



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



BRENDA MAISA RODRIGUES SILVA

**DORMÊNCIA CÍCLICA E PARÂMETROS TÉRMICOS PARA
A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ERIOCAULACEAE**

**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

BELO HORIZONTE – MG

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



BRENDA MAISA RODRIGUES SILVA

DORMÊNCIA CÍCLICA E PARÂMETROS TÉRMICOS PARA A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ERIOCAULACEAE

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

Orientador: Prof. Dr^a. Queila de Souza Garcia
Universidade Federal de Minas Gerais

BELO HORIZONTE – MG

2018

Silva, Brenda Maisa Rodrigues

Dormência cíclica e parâmetros térmicos para a germinação de sementes de Eriocaulaceae [manuscrito] / Brenda Maisa Rodrigues Silva. - 2018.

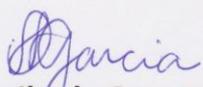
55 f.

Orientadora: Queila de Souza Garcia.

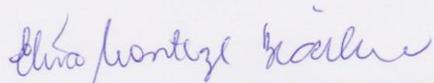
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto Ciências Biológicas.

1.Campos rupestres. 2.Ciclos de dormência. 3.Luz. 4.Amplitude térmica. I.Garcia, Queila de Souza. II.Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto Ciências Biológicas. III.Título.

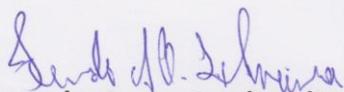
Dissertação defendida pela mestranda Brenda Maisa Rodrigues Silva e aprovada em 16 de julho de 2018, pela banca examinadora constituída pelos professores:



Dra. Queila de Souza Garcia (UFMG)



Dra. Elisa Monteze Bicalho (UFLA)



Dr. Fernando Augusto de Oliveira e Silveira (UFMG)

*Dedico este trabalho ao Gabriel, meu amor,
amigo e companheiro, e ao nosso filho
Bernardo, que tem mudado a cada dia o
sentido das nossas vidas.*

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por me cercar de amor e de bênçãos sem medida em todos os momentos da minha vida.

À minha orientadora, Professora Doutora Queila de Souza Garcia pela disposição, profissionalismo e dedicação dispensados a mim e a esse trabalho.

Ao Gabriel, meu marido e melhor amigo, pelas palavras de apoio e incentivo, pelo cuidado, carinho, paciência, compreensão e por todo o auxílio nas análises estatísticas e matemáticas deste trabalho.

Ao nosso filho Bernardo, que tem compartilhado comigo (bem de perto) todas as emoções de uma reta final de mestrado, e com seus chutes e estripolias dentro da barriga, me incentiva sempre a continuar.

Aos meus pais e à minha irmã, pela preocupação, amor incondicional, amizade e cuidado de sempre. A minha avó Verônica, que todo o dia intercede por mim em suas orações.

Aos membros da banca examinadora, Dr. Fernando A. Oliveira e Silveira, Dr^a. Elisa Monteze Bicalho, Dr^a. Leilane Carvalho Barreto e Dr^a Andréa Rodrigues Marques Guimarães, por terem aceitado o convite.

À Dr^a Andréa Rodrigues Marques Guimarães, por ter disponibilizado seu tempo me ajudando a entender a metodologia do tempo térmico.

À Dr^a Lívia Echternacht Andrade, pela identificação das Eriocaulaceae coletadas na Serra do Cabral.

A todo o pessoal do Laboratório de Fisiologia Vegetal e ao grupo SFADOS, pela disponibilidade e atenção nos momentos em que precisei de ajuda. Agradeço especialmente à Talita e Aline, por terem se tornado minhas amigas e me

proporcionarem muitas risadas e almoços na copinha que jamais esquecerei. À Daniela Duarte, que mesmo de longe me auxiliou com sugestões e esclareceu muitas dúvidas. Ao Túlio, sempre solícito a me ajudar, tanto no Laboratório quanto nas coletas na Serra do Cipó. Às “fibonáticas”, que tanto me auxiliaram nas coletas na Serra do Cabral.

