agreement_Form_2.docx; on the Editorial Manager website at the “Attach Files” screen; and from the Editorial Office.

Manuscript Content

1. Title Page

Place a running head 2.5 cm (1 in) below the top of the page with the surname of the FIRST author (followed, as appropriate, with the surname of a sole co-author, or with et al. if there are three or more authors) and a short title.

The manuscript title for research papers should be specific and informative, conveying the key findings of the research in an active voice. Center boldfaced title written with sentence-style capitalization, followed by superscript 1 (for footnote 1, to appear on footnote page). In most cases, Latin binomials in a title should be followed by the name of the family in parentheses.

Below the title, list authors: each author’s first name, middle initial, surname. On the next line, give affiliation and unabbreviated address. If authors have different affiliations and addresses, add a superscript number after each author’s name to indicate the footnoted address. Include another footnote superscript number to indicate the author for correspondence.

2. Footnote Page

Include the following footnote:

¹Manuscript received _____; revision accepted _____.

Place brief acknowledgments, if desired, as a separate paragraph, using the following style: “The author(s) thank(s)...”. For brevity, do not use first names. Include grant acknowledgments here.

Other footnotes (e.g., e-mail for correspondence) are permitted: match footnote numbers with those on the title page.

3. Abstract Page

AJB requires structured abstracts for manuscript submission. The abstract is 250 words or less, written in the following structured format:

- *Premise of the study* (why the work was done, what major questions of plant biology are addressed, and why it is important to the broad *AJB* readership)
- *Methods*
- *Key results*
- *Conclusions* (what major points should the reader take from this article)

Note that the abstract will be used in an RSS feed and thus should capture the interest of the general botanical community as well as the specialists and include the most important contribution of this paper. Avoid references; if essential, cite parenthetically with journal name, volume number, pages, and year.

Provide a list of 3–10 “**Key words**” that will be used for the volume index. Capitalize proper nouns, place in alphabetical order, and separate by semicolons.

4. Text

In the first paragraph of the introduction, include the theoretical or conceptual basis for your work in a context accessible to the diverse botanical readership that **AJB** attracts. Include a summary of conclusions and a take-home message for the generally informed reader in the DISCUSSION.

Center main headings and capitalize all letters: MATERIALS AND METHODS, RESULTS, and DISCUSSION.

Indent subheadings at the start of a paragraph; capitalize only the first word and proper nouns and adjectives.

Second-level headings—(boldface italic followed by an em dash)

Third-level headings—(italic followed by an em dash) Fourth-level headings—(regular text followed by an em dash)

In MATERIALS AND METHODS add name, city, spelled-out state (if in USA), and country of manufacturers/suppliers after brand names.

If statistical analyses are used, include statistical values in the RESULTS either in the text or within tables. Include the statistic value, degrees of freedom, and *p*-value for each result reported (e.g., for a *t*-test report “*t* = 32.41, *df* = 1, *P* = 0.03” for an ANOVA report “*F*_{5, 23} = 26.45, *P* less than 0.001” [note two *df*-values as subscripts with *F*]). Use *P* for significance, and *p* for probability.

Common Latin words (e.g., *in vivo*, *sensu lato*) are not italicized.

Footnotes are not used in the text.

5. Literature Cited

Verify all entries against original sources. Double check that all references in the manuscript text are in the Literature Cited and vice-versa and that they agree in spelling and year.

Literature citations in text—Cite references in chronological order (oldest first); within a given year, order them alphabetically (e.g., Jones and Gil, 1999, 2006; Ashton et al., 2007; Brown, 2007; Jackson, 2005, 2008).

Single author: Jones (2008) or (Jones, 2008). Two authors: Jones and Gil (2008) or (Jones and Gil, 2008). More than two authors: Jones et al. (2008) or (Jones et al., 2008).

Manuscripts accepted for publication but not yet published: Jones (in press) or (Jones, in press). Include “In press” citations in LITERATURE CITED (shown later).

Unpublished data and manuscripts (e.g., submitted, in prep.) and personal communication: (F. Jones, Institution, unpublished data [or unpublished manuscript or personal observation]). These are not included in LITERATURE CITED.

References listed in LITERATURE CITED—List citations in alphabetical order by author. Single-author titles precede multi-authored titles by the same senior author, regardless of date.

List works by the same author(s) chronologically, beginning with earliest date of publication. Spell out all author(s) names. Use “a”, “b” (determined alphabetically) for works with the same author(s) and year citation.

For multi-authored works, list the first seven authors and then “et al.”— unless there are only eight authors and then list all eight.

Type author names in citations in upper and lower case or in large and small caps, *not* in all caps. For formatting examples (note spacing, capitalization, italics, etc.), go to http://www.botany.org/ajb/ajb_Lit_Cited_Instructions.pdf.

