



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Departamento de Botânica

**Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal**



**BÁRBARA DE CASTRO VIEIRA**

**INFLUÊNCIA DA LUZ E DE HORMÔNIOS VEGETAIS  
NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Vellozia* spp.**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica, do  
Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de  
Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de  
Mestre em Biologia Vegetal.**

**Área de Concentração: Fisiologia Vegetal e Ecologia/  
Ecofisiologia e Fitoquímica**

**BELO HORIZONTE – MG**

**2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Departamento de Botânica

**Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal**



**BÁRBARA DE CASTRO VIEIRA**

**INFLUÊNCIA DA LUZ E DE HORMÔNIOS VEGETAIS  
NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Vellozia* spp.**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.**

**Área de Concentração: Fisiologia Vegetal e Ecologia/  
Ecofisiologia e Fitoquímica**

**Orientador: Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Queila de Souza Garcia**

**Universidade Federal de Minas Gerais**

**BELO HORIZONTE – MG**

**2014**

043      Vieira, Bárbara de Castro.  
Influência da luz e de hormônios vegetais na germinação de sementes de  
Velloziaspp. [manuscrito] / Bárbara de Castro Vieira. – 2014.  
52 f. : il. ; 29,5 cm.  
Orientadora: Queila de Souza Garcia.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de  
Botânica.  
1. Luz - Teses. 2. Germinação – Teses. 3. Sementes – Teses. 4. Hormônios vegetais –  
Teses. 5. Giberelina – Teses. 6. Ácido abscísico – Teses. 7. Paclobutrazol – Teses. 8.  
Fluridone – Teses. 9. Botânica – Teses. I. Garcia, Queila de Souza. II. Universidade  
Federal de Minas Gerais. Departamento de Botânica. III. Título.

CDU: 581

Se não houver frutos  
Valeu pela beleza das flores  
Se não houver flores  
Valeu pela sombra das folhas  
Se não houver folhas  
Valeu pela intenção da semente  
(Henfil)

## **Dedico**

Aos que se tornaram familiares,  
Aos que nasceram familiares  
e aos que conheci antes de ontem.

Dedico tanto aos que me deixam louca,  
Quanto aos que enlouqueço.

Aos que me criticam em tudo,  
E a um ou outro que elogia o que faço.

Aos que me consideram muito,  
E aos muitos que fazem pouco de mim.

Aos que conhecem o que penso,  
E aos que só conhecem o que faço.

Aos que passam o dia todo comigo,  
E aos que estão todo tempo em mim.

Este trabalho é a soma de todos vocês,  
E se ele não é melhor, com toda certeza  
Não é por falta de esforço e muito menos por falta de amigos.

## Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter guiado e iluminado todos os meus caminhos, permitindo que todos os meus sonhos se tornassem uma conquista.

Agradeço de coração aos meus pais Águeda e Antonio e ao meu irmão Cássio que estiveram sempre ao meu lado me dando apoio nos momentos difíceis, carinho, amor, conselhos, sendo sempre compreensíveis.

Ao meu noivo Lucas pela paciência, companheirismo, dedicação, apoio, carinho, cumplicidade e amor, também por ajudar nas coletas de sementes.

A todos os familiares pelo apoio e carinho de sempre.

Às amigas de república pelo carinho, apoio e momentos de distração.

À minha orientadora Professora Dra. Queila Garcia por ter aceitado me orientar, pelos ensinamentos, dedicação, paciência e auxílio.

Aos professores que aceitaram o convite de participar da banca, Dr. Marcos Vinicius Meiado e Dr. Fernando Augusto de Oliveira e Silveira como titulares e Dra. Andrea Rodrigues Marques Guimarães e Dra. Daniela Moreira Duarte como suplentes.

Aos professores do Departamento de Botânica pelos ensinamentos, em especial ao “Lelê”, que sempre acreditou que eu poderia ir mais longe, me apresentou a UFMG e à professora Queila, que nunca deixou de contribuir para meu crescimento.

À Elisa e Bianca pelas inúmeras contribuições para o trabalho.

A todos os que de alguma forma contribuíram para as análises estatísticas.

Aos funcionários do ICB e do Departamento de Botânica pelo serviço prestado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da UFMG por ter permitido a realização deste trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

E por último, não menos importante, a todos meus amigos de laboratório, que tornaram os meus dias mais agradáveis, que compartilharam alegrias e tristezas, que contribuíram nos experimentos, que acompanharam no campo, que fizeram companhia no almoço e que sempre me deram apoio. Lembrem-se vocês foram fundamentais em todos os momentos.

Enfim, muito obrigada!

## Sumário

<b>Resumo Geral .....</b>	<b>02</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>03</b>
<b>Introdução geral .....</b>	<b>04</b>
<b>Referências bibliográficas .....</b>	<b>08</b>

### **Capítulo 1: Resposta ao tempo de exposição à luz e à razão V:VE como estratégia de germinação de sementes de *Vellozia* spp. (Velloziaceae).....10**

Resumo.....	11
Abstract.....	12
Introdução.....	13
Material e métodos.....	15
Resultados.....	17
Discussão.....	24
Referências bibliográficas.....	28

### **Capítulo 2: Ácido abscísico (ABA) modula a germinação de sementes de *Vellozia* spp. em resposta aos fatores luz e temperatura.....32**

Resumo.....	33
Abstract.....	34
Introdução.....	35
Material e métodos.....	37
Resultados.....	39
Discussão.....	44
Referências bibliográficas.....	47
<b>Considerações finais.....</b>	<b>52</b>

## Índice de tabelas

### Capítulo 1

**Tabela 1** - Local de coleta, altitude e coordenada geográfica das populações das espécies de *Vellozia* estudadas.

**Tabela 2** - Porcentagem de germinação sob fotoperíodo de 12 horas e tempo mínimo em horas de exposição à luz branca para atingir germinação máxima de 11 espécies de *Vellozia* submetidas a pulso único e pulso por cinco dias consecutivos (entre parênteses somatório das horas) de luz branca. NGM = Não atingiu germinação máxima.

**Tabela 3** - Porcentagem de germinação de quatro espécies de *Vellozia* sob diferentes razões V:VE. As letras comparam as colunas; letras iguais não apresentam diferenças significativas entre as médias (média  $\pm$  desvio padrão; n=6\*25).

## Índice de Figuras

### Introdução geral

**Figura 1** - Vista parcial dos campos rupestres localizados em Furnas, MG (A) e na Serra do Cipó, MG (B). (Fotos: Bárbara de Castro Vieira)

**Figura 2** - Espécies de *Vellozia* coletadas nos campos rupestres: *V. albiflora* Pohl. (A); *V. caruncularis* Mart. ex Seub.(B); *V. gigantea* N.L. Menezes & Mello-Silva (C); *V. glabra* JCMikan (D); *V. glandulifera* Goethart & Henrard (E) e *V. glauca* Pohl. (F). (Fotos: Bárbara de Castro Vieira)

**Figura 3** - Espécies de *Vellozia* coletadas nos campos rupestres: *V. intermedia* Seub. (G); *V. lilacina* L.B.Sm. & Ayensu (H); *V. nivea* L.B.Sm. & Ayensu (I); *V. pusilla* Pohl. (J) e *V. variabilis* Mart. ex Schult. & Schult. (K). (Fotos: Bárbara de Castro Vieira)

### Capítulo 1

**Figura 1** - Efeito do pulso único de luz em diferentes tempos de exposição na germinação de sementes de 11 espécies de *Vellozia*. Valores médios foram ajustados através do ajuste de curva sigmoideal Gompertz3 Parameter (linha). Linhas pontilhadas indicam 50% da germinação ( $t_{50\% G_{máx}}$ ). Símbolos fechados representam a porcentagem de germinação com respectivas barras verticais correspondentes ao desvio padrão. As espécies foram organizados do menor para o maior tempo de exposição à luz.



**Figura 2** - Efeito do pulso por 5 dias consecutivos de luz em diferentes tempos de exposição na germinação de sementes de 11 espécies de *Vellozia*. Valores médios foram ajustados através do ajuste de curva sigmoidal Gompertz3 Parameter (linha). Linhas pontilhadas indicam 50% da germinação ( $t_{50\% G_{máx}}$ ). Símbolos fechados representam a porcentagem de germinação com respectivas barras verticais correspondentes ao desvio padrão.

**Figura 3** – Germinação de sementes de quatro espécies de *Vellozia* submetidas a diferentes tempos de exposição à luz e intensidade luminosa. Barras representam valores médios com respectivo desvio padrão. (\*) indicam diferenças significativas.

**Figura 4** - Germinação de sementes de *V. pusilla*, *V. albiflora*, *V. caruncularis* e *V. glauca* submetidas a diferentes razões de comprimento de onda vermelho e vermelho-extremo (V:VE). Valores médios foram ajustados através do ajuste de curva sigmoidal Gompertz3 Parameter (linha). Linhas pontilhadas indicam 50% da germinação (V:VE  $50\% G_{máx}$ ). Símbolos fechados representam a porcentagem de germinação com respectivas barras verticais correspondentes ao desvio padrão. As espécies foram organizados do menor para o maior tempo de exposição à luz.

## Capítulo 2

**Figura 1** - Porcentagem de germinação de três espécies de *Vellozia* mantidas nas temperaturas de 25 e 40 °C sob luz ou escuro contínuo, tratadas com diferentes reguladores de crescimento (CTR = controle; GA3 e GA4 = giberelinas; ABA = ácido abscísico; PCB = paclobutrazol; FLU = fluridone). Barras verticais indicam o desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

**Figura 2** - Níveis de giberelinas ativas ( $GA_1$ ,  $GA_3$  e  $GA_4$ ), ABA e da razão GAs ativas/ABA em sementes de *Vellozia intermedia* (esquerda) e *Vellozia variabilis* (direita). Dados representam as médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 5$ ). Diferenças entre a interação dos fatores foram testadas por “two-way” análise de variância (ANOVA) com tempo de embebição e temperatura como fatores. NS, não significativo. (\*) Diferenças significativas da interação entre os fatores.

**INFLUÊNCIA DA LUZ E DE HORMÔNIOS VEGETAIS NA GERMINAÇÃO  
DE SEMENTES DE *Vellozia* spp.**

## Resumo Geral

Luz e temperatura são fatores importantes na regulação da germinação, por influenciar nas adaptações das espécies a mudanças ambientais e promover características germinativas diversificadas. As espécies do gênero *Vellozia* (Velloziaceae) apresentam sementes pequenas com sensibilidade à luz dependente da temperatura. Este estudo foi dividido em duas partes, sendo a primeira realizada com 11 espécies de *Vellozia* com o objetivo de avaliar o tempo de exposição à luz e a qualidade da luz (razão V:VE) necessárias para as sementes atingirem germinabilidade máxima. Neste caso, as sementes foram expostas a diferentes períodos de exposição à luz branca (pulsos únicos e interrompidos por escuro) e a razões V:VE, a 25 °C. Um segundo experimento analisou a relação entre os fatores luz e temperatura com os hormônios giberelina (GA) e ácido abscísico (ABA) durante a germinação de espécies cujas sementes são indiferentes à luz sob temperaturas altas. Sementes de três espécies foram submetidas a tratamentos com GAs e ABA e seus inibidores (paclobutrazol e fluridone) e duas espécies foram analisadas quanto ao perfil hormonal durante a embebição (25 e 40 °C). As sementes de *Vellozia* spp. necessitam de diferentes períodos de exposição à luz para atingir germinabilidade máxima (2 h a > 96 h quando submetidas a pulso único e 10 min a > 8 h quando expostas a pulsos por 5 dias consecutivos interrompidos por escuro). As sementes que necessitaram de longos tempos de exposição à luz atingiram germinabilidade máxima somente quando expostas às maiores razão V:VE ( $\geq 0,77$ ), enquanto as que requereram menores tempos necessitaram de baixas razões V:VE (0,02-0,08). ABA inibiu a germinação independente da luz e da temperatura e fluridone promoveu a germinação no escuro das três espécies. A aplicação de GAs não substituiu totalmente o requerimento de luz e paclobutrazol reduziu a germinação de duas das espécies testadas. Durante a embebição houve redução nos níveis endógenos de ABA apenas nas sementes embebidas a 40 °C e os níveis de GAs ativas variaram entre as espécies. As razões GAs/ABA mantiveram-se constantes a 25 °C e mostraram uma tendência de aumento quando as sementes foram mantidas a 40 °C. Conclui-se que as sementes de *Vellozia* spp. requerem diferentes tempos de exposição à luz e razões V:VE para atingir a germinabilidade máxima, não apresentando um padrão para o gênero; embebição a 40 °C reduziu os níveis endógenos de ABA, indicando que ABA modula a germinação de sementes de *Vellozia* em resposta à luz e temperatura.

**Palavras-chave:** Luz, germinabilidade máxima, giberelina, ácido abscísico, paclobutrazol, fluridone

## Abstract

Light and temperature are important factors in the regulation of germination, by influencing the adaptation of species to environmental change and promoting diversified germination characteristics. The species of *Vellozia* (Velloziaceae) produce small seeds with sensitivity to light dependent on temperature. This study was divided into two parts, the first held with 11 species *Vellozia* aiming to assess the time of exposure to light and the light quality (ratio V:VE) is necessary to achieve maximum seed germination. In this case, the seeds were exposed to different periods of exposure to white light (and only interrupted by dark pulses) and the reasons V: VE at 25 °C. A second experiment examined the relationship between the factors light and temperature with the hormones gibberellin (GA) and abscisic acid (ABA) during germination of species whose seeds are indifferent to light at high temperatures. Seeds of three species were subjected to treatment with ABA and gas and their inhibitors (fluridone and paclobutrazol) and two species were analyzed for hormonal profile during imbibition (25 and 40 °C). The seeds of *Vellozia* spp. require different periods of light exposure to achieve maximum germination (2 h to > 96 h when subjected to single pulse and 10 min > 8 h when exposed to pulses for 5 consecutive days interrupted by dark). The seeds that required long exposure times to light reached maximum germination only when exposed to higher grounds V: VE ( $\geq 0.77$ ), while requiring less time required lower ratios R:FR (0,02 to 0,08). ABA inhibited germination regardless of light and temperature and fluridone promoted germination of the three species in the dark. The application of GAs not fully replaced the application of light and paclobutrazol reduced the germination of the two species tested. During imbibition decreased endogenous ABA levels only in the seeds imbibed at 40 °C and the levels of active GAs varied among species. The ration GAs/ABA remained constant at 25 °C and showed a tendency to increase when seeds were maintained at 40 °C. We conclude that the seeds of *Vellozia* spp. require different exposure to light and reasons V:VE to achieve maximum germination, not presenting a standard for the genre; soaking at 40 °C decreased of endogenous levels of ABA, indicating that ABA modulates seed germination of *Vellozia* in response to light and temperature.

**Keywords:** light, maximum germination, gibberellins, abscisic acid, paclobutrazol, fluridone.

## Introdução geral

Os campos rupestres são fitofisionomias do Cerrado brasileiro que ocorrem em grande parte nas montanhas disjuntas da Cadeia do Espinhaço, localizados em altitudes acima de 800m (Fig. 1A, 1B) (Giulietti *et al.*, 2000). Apresentam características bem peculiares como solos pobres, clima com marcante sazonalidade, dividida em invernos secos e verões chuvosos e a temperatura que pode atingir valores elevados (46°C) em determinadas épocas do ano (Benites *et al.*, 2003; Giorni, 2009; Cheib e Garcia, 2012), oferecendo condições específicas para o desenvolvimento de muitas espécies endêmicas (Giulietti e Pirani, 1988).

A família Velloziaceae é uma das monocotiledôneas típicas dos campos rupestres, onde apresenta grande representatividade, ocorrendo preferencialmente sobre afloramentos rochosos de origem quartzítica (Alves e Kolbek, 1994). Velloziaceae é uma das famílias com maior número de espécies no Brasil, composta por 5 gêneros e aproximadamente 250 espécies (ver Mello-Silva *et al.*, 2011), sendo que dois gêneros ocorrem em território brasileiro, *Barbacenia* Vand. e *Vellozia* Vand. (Mello-Silva, 2005).