Ao IBAMA e ao IEF, pela concessão da licença de coleta, aos funcionários do Parque Estadual da Serra do Cabral pelo apoio nas coletas e ao Sr. Messias, motorista do ICB que nos acompanhou na viagem à Serra do Cabral

Aos professores do Departamento de Biologia Vegetal.

À Universidade Federal de Minas Gerais, por estar sempre de portas abertas para mim, concluir minha graduação e meu mestrado nesta instituição é a realização de um sonho!

À CAPES pela concessão da bolsa.

Sumário

Resumo Geral	2
Abstract	2
Introdução Geral.....	5
Referências Bibliográficas	7
Capítulo 1: Aquisição de dormência secundária em sementes de <i>Syngonanthus verticillatus</i> mediada pela interação entre umidade e temperatura do solo	10
Resumo.....	11
Abstract	11
Introdução	13
Material e métodos.....	15
Resultados	18
Discussão.....	18
Referências Bibliográficas	23
Capítulo 2: Resposta de sementes de Eriocaulaceae à diferentes condições de luz e de temperatura.....	30
Resumo.....	31
Abstract	32
Introdução	33
Material e métodos.....	35
Resultados	38
Discussão.....	39
Referências Bibliográficas	44
Considerações finais	55

Índice de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1. Porcentagem de germinação de sementes de *Syngonanthus verticillatus* recém coletadas (RC) e enterradas por 15, 30, 60, 90, 120, 150 dias em substrato úmido (du) e seco (ds) sob as temperaturas de 15°C e 25°C (180 dias apenas a 25°C) e posteriormente submetidas a testes de germinação em quatro temperaturas (15°C, 20°C, 25°C e 30°C). Dados seguidos por letras iguais e minúsculas não diferem dentro da coluna. Dados seguidos por letras iguais e maiúsculas não diferem dentro da linha.

Capítulo 2

Tabela 1. Espécies de Eriocaulaceae abordadas no presente estudo, distribuição geográfica e dados acerca dos locais de coleta das populações e do habitat.

Tabela 2. Tamanho das sementes (comprimento e largura em milímetros) das espécies de Eriocaulaceae investigadas neste estudo.

Tabela 3. Parâmetros das equações lineares de ajuste das curvas de velocidade de germinação de diferentes frações percentuais em sementes de três espécies de Eriocaulaceae em função da temperatura (na faixa infra-ótima). Os valores de T_b (temperatura base) representam as projeções das retas na abscissa ($y = 0$). Os valores dados pelas frações mais elevadas (em negrito) foram considerados as T_b de cada espécie.

Índice de Figuras

Introdução Geral

Figura 1. Campo rupestre da Serra do Cabral (A), *Actinocephalus geniculatus* (B), *Comanthera bisulcata* (C), inflorescências de *Syngonanthus niger* (D), hábito de

Syngonanthus niger (E), *Syngonanthus anthemiflorus* (F), *Syngonanthus multipes* (G), *Syngonanthus verticillatus* (H), Produtos artesanais produzidos com “semprevivas” (I – J). (Fotos: A-B: Talita Santos; C, H: Daniela Duarte; E: Lívia Echternacht; D, I, J: Brenda Silva; F-G: Elisa Bicalho)

Capítulo 1

Figura 1. Porcentagem de germinação de sementes de *Syngonanthus verticillatus* enterradas por diferentes tempos a 15°C (A) e a 25°C (B) e em seguida submetidas a testes de germinação em quatro temperaturas (15°C, 20°C, 25°C e 30°C). Os dias sem asterisco correspondem ao período em substrato úmido e os seguidos de asterisco se referem ao tempo em substrato seco.

Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de *Syngonanthus verticillatus* enterradas por 45 dias em substrato úmido (DU) e subsequentemente expostas à secagem por 30 dias (DS), secagem em sílica (S) e em estufa (E) por três tempos (72, 96 e 120 horas) e expostas à aplicação de giberelina (GA₄) em duas concentrações (125 e 250 µM) e fluridone (100 µM). O asterisco indica a diferença significativa entre o tratamento de aplicação de fluridone e os demais tratamentos.