6. Tables – include in manuscript file and place immediately after Literature Cited

Tables need to be formatted using the Table feature in Word or in a spreadsheet such as Excel.

Number tables with Arabic numerals followed by a period. Capitalize first word of title; all others, except proper nouns, are lowercase; spell out names of genera and abbreviations on first mention; place period at end. Include study organism (species or group) and geographic location in each caption when appropriate. Place explanatory notes and define all abbreviations below

the table after the heading "Note:" or "Notes:". Place footnotes after the Notes.

Every column must have an appropriately placed heading (esp. the first at left—the stub head), with appropriate subheadings. In the body of the table, capitalize the first word of each entry (and proper nouns); do not use vertical lines between columns; indicate footnotes by lowercase superscript letters.

If the use of color in a table is essential, please contact the Editorial Office at ajb@botany.org.

7. Appendices – include in manuscript file and place immediately after the tables

If voucher and gene accession information support the study, list these in Appendix 1, which will be published in the print and online versions. Provide an appendix title, and a sentence-style row of headings for the data. For each taxon sampled, include specimen voucher information and/or gene accession numbers, separated by commas. To save space, the taxa can be run together in a paragraph. See a current issue or <http://www.amjbot.org/content/98/6/1049.full> for an example.

Additional appendices may be included. *AJB* encourages online-only publication of extensive appendices, as well as other supplemental materials that support the article but are best presented electronically (see "Online Supplemental Materials" below).

8. Figure Legends – include in manuscript file and place immediately after the Appendices (or after the tables if there are no appendices)

Each figure legend must be complete and informative so that reference to the text is not necessary to understand the content of the figure. Abbreviations should be defined unless they are standard convention. Place legends as separate paragraphs following the appendices. For figures with multiple lettered panels, a general title for the figure should be followed by a description of each panel (e.g., Fig. 5. Relationship between... (A) All fruits. (B) Fruits less than 0.5 mm.). When applicable, study organism (species or group) or geographic location, and define scale bar (e.g., Bar = 0.1 μ m). For micrographs, include pertinent information such as magnification and type of section, stain, optics, or special techniques. Any nonlinear adjustment to photographs must be detailed.

Define all symbols and abbreviations either in a key within the figure or in the legend; if defined in an earlier legend, the appropriate figure or table may be cited.

Place figure abbreviations in alphabetical order and format as follows: c, cell; n, nucleus.

9. Figures/Illustrations - upload as separate files (do not include in the manuscript file)

For details and illustrated examples, see http://www.botany.org/ajb/AJB_Digital_Art_Guidelines.pdf. A figure checklist is also available at http://www.botany.org/ajb/AJB_Figure_Checklist.pdf.

TIFF or EPS formats are preferred for color and black and white photographs, drawings, and graphs.

Prepare figures at the final size desired: 1 column (8.9 cm [3.5 in]), 1.5 column (12.7-15.3 cm [5-6 in]), or 2 columns (18.4 cm [7.25 in]) wide and less than the length of the page (23 cm [9 in]).

Low-resolution files may be initially uploaded/submitted for the review process. Once your manuscript has been tentatively accepted, printer-quality (high-resolution) figures are required. See "Tips for Large Files" below.

Figure Manipulations

Certain types of electronic manipulations of micrographs and other digital images may not be ethically acceptable. Images that will be compared with each other must be acquired and processed under the same conditions. Manipulations such as background subtraction or white-balancing should be explained in the Materials and Methods section. Note that a selected area within an image may not be altered or enhanced; the entire image must be treated the same. Linear adjustments to contrast, brightness, or color must be applied to an entire image or plate equally (or explained). Detail nonlinear adjustments in the legend. Always keep original raw data files for documentation upon request.

Resolution for Final Figures

Line art (black lines and text, including phylogenetic trees): 1000-1200 dpi.

Halftone/grayscale (images with shades of gray, such as black and white photographs): a minimum of 300 dpi.

Color: a minimum of 300 dpi. Use RGB mode (not Indexed Color Mode). [Note: Do not send color files if images are to be printed in black and white.]

Combination art (grayscale image with type): 600-900 dpi.

Grayscale images should have the whitest area of the image set at a 2% highlight value, while the blackest area of the image should be set to a 98% shadow value.

Include the screen and printer font files for any text that has been added to the figure. Use PC or Mac versions of Adobe Postscript fonts. To avoid font problems, convert all type to curves or paths.

Format and Style

Use consistent style, font, and font size (between 6 and 10 pt.) for all figures. Use of standard fonts (Times New Roman, Helvetica) gives better results.

For figures with multiple elements (photos, drawings, or graphs), group elements in a rectangle or square and label the top left

corner of each element with a capital letter (e.g., A, B). Keep elements close together for best use of space. Photographs in a composite plate should each be numbered and separated by a thin line or blank space.