É conhecido que espécies que apresentam sementes pequenas e habitam ambientes abertos com alta intensidade luminosa requerem luz para germinar (Baskin e Baskin, 1998; Milberg *et al.*, 2000, Garcia e Oliveira 2007), assim como observado para algumas espécies de campos rupestres (Garcia e Oliveira, 2007; Oliveira e Garcia, 2011; Cheib e Garcia, 2012). Os estudos de germinação com espécies de *Vellozia* mostraram que as sementes deste gênero apresentam respostas distintas quando expostas à luz e temperatura (Garcia e Diniz, 2003; Garcia *et al.*, 2007; Garcia e Oliveira, 2007; Soares da Mota e Garcia, 2013). Algumas espécies de *Vellozia* requerem luz para germinar sob 25 °C e são indiferentes à luz em temperaturas altas (35 e 40 °C). Em face deste conhecimento, foi elaborado o presente estudo com o intuito de verificar a resposta ao tempo de exposição à luz e à qualidade da luz (razão V:VE) sob 25 °C, na germinação de 11 espécies de *Vellozia* (Fig. 2A – 2F; Fig. 3A – 3E), dentre as quais três estão listadas como ameaçadas de extinção no livro vermelho da flora do Brasil (*V. lilacina*; *V. gigantea* e *V. glabra*, Fig. 2 - C, D, H; Valente *et al.*, 2013) (Capítulo 1), bem como esclarecer a relação entre as respostas à luz sob 25 °C e 40 °C com os hormônios

giberelina e ácido abscísico, durante a germinação das espécies indiferentes à luz em temperaturas altas (Capítulo 2).



**Figura 1** – Vista parcial dos campos rupestres localizados em Furnas, MG (A) e na Serra do Cipó, MG (B). (Fotos: Bárbara de Castro Vieira)





**Figura 2** – Espécies de *Vellozia* coletadas nos campos rupestres: *V. albiflora* Pohl. (A); *V. caruncularis* Mart. ex Seub.(B); *V. gigantea* N.L. Menezes & Mello-Silva (C); *V. glabra* JCMikan (D); *V. glandulifera* Goethart & Henrard (E) e *V. glauca* Pohl. (F). (Fotos: Bárbara de Castro Vieira)





**Figura 3** – Espécies de *Vellozia* coletadas nos campos rupestres: *V. intermedia* Seub. (G); *V. lilacina* L.B.Sm. & Ayensu (H); *V. nivea* L.B.Sm. & Ayensu (I); *V. pusilla* Pohl. (J) e *V. variabilis* Mart. ex Schult. & Schult (K). (Fotos: Bárbara de Castro Vieira)



## Referências bibliográficas

- Alves, R.J.V. and Kolbek, J.** (1994) Plant species endemism in savanna vegetation on table mountains (campo rupestre) in Brasil. *Vegetatio* **113**, 125-139.
- Baskin, C.C. and Baskin J.M.** (1998) *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, California.
- Benites, V.C., Caiafa, A.N., Mendonça, E.S., Schaefer, C.E. and Ker, J.C.** (2003) Solos e vegetação nos complexos rupestres de altitude da Mantiqueira e do Espinhaço. *Floresta e Ambiente* **10**, 76-85.
- Cheib, A.L. and Garcia, Q.S.** (2012) Longevity and germination ecology of seeds of endemic Cactaceae species from high-altitude sites in south-eastern Brazil. *Seed Science Research* **22**, 45–53.
- Garcia, Q.S. and Diniz, I.S.S.** (2003) Comportamento germinativo de três espécies de *Vellozia* da Serra do Cipó (MG). *Acta Botanica Brasilica* **17**, 487-494.
- Garcia, Q.S. and Oliveira, P.G.** (2007) Germination patterns and seed longevity of monocotyledons from the Brazilian campos rupestres. *Seed Science and Biotechnology* **1**, 35-41.
- Garcia, Q.S., Jacobi, C.M. and Ribeiro, B.A.** (2007) Resposta germinativa de duas espécies de *Vellozia* (Velloziaceae) dos Campos Rupestres de Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **21**, 451-456.
- Giorni, V.T.** (2009) Aspectos ecológicos da germinação e longevidade in situ de sementes de *Xyris* L. (Xyridaceae) ocorrentes no Parque Estadual do Rio Preto, Minas Gerais. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais.
- Giulietti, A.M. e Pirani, J.R.** (1988) Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil, pp.39-69 in *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns* (P.E.Vanzolini e W.R. Heyer, eds.). Academia Brasileira de Ciências.
- Giulietti, A.M., Harley, R. M., de Queiroz, L. P., Wanderley, M. G. L. and Van Den Berg, C.** (2005) Biodiversity and conservation of plant in Brasil. *Conservation Biology* **19**, 632-639.
- Giulietti, A.M., Harley, R.M., Queiroz, L.P. de, Wanderley, M.das G.L. and Pirani, J.R.** (2000) Caracterização e endemismo nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, pp. 311-318 in Cavalcantii, T.B., Walter, B.M.J. (eds). *Tópicos Atuais em Botânica. Brasilia*. Embrapa Recursos Genéticos.
- Mello-Silva, R., Santos, D.Y.A.C., Salatino, M.L.F., Motta, L.B., Cattai, M.B., Sasaki, D., Lovo, J. Pita, P., Rocini, C., Rodrigues, C.D.N., Zarrei, M. and Chase, M.W.** (2011) Five vicarious genera from Gondwana: the Velloziaceae as show by molecules and morphology. *Annals of Botany* **108**, 87–102.

- Mello-Silva, R.** (2005) Morphological analysis, phylogenies and classification in Velloziaceae. *Botanical Journal of Linnean Society* **148**, 157-173.
- Milberg, P., Anderson, L. and Thompson K.** (2000) Large-seeded spices are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* **10**, 99-104.
- Oliveira, P.G. and Garcia, Q.S.** (2011) Germination characteristics of *Syngonanthus* seeds (Eriocaulaceae) in campos rupestres vegetation in south-eastern Brazil. *Seed Science Reserch* **21**, 39-45.
- Soares da Mota, L.A.S. and Garcia, Q.S.** (2013) Germination patterns and ecological characteristics of *Vellozia* seeds from high-altitude in South-eastern Brazil. *Seed Science Research* **23**, 67-74.
- Valente, A.S.M., Judice, D.M., Barros, F.S.M., Messina, T., Moraes, M.M.V de and Mello-Silva, R.** (2013). Velloziaceae pp.999 in Martinelli, G. e Morais, M.A. (2013) in *Livro vermelho da flora do Brasil*. Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

## Capítulo 1

### **GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Vellozia* spp. (VELLOZIACEAE) EM RESPOSTA AO TEMPO DE EXPOSIÇÃO À LUZ E À RAZÃO V:VE**

Elaborado segundo as normas da Revista Seed Science Research

## Resumo

As *Vellozia* spp. habitam ambientes abertos e produzem sementes pequenas com diferentes respostas de sensibilidade à luz. Entretanto, não se conhece a influência da qualidade e do tempo de exposição à luz na promoção da germinação em sementes de *Vellozia* spp., que é o objetivo deste estudo. Sementes embebidas no escuro foram submetidas a pulsos únicos de luz e pulsos interrompidos por escuro, mantendo como controles luz e escuro contínuos e fotoperíodo de 12 h; e expostas a cinco razões V:VE (25 °C). O tempo de exposição para atingir a germinabilidade máxima variou de 2 h (*Vellozia glauca*) a 84 h (*V. albiflora*). *V. lilacina* não atingiu germinação máxima após 96 h. Para germinar 50% das sementes o menor tempo foi  $t_{50}=1,0$  h (*V. glauca*) e o maior  $t_{50}=103,8$  h (*V. lilacina*). Para pulsos de luz interrompidos por escuro o menor tempo foi de 10 min (*V. glauca*) e o maior 8 h (*V. glandulifera*). *V. lilacina* e *V. albiflora* não atingiram germinabilidade máxima após 8 h de exposição por cinco dias. *V. pusilla* e *V. albiflora* apresentaram germinação máxima na maior razão V:VE (0,77), enquanto *V. caruncularis* e *V. glauca* em baixas razões V:VE (0,02 e 0,08, respectivamente). A maior razão V:VE para germinar 50% das sementes foi V:VE = 0,60 (*V. albiflora*) e menor valor V:VE = 0,01 (*V. caruncularis* e *V. glauca*). Conclui-se que sementes de *Vellozia* spp. requerem diferentes tempos de exposição à luz e razões V:VE para atingir a germinabilidade máxima, não apresentando um padrão para o gênero.

**Palavras-chave:** campos rupestres, fotoblastismo, pulsos de luz branca, requerimento de luz, razão V:VE, germinabilidade máxima.

## Abstract

The *Vellozia* spp. inhabit open environments and produce small seeds with different responses of light sensitivity. However, the influence of quality and duration of light exposition in promoting germination in seeds of *Vellozia* spp. it is not known, which is the aim of this study. Dark imbibed seeds were submitted to single light pulses and interrupted pulses by dark, and the control was maintained by continuous light and dark, 12 h photoperiod; and exposed to five R:FR ratio (25 °C). The exposure light time to reach maximum germinability varied from 2 h (*Vellozia glauca*) to 84 h (*V. albiflora*). *V. lilacina* did not reach maximum germination after 96 h. To achieve 50% of germination, the shortest time was  $t_{50} = 1$  h (*V. glauca*) and the largest was  $t_{50} = 103,8$  h (*V. lilacina*). For the interrupted pulses by dark, the shortest time was 10 min (*V. glauca*) and the largest 8 h (*V. glandulifera*). *V. lilacina* and *V. albiflora* did not reach maximum germination after 8 h of light exposure for five days. *V. pusilla* and *V. albiflora* showed maximum germination on the highest R:FR ratio (0,77), while *V. caruncularis* and *V. glauca* in low R:FR ratios (0,02 and 0,08, respectively). The highest R:FR ratio to achieve 50% of seed germination was R:FR = 0,60 (*V. albiflora*) and the lowest R:FR= 0,01 (*V. caruncularis* and *V. glauca*). We conclude that seeds of *Vellozia* spp. require different periods of light exposure and ratios R:FR to achieve maximum germinability, not presenting a standard for the genre.

**Key words:** rocky fields, photoblastism, white light pulses, light requirement, R:FR ratio, maximum germinability

## Introdução

A luz é um importante sinal ambiental que afeta diferentes processos do ciclo de vida das plantas (Baskin e Baskin, 1998), controlando desde o tempo de germinação das sementes até os processos de crescimento e sobrevivência das plântulas (Pons, 2000). O controle pelas sementes de onde e quando germinar pode ser influenciado pela quantidade de luz disponível e pela capacidade de percepção do ambiente luminoso (Milberg, 1997; Fenner e Thompson, 2005). O requerimento de luz pelas sementes é distinto entre espécies, que podem variar de exposição por apenas alguns segundos ou longos períodos de iluminação intermitente para que a germinação ocorra (Bewley *et al.*, 2013).

Nas plantas a luz é detectada através de diferentes fotorreceptores (Casal *et al.*, 1998; Casal *et al.*, 2013) e, nas sementes, os fitocromos são os responsáveis por perceber e capturar os sinais luminosos que são transformados em sinais internos (Godoi e Tatakai, 2005; Casal *et al.*, 1998). Dentre os sinais internos desencadeados, são conhecidos os mecanismos que sinalizam para a biossíntese de hormônios vegetais, como giberelinas e ácido abscísico (promotor e inibidor da germinação de sementes, respectivamente) (Yamaguchi e Kamiya, 2000; Ogawa *et al.*, 2003; Yamaguchi 2008; Seo *et al.*, 2009; Finch-Savage e Footitt, 2012).

Os fitocromos são capazes de reconhecer diferentes informações relacionadas à luz, incluindo intensidade, comprimento de onda e duração do sinal luminoso, de modo que estes sinais são traduzidos para desenvolver quase todas as etapas do ciclo de vida, dentre eles a germinação de sementes (Han *et al.*, 2007). São descritos na literatura cinco diferentes fitocromos, PhyA, PhyB, PhyC, PhyD e PhyE (revisado por Mathews e Sharrock, 1997). PhyA e PhyB são consideradas as formas biologicamente ativas (Casal *et al.*, 1998) e as principais reguladoras da germinação de sementes em resposta à luz (Shinomura *et al.*, 1994; Heschel *et al.*, 2008), com diferentes funções na fotopercepção (Shinomura *et al.*, 1994; Casal *et al.*, 1997). PhyA é responsável por perceber as transições de luz/escuro, enquanto PhyB parece estar envolvido nas percepções das razões V:VE (Casal *et al.*, 1997; Casal *et al.*, 1998; Casal *et al.*, 2013).

Em geral, sementes que necessitam de luz para germinar são pequenas (Baskin e Baskin, 1998; Pons, 2000; Flores *et al.*, 2006; Oliveira e Garcia, 2011) e ocorrem em áreas abertas expostas a alta luminosidade (Milberg *et al.*, 2000; Kettering *et al.*, 2006; Garcia e Oliveira, 2007; Jankowska-Blaszczuk e Daws, 2007; Pereira *et al.*, 2009).

Estas condições ambientais estão presentes na fitofisionomia conhecida como campos rupestres, caracterizados por ocorrer em altitudes acima 800 m (Giulietti *et al.*, 2000), em uma cadeia de montanhas (Cadeia do Espinhaço), no sudeste do Brasil. A vegetação é composta principalmente por plantas herbáceas, associadas com arbustos e subarbustos esparsos, que crescem sobre afloramentos rochosos de quartzito, ambientes abertos com grandes flutuações diárias de temperatura, solos rasos e arenosos, extremamente ácidos, com baixa capacidade de retenção de água e pobres em nutrientes (Benites *et al.*, 2003; Benites *et al.*, 2007; Garcia e Oliveira, 2007). Estas condições restritas encontradas nos campos rupestres favorecem a colonização de espécies vegetais que apresentam características xeromórficas e conferem a esses ambientes altos níveis de diversidade e endemismo (Benites *et al.*, 2003).

Velloziaceae é uma família de distribuição tropical, característica dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, apresentando muitas espécies endêmicas (Giulietti *et al.*, 2005), das quais 28 estão listadas no livro vermelho da flora do Brasil como ameaçadas (Valente *et al.*, 2013). As espécies do gênero *Vellozia* apresentam sementes pequenas, cuja resposta germinativa pode ser dividida em três categorias de acordo com a sensibilidade à luz: sementes com requerimento absoluto de luz, requerimento parcial de luz sob ampla faixa de temperatura e sementes independentes de luz quando submetidas a temperaturas altas (Soares da Mota e Garcia, 2013). Embora se conheça o comportamento das sementes submetidas à luz, são inexistentes estudos com ênfase na quantidade e qualidade de luz necessária para a promoção da germinação de sementes de *Vellozia*.

Considerando que a luz é um fator ambiental importante para iniciar a germinação de sementes de *Vellozia* spp., este estudo objetivou verificar o comportamento germinativo em relação à quantidade e à qualidade da luz para responder as seguintes questões: (1) Qual o tempo mínimo de exposição à luz branca necessário para a promoção da germinação máxima em sementes de *Vellozia* spp.?; (2) Existem diferenças entre as espécies quanto à capacidade de germinação em diferentes razões V:VE? (3) As respostas germinativas obtidas pelas diferentes espécies de *Vellozia* permitem caracterizar um padrão germinativo para o gênero em relação à luz?