Capítulo 2

Figura 1. Germinabilidade de quatro espécies de Eriocaulaceae expostas a diferentes pulsos intermitentes (1, 2, 4, 6 e 8 horas por um período de cinco dias) e únicos (24, 48, 72 e 96 horas) de luz branca. Os controles foram feitos sob escuro e fotoperíodo de 12 horas (12/12 FP). As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos de luz (teste de Tukey a 5% de probabilidade); as barras de erro representam o desvio-padrão.

Figura 2. Porcentagem final de germinação (barras) e velocidade média de germinação (V_m , linhas) de sementes de quatro espécies de Eriocaulaceae sob temperaturas constantes de 15 a 35°C. As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey a 5% de probabilidade); as barras de erro

representam o desvio-padrão. Barras brancas indicam as temperaturas ótimas de germinação para cada espécie.

Figura 3. Relação entre temperatura e velocidades de germinação correspondentes às frações 30, 40, 50, 60 e 70% de sementes de *Actinocephalus geniculatus*. A velocidade foi calculada como $1/t_g$, ou seja, como a recíproca de tempo necessário para a germinação das frações percentuais.

Figura 4. Relação entre temperatura e velocidade de germinação correspondentes às frações 10, 20, 30, 40, 50 e 60% de sementes de *Comanthera bisulcata*. A velocidade foi calculada como $1/t_g$, ou seja, como a recíproca de tempo necessário para a germinação das frações percentuais.

Figura 5. Relação entre temperatura e velocidade de germinação correspondentes às frações 30, 40, 50, 60 e 70% de sementes de *Syngonanthus multipes*. A velocidade foi calculada como $1/t_g$, ou seja, como a recíproca de tempo necessário para a germinação das frações percentuais.

**Dormência cíclica e parâmetros térmicos para a
germinação de sementes de Eriocaulaceae**

Resumo Geral

A família Eriocaulaceae possui distribuição pantropical, sendo muitas espécies conhecidas popularmente como “sempre-vivas”. Os campos rupestres da Cadeia do Espinhaço são considerados o centro de diversificação do grupo. Nestes ambientes, marcados pela sazonalidade, foram descritos ciclos de dormência para sementes de *Syngonanthus verticillatus*. Nesta espécie, condições típicas do verão (alta umidade e temperatura) estão associadas à aquisição de dormência, enquanto a superação da dormência ocorre durante a estação seca. Os objetivos do primeiro capítulo foram determinar o tempo mínimo necessário para a aquisição e a superação da dormência em substrato úmido e seco, respectivamente, sob dois regimes de temperatura (15 e 25°C), e verificar o efeito de tratamentos de secagem e aplicação de giberelina e fluridone (inibidor de biossíntese de ácido abscísico, ABA) para a superação da dormência. A temperatura modula a velocidade de aquisição de dormência, sendo este processo mais rápido sob a temperatura mais alta (25°C). Não foi possível observar o alívio da dormência das sementes em nenhum dos tratamentos testados, exceto pela aplicação de fluridone, o que indica que ocorre síntese *de novo* de ABA em sementes dormentes de *S. verticillatus* durante a incubação. Além de os fatores físicos do ambiente estarem relacionados ao controle da dormência, os mesmos também regulam a germinação de sementes em seu ambiente natural. Os locais habitados pelas espécies de Eriocaulaceae estão sujeitos a oscilações de temperatura e expostos a alta luminosidade, e tais características refletem os padrões germinativos dessas espécies. O objetivo do segundo capítulo foi avaliar as exigências de luz e temperatura para a germinação de cinco espécies (*Actinocephalus geniculatus*, *Comanthera bisulcata*, *Syngonanthus anthemiflorus*, *Syngonanthus multipes* e *Syngonanthus niger*). Foram realizados testes de germinação sob temperaturas constantes de 15 a 35°C, tendo sido calculadas as temperaturas base (T_b) para três espécies. Além disso, foram aplicados pulsos únicos (por 24, 48, 72 e 96 horas) e intermitentes (por 1, 2, 4, 6 e 8 horas por cinco dias consecutivos) de luz branca. Nossos resultados mostraram que as sementes de todas as espécies necessitam de longos períodos de exposição à luz para germinar. *A. geniculatus*, *S. anthemiflorus* e *C. bisulcata* mostraram a maior amplitude térmica (15 a 35°C). Para *S. multipes*, a porcentagem de germinação foi maior que 50% entre as temperaturas de 17,5 a 30°C e a faixa térmica mais restrita