Label axes; include Standard International (SI) Units of measure in parentheses; capitalize only the first letter of the first word (e.g., "Stem growth (%)"). Axis label should be c. 0.2 cm from units on axis, but no more than 0.5 cm; x- and y-axis labels should be equidistant from axes.

Use abbreviations consistently in the text and figures.

For magnified illustrations, provide a scale bar defined in either the figure itself or at the end of the legend.

Cover image and caption

You are invited to submit one or more color photographs (or artificially colorized photomicrographs) to be considered for a cover illustration. The image must be at least 300 ppi and in portrait format slightly larger than 21.6 cm wide × 28 cm high (8.5 x 11 in). Submit the file(s) online with your original submission or revised manuscript. Also include a brief caption that describes the image, scientific name and authority of any organism, photographic technique, image manipulation, and the major result of the research. For micrographs, include pertinent information such as magnification and type of section, stain, optics, or special techniques.

The legend should do more than just describe the image itself: it should "tell a story" by explaining why the image is important to entice the reader to search for the full article. See <http://www.amjbot.org/content/vol95/issue4/cover.shtml> for an example.

Tips for Large Files

Files >5 MB may be slow (or impossible) to upload on most servers. When saving graphics, LZW compression (Save As/Option) may be used to reduce file size. If your image is line-art and all pixels are either black or white, first convert the image to grayscale mode, then convert to bitmap mode at 1200 dpi, then save with LZW compression. If your image is black and white with gray portions, convert the image to grayscale mode, then save with LZW compression. (If you have any confusion about bitmap mode for line-art, your Digital Art Guidelines contain examples of image types with suggested resolutions. Alternatively, the Editorial Office may direct you to upload the files to an FTP site or send them via e-mail through <http://www.YouSendIt.com>.)

Online Supplemental Materials

Authors may wish to augment their manuscripts with online supplemental materials (e.g., large data sets, three-dimensional reconstructions, simulations, real-time movies, color photographs). Upload these appendices as separate files with the initial manuscript submission. Include a header on each file using this format: Smith et al.—American Journal of Botany 99(#): ###-###. 2012. – Data Supplement S1 – Page 1". Name online supplements Appendix S1, Appendix S2, etc, in the order in which they appear in the text, regardless of whether they are tables, figures, text, other media, or a combination thereof. In the manuscript, after the mention of an online appendix, include the following: "(see Supplemental Data with the online version of this article)".

Note that if authors wish to submit long DNA sequence appendices as supplemental material, they should select the "DNA sequences (online-only supplemental)" option on Editorial Manager. This ensures that lengthy appendices are not built into the reviewers' PDF, but are still accessible to the reviewers.

Abbreviations, Units, and Symbols

See a recent Table of Contents page for commonly used abbreviations.

Do not begin a sentence, heading, or title with an abbreviation.

Abbreviate figure as "Fig." or "Figs."

Use the following abbreviations with numerals without spelling out at first use: h, min, s, yr, mo, wk, d, cm, mm, DNA, cpDNA, RNA, dNTP. Designate temperature as in 30°C (use the degree sign, not zero or the letter o).

Numbers: write out one through nine unless a measurement, a designator, or in a range (e.g., four petals, 3 mm, 6 yr, 5–11 species, day 2). Use % instead of percent with numerals; 1000 instead of 1,000; 10 000 instead of 10,000; 0.13 instead of .13.

Use Standard International (SI) units throughout the text, figures, and tables. Use the word mass (kg, g, mg) correctly; weight is reported in newtons (N). Use either a solidus for one unit in the denominator (e.g., kg/m²) or a negative exponent with multiplier dot (e.g., kg·m⁻²·d⁻¹) for two or more units in the denominator. Use L for liter (mL for milliliter).

Include a space before and after all operation signs (e.g., =, +) with equations and definitions; use an en dash (width of two hyphens) for minus sign.

Copyright and Color Agreement Forms

Once your manuscript has been accepted for publication, return signed copyright forms for the article, and any color plates, to the Editorial Office in St. Louis, Missouri. All authors must sign off on the copyright form or contact the Editorial Office to confirm their participation in the work.

Copyright Assignment - <http://www.botany.org/ajb/AJBcopyright.pdf>

Color agreement form - http://www.botany.org/ajb/AJBcolor_agr.pdf

If you have reproduced copyrighted material in your manuscript, send proof of permission to the Editorial Office.

If you would like to reproduce copyrighted material previously published in the *American Journal of Botany*, return the completed permission request form available online at <http://www.botany.org/ajb/BSAPermission.pdf>.

Questions? Contact the Editorial Office

American Journal of Botany

Amy McPherson, Managing Editor

Editorial Office

P.O. Box 299

St. Louis, MO 63166-0299

phone: 314-577-5112; FAX: 314-577-9515

E-MAIL: ajb@botany.org

[Last updated 28 January 2013]