## Material e Métodos

### Coleta de sementes e testes de germinação

Sementes de 11 espécies de *Vellozia* foram coletadas em populações naturais na Serra do Cipó e na região de Furnas, Minas Gerais, Brasil, nos meses de novembro de 2012 e março de 2013 (Tabela 1). As áreas de coletas estão inseridas em campos rupestres, que estão, em grande parte, localizados em montanhas descontínuas da Cadeia do Espinhaço, em altitudes acima de 800 metros (Giulietti *et al.*, 2000). O clima da região é caracterizado como tropical altitudinal mesotérmico, com duas estações bem definidas; uma estação seca (outono-inverno) com duração de 6 a 7 meses e uma estação chuvosa (primavera-verão) com duração entre 5 e 6 meses (Cheib e Garcia, 2012).

**Tabela 1** – Local de coleta, altitude, hábito e massa seca das sementes de *Vellozia* estudadas.

Espécie	Local de coleta	Altitude (m)	Hábito	Massa seca (mg)
<i>V. albiflora</i>	Serra do Cipó	1067	Herbáceo	0,73±0,14
<i>V. caruncularis</i>	Serra do Cipó	1328	Herbáceo	0,16±0,02
<i>V. gigantea</i>	Serra do Cipó	1272	Arborescente	0,47±0,02
<i>V. glabra</i>	Serra do Cipó	1334	Arborescente	0,66±0,02
<i>V. glandulifera</i>	Serra do Cipó	1282	Herbáceo	0,49±0,01
<i>V. glauca</i>	Furnas	872	Arborescente	0,86±0,09
<i>V. intermedia</i>	Furnas	852	Herbáceo	0,29±0,04
<i>V. lilacina</i>	Serra do Cipó	1265	Arbustivo	0,61 ± 0,05
<i>V. nivea</i>	Furnas	861	Herbáceo	0,18 ± 0,03
<i>V. pusilla</i>	Serra do Cipó	1077	Arbustivo	0,40±0,06
<i>V. variabilis</i>	Serra do Cipó	894	Herbáceo	0,21±0,01

Os testes de germinação foram conduzidos em câmaras de germinação a 25°C, utilizando-se seis repetições de 25 sementes dispostas em placas de Petri forradas com folhas duplas de papel filtro e umedecidas com solução de nistatina (Oliveira e Garcia, 2011). As placas mantidas no escuro foram envolvidas em folha dupla de papel metalizado e mantidas dentro de sacos opacos de polietileno. O efeito da luz verde na germinação foi testado previamente com sementes de *Vellozia* embebidas por 72 horas no escuro e submetidas a períodos de 10 minutos de exposição à luz verde durante cinco



dias consecutivos. Por não apresentar diferença significativa em relação ao tratamento de escuro contínuo, a luz verde foi considerada segura para a observação das placas mantidas no escuro, feita semanalmente. O critério de germinação foi a emergência da raiz primária.

### **Tempo de exposição à luz branca**

As sementes foram embebidas por 72 horas no escuro a 25°C (período superior ao necessário para a estabilização da curva de embebição de acordo com Garcia e Diniz, 2003). Em sequência, as sementes de todas as espécies foram expostas a pulsos únicos de luz branca ( $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) por períodos de 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 36, 48 e 60 horas. Para as espécies que requereram menores tempos de exposição à luz foram aplicados pulsos de 10 e 15 minutos. Espécies que requereram maiores tempos de exposição à luz foram submetidas a pulsos únicos de 72, 84 e 96 horas.

Além dos tratamentos com pulso único foram avaliados tratamentos com luz branca por cinco dias consecutivos, aplicada por períodos de 30 minutos, 1, 2, 4, 6 e 8 horas para todas as espécies e de 10 min para *V. glauca*. Após os tratamentos de luz todas as placas foram mantidas no escuro por 30 dias. Em ambos os experimentos de tempo de exposição à luz (pulso único e por 5 dias consecutivos) foram considerados tratamentos controle luz contínua, fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo. Para ambos os tratamentos de luz, as observações de germinação foram feitas semanalmente sob luz verde de segurança.

Para verificar o efeito da intensidade da luz na germinação de sementes, quatro espécies foram selecionadas, tendo como critério o menor e maior tempo de exposição à luz requerido para atingir a germinabilidade máxima (*V. pusilla* e *V. albiflora*; *V. caruncularis* e *V. variabilis*, respectivamente). Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação (25°C,  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e sala de crescimento (26°C;  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Após embebição no escuro por 72 horas, as sementes foram expostas à luz por período de 30 min e 1 hora. Posteriormente, as sementes foram mantidas em condições de escuro em câmaras de germinação (25°C) e acompanhadas semanalmente por 30 dias.

### **Razão V:VE**

A qualidade da luz foi testada em duas espécies que necessitaram de maiores tempos de exposição à luz para atingirem germinabilidade máxima (*V. albiflora* e *V.*

*pusilla*) e duas espécies que necessitaram de menores tempos de exposição à luz (*V. caruncularis* e *V. glauca*). As sementes foram previamente embebidas no escuro por 72 horas, submetidas a diferentes razões V:VE por período de 96 horas, e posteriormente, mantidas em condições de escuro por 30 dias (25°C). As placas de Petri foram iluminadas com espectro promovido por duas lâmpadas fluorescentes de 22 W e duas incandescentes de 25 W, sob luz contínua. Filtros de poliéster (Lee) foram colocados entre as placas de Petri e a fonte de luz produzindo os seguintes valores de V:VE, com os respectivos números seriais dos filtros entre parênteses: 0,02 (735); 0,08 (89); 0,36 (121); 0,56 (88); 0,77 (138). Os tratamentos controle foram conduzidos sob escuro contínuo e luz branca (sem filtros, razão V:VE = 1,03). Foram mensurados os valores de V:VE em área aberta (V:VE = 1,13) e sombreada (V:VE = 0,71).

### **Análise estatística**

Foi calculada a porcentagem final de germinação, com posterior transformação dos dados para arco seno da  $\sqrt{\%}$ . Os dados foram testados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Brown-Forsythe). Dados que apresentaram normalidade e homogeneidade foram submetidos a ANOVA, seguido pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para dados sem distribuição normal e/ou não homogêneos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis, e a comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Mann-Whitney, com correção de Bonferroni. Os dados de intensidade luminosa foram submetidos à “two-way” ANOVA, sendo avaliados os fatores “tempo de exposição à luz” e “diferentes intensidades de luz”. Os valores do  $t_{50}$  foram determinados a partir da equação  $f=a*\exp(-\exp(-(x-x_0)/b))$ , gerada pela adição do ajuste de curva Sigmoidal Gompertz3 Parameter.

## **Resultados**

### **Tempo de exposição à luz branca**

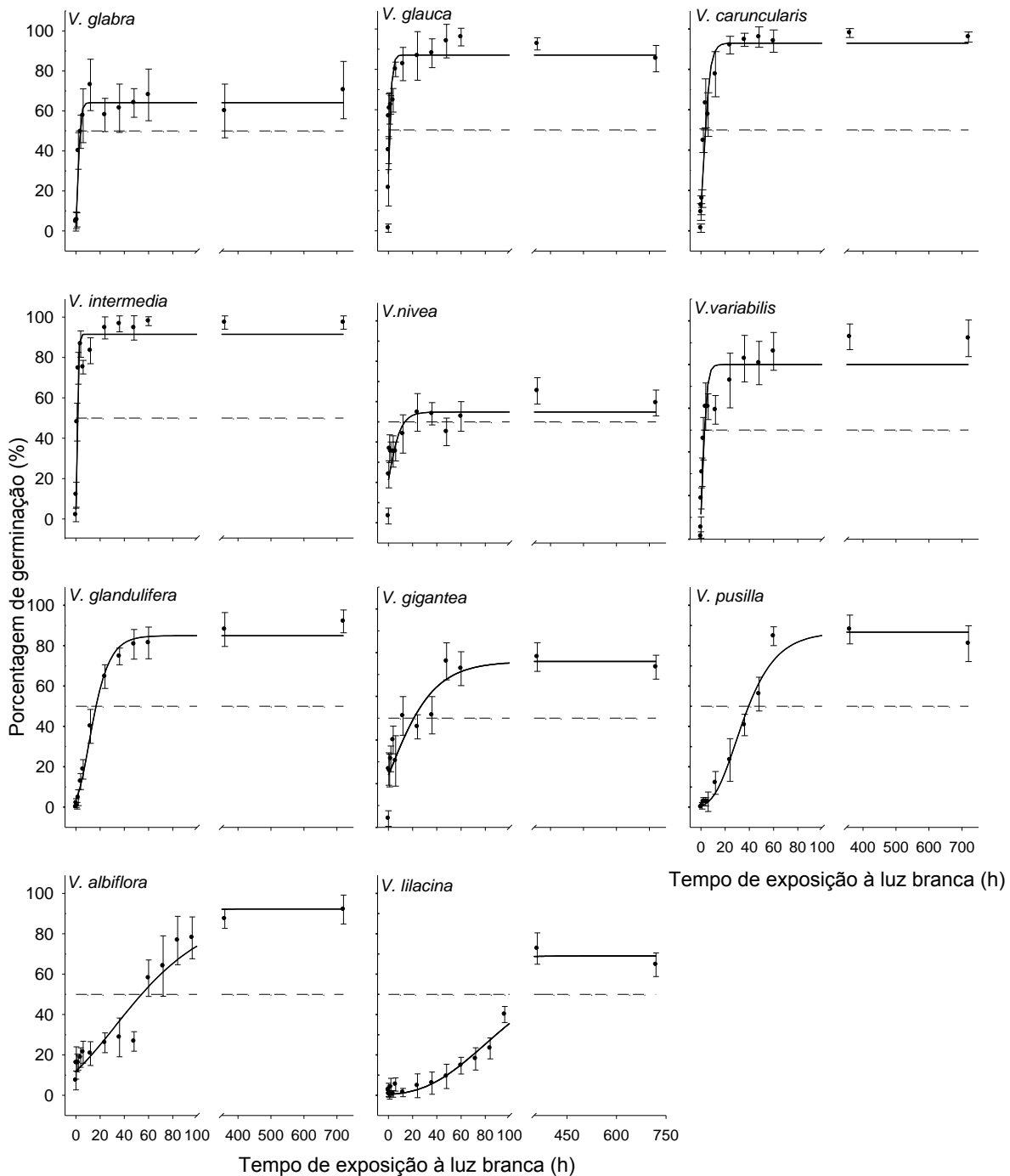
As espécies estudadas necessitaram de tempos diferentes de exposição à luz para atingir germinabilidade máxima (Tab. 2). Para as 11 espécies de *Vellozia*, foram obtidas porcentagens de germinação entre 50,6 a 98% nos tratamentos fotoperíodo de 12 horas e luz contínua, sem diferenças estatísticas entre estes dois tratamentos dentro de cada espécie. Os menores tempos de exposição a pulso único de luz contínua para atingir

germinabilidade máxima foram requeridos pelas espécies *V. glabra* (2 h) e *V. glauca* (6 h) (Tab. 2). Para as espécies *V. caruncularis*, *V. intermedia*, *V. nivea*, *V. variabilis*, *V. glandulifera* e *V. gigantea* foram necessários tempos intermediários de exposição à luz, variando de 24 a 48 h (Tab. 2), enquanto as espécies *V. pusilla* e *V. albiflora* necessitaram de exposição por períodos mais longos (60 e 84 h, respectivamente). A espécie *V. lilacina* não atingiu germinação máxima após exposição à luz por período de 96 h (Tab. 2). Em ordem decrescente, a quantidade de tempo de exposição à luz requerida com pulso único para germinação de 50% ( $t_{50}$ ) das sementes, *V. lilacina* ( $t_{50} = 134,8$  h) > *V. albiflora* ( $t_{50} = 54,2$  h) > *V. pusilla* ( $t_{50} = 39,4$  h) > *V. gigantea* ( $t_{50} = 20,9$  h) > *V. glandulifera* ( $t_{50} = 16,6$  h) > *V. nivea* ( $t_{50} = 14,2$  h) > *V. caruncularis* ( $t_{50} = 3,7$  h) > *V. glabra* ( $t_{50} = 3,4$  h) > *V. variabilis* ( $t_{50} = 2,9$  h) > *V. intermedia* ( $t_{50} = 1,1$  h) > *V. glauca* ( $t_{50} = 1,0$  h) (Fig. 1).

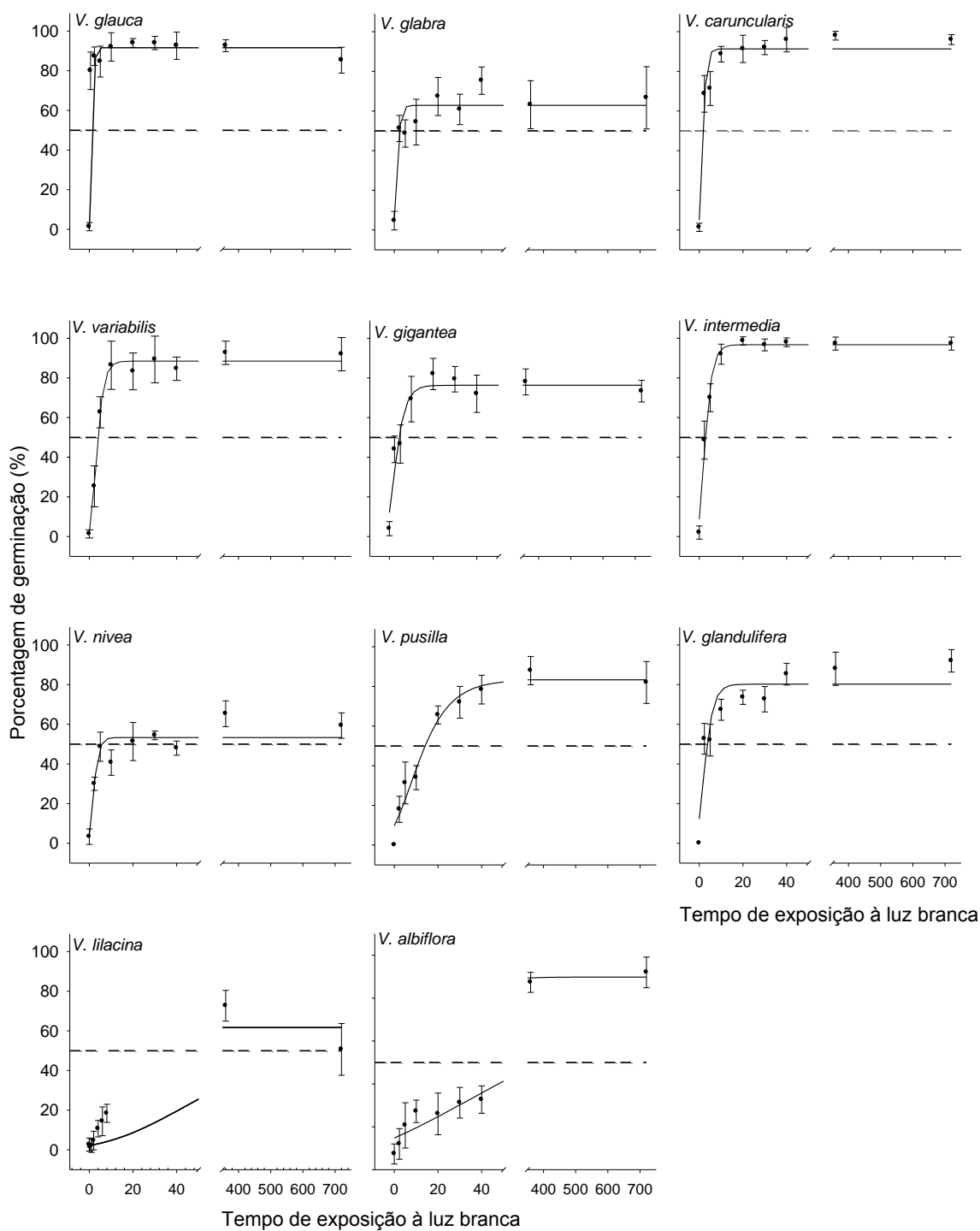
Com aplicação de pulso de luz por período de cinco dias consecutivos, as espécies *V. glauca* e *V. glabra* atingiram germinabilidade máxima após curto período de exposição à luz branca (10 e 30 min, respectivamente) (Tab. 2). Tempos intermediários foram requeridos pelas espécies *V. caruncularis*, *V. variabilis*, *V. gigantea*, *V. intermedia*, *V. nivea* e *V. pusilla* (entre 2 a 6 h), enquanto o maior tempo foi requerido para as sementes de *V. glandulifera* (8 h) (Tab. 2). As espécies *V. lilacina* e *V. albiflora* não atingiram germinação máxima após exposição à luz por período de 8 h (Tab. 2). Em ordem decrescente em relação à exposição à luz branca por cinco dias necessária para germinar 50% ( $t_{50}$ ) das sementes, *V. lilacina* ( $t_{50} = 103,8$  h) > *V. albiflora* ( $t_{50} = 66,9$  h) > *V. pusilla* ( $t_{50} = 14,1$  h) > *V. nivea* ( $t_{50} = 5,7$  h) > *V. gigantea* ( $t_{50} = 4,4$  h) > *V. variabilis* ( $t_{50} = 3,9$  h) > *V. glandulifera* ( $t_{50} = 3,6$  h) > *V. intermedia* ( $t_{50} = 2,8$  h) > *V. glauca* ( $t_{50} = 2,4$  h) e *V. glabra* ( $t_{50} = 2,4$  h) > *V. caruncularis* ( $t_{50} = 1,7$  h) (Fig. 2).