foi encontrada para *S. niger* (20 a 30°C). Para as três espécies selecionadas, os valores encontrados para as Tb (6.0, 11.2 e 14.1°C) foram compatíveis com as variações de temperatura que ocorrem nos campos rupestres.

Palavras-chave: ciclos de dormência, campos rupestres, luz, amplitude térmica

Abstract

Eriocaulaceae has pantropical distribution, being many species popularly known as "sempre-vivas". The *campos rupestres* from Espinhaço Range are considered the center of diversification of the group. In these environments, marked by seasonality, dormancy cycles were described for *Syngonanthus verticillatus* seeds. In this species, typical summer conditions (high humidity and temperature) are associated with the acquisition of dormancy, whereas dormancy overcoming occurs in the dry season. The main of the first chapter was to determine the minimum time required for the acquisition and overcoming of dormancy on wet and dry substrate, respectively, under two temperature regimes (15 and 25°C), and the effect of treatments of drying and application of gibberellin and fluridone (inhibitor of abscisic acid biosynthesis, ABA) to overcome dormancy. The temperature modulates the rate of dormancy acquisition, this process being faster under the highest temperature (25°C). Seed dormancy alleviation was not observed in any of the treatments except for the application of fluridone, which indicates that *de novo* ABA synthesis occurs in dormant *S. verticillatus* seeds during incubation. Besides the physical factors of the environment are related to the control of dormancy, they also regulate the germination of seeds in their natural environment. The sites inhabited by the Eriocaulaceae species are subject to temperature fluctuations and exposed to high luminosity, and these characteristics reflect the germinative patterns of these species. The objective of the second chapter was to evaluate the light and temperature requirements for the germination of five species (*Actinocephalus geniculatus*, *Comanthera bisulcata*, *Syngonanthus anthemiflorus*, *Syngonanthus multipes* and *Syngonanthus niger*). Germination tests were carried out at constant temperatures of 15 to 35°C, and the base temperatures (Tb) were calculated for three species. In addition, single (24, 48, 72 and 96 hours) and intermittent (1, 2, 4, 6

and 8 hours for five consecutive days) pulses of white light were applied. Our results showed that all species require long periods of light to germinate. *A. geniculatus*, *S. anthemiflorus* and *C. bisulcata* showed the highest thermal amplitude (15 to 35°C). For *S. multipes*, the percentage of germination was greater than 50% between temperatures of 17.5 to 30°C and the most restricted thermal range was found for *S. niger* (20 to 30°C). For the three species selected, the values found for the Tb were compatible with the temperature variations that occur in the *campos rupestres*.

Keywords: dormancy cycles, *campos rupestres*, light, thermal range

Introdução Geral

A Cadeia do Espinhaço abrange um conjunto de serras que se estendem desde o centro-sul de Minas Gerais até a Chapada Diamantina, na Bahia (Giulietti et al., 1987), região considerada como um dos centros globais de diversidade vegetal pela IUCN (UNEP, 2000), e reconhecida como Reserva da Biosfera pela UNESCO em 2005 (Silveira et al., 2016). Nas regiões mais elevadas do Espinhaço, em altitudes que variam de 900 a 2000 metros, ocorrem os campos rupestres (Giulietti et al., 1987; Rapini et al., 2008), uma fitofisionomia heterogênea (Le-Stradic et al., 2015), caracterizada predominantemente por ervas e arbustos associados a afloramentos rochosos (Silveira et al., 2016). Este ecossistema abriga uma grande diversidade vegetal, com um alto grau de endemismo de espécies (Echternacht et al., 2011; Silveira et al., 2016).

Eriocaulaceae é uma das famílias mais representativas dos campos rupestres (Echternacht et al., 2011), cuja principal característica morfológica é o hábito em roseta, da qual partem escapos portando inflorescências do tipo capítulo (Giulietti & Hensold, 1990). Várias espécies dessa família são popularmente conhecidas como “sempre-vivas” (Oliveira et al., 2015), sendo comercializadas há décadas por comunidades locais, como forma de subsistência, ao longo da Cadeia do Espinhaço mineira (Giulietti et al., 1988). Muitas espécies estão incluídas no Livro Vermelho da Flora do Brasil (Sano et al., 2013) e na Lista de Espécies Ameaçadas da IUCN (IUCN, 2017) devido ao extrativismo predatório associado às pressões resultantes das atividades agrícola, pecuária e mineradora, que têm resultado em declínio das populações (Sano et al., 2013).

Devido a crescente ameaça antrópica às populações de Eriocaulaceae e à importância biológica e econômica dessa família, estudos que abordam a biologia de sementes se tornam fundamentais para o entendimento de processos essenciais, como o estabelecimento das plântulas, a sucessão ecológica e a regeneração natural dos ambientes (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1993). A germinação compreende um estágio vulnerável do ciclo de vida das plantas (Donohue et al., 2010), regulado principalmente por três fatores abióticos: umidade, luz e temperatura (Bewley et al., 2013). A luz atua como regulador da germinação em sementes fotoblásticas positivas (Fankhauser & Chory, 1997; Baskin & Baskin, 2014), sendo a resposta a ela mediada pelos fitocromos, pigmentos fotorreceptores que convertem

sinais luminosos em bioquímicos e estimulam a ocorrência do processo germinativo (Pons, 2000). A temperatura, além de afetar o percentual e a velocidade da germinação, também modifica a taxa de absorção de água e das reações bioquímicas relacionadas à mobilização de reservas nas sementes (Bewley et al., 2013). A umidade do substrato é importante para garantir a embebição, que é o passo inicial para a retomada do metabolismo respiratório, enzimático e de síntese proteica do embrião (Bewley et al., 2013). Além disso, a umidade pode modular a aquisição de dormência secundária em sementes de algumas espécies (Benech-Arnold et al., 2000; Duarte & Garcia, 2015).

Sabe-se que podem ocorrer alterações cíclicas da germinabilidade das sementes ao longo das estações do ano, fenômeno denominado ciclo de dormência (Baskin & Baskin, 1985; Hilhorst, 1998; Baskin & Baskin, 2014), o qual foi descrito recentemente em regiões tropicais, para espécies de Eriocaulaceae e Xyridaceae (Garcia et al., 2012; Garcia et al., 2014, Duarte & Garcia., 2015; Oliveira et al., 2017). Nestas sementes, é a interação entre umidade e temperatura do solo que promove a indução ou superação da dormência (Duarte & Garcia, 2015), de forma sincronizada à sazonalidade do habitat que ocupam (Garcia et al., 2014).

O objetivo deste estudo foi investigar a interação entre dois fatores ambientais (umidade do solo e temperatura) na modulação da dormência de sementes de *S. verticillatus* (Figura 1H), bem como a influência do tempo de exposição à luz e da temperatura na germinação de cinco espécies endêmicas dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço (Figura 1).



Figura 1. Campo rupestre da Serra do Cabral (A), *Actinocephalus geniculatus* (B), *Comanthera bisulcata* (C), inflorescências de *Syngonanthus niger* (D), hábito de *Syngonanthus niger* (E), *Syngonanthus anthemiflorus* (F), *Syngonanthus multipes* (G), *Syngonanthus verticillatus* (H), Produtos artesanais produzidos com “semprevivas” (I – J). (Fotos: A-B: Talita Santos; C, H: Daniela Duarte; E: Lívia Echternacht; D, I, J: Brenda Silva; F-G: Elisa Bicalho)

Referências Bibliográficas

Baskin J.M., Baskin C.C., 1985. The annual dormancy cycle in buried weed seeds: a continuum. *BioScience* 35, 8, 92–498.