**Tabela 2** – Porcentagem de germinação sob fotoperíodo de 12 horas e tempo mínimo em horas de exposição à luz branca para atingir germinação máxima de 11 espécies de *Vellozia* submetidas a pulso único e pulso por cinco dias consecutivos (entre parênteses somatório das horas) de luz branca. NGM = Não atingiu germinação máxima.

<b>Espécie</b>	<b>Fotoperíodo 12h (%)</b>	<b>Pulso único</b>	<b>Pulso por cinco dias</b>
<i>V. albiflora</i>	87,3	84 h	NGM (40h)
<i>V. caruncularis</i>	98	24 h	2 h (10h)
<i>V. gigantea</i>	78	48 h	2 h (10h)
<i>V. glabra</i>	60	2 h	30 min (2:30h)
<i>V. glandulifera</i>	88	48 h	8 h (40h)
<i>V. glauca</i>	92,6	6 h	10 min (50 min)
<i>V. intermedia</i>	97,3	24 h	2 h (10h)
<i>V. lilacina</i>	72,6	NGM(96h)	NGM (40h)
<i>V. nivea</i>	65,3	24 h	4 h (20h)
<i>V. pusilla</i>	88	60 h	6 h (30h)
<i>V. variabilis</i>	92,6	24 h	2 h (10h)

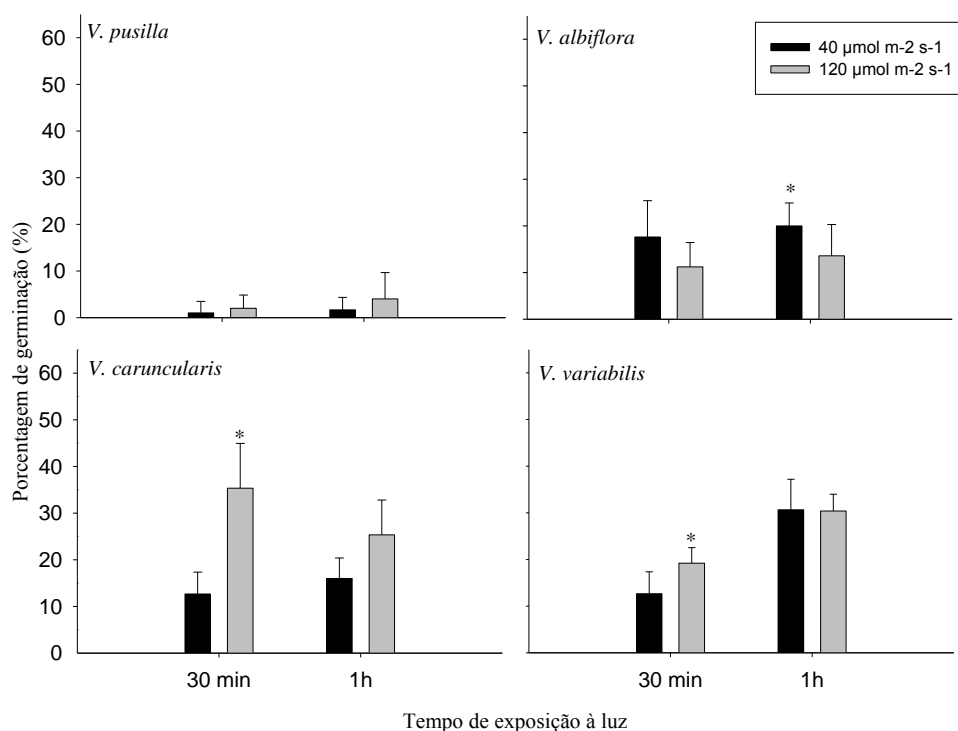


**Figura 1** – Efeito do pulso único de luz em diferentes tempos de exposição na germinação de sementes de 11 espécies de *Vellozia*. Valores médios foram ajustados através do ajuste de curva sigmoidal Gompertz3 Parameter (linha). Linhas pontilhadas indicam 50% da germinação ( $t_{50\% G_{m\acute{a}x}}$ ). Símbolos fechados representam a porcentagem de germinação com respectivas barras verticais correspondentes ao desvio padrão. As espécies foram organizados do menor para o maior tempo de exposição à luz.



**Figura 2** – Efeito do pulso por 5 dias consecutivos de luz em diferentes tempos de exposição na germinação de sementes de 11 espécies de *Vellozia*. Valores médios foram ajustados através do ajuste de curva sigmoideal Gompertz3 Parameter (linha). Linhas pontilhadas indicam 50% da germinação ( $t_{50\% G_{máx}}$ ). Símbolos fechados representam a porcentagem de germinação com respectivas barras verticais correspondentes ao desvio padrão. As espécies foram organizados do menor para o maior tempo de exposição à luz.

A germinação de sementes de *V. pusilla* não foi afetada pelas duas intensidades luminosas testadas, não havendo diferença significativa entre 40 e 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Fig. 3). A germinabilidade de *V. albiflora* não apresentou interação significativa entre os fatores, entretanto, as sementes apresentaram maior porcentagem de germinação quando expostas por 1 h à intensidade de 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Fig. 3). As sementes de *V. caruncularis* apresentaram uma interação significativa entre os fatores “tempo de exposição à luz” e “intensidade de luz”, apresentando aumento significativo da germinação quando submetidas à intensidade de 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  por 30 minutos (Fig. 3). Para a espécie *V. variabilis* a interação entre os fatores não foi significativa, porém, as sementes apresentaram maiores porcentagens de germinação quando expostas às diferentes intensidades de luz por 1 hora se comparado a 30 minutos. Para esta espécie ocorreu um aumento significativo da germinação quando as sementes foram submetidas à intensidade de 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  por 30 minutos (Fig. 3).



**Figura 3** – Germinação de sementes de quatro espécies de *Vellozia* submetidas a diferentes tempos de exposição à luz e intensidade luminosa. Barras representam valores médios com respectivo desvio padrão. (\*) indicam diferenças significativas.

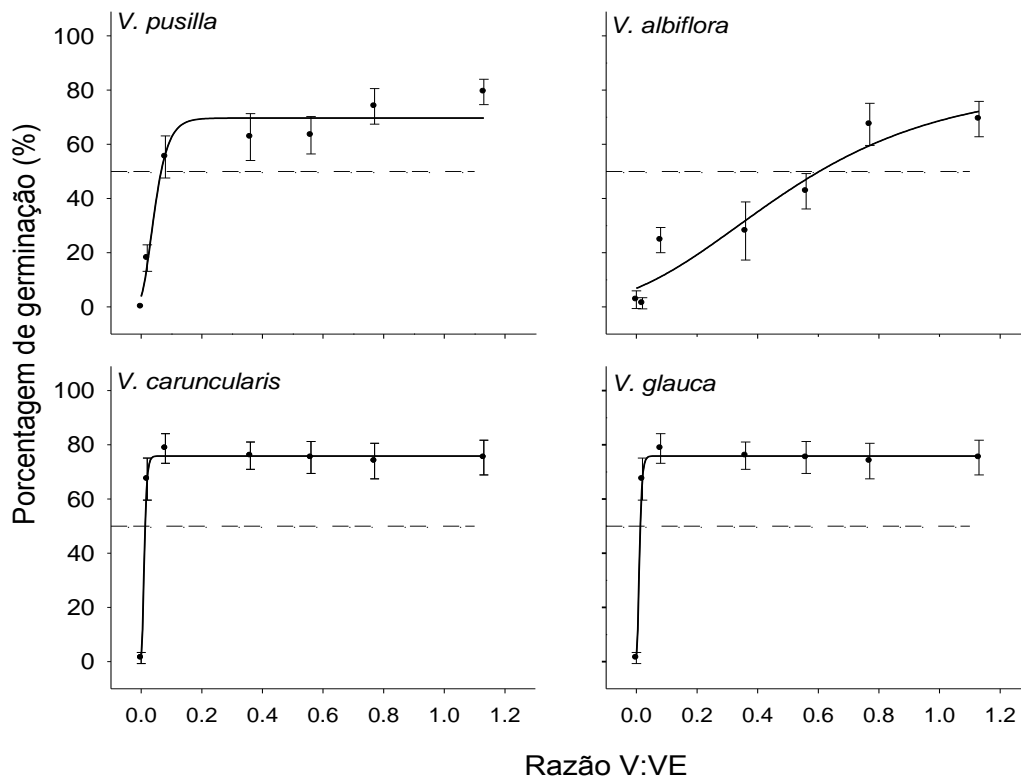
### Razão V:VE

Razões reduzidas de V:VE resultaram na diminuição da porcentagem final de germinação em espécies que necessitam de longos períodos de exposição à luz branca para atingir germinação máxima (Tab. 3). As espécies *V. albiflora* e *V. pusilla*, apresentaram germinação máxima somente quando as sementes foram expostas às maiores razão V:VE testada ( $\geq 0,77$ ) (Tab. 3), enquanto as espécies *V. caruncularis* e *V. glauca* atingiram germinabilidade máxima em baixas razões V:VE (0,02 e 0,08, respectivamente) (Tab. 3). Em ordem decrescente em relação a razão V:VE necessária para que a germinação de 50% ( $V:VE_{50\%G_{máx}}$ ) das sementes *V. albiflora* ( $V:VE_{50\%G_{máx}} = 0,60$ ) > *V. pusilla* ( $V:VE_{50\%G_{máx}} = 0,06$ ) > *V. caruncularis* e *V. glauca* que apresentaram resultados similares, correspondentes aos menores valores obtidos ( $V:VE_{50\%G_{máx}} = 0,01$ ) (Fig. 4).

**Tabela 3** – Porcentagem de germinação de quatro espécies de *Vellozia* sob diferentes razões V:VE. As letras comparam as colunas; letras iguais não apresentam diferenças significativas entre as médias (média  $\pm$  desvio padrão; n=6\*25).

Razão V:VE	<i>V. pusilla</i>	<i>V. albiflora</i>	<i>V. caruncularis</i>	<i>V. glauca</i>
0	0 e	2,7 $\pm$ 3,3 d	1,3 $\pm$ 2,1 b	1,3 $\pm$ 2,1 c
0,02	18,0 $\pm$ 4,9 d	1,3 $\pm$ 2,1 d	67,3 $\pm$ 7,8 a	62,7 $\pm$ 7,9 b
0,08	55,3 $\pm$ 7,8 c	24,7 $\pm$ 4,7 c	78,7 $\pm$ 5,5 a	84,7 $\pm$ 4,7 a
0,36	62,7 $\pm$ 8,6 bc	28,0 $\pm$ 10,8 c	76,0 $\pm$ 5,1 a	83,3 $\pm$ 3,9 a
0,56	63,3 $\pm$ 6,9 bc	42,7 $\pm$ 6,5 b	75,3 $\pm$ 5,9 a	87,3 $\pm$ 7,8 a
0,77	74,0 $\pm$ 6,6 ab	67,3 $\pm$ 7,7 a	74,0 $\pm$ 6,6 a	79,3 $\pm$ 7,8 a
1,03	79,3 $\pm$ 4,7 a	69,3 $\pm$ 6,5 a	75,3 $\pm$ 6,4 a	78,0 $\pm$ 8,7 a





**Figura 4** – Germinação de sementes de *V. pusilla*, *V. albiflora*, *V. caruncularis* e *V. glauca* submetidas a diferentes razões de comprimento de onda vermelho e vermelho-extremo (V:VE). Valores médios foram ajustados através do ajuste de curva sigmoidal Gompertz3 Parameter (linha). Linhas pontilhadas indicam 50% da germinação (V:VE 50%G<sub>máx</sub>). Símbolos fechados representam a porcentagem de germinação com respectivas barras verticais correspondentes ao desvio padrão.

## Discussão

As respostas germinativas apresentadas pelas sementes de *Vellozia* spp. confirmaram que a germinação das 11 espécies estudadas é dependente de luz a 25°C, como observado por Garcia e Diniz (2003), Garcia *et al.* (2007) e Soares da Mota e Garcia (2013). Estudos realizados com espécies de outras monocotiledôneas típicas dos campos rupestres relataram que grande parte das espécies apresentam comportamento fotoblástico positivo restrito ou maiores porcentagens de germinação na presença de luz (Abreu e Garcia, 2005; Oliveira e Garcia, 2005; Oliveira e Garcia, 2011). Os tratamentos de luz contínua e fotoperíodo de 12 h estimularam germinação máxima nas

sementes das espécies de *Vellozia* estudadas, sem diferenças entre ambos os tratamentos dentro de cada espécie, corroborando os resultados relatados para algumas espécies de Eriocaulaceae (Barreto, 2012).

As sementes das espécies investigadas neste estudo necessitaram de tempos diferenciados de exposição a pulso único de luz branca para atingirem os valores de germinabilidade máxima, variando de 2 h a mais de 96 h de exposição à luz. Embora seja conhecido que sementes de algumas espécies dependentes de luz são capazes de germinar após exposição à luz por minutos ou segundos (Scopel *et al.*, 1994; Carreira and Zaidan, 2007; Milberg, 1997; Ohadi *et al.*, 2010), mais de 80% das espécies de *Vellozia* investigadas necessitaram de tempos superiores a 24 h para atingirem germinabilidade máxima. Resultados similares foram obtidos por Kettering *et al.*, (2006) com *Carex* spp. (Cyperaceae), Nishii *et al.*, (2012) com *Streptocarpus rexii* (Gesneriaceae) e Barreto (2012) com espécies de Eriocaulaceae, cujas sementes apresentaram germinabilidade máxima somente quando expostas à luz por longos períodos. Segundo Kettering *et al.*, (2006), a necessidade de longos períodos de exposição a luz é um indicativo para adaptação das espécies a áreas abertas, que favorecem a exposição das sementes à luz, como é o caso dos campos rupestres, onde ocorrem as espécies de *Vellozia* estudadas.

Embora o requerimento de luz pelas sementes possa não apresentar uma relação direta com o tamanho das sementes (Kettering *et al.*, 2006), diferentes autores relatam que a luz age como um fator determinante da germinação de sementes que apresentam tamanho reduzido (Baskin e Baskin, 1998; Milberg *et al.*, 2000). O requerimento de luz para a germinação apresentado pelas sementes de *Vellozia* pode estar associado ao tamanho reduzido das sementes estudadas até o momento (entre 0,06 e 1,21 mg) (Garcia e Diniz, 2003; Garcia *et al.*, 2007; Soares da Mota e Garcia, 2013 e este estudo).