Baskin, C.C., Baskin, J.M., 2014. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of dormancy and germination*. 2nd edition. San Diego: Academic Press, 1600 p.

Benech-Arnold, R.L., Sánchez, R.A., Forcella, F., Kruk, B.C., Ghera, C.M., 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* 67, 105-122.

Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H., 2013. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. 3rd edition. New York: Springer Science + Business Media, 381 p.

Donohue, K., Casas, K.K., Burghart, L., Kovach, L.K., Willis, C.G. 2010. Germination, post germination adaptation, and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 41, 293–319.

Duarte D.M., 2014. Influência dos fatores ambientais na sinalização e modulação da dormência cíclica em sementes enterradas de duas espécies de Eriocaulaceae. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil.

Duarte, D.M, Garcia, Q.S., 2015 Interactions between substrate temperature and humidity in signaling cyclical dormancy in seeds of two perennial tropical species. *Seed Science Research* 25, 2, 170 – 178.

Echternacht, L., Trovó, M., Oliveira, C. T., Pirani, J.R. 2011. Areas of endemism in the Espinhaço Range in Minas Gerais, Brazil. *Flora* 206, 782– 791.

Fankhauser, C., Chory, J. 1997. Light control of plant development. *Annuals Reviews in Cell Development Biology*, 13, 203–229.

Garcia Q.S., Oliveira P.G., Duarte D.M., 2014. Seasonal changes in germination and dormancy of buried seeds of endemic Brazilian Eriocaulaceae. *Seed Science Research* 24, 113–117.

Garcia, Q.S., Giorni, T., Müller, M., Munné-Bosch, S., 2012. Common and distinct responses in phytohormone and vitamin E changes during seed burial and dormancy in *Xyris bialata* and *X. peregrina*. *Plant Biology* 14, 347–353.

Giulietti, A. M., Hensold, N. 1990. Padrões de distribuição geográfica dos gêneros de Eriocaulaceae. *Acta Botanica Brasilica* 1, 133-158.

Giulietti, A.M., Menezes, N.L., Pirani, J.R., Meguro, M., Wanderley, M.G.L. 1987. Flora de Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. *Boletim Botânico da Universidade de São Paulo* 9, 1-151.

Giulietti, N., Giulietti, A.M., Pirani, J.R., Menezes, N. L. 1988. Estudos em sempre-vivas: Importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 1, 179-193.

Hilhorst, H.W.M. 1998 The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research* 8, 77-90.

Le Stradic S., Buisson E., Fernandes G.W. 2015. Vegetation composition and structure of some Neotropical mountain grasslands in Brazil. *Journal Mountain Science* 12, 864–877.

Oliveira, M.N.S.O., Dias, B.A.S., Andrade, G.C., Tanaka, M.K., Ávila, R.G., Silva, L. C. 2015. Harvest times of *Comanthera elegans*, a worldwide traded Brazilian species of everlasting flower: implications on seed production, germination, and on species management. *Brazilian Journal of Botany* 38, 795- 809.

Pons, T.L., 2000. Seed responses to light. In: Fenner, M. (Ed.), *Seeds: the Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CABI Publishing, Wallingford, pp.237–260.

Rapini, A., Ribeiro, P.L., Lambert, S., Pirani, J.R. 2008. A flora dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade* 4, 15-23.

Sano, P.T., Giulietti, A.M., Judice, D.M., Penedo, T.S.A., Freitas, M.F. 2013. Eriocaulaceae. In: Martinelli, G & Moraes, M. A (eds). *Livro Vermelho da Flora do Brasil*. 1ª edição. Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 496–501.