O tratamento com luz intermitente diminuiu significativamente o período de exposição à luz requerido para atingir germinabilidade máxima em 55% das espécies, mostrando que a maioria das espécies de *Vellozia* respondem a menores tempos de exposição quando submetidas a pulso de luz interrompido por escuro. Resultados similares foram descritos por Grubisic e Konjevic (1990) para sementes de *Paulownia tomentosa* e por Hsiao e Vidaver (1984) com sementes de *Lactuca sativa*, cuja germinação é promovida por pulsos de luz V (vermelha) intercalados com escuro. De acordo com Casal *et al.*, (1998), pulsos de luz interrompidos por condição de escuro são mais eficientes na promoção da germinação, uma vez que o sinal luminoso percebido

durante o pulso de luz continua operando durante algum tempo após as sementes serem transferidas para o escuro. Grubisic e Konjevic (1990) verificaram que sementes que respondiam apenas a longos períodos de exposição à luz necessitaram de dois pulsos de luz para induzir a germinação. Os autores sugerem que o primeiro pulso de luz V inicia uma cadeia de reações do escuro que é observado somente após o segundo pulso de luz, de forma que o primeiro pulso estaria atuando na sensibilização das sementes, enquanto o segundo seria o responsável por desencadear a germinação propriamente dita.

A luz controla a germinação de sementes através dos fitocromos (Tataki, 2001) que, após perceberem e capturarem os sinais luminosos, desencadeiam uma série de processos internos, dentre eles, a síntese de hormônios vegetais (Finch-Savage e Footitt, 2012; Godoi e Tataki, 2005). Os fitocromos, além de controlar a germinação através da regulação dos níveis de hormônios nas sementes (Seo *et al.*, 2009), atuam na percepção de luz/escuro e da qualidade da luz (razão V:VE) (Casal e Sanchez, 1998; Tataki, 2001). Os principais fitocromos envolvidos no controle da germinação em resposta à luz são o PhyA e o PhyB (Shinomura *et al.*, 1994; Heschel *et al.*, 2008). PhyA é a forma responsável por perceber as transições de luz/escuro (Casal *et al.*, 2013) e atua em resposta à luz VE (Heschel *et al.*, 2008). Pode mediar respostas de alta irradiância (HIR) e respostas de muito baixa fluência (VLFR) quando submetidas a pulsos de luz contínua e pulsos de luz interrompidos por escuro, respectivamente (Casal *et al.*, 1997). As razões V:VE são percebidas pelo PhyB, que também estão envolvidos nas resposta à luz V (Casal *et al.*, 2007; Heschel *et al.*, 2008) e são responsáveis por mediar respostas tipo VLFR, quando as sementes são submetidas a pulsos de luz contínua (Casal *et al.*, 1998).

Os estudos que abordam o comportamento germinativo em relação à qualidade da luz são importantes por indicarem o grau de tolerância das espécies a diferentes razões V:VE que podem ocorrer em ambientes naturais (Válio e Scarpa, 2001). Sementes de *Vellozia* requerem razões V:VE diferenciadas para germinação máxima. Espécies que requerem longos tempos de exposição à luz, como *V. albiflora* e *V. pusilla*, atingiram germinação máxima somente quando expostas às maiores razões testadas, indicando que estas sementes germinam apenas quando em ambientes abertos e expostos a grande intensidade de luz, assim como observado para a área de ocorrência das *Vellozias* estudadas, apresentando altos valores de V:VE (1,13) e alta intensidade luminosa ( $1.296 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Entretanto, espécies que requerem menor tempo de exposição à luz, como *V. caruncularis* e *V. glauca*, foram capazes de atingir germinabilidade máxima em razões V:VE muito baixas (0,02 e 0,08, respectivamente), o que sugere que estas

espécies são capazes de germinar em locais sombreados e com baixa intensidade de luz. De acordo com Pereira *et al.* (2009), sementes de espécies de rupícolas de Bromeliaceae que, portanto, estão expostas a altas irradiâncias, são inibidas por baixas razões V:VE. O comportamento germinativo apresentado pelas sementes de *V. caruncularis* e *V. glauca* (curtos períodos de luz e baixas razões de V:VE para atingirem germinabilidade máxima) sugerem que estas espécies respondem por VLFR, que são mediadas pelo PhyA e induzidas em baixas proporções de fitocromo Pfr (Casal *et al.*, 1998).

Os resultados obtidos neste estudo confirmaram que as sementes de todas as espécies de *Vellozia* estudadas são dependentes de luz para germinação a 25°C, porém, apresentam requerimentos distintos de exposição à luz que podem variar de 2 h a períodos superiores que 96 h para pulso único e de 10 min a períodos maiores que 8 h nos tratamentos de luz interrompidos por escuro. O tempo mínimo requerido de exposição à luz está diretamente relacionado à razão V:VE necessária para germinabilidade máxima, de modo que as espécies que requerem maior tempo de exposição à luz altas porcentagens de germinação também necessitam de maiores razões V:VE, e espécies que requerem menor tempo de exposição a luz são capazes de atingirem valores máximos de germinação em baixas razões V:VE. Estes dados mostram que as espécies de *Vellozia* estudadas não apresentam um padrão específico de germinação em resposta à luz para o gênero.

## Referências

- Abreu, M.E.P. and Garcia, Q.S. (2005)** Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de *Xyris* L. (Xyridaceae) ocorrentes na Serra do Cipó, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **19**, 149-154.
- Barreto, L.C. (2012)** Estudos em Eriocaulaceae Mart.: Caracterização morfológica do tegumento e germinação de sementes. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais.
- Baskin, C.C. and Baskin J.M. (1998)** *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, California.
- Benites, V.C., Caiafa, A.N., Mendonça, E.S., Schaefer, C.E. and Ker, J.C. (2003)** Solos e vegetação nos Complexos Rupestres de altitude da Mantiqueira e do Espinhaço. *Floresta e Ambiente* **10**, 76-85.
- Benites, V. C., Schaefer, C.E.G.R., Simas, F.N.B. and Santos, H.G. (2007)** Soils associated witch rock outcrops in the Brazilian mountain ranges Mantiqueira and Espinhaço. *Revista Brasileira de Botânica* **30**, 569-577.
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M. and Nonogaki, H. (2013)** *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*. New York: springer 3 ed.
- Carreira, R.C. and Zaidan, L.B.P. (2007)** Germinação de sementes de espécies de Melastomataceae de Cerrado sob condições controladas de luz e temperatura. *Hoehnea* **34**, 261-169.
- Casal, J.J., Candia, A.N. and Sellaro, R. (2013)**. Light perception and signalling by phytochrome A. *Journal of Experimental Botany* **12**, 1-11.
- Casal, J.J. and Sánchez, R.A. (1998)** Phytochromes and seed germination. *Seed Science Reserch* **8**, 317-329.
- Casal, J.J., Sánchez, R.A. and Botto, J.F. (1998)** Modes of action of phytochromes. *Journal of Experimental Botany* **49**, 127-138.
- Casal, J.J., Sánchez, R.A. and Yanovsky, M.J. (1997)** The function of phytochrome A. *Plant Cell and Environment* **20**, 813-819.
- Cheib, A.L. and Garcia, Q.S. (2012)** Longevity and germination ecology of seeds of endemic Cactaceae species from high-altitude sites in south-eastern Brazil. *Seed Science Research* **22**, 45-53.
- Fenner, M. and Thompson, K. (2005)**. *The Ecology of Seeds*. Cambridge, Press Syndicate of the University of Cambridge.

- Finch-Savage, W.E. and Footitt, S.** (2012) To germinate or not to germinate: a question of dormancy relief not germination stimulation. *Seed Science Research* **22**, 243-248.
- Flores, J., Jurado, E. and Arredondo, A.** (2006) Effect of light on germination of seeds of Cactaceae from the Chihuahuan Desert, Mexico. *Seed Science Research* **16**, 149–155.
- Garcia, Q.S. and Diniz, I.S.S.** (2003) Comportamento germinativo de três espécies de *Vellozia* da Serra do Cipó (MG). *Acta Botânica Brasilica* **17**, 487-494.
- Garcia, Q.S. and Oliveira, P.G.** (2007) Germination patterns and seed longevity of monocotyledons from the Brazilian campos rupestres. *Seed Science and Biotechnology* **1**, 35-41.
- Garcia, Q.S., Jacobi, C.M. and Ribeiro, B.A.** (2007) Resposta germinativa de duas espécies de *Vellozia* (Velloziaceae) dos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **21**, 451-456.
- Giulietti, A.M., Harley, R.M., Queiroz, L.P. de., Wanderley, M.das G.L. and Pirani, J.R.** (2000) Caracterização e endemismo nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço pp. 311-318. in Cavalcantii, T.B., Walter, B.M.J. (eds). *Tópicos Atuais em Botânica*. Brasília. Embrapa Recursos Genéticos.
- Giulietti, A.M., Harley, R.M., de Queiroz, L.P., Wanderley, M.G.L. and Van Den Berg, C.** (2005) Biodiversity and conservation of plant in Brasil. *Conservation biology* **19**, 632-639.
- Godoi, S. and Tataki, M.** (2005) Efeito da temperatura e a participação do fitocromo no controle da germinação de sementes de embaúba. *Revista Brasileira de Sementes* **27**, 87-90.
- Grubisic, D. and Konjevic, R.** (1990) Light and nitrate interaction in phytochrome-controlled germination of *Paulownia tomentosa* seeds. *Planta* **181**, 239-243.
- Han, Y.J., Son, P.S. and Kim, J.I.** (2007) Phytochrome-mediated photomorphogenesis in plants. *Journal Plant Biology* **50**, 230–240.
- Heschel, M.S., Butler, C.M., Barua, D. Chiang, G.C.K., Wheeler, A. Sharrock, R.A., Whitlam, G.C. and Donohue, K.** (2008) New roles of phytochromes during seed germination **169**, 531–540.
- Henning, L., Stoddart, M., Dieterle, M., Whitlam, G.C. and Schafer, E.** (2002) Phytochrome E control light-induced germination of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **128**, 194-200.

- Hsiao, A.I. and Vidaver, W.** (1984) Effects of temperature and various red or far-red irradiations on phytochrome and gibberellin A<sub>3</sub>-mediated germination control in partially hydrated lettuce seeds. *Journal Experimental Botany* **35**, 1771-1781.
- Jankowska-Blaszczuk, M. and Daws, M.I.** (2007). Impact of red:far red ratios on germination of temperate forest herbs in relation to shade tolerance, seed mass and persistent in the soil. *Functional Ecology* **21**, 1055-1062.
- Kettenring, K.M., Gardner, G. and Galatowitsch, S.M.** (2006) Effect of light on seed germination of eight wetland *Carex* species. *Annals of Botany* **98**, 869-874.
- Matheus, S. and Sharrock, R.A.** (1997) Phytochrome gene diversity. *Plant Cell and Environment* **20**, 666-671.
- Milberg, P.** (1997) Weed seed germination after short-term light exposure: germination rate, photon fluence response and interaction with nitrate. *Weed Research* **37**, 157-164.
- Milberg, P., Anderson, L. and Thompson K.** (2000) Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* **10**, 99-104.
- Nishii, K., Nagata, T., Wang, C.N. and Moller, M.** (2012) Light as environmental regulator for germination and macrocotyledon development in *Streptocarpus rexii* (Gesneriaceae). *South African Journal of Botany* **81**, 50-60.
- Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y. and Yamaguchi, S.** (2003) Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell*. **15**, 1591-1604.
- Ohadi, S., Rahimian, M.H. and Tavakkol-Afshari, R.** (2010) Modelling the effect of light intensity and duration of exposure on seed germination of *Phalaris minor* and *Poa annua*. *Weed Research* **50**, 209-217.
- Oliveira, P.G. and Garcia, Q.S.** (2005) Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Syngonanthus elegantulus* Ruhland, *S. elegans* (Bong.) Ruhland e *S. venustus* Silveira (Eriocaulaceae). *Acta Botanica Brasilica* **19**, 639-645.
- Oliveira, P.G. and Garcia, Q.S.** (2011) Germination characteristics of *Syngonanthus* seeds (Eriocaulaceae) in campos rupestres vegetation in south-eastern Brazil. *Seed Science Research* **21**, 39-45.
- Pereira, A.R., Andrade, A.C.S., Pereira, T.C., Forzza, R.C. and Rodrigues, A.S.** (2009) Comportamento germinativo de espécies epífitas rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **32**, 827-838.

- Pons, T.L.** (2000) Seed responses to light in Fenner, M. (Ed.) pp. 237-260 in *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford, CABI Publishing pp. 237-260.
- Seo, M. Nambara, E., Choi, G.E. and Yamaguchi, S.** (2009) Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. *Plant Molecular Biology* **69**, 463-472.
- Shinomura, T., Nagatani, A., Chow, J. and Furuya, M.** (1994) The induction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* is regulated principally by phytochrome B and second B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academic Science* **93**, 8129-8133.
- Soares da Mota, L.A.S. and Garcia, Q.S.** (2013) Germination patterns and ecological characteristics of *Vellozia* seeds from high-altitude in South-eastern Brazil. *Seed Science Research* **23**, 67-74.
- Scopel, A.L., Ballaré, C.L. and Radosevich, S.R.** (1994) Photostimulation of seed germination of seed germination during soil tillage. *New Phytology* **126**, 145-152.
- Takaki, M.** (2001) New proposal of classification of seed based on forms of phytochrome instead of photoblastism. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **13**, 103-107.
- Valente, A.S.M., Judice, D.M., Barros, F.S.M., Messina, T., Moraes, M.M.V. de and Mello-Silva, R.** (2013). Velloziaceae. p.999 in Martinelli, G. and Morais, M.A. (2013). *Livro vermelho da flora do Brasil*. Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Válio, I.F.M. and Scarpa, F.M.** (2001). Germination of seeds of tropical pioneer species under controlled and natural conditions. *Revista Brasileira de Botânica* **24**, 79-84.
- Yamaguchi, S., and Kamiya, Y.** (2000) Gibberellin biosynthesis: Its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant Cell Physiology* **41**, 251-257.
- Yamaguchi, S.** (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review of Plant Biology* **59**, 225-251.



**ABA MODULA A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Vellozia* spp. EM  
RESPOSTA À LUZ E TEMPERATURA**

Elaborado segundo as normas da Revista Plant Growth Regulation

## Resumo

A germinação é controlada por interações de fatores internos, como os hormônios giberelinas (GA) e ácido abscísico (ABA), e externos, como luz e temperatura. Este trabalho investigou a relação entre luz, temperatura e os hormônios giberelinas (GAs) e ácido abscísico (ABA) na germinação de *Vellozia caruncularis*, *V. intermedia* e *V. variabilis*, cujas sementes são indiferentes à luz sob altas temperaturas. As sementes foram incubadas em soluções de 100 µM de GA e ABA e seus inibidores (paclobutrazol e fluridone). Os níveis de GAs e ABA foram quantificados por HPLC acoplado a MS-MS em sementes de *V. intermedia* e *V. variabilis* durante a embebição. ABA inibiu a germinação das espécies de *Vellozia* em todas as condições testadas. Fluridone, fluridone+GA<sub>3</sub> e giberelinas estimularam a germinação no escuro a 25 °C (GA<sub>4</sub> mais efetiva que GA<sub>3</sub>). A aplicação de paclobutrazol reduziu a germinação de sementes de *V. caruncularis* e *V. variabilis*, entretanto, não afetou a germinação de *V. intermedia* a 40 °C sob luz e escuro. Ao longo da embebição, os níveis de GAs ativas foram reduzidos em *V. intermedia* e não variaram em *V. variabilis* em ambas as temperaturas. A embebição sob 40 °C favoreceu a diminuição dos níveis endógenos de ABA nas sementes das duas espécies. Conclui-se que o ABA é responsável por modular a germinação das sementes de *Vellozia* estudadas.