Silveira, F.A.O., Negreiros, D., Barbosa, N.P.U., Buisson, E., Carmo, F.F., Carstensen, D.W., Conceição, A.A., Cornelissen, T.G., Echternacht, L., Fernandes, G.W., Garcia, Q.S., Guerra, T.J., Jacobi, C.M., Lemos-Filho, J.P., Stradic, S.L., Morellato, L.P.C., Neves, F.S., Oliveira, R.S., Schaefer, C.E., Viana, P.L., Lambers, H. 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant Soil* 403, 129–152.

The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-3 //www.iucnredlist.org//

UNEP World Conservation Monitoring Centre. A global overview of protected areas on the world heritage list of particular importance for biodiversity: A contribution to the Global Theme Study of World Heritage Natural Sites. 2000

Vázquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, A. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24, 69-87.

Capítulo 1

Aquisição de dormência secundária em sementes de *Syngonanthus verticillatus* mediada pela interação entre umidade e temperatura do solo

Resumo

Syngonanthus verticillatus (Eriocaulaceae) é uma espécie herbácea, perene e endêmica dos campos rupestres da porção mineira da Cadeia do Espinhaço, Brasil. Suas sementes são muito pequenas e dispersas sem dormência primária. Entretanto, quando enterradas em seu ambiente natural elas adquirem dormência secundária e apresentam ciclos anuais de dormência que acompanham a sazonalidade do habitat. Os objetivos deste estudo foram determinar o tempo mínimo necessário para a indução e a superação da dormência em substrato úmido e seco, respectivamente, sob dois regimes de temperatura constante, além de testar o efeito de tratamentos de secagem e aplicação de giberelina e fluridone para a superação da dormência. As sementes foram enterradas em substrato úmido sob as temperaturas de 15 e 25°C por 15, 30, 60 e 90 dias para indução da dormência. Para a superação da dormência, sementes mantidas em substrato úmido por 90 dias foram exumadas e enterradas novamente em substrato seco por períodos de 60, 90, 120, 150 dias nas temperaturas de 15 e 25°C e também 180 dias sob 25°C. Ao final de cada exumação, as sementes foram submetidas a testes de germinação sob 15, 20, 25 e 30°C, sob fotoperíodo de 12h. Sementes dormentes foram submetidas a secagem em sílica e em estufa de circulação forçada de ar e a aplicações de GA₄ (125 e 250 µM) e de fluridone [100 µM; inibidor da síntese de ácido abscísico (ABA)]. Nossos resultados mostraram que a dormência é adquirida progressivamente em substrato úmido nas duas temperaturas testadas, entretanto, a velocidade de aquisição da dormência é dependente da temperatura, sendo mais lenta a 15°C do que a 25°C. Não foi possível observar a superação da dormência das sementes enterradas em substrato seco por até 180 dias. Os tratamentos de secagem artificial e a aplicação de GA₄ não foram efetivas para superar a dormência das sementes. Apenas a aplicação de fluridone foi eficiente para retomar a capacidade germinativa das sementes dormentes de *S. verticillatus*, sugerindo que ocorre síntese *de novo* de ABA durante a incubação de sementes dormentes desta espécie.

Palavras-chave: campos rupestres, dormência cíclica, umidade do solo, temperatura do solo, síntese *de novo* de ABA