**Palavras chave:** Ácido abscísico, giberelinas, paclobutrazol, fluridone, germinação, Velloziaceae.

## Abstract

Germination is controlled by interactions of internal factors such as hormones gibberellins (GA) and abscisic acid (ABA), and external, such as light and temperature. This work aimed to investigate the relationship between light, temperature and the hormones gibberellins (GAs) and abscisic acid (ABA) in the germination of *Vellozia caruncularis*, *V. intermedia* and *V. variabilis*, whose seeds do not require light to germinate in high temperature. The seeds were incubated in solutions 100  $\mu$ M of GA and ABA and in their inhibitors (paclobutrazol and fluridone). The levels of GAs and ABA were analyzed by HPLC coupled to MS-MS in seeds of *V. intermedia* and *V. variabilis* during imbibition. ABA inhibited the germination of *Vellozia* seeds in all conditions. Fluridone, fluridone+GA<sub>3</sub> and gibberellins stimulated the germination in the dark at 25 °C (GA<sub>4</sub> was more effective than GA<sub>3</sub>). Paclobutrazol inhibited the germination in both species, *V. caruncularis* and *V. variabilis*, however did not affect the germination in *V. intermedia* at 40 °C in the light or in the dark. During imbibition, the levels of bioactive GAs decreased in *V. intermedia* and did not change in *V. variabilis* in both temperatures (25 and 40 °C). The imbibition at 40 °C promoted the reduction of endogenous ABA levels in the seeds of both species. We can conclude that ABA modulates the germination of *Vellozia* seeds.

**Keywords:** Abscisic acid, gibberellins, paclobutrazol, fluridone, germination, Velloziaceae.

## Introdução

Os fatores ambientais são importantes na regulação da germinação por influenciar nas adaptações das espécies ao local de ocorrência e promover características germinativas diversificadas (Vázquez-Yanes e Orozco-Segovia, 1993; Seo et al. 2006). Dentre os principais fatores ambientais destacam-se a temperatura e a luz (Bewley e Black, 2013). A temperatura influencia na porcentagem e velocidade de germinação, devido aos efeitos que exerce sobre a permeabilidade das membranas (Bewley e Black, 2013; Zheng et al. 2005), atividade enzimática e metabolismo respiratório (Simon et al. 1976; Okusanya, 1980). A luz controla a germinação por meio da percepção e transdução de sinais, utilizando moléculas como os fitocromos, que modulam os níveis dos principais hormônios envolvidos na germinação, o ácido abscísico (ABA) e as giberelinas (GAs) (Seo et al. 2009).

Estudos recentes têm abordado as interações entre GAs e ABA com luz e temperatura, com o intuito de estabelecer como estas relações modulam os processos de indução e inibição da germinação de sementes *in situ* (Seo et al. 2009; Huarte e Benech-Arnold, 2010; Finch-Savage e Footitt, 2012). As GAs são consideradas promotoras da germinação de sementes (Seo et al. 2006; Seo et al. 2009; Finch-Savage e Footitt, 2012), por estimular o crescimento do embrião e induzir a síntese de enzimas que atuam no enfraquecimento do endosperma micropilar (Kucera et al. 2005; Yamaguchi et al. 2001; Yamaguchi, 2008). O metabolismo de GAs pode ser influenciado pela luz, que contribui para mudanças no balanço hormonal (Seo et al. 2009), através da expressão de genes envolvidos na biossíntese de GAs bioativas e no catabolismo de ABA (Nambara et al. 2010; Finch-Savage e Footitt, 2012).

O ABA é sintetizado a partir da via biossintética de carotenoides e tem como principais funções induzir a dormência primária e inibir a germinação precoce das sementes (Nambara et al. 2010). O ABA age não apenas como um mantenedor da dormência, mas também atua como um regulador negativo da germinação (Kucera et al. 2005), através da inibição da síntese ou da atividade das enzimas que atuam na degradação da parede celular (Chen et al. 2007; Chen et al. 2008; Finch-Savage e Footitt, 2012) ou por impedir a expansão da radícula (Miransari e Smith 2014). Quando as sementes são expostas a condições ambientais favoráveis à germinação, pode ocorrer decréscimo nos níveis de ABA e aumento da síntese *de novo* de GAs, o que favorece a germinação (Ogawa et al. 2003).

Os níveis dos hormônios GAs e ABA podem ser alterados na presença de paclobutrazol e de fluridone, respectivamente (Kusumoto et al. 2006). A aplicação de paclobutrazol age bloqueando a síntese de GAs bioativas (Huarte e Benech-Arnold, 2010) e, conseqüentemente, pode inibir a germinação (Kepczzynski e Kepczynska, 1988; Chen et al. 2010; Huarte e Benech-Arnold, 2010). Por outro lado, a biossíntese de ABA pode ser bloqueada pela aplicação de fluridone, culminando na promoção da germinação de algumas espécies (Chen et al. 2007; Huarte e Benech-Arnold, 2010), sendo também eficiente na superação de dormência fisiológica (Chen et al. 2007; Chen et al. 2008; Yoshioka et al. 1998).

Existe um crescente reconhecimento de que as vias de sinalização das plantas para luz e temperatura estão conectadas, entretanto, em contraste com as relativamente bem conhecidas vias de sinalização à luz, tem sido difícil caracterizar a percepção e sinalização em resposta à temperatura (Franklin et al. 2014). Em sementes, os mecanismos de atuação da luz na promoção da germinação são bem elucidados, mas o tipo de sinalização celular com o qual respondem às variações de temperatura ainda não está claro (Samach e Wigge, 2005). Estudos realizados com sementes de *Vellozia* spp. (Velloziaceae), um gênero típico dos campos rupestres do Brasil, mostraram que luz e temperatura são fatores ambientais que modulam as respostas germinativas (revisado por Garcia e Oliveira, 2007; Soares da Mota e Garcia, 2013). Sementes de *Vellozia* spp. têm um padrão distinto de germinação; alta germinabilidade em ampla faixa de temperatura, com requerimento de luz em temperaturas  $\leq 30^{\circ}\text{C}$  e independência de luz em temperaturas mais altas (35 e  $40^{\circ}\text{C}$ ).

Esta resposta diferenciada e raramente reportada, torna estas espécies um modelo para estudos que buscam entender as bases fisiológicas das relações entre luz e temperatura na regulação da promoção e inibição da germinação de sementes. O objetivo deste estudo foi investigar, pela primeira vez, a relação entre luz, temperatura e os hormônios ABA e GAs na germinação de sementes de três espécies de *Vellozia*, sob temperaturas com respostas germinativas contrastantes ( $25^{\circ}\text{C}$ , condição na qual a germinação é dependente de luz e  $40^{\circ}\text{C}$ , germinação independente de luz). Este estudo foi desenvolvido com o intuito de responder as seguintes questões: (1) A aplicação exógena de GAs pode substituir o requerimento de luz em sementes de *Vellozia* spp. mantidas no escuro a  $25^{\circ}\text{C}$ ?; (2) A aplicação de ABA inibe a germinação de sementes em todas as condições favoráveis?; (3) A aplicação de paclobutrazol e de fluridone é capaz de inibir e promover a germinação, respectivamente?; (4) A temperatura de

incubação influencia nos níveis endógenos de GAs e ABA durante a germinação de sementes de *Vellozia* spp. no escuro?

## **Material e Métodos**

### **Material vegetal**

Sementes de *Vellozia caruncularis* e *V. variabilis* foram coletadas na Serra do Cipó (19°13'21"S/43°29'58"O; 19°23'06"S/43°41'15"O respectivamente) e de *V. intermedia* na região de Furnas (20°38'39"S/46°15'56"O), Minas Gerais, Brasil. Ambos os locais de coleta estão em áreas de campos rupestres, fitofisionomia encontrada em montanhas descontínuas da Cadeia do Espinhaço, em altitudes acima de 800 m (Giulietti et al. 2000). O clima da região é caracterizado como tropical altitudinal mesotérmico, com duas estações bem definidas; uma estação seca (outono-inverno) com duração de 6 a 7 meses e uma estação chuvosa (primavera-verão) com duração entre 5 e 6 meses (Cheib e Garcia, 2012). A temperatura varia entre as estações, havendo registros de temperaturas próximas de 5°C e de 50°C na superfície do solo durante o ano (Giorni, 2009).

### **Testes de germinação**

Os experimentos foram conduzidos em câmaras de germinação a 25 e a 40°C. Para cada tratamento foram utilizadas seis repetições de 25 sementes dispostas em placas de Petri forradas com folha dupla de papel filtro umedecida com soluções de GAs e ABA e seus respectivos inibidores, conforme o tratamento aplicado. Nos tratamentos controle (luz e escuro a 25°C e luz e escuro a 40°C), as placas foram umedecidas com solução de nistatina (Oliveira e Garcia, 2011). Para a condição de escuro, as placas de Petri foram envolvidas em folha dupla de papel metalizado e sacos opacos de polietileno e as observações realizadas sob luz verde de segurança. A germinação foi acompanhada por 15 dias e o critério de germinação utilizado foi a emergência da raiz primária.

### **Experimento 1: Tratamentos com hormônios e seus inibidores**

Foram testadas aplicações de ABA, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich) e seus respectivos inibidores de biossíntese, fluridone ((1-metil-3fenil-5-[3-triuo-metil-

(fenil)(-4-(1H)-piridinoma}) e paclobutrazol ([2RS,3RS-1-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-2-(1H1,2,4-Triazol-1-il)pentran-3ol]) (Fluka-Analytical). Para todos os tratamentos, as placas de Petri foram umedecidas com 5ml de solução de hormônio ou inibidor na concentração de 100  $\mu$ M (Benech-Arnold et al. 2003; Huarte e Benech-Arnold, 2010). Para o tratamento com combinação de hormônio e inibidor foi utilizada solução de GA<sub>3</sub> (100  $\mu$ M) + fluridone (100  $\mu$ M).

O período estabelecido para imersão das sementes nas soluções de hormônios e inibidores foi de 96 horas (tempo médio necessário para as sementes de *Vellozia* atingirem a germinabilidade máxima, de acordo com Soares da Motta e Garcia, 2013). Para os tratamentos com GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> e fluridone (FLU), as sementes foram mantidas no escuro a 25°C; para tratamentos com ABA e paclobutrazol (PCB), as sementes foram mantidas na luz a 25 ou a 40°C e no escuro a 40°C. Após o período de incubação nos hormônios e inibidores todos os tratamentos foram transferidos para a condição de escuro e acompanhados por 15 dias.

## **Experimento 2: Análise do perfil hormonal**

Devido às respostas germinativas contrastantes no escuro a 25 e 40°C, sementes de *V. intermedia* e *V. variabilis* foram selecionadas para as análises do perfil hormonal durante a embebição nestas condições. Os tempos de embebição foram estabelecidos partindo de zero (sementes secas, antes da embebição) ao início da germinação visível (emergência da raiz primária) de cada espécie (em horas) - tempo máximo para que as flutuações hormonais pré-germinativas ocorressem. *Vellozia intermedia* e *V. variabilis* iniciam a germinação após 36 e 60 horas de embebição, respectivamente, portanto, as análises foram realizadas com 0, 12, 24 e 36 horas de embebição para as sementes de *V. intermedia* e 0, 15, 30 e 60 horas para *V. variabilis*. Os níveis de ABA, GAs ativas (GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub>) e GAs precursoras (GA<sub>9</sub>, GA<sub>19</sub>, GA<sub>20</sub> e GA<sub>24</sub>) foram determinados em sementes de *V. intermedia* e *V. variabilis* como descrito por Müller e Munné-Bosch (2011), com modificações. Amostras de 100 mg de sementes (n = 5) foram trituradas em nitrogênio líquido e os hormônios extraídos com metanol e 1% de ácido acético glacial, incluindo padrões internos, utilizando aparelho de ultrassom. O volume total de sobrenadante coletado foi centrifugado (9000 g por 15 minutos a frio) e filtrado, utilizando filtro 0,22  $\mu$ m PTFE (Waters, Milford, MA, USA). As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta performance acoplada a espectrômetro de

massa (HPLC-MS/MS). A quantificação foi feita por curvas de calibração incluindo padrões internos para cada hormônio analisado.

### **Análise estatística**

Para o Experimento 1 foram calculadas as porcentagens finais de germinação, com posterior transformação dos dados para arcoseno  $\sqrt{\%}$ . Foram realizados testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Brown-Forsythe) e os dados que apresentaram homogeneidade de variâncias e normalidade foram analisados por ANOVA e as comparações entre as médias realizadas pelo teste de Tukey, considerando  $P < 0,05$ . Para os dados que, mesmo após a transformação, permaneceram com variâncias não homogêneas e/ou não normais foi realizado teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann-Whitney com correções por Bonferroni. Para o Experimento 2, os dados de tempo de embebição em cada temperatura (25 e 40°C) foram analisados usando “two-way” ANOVA, sendo “tempo de embebição” e “temperatura” os fatores avaliados. Quando foram encontradas diferenças significativas para os fatores, comparações por teste de Tukey foram realizadas para determinar diferenças individuais entre as médias.

## **Resultados**

### **Tratamentos com hormônios e seus inibidores**

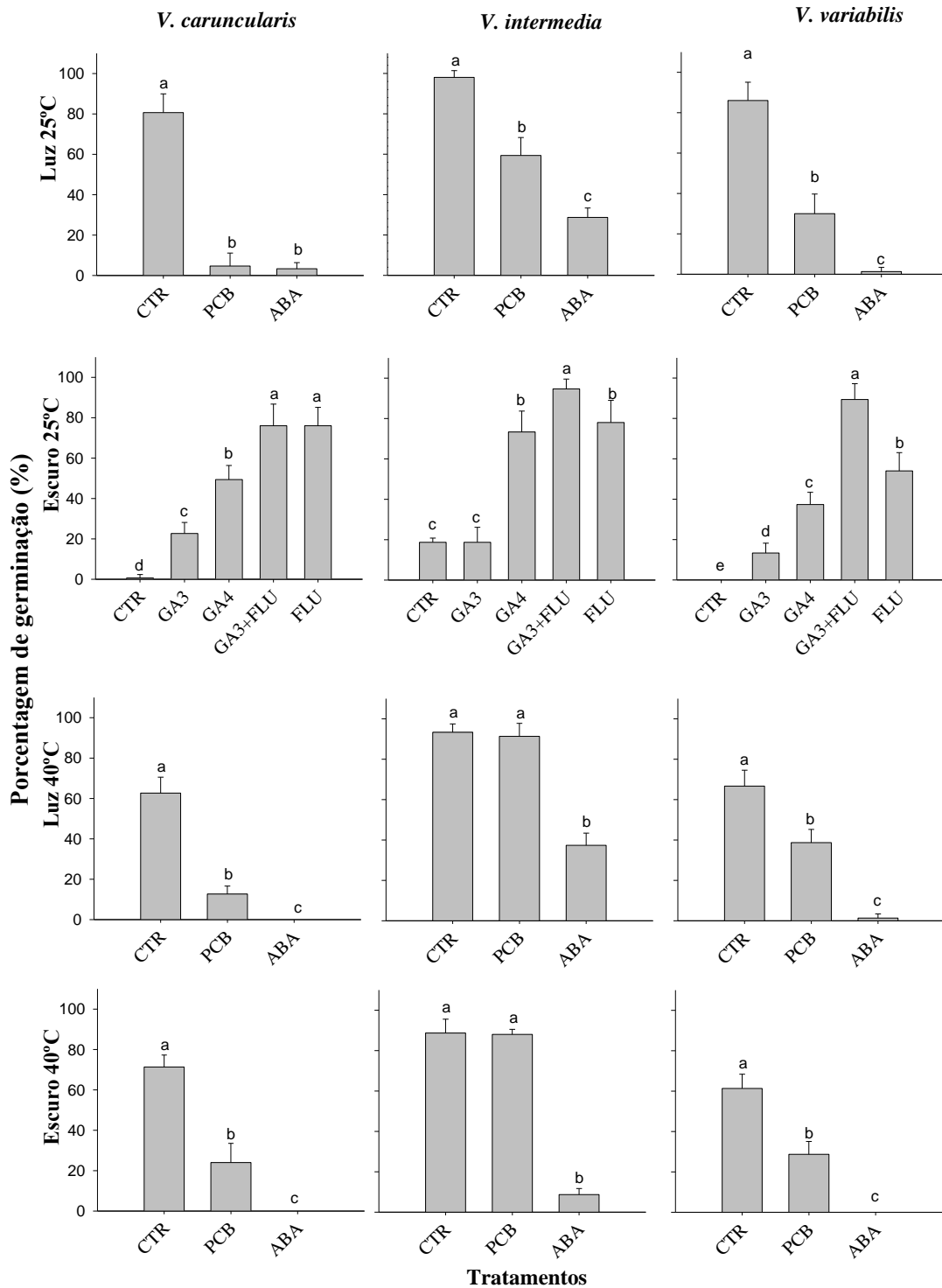
As sementes das três espécies de *Vellozia* apresentaram alta germinabilidade na presença de luz em ambas as temperaturas (25 e 40°C). A germinação foi inibida no escuro a 25°C, entretanto, na temperatura de 40°C não houve diferença significativa entre os tratamentos de luz e escuro (Fig. 1).

ABA e PCB inibiram a germinação das sementes de *V. caruncularis* em todas as condições testadas (25°C na presença de luz, 40°C na luz e no escuro) (Fig. 1). A aplicação de GA promoveu parcialmente a germinação das sementes no escuro (maior germinabilidade com GA<sub>4</sub> que com GA<sub>3</sub>), ambas com porcentagem de germinação inferiores aos tratamentos controle (40°C no escuro e 25°C na luz) (Fig. 1). Nos tratamentos GA<sub>3</sub>+FLU e FLU as sementes apresentaram alta germinabilidade, sem diferença em relação aos tratamentos controle (escuro a 40 °C e luz a 25 e 40°C) (Fig. 1).



Em sementes de *V. intermedia* a germinação foi inibida pela aplicação de ABA em todas as condições testadas (Fig. 1). PCB reduziu a germinação a 25°C na luz, no entanto, não teve efeito nos tratamentos sob luz e escuro a 40°C (Fig. 1). A germinação das sementes não foi promovida com a aplicação de GA<sub>3</sub>, sem diferença significativa em relação ao controle no escuro a 25°C, entretanto, GA<sub>4</sub> estimulou a germinação com porcentagens similares às obtidas no escuro a 40°C ( $P > 0,05$ ) (Fig. 1). Sementes tratadas com FLU+GA<sub>3</sub> apresentaram germinabilidade sem diferenças significativas em relação aos tratamentos a 25 °C na luz e 40 °C na luz e escuro ( $P > 0,05$ ) (Fig. 1). A aplicação de FLU promoveu a germinação, entretanto, com valores inferiores aos obtidos com FLU+GA<sub>3</sub>.

ABA inibiu completamente a germinação, enquanto PCB reduziu a germinação das sementes de *V. variabilis* em todas as condições testadas (luz a 25°C; luz e escuro a 40°C). Os tratamentos com GA<sub>3</sub> e GA<sub>4</sub> promoveram parcialmente a germinação no escuro a 25 °C; GA<sub>4</sub> foi mais efetiva que GA<sub>3</sub> (Fig. 1). A aplicação de FLU+GA<sub>3</sub> promoveu a germinação no escuro a 25°C, sem diferença significativa em relação ao tratamento controle na luz a 25°C ( $P > 0,05$ ) (Fig. 1). FLU promoveu a germinação com porcentagens similares aos tratamentos controle na luz e escuro a 40°C, porém, com germinabilidade inferior ao controle na luz a 25°C ( $P > 0,05$ ) (Fig. 1).

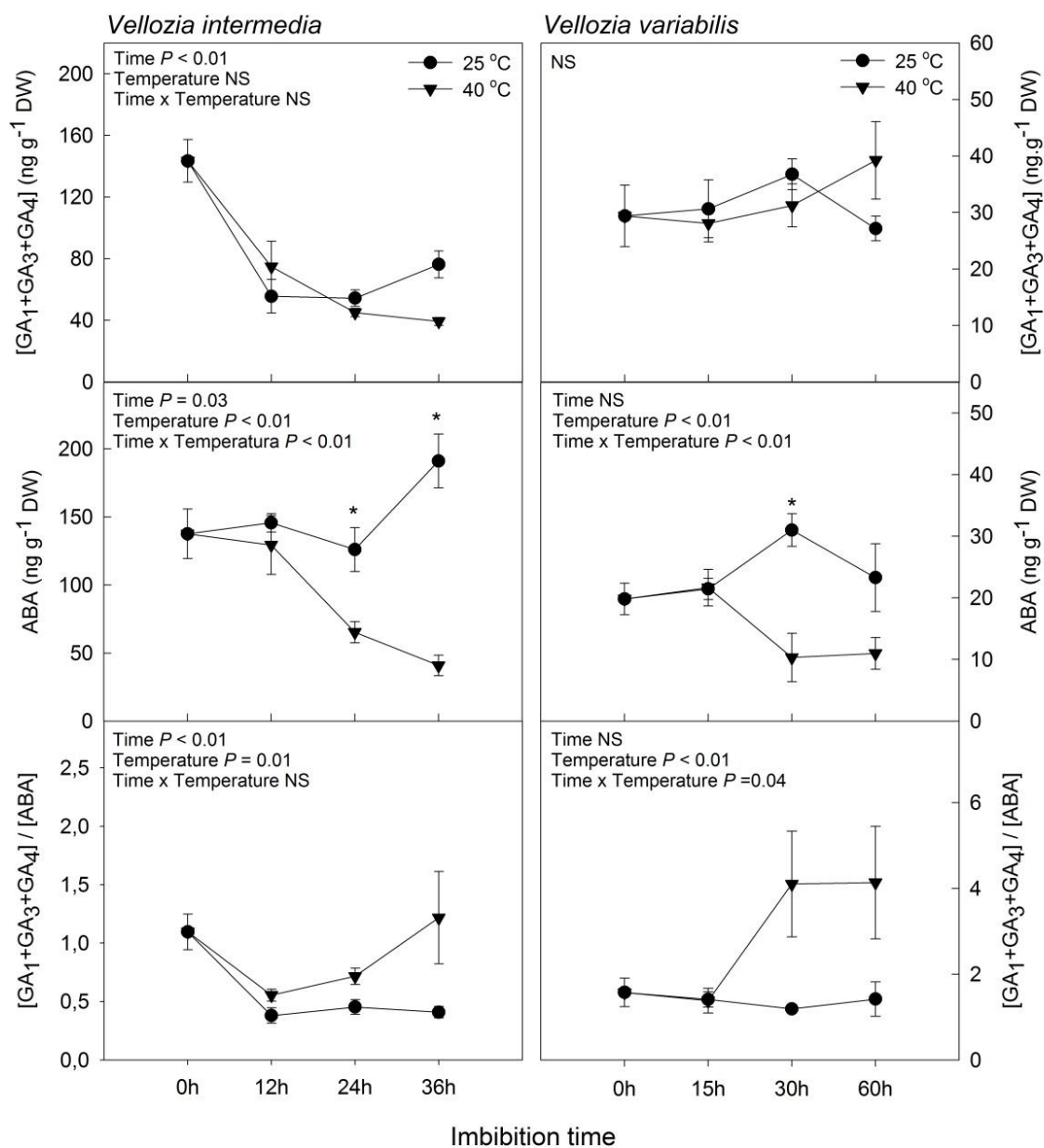


**Figura 1** - Porcentagem de germinação de três espécies de *Vellozia* mantidas nas temperaturas de 25 e 40 °C sob luz ou escuro contínuo, tratadas com diferentes reguladores de crescimento (CTR = controle; GA<sub>3</sub> e GA<sub>4</sub> = giberelinas; ABA = ácido abscísico; PCB = paclobutrazol; FLU = fluridone). Barras verticais indicam o desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos dentro de cada gráfico.

### **Perfil hormonal**

Em sementes de *V. intermedia* foram detectadas giberelinas ativas ( $GA_1$ ,  $GA_3$  e  $GA_4$ ) e precursoras ( $GA_9$ ,  $GA_{19}$ ,  $GA_{20}$  e  $GA_{24}$ : dados não mostrados) durante a embebição nas temperaturas de 25 e 40°C. Foi observada redução dos níveis de GAs ativas total ( $GA_1 + GA_3 + GA_4$ ) em ambas as temperaturas (Fig. 2). Os níveis de ABA foram significativamente reduzidos durante a embebição a 40°C. A interação entre tempo de embebição e temperatura foi significativa, evidenciando que no tempo de 24 e 36 horas as sementes mantidas a 25°C apresentaram conteúdo de ABA superior às mantidas a 40°C (Fig. 2). As razões GAs ativas por ABA (GAs/ABA), em geral, foram menores em sementes mantidas a 25 que aquelas a 40°C. Na temperatura de 25°C houve redução significativa da razão GAs/ABA do tempo zero para os demais tempos amostrados (Fig. 2).

Em sementes de *V. variabilis* foram detectadas GAs precursoras (dados não apresentados) e GAs ativas, as quais não mostraram alteração significativa durante a embebição em ambas as temperaturas (25 e 40°C) (Fig. 2). Os níveis de ABA foram reduzidos durante a embebição (30 e 60 horas) a 40°C, entretanto, não sendo observada alteração nas sementes mantidas na temperatura de 25°C. A interação entre tempo de embebição e temperatura foi significativa; os níveis de ABA foram maiores nas sementes embebidas a 25°C que a 40°C no tempo de 30 horas (Fig. 2). A razão GAs/ABA em sementes de *V. variabilis* permaneceu constante a 25°C, entretanto, a 40°C a razão GAs/ABA foi maior nos tempos de 30 e 60 horas de embebição em relação aos tempos de 0 e 15 horas (Fig. 2).



**Figura 2** - Níveis de giberelinas ativas (GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub> e GA<sub>4</sub>), ABA e da razão GAs ativas/ABA em sementes de *Vellozia intermedia* (esquerda) e *Vellozia variabilis* (direita). Dados representam as médias ± erro padrão (n = 5). Diferenças entre a interação dos fatores foram testadas por “two-way” análise de variância (ANOVA) com tempo de embebição e temperatura como fatores. NS, não significativo. (\*) Diferenças significativas da interação entre os fatores.

## Discussão

Luz e temperatura são fatores ambientais percebidos pelas sementes através da integralização de sinais, por meio dos quais as respostas fisiológicas são desencadeadas (Samach e Wigge, 2005). As espécies do bioma Cerrado, que inclui a fitofisionomia de campos rupestres, podem germinar na faixa de 10 a 45°C, com requerimentos de luz e temperatura distintos entre as espécies (Zaidan e Carreira, 2008). A temperatura pode afetar a germinação e a sensibilidade à luz, de forma que as sementes podem apresentar requerimento de luz em algumas temperaturas, mas em outras não (Pons, 2000). Em sementes de *Vellozia*, o requerimento de luz pode ser alterado pela temperatura, uma vez que, na presença de luz, as sementes germinam em ampla faixa de temperatura e, no escuro, apenas em temperaturas elevadas (35 e 40°C) (Garcia e Diniz, 2003; Garcia et al. 2007; Soares da Mota e Garcia, 2013).

A luz promoveu a germinação das sementes de *Vellozia* estudadas, em porcentagens superiores a 62% em ambas as temperaturas (25 e 40°C), assim como observado para outras espécies do gênero (Garcia e Oliveira, 2007; Soares da Mota e Garcia, 2013). Durante a embebição das sementes na presença de luz ocorre síntese *de novo* de GAs através da regulação do gene GA 3-β-hidroxiase (Yamaguchi et al. 1998) e decréscimo nos níveis de ABA pela expressão de ABA 8'-hidroxiase, que consequentemente promovem a germinação (Nambara e Marion-Poll, 2005, Seo et al. 2006).

A aplicação exógena de GAs pode substituir o requerimento de luz em sementes de muitas espécies, estimulando o processo de germinação no escuro (Yamaguchi e Kamiya, 2000; Yamaguchi e Kamiya, 2002, Leon et al. 2007; Dissanayake et al. 2010). Nas espécies de *Vellozia* investigadas, a aplicação de GAs promoveu parcialmente a germinação, não substituindo totalmente o requerimento de luz exigido pelas sementes mantidas a 25°C. Segundo Hilhorst et al. (1986), a luz é responsável pela promoção da germinação de sementes por estimular a biossíntese e/ou aumentar a sensibilidade às GAs, através da síntese *de novo* e/ou aumento da atividade de receptores de GAs.

A germinação de sementes tratadas com paclobutrazol pode ser inibida (Huarte e Benech-Arnold 2010; Hu et al. 2012), uma vez que este composto age sobre as monooxigenases do tipo citocromo P<sub>450</sub> presentes na rota biossintética das giberelinas, inibindo a síntese de GAs bioativas (Fletcher et al. 2000; Randemacher, 2000). A germinação das sementes de *V. caruncularis* e *V. variabilis* tratadas com paclobutrazol

foi reduzida de 42% (*V. variabilis* na luz a 40°C) a 94% (*V. caruncularis* na luz a 25°C). O efeito inibitório de paclobutrazol também foi observado para diferentes espécies (Benech-Arnold et al. 2003; Goggin et al. 2009; Huarte e Benech-Arnold, 2010; Hu et al. 2012). As sementes de *V. caruncularis* e *V. variabilis* mostraram-se mais sensíveis à ação de paclobutrazol que as de *V. intermedia*, o que sugere mecanismos de resposta diferenciados entre as espécies. A promoção da germinação das sementes das espécies de *Vellozia* na presença de giberelinas sugere que a síntese de GAs ativas seja necessária para que ocorra a germinação na presença de luz a 25°C, especialmente para *V. caruncularis* e *V. variabilis*.

O ABA tem como principal função manter a dormência de sementes e inibir o processo de germinação precoce (Toorop et al. 2000; Kucera et al. 2005). A aplicação de ABA reduziu drasticamente a germinação das sementes de *Vellozia* spp., variando de 60% (*V. intermedia* na luz 40°C) a 100% (*V. variabilis* e *V. caruncularis* no escuro a 40°C), assim como observado para sementes de outras espécies (Goggin et al. 2009; Chen et al. 2010; Huarte e Benech-Arnold, 2010; Hu et al. 2012),

O efeito inibitório da germinação imposto pelo ABA pode ser bloqueado com a aplicação de fluridone (Ali-Rachedi et al. 2004). Fluridone atua na via dos carotenoides bloqueando a biossíntese de ABA e, conseqüentemente, promove a germinação (Chen et al. 2007; Huarte e Benech-Arnold, 2010). A germinação das três espécies de *Vellozia* foi promovida com a aplicação de fluridone, como observado em outras espécies (Yoshioka et al. 1998; Benech-Arnold et al. 2003; Goggin et al. 2009; Chen et al. 2010; Hu et al. 2012).). Embora seja conhecido o efeito do ABA na germinação e/ou manutenção da dormência (Seo et al. 2009; Finch-Savage e Footitt, 2012), ainda não estão claros os mecanismos pelos quais os fatores ambientais influenciam no metabolismo de ABA. Os resultados obtidos para as sementes de *Vellozia* mantidas no escuro a 25°C sugerem que, nestas condições ocorre síntese de ABA, uma vez que a inibição da síntese de ABA com a aplicação de fluridone promoveu a germinação.

Alguns trabalhos demonstram que a germinação no escuro em baixas temperaturas (4 °C) é promovida pela indução da expressão de genes da síntese *de novo* de GAs (Derkx et al. 1994; Yamauchi et al. 2004; Penfield et al. 2006) e que em sementes de *Arabidopsis* existe supressão de genes de biossíntese de GAs em altas temperaturas (Toh et al. 2008). Neste estudo não foram testadas temperaturas baixas, entretanto, em temperaturas com respostas germinativas contrastantes no escuro (25 e 40°C), não foi observada a síntese de GAs bioativas pelas sementes de *Vellozia* spp. em

ambas as condições. Em condições de escuro, independente da temperatura testada as sementes de *V. intermedia* tiveram seus níveis de GAs ativas reduzidos, enquanto nas sementes de *V. variabilis* não houve alteração, o que sugere que o sucesso germinativo dessas espécies a 40°C no escuro não está relacionado com a biossíntese de GAs.

Os trabalhos que elucidam os mecanismos pelos quais a temperatura afeta os níveis hormonais ainda são escassos. Alguns trabalhos sugerem que temperaturas altas induzem a termoinibição da germinação devido à síntese *de novo* de ABA (Yoshioka et al. 1998; Gonai et al. 2003; Tamura et al. 2006; Toh et al. 2008). Okamoto et al. (2006) verificaram que o gene que codifica a síntese da enzima chave no processo de catabolismo de ABA (8'-hidroxilase) exerce controle da germinação de *Arabidopsis* em resposta às variações de temperatura na presença de luz. Em sementes de cevada embebidas no escuro os níveis de ABA foram menores aos obtidos quando em presença de luz contínua, contribuindo para que os grãos germinassem no escuro (Gubler et al. 2008). Para as espécies de *Vellozia* estudadas podemos concluir que o metabolismo de ABA foi influenciado pela temperatura, devido às diferenças observadas a 40 e a 25°C. Na temperatura de 25°C no escuro foi observada uma tendência de aumento dos níveis de ABA, indicando síntese *de novo* de ABA, o que foi confirmado com os resultados da aplicação de fluridone. A redução dos níveis de ABA, observados nas sementes embebidas no escuro a 40°C, sugere que nesta condição ocorre aumento do catabolismo de ABA, permitindo a germinação.

Os dados de ambos os experimentos demonstraram que *V. intermedia* é mais sensível que *V. variabilis* à aplicação de GAs, principalmente GA<sub>4</sub>. Embora não tenha sido evidenciada a síntese de GAs ativas durante a embebição no escuro, pode-se inferir que esse processo ocorre na presença de luz a 25°C, uma vez que a aplicação de paclobutrazol reduziu a germinação nestas condições em sementes de *V. caruncularis* e *V. variabilis*. A análise do perfil hormonal evidenciou que as sementes secas de *V. intermedia* apresentam maior conteúdo de GAs ativas que as de *V. variabilis*, o que pode ter permitido a germinação das sementes de *V. intermedia* na presença do inibidor (paclobutrazol). Pode-se concluir que as sementes de *Vellozia* estudadas são dependentes de luz ou de altas temperaturas para germinar; a aplicação de GA e fluridone promoveram a germinação, enquanto a aplicação de ABA e paclobutrazol a inibiram; a redução dos níveis de ABA a 40°C em ambas as espécies demonstraram que este hormônio modula a germinação de sementes de *Vellozia* mantidas no escuro.

## Referências

- Ali-Rachedi S, Bouinot D, Wagner MH, Bonnet B (2004) Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 219:479-88
- Benech-Arnold R, Sánchez RA, Rodríguez MV (2003) On the hormonal nature of the stimulatory effect of high incubation temperatures on germination of dormant sorghum (*S. bicolor*) caryopses. *New Phytologist* 160:371–377
- Bewley JD, Black M (1994) *Seeds: Physiology of development and germination*. New York: Plenum Press 2 ed.
- Cheib AL, Garcia QS (2012) Longevity and germination ecology of seeds of endemic cactaceae species from high-altitude sites in south-eastern Brazil. *Seed Science Research* 22:45–53
- Chen SY, Chien CT, Baskin JM, Baskin CC (2010) Storage behavior and changes in concentrations of abscisic acid and gibberellins during dormancy break and germination in seeds of *Phellodendron amurense* var. *wilsonii* (Rutaceae). *Tree Physiology* 30:275-284
- Chen SY, Chien CT, Chung JD, Yang YS, Kuo SR (2007) Dormancy-break and germination in seeds of *Prunus campanulata* (Rosaceae): role of covering layers and changes in concentration of abscisic acid and gibberellin. *Seed Science Research* 17:21-32
- Chen SY, Kuo S, Chien CT (2008) Roles of gibberellins and abscisic acid in dormancy and germination of red bayberry (*Myrcia rubra*) seeds. *Tree Physiology* 28:1431-1439
- Derckx MPM, Vermeer E, Karssen CM (1994). Gibberellins in seeds of *Arabidopsis thaliana*: Biological activities, identification and effects of light and chilling on endogenous levels. *Plant Growth Regulation* 15:223–234
- Dissanayake P, George DL, Gupta ML (2010) Effect of light, gibberellic acid and abscisic acid on germination of guayule (*Parthenium argentatum* Gray) seed. *Industrial Crops and Products* 32:111-117
- Finch-Savage WE, Footitt S (2012) To germinate or not to germinate: a question of dormancy relief not germination stimulation. *Seed Science Research* 22:243-248
- Fletcher RA, Gilley A, Sankhla N, Davis T (2000) Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews* 24:55-138



- Franklin, K.A., Toledo-Ortiz, G., Pyott, D.E., Halliday, K.J. 2014. Interaction of light and temperature signalling. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/eru059.
- Garcia QS, Diniz ISS (2003) Comportamento germinativo de três espécies de *Vellozia* da Serra do Cipó (MG). *Acta Botanica Brasilica* 17:487-494
- Garcia QS, Jacobi CM, Ribeiro BA (2007) Resposta germinativa de duas espécies de *Vellozia* (Velloziaceae) dos Campos Rupestres de Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 21:451-456
- Garcia QS, Oliveira PG (2007) Germination patterns and seed longevity of monocotyledons from the Brazilian campos rupestres. *Seed Science and Biotechnology* 1:35-41
- Giorni VT (2009) Aspectos ecológicos da germinação e longevidade *in situ* de sementes de *Xyris* L. (Xyridaceae) ocorrentes no Parque Estadual do Rio Preto, Minas Gerais. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais. 56p.
- Giulietti AM, Harley RM, Queiroz LP de, Wanderley MdasGL, Pirani JR (2000) Caracterização e endemismo nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço pp. 311-318. In: Cavalcantii TB, Walter BMJ (eds). *Tópicos Atuais em Botânica*. Brasília. Embrapa Recursos Genéticos.
- Goggin DE, Steadman KJ, Emery RJN, Farrow SC, Benech-Arnold RL, Powles SB (2009) ABA inhibits germination but not dormancy release in mature imbibed seeds of *Lolium rigidum* Gaud. *Journal Experimental Botany* 60:3387-3396
- Gonai T, Kawahara S, Tougou M, Satoh S, Hashiba T, Hirai N, Kawaide H, Kamiya Y Yoshioka T (2004) Abscisic acid in the thermoinhibition of lettuce seed germination and enhancement of its catabolism by gibberellin. *Journal Experimental Botany* 55:111-118
- Gubler F, Hughes T, Waterhouse P, Jacobsen J (2008) Regulation of dormancy in barley by blue light and after-ripening: effect on abscisic acid and gibberellin metabolism. *Plant Physiology* 147:886-896
- Hilhorst HWM, Smitt AI, Karssen CM (1986) Gibberellin-biosynthesis and sensitivity mediated stimulation of seed germination of *Sisymbrium officinale* by red light and nitrate. *Physiologia Plantarum* 67:285-290
- Huarte HR, Benech-Arnold RL (2010) Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara cardunculus* (L.). *Seed Science Research* 20:39-45
- Hu XW, Huang .H, Wang YR (2012) Hormonal and temperature regulation of seed dormancy and germination in *Leymus chinensis*. *Plant Growth Regulation* 67:199-207

- Kepeczynski J, Kepeczynska E (1988) Reversing the inhibitory effect of paclobutrazol on seed germination of *Amaranthus paniculatus* by GA, Ethephon or ACC. *Plant Growth Regulation* 7:47-52
- Kucera B, Cohn MA, Leubner-Metzger G (2005) Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15:281–307
- Kusumoto D, Chae SH, Mukaida K, Yoneyama K, Yoneyama K, Joel DM, Takeuchi Y (2006) Effects of fluridone and norflurazon on conditioning and germination of *Striga asiatica* seeds. *Plant Growth Regulation* 48:73–78
- Leon RG, Bassham DC, Owen MDK (2007) Thermal and hormonal regulation of the dormancy–germination transition in *Amaranthus tuberculatus* seeds. *Weed Reserch* 47:335-344
- Miransari M, Smith DL (2014) Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 99: 110–121
- Müller M, Munné-Bosch S (2011) Rapid and sensitive hormonal profiling of complex plant samples by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Plant Methods* 7:1-11
- Nambara E, Marion-Poll A (2005) Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review Plant Biology* 56:165-185
- Nambara E, Okamoto M, Tatematsu K, Yano R, Seo M, Kamiya Y (2010) Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination. *Seed Science Research* 20:55-57
- Ogawa M, Hanada A, Yamauchi Y, Kuwahara A, Kamiya Y, Yamaguchi S (2003) Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell* 15:1591–1604
- Okamoto M, Kuwahara A, Seo M, Kushihiro T, Asami T, Hirai N, Kamiya Y, Koshihara T, Nambara E (2006) CYP707A1 and CYP707A2, which encode abscisic acid 8'-hydroxylases, are indispensable for proper control of seed dormancy and germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 141:97-107
- Okusanya OT, (1980) Germination and growth of *Celosia cristata* L., under various light and temperature regimes. *American Journal of Botany* 67:854-858
- Oliveira PG, Garcia QS (2011) Germination characteristics of *Syngonanthus* seeds (Eriocaulaceae) in campos rupestres vegetation in south-eastern Brazil. *Seed Science Reserch* 21:39-45
- Olszewski N, Sun AT, Gubler F (2002) Gibberellin signaling: Biosynthesis, catabolism, and response pathways. *The Plant Cell* 1:61–80

- Penfield S, Li Y, Gilday AD, Graham S, Graham IA (2006) *Arabidopsis* ABA INSENSITIVE4 regulates lipid mobilization in the embryo and reveals repression of seed germination by the endosperm. *The Plant Cell* 18:1887–1899
- Pons TL (2000) Seed responses to light *in* Fenner, M. (Ed.) pp. 237-260 In: *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford, CABI Publishing pp. 237-260
- Randemacher W (2000) Growth Retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways. *Annu. Rev. Plant Physiology, Plant Molecular Biology* 51:501–31
- Samach A, Wigge PA (2005) Ambient temperature perception in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 8:483–486
- Seo M, Hanada A, Kuwahara A, Endo A, Okamoto M, Yamaguchi Y, North H, Marion-Poll A, Sun T, Koshiba T, Kamiya Y, Yamaguchi S, Nambara E (2006) Regulation of hormone metabolism in *Arabidopsis* seeds: Phytochrome regulation of abscisic acid metabolism and abscisic acid regulation of gibberellin metabolism. *Plant Journal* 48:354-366
- Seo M, Nambara E, Choi GE, Yamaguchi S (2009) Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. *Plant Molecular Biology* 69:463-472
- Simon EW, Minchin AM.; Mc Menamin MM, Smith JM (1976) The low temperature limit for seed germination. *New Phytologist* 77:301-311
- Soares da Mota LAS, Garcia QS (2013).Germination patterns and ecological characteristics of *Vellozia* seeds from high-altitude in South-eastern Brazil. *Seed Science Research* 23:67-74
- Tamura N, Yoshida T, Tanaka A, Sasaki R, Bando A, Toh S, Lepiniec L, Kawakami N (2006) Isolation and characterization of high temperature resistant germination mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology* 47:1081–1094
- Toh,S, Imamura A, Watanabe A, Nakabayashi K, Okamoto M, Jikumaru Y, (2008) High temperature-induced abscisic acid biosynthesis and its role in the inhibition of gibberellin action in *Arabidopsis* seeds. *Plant Physiology* 146:1368–1385
- Toorop PE Van Aelst AC, Hilhorst HWM (2000) The second step of the biphasic endosperm cap weakening that mediates tomato (*Lycopersicon esculentum*) seed germination is under control of ABA. *Journal of Experimental Botany* 51:1371-1379
- Toyomasu T, Yamane H, Murofushi N, Nick,P (1994) Phytochrome inhibits the effectiveness of gibberellins to induce cell elongation in rice. *Planta* 194:256–263

- Vázquez-Yanes C, Orozco-Segovia A (1993) Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annu. Rev. Ecology Systems* 24:69-87
- Yamaguchi S, Kamiya Y (2000) Gibberellin biosynthesis: Its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant Cell Physiology* 41:251–257
- Yamaguchi S, Kamiya Y (2002) Gibberellins and light-stimulated seed germination. *J. Plant Growth Regulation* 20:369–376
- Yamaguchi S, Kamiya Y, Sun TP (2001) Distinct cell specific expression patterns of early and late gibberellin biosynthetic genes during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Journal* 28:443–453
- Yamaguchi S (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review of Plant Biology* 59:225–251
- Yamauchi Y, Ogawa M, Kuwahara A, Hanada A, Kamiya Y, Yamaguchi S (2004) Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell* 16:367–378
- Yamauchi Y, Takeda-Kamiya N, Hanada A, Ogawa M, Kuwahara A, Seo M, Kamiya Y, Yamaguchi S (2007) Contribution of gibberellin deactivation by At GA2ox2 to the suppression of germination of dark-imbibed *Arabidopsis thaliana* seeds. *Cell Physiology* 48:555-561
- Yoshioka T, Endo T, Satoh S (1998) Restoration of seed germination at supra optimal temperatures by fluridone, an inhibitor of abscisic acid biosynthesis. *Plant Cell Physiology* 39:307-312
- Zaidan LBP, Carreira RC (2008) Seed germination in cerrado species. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20:167-181
- Zheng Y, Xie Z, Gao Y, Jiang L, Xing X, Shimizu H, Rimmington GM (2005) Effects of light, temperature and water stress on germination of *Artemisia sphaerocephala*. *Annals of Applied Biology* 146:327–335

## Considerações finais

As espécies de *Vellozia* não apresentam um padrão germinativo para o gênero em resposta à luz. Os resultados deste estudo confirmam que as sementes das espécies estudadas são dependentes de luz a 25°C, no entanto, apresentam requerimentos distintos de exposição à luz para atingirem germinabilidade máxima. Algumas espécies requerem longos períodos de exposição à luz que podem variar de 2 h a períodos superiores que 96 h para pulso único e de 10 min a períodos maiores que 8 h nos tratamentos de luz interrompidos por escuro. A razão V:VE necessária para que as sementes de *Vellozia* atinjam germinabilidade máxima, está diretamente relacionada ao tempo requerido de exposição à luz. As espécies que requereram maiores tempos de exposição à luz obtiveram germinação máxima somente quando expostas às maiores razões V:VE testadas, enquanto espécies que requereram curtos período de exposição à luz foram capazes de atingir germinabilidade máxima em baixas razões V:VE.

Os estudos com aplicação e quantificação hormonal confirmaram que as espécies de *Vellozia* estudadas são dependentes de luz em temperaturas mais baixas e independentes de luz em altas temperaturas. Foi observada a promoção da germinação das sementes tratadas com giberelinas e fluridone e a inibição da germinação imposta pela aplicação de ácido abscísico e paclobutrazol. Estes resultados, juntamente com a manutenção ou redução dos níveis de GAs, acompanhada pela redução dos níveis de ABA observada em sementes de *V. variabilis* e *V. intermedia* mantidas a 40°C no escuro, nos permite concluir que o ABA modula a germinação das sementes destas espécies nesta condição.