Abstract

Syngonanthus verticillatus (Eriocaulaceae) is an herbaceous, perennial and endemic species of the *campos rupestres* from Espinhaço Range, in the State of Minas Gerais, Brazil. Their seeds are very small and dispersed from the parent plant without primary dormancy. However, when buried in their natural environment they acquire secondary dormancy and present annual dormancy cycles that accompanies the seasonality of their habitat. The objectives of this study were to determine the minimum time required for the induction and overcoming of dormancy on wet and dry substrate, respectively, under two constant temperature regimes, in addition to testing the effect of drying treatments and application of gibberellin and fluridone to overcoming dormancy. The seeds were buried in moist substrate under the temperatures of 15 and 25°C for 15, 30, 60 and 90 days for induction of dormancy. To overcome dormancy, seeds kept in a humid substrate for 90 days were exhumed and buried again on dry substrate for periods of 60, 90, 120, 150 days at temperatures of 15 and 25°C and also 180 days at 25°C. At the end of each exhumation, the seeds were submitted to germination tests under 15, 20, 25 and 30°C, under a photoperiod of 12h. Dormant seeds were submitted to silica and forced circulating air-drying oven drying and to applications of GA₄ (125 and 250 μM) and fluridone [100 μM; inhibitor of abscisic acid synthesis (ABA)]. Our results showed that dormancy is progressively acquired in humid substrate at the two temperatures tested, however, the rate of dormancy acquisition is temperature dependent, being slower at 15°C than at 25°C. It was not possible to observe the dormancy overcoming of the seeds buried in dry substrate for up to 180 days. The treatments of artificial drying and the application of GA₄ were not effective to overcome seed dormancy. Only the application of fluridone was efficient to improve the germinative capacity of the dormant seeds of *S. verticillatus*, suggesting that *de novo* ABA synthesis occurs during the incubation of dormant seeds of this species.

Keywords: *campos rupestres*, dormancy cycle, soil moisture, soil temperature, *de novo* ABA synthesis

Introdução

A dormência pode ser definida como a incapacidade de uma semente germinar em um período específico de tempo sob condições favoráveis à germinação (Bewley et al., 2013, Baskin & Baskin, 2014). Dormência é um mecanismo adaptativo complexo, que permite o controle do processo de germinação, que acontecerá em momentos mais apropriados ao estabelecimento das plântulas (Baskin & Baskin, 2014; Willis et al., 2014). Sementes não dormentes podem adquirir dormência, o que é conhecido como dormência secundária, a qual se instala quando não existe a combinação adequada de condições ambientais propícias ao processo germinativo (Baskin & Baskin, 1980, Hilhorst, 1998, Baskin & Baskin, 2014).

Alterações da germinabilidade das sementes podem ocorrer ao longo das estações do ano (Baskin & Baskin, 1985). Este fenômeno denomina-se dormência cíclica (Baskin & Baskin, 1985, Hilhorst, 1998, Baskin & Baskin, 2014) e tem sido amplamente estudado em espécies de regiões temperadas (Baskin & Baskin, 1985, 1993, Baskin et al., 1995; Schütz, 1997, 1998). Os ciclos anuais de indução e superação de dormência secundária são uma estratégia adaptativa importante para espécies que ocupam ambientes sazonais (Baskin & Baskin, 1993; Batlla & Benech-Arnold, 2007; Cao et al., 2014), uma vez que as condições ótimas para a germinação e o crescimento são restritas a determinados períodos do ano (Baskin & Baskin, 1985).

A temperatura é um dos principais fatores ambientais envolvidos nas mudanças no nível de dormência de sementes (Baskin & Baskin, 1988), e em espécies de clima temperado, a exposição a temperaturas altas (em plantas anuais de verão) ou baixas (em plantas anuais de inverno) pode induzir a dormência (Baskin & Baskin, 2014). É conhecido que flutuações no conteúdo de água do solo também são capazes de alterar o nível de dormência das sementes (Benech-Arnold et al., 2000; Batlla & Benech-Arnold, 2004; Batlla & Benech-Arnold, 2006). Solos alagados ou na capacidade de campo estão sujeitos a hipóxia que, em associação com a temperatura, podem induzir a dormência secundária (Benech-Arnold et al., 2000; Hoang et al., 2013). Portanto, a sinalização da dormência secundária pode ser mediada pela interação entre temperatura e umidade (Benech-Arnold et al., 2000, Benech-Arnold & Batlla, 2007, Duarte & Garcia, 2015), de forma que os ciclos de

dormência e germinação de uma espécie refletem adaptações ao seu habitat (Baskin & Baskin, 1985; Schütz, 1998).

Ciclos anuais de dormência foram descritos mais recentemente para sementes de Xyridaceae (Garcia et al., 2012; Oliveira et al., 2017) e Eriocaulaceae (Garcia et al., 2014, Duarte & Garcia, 2015), famílias representativas e típicas dos campos rupestres brasileiros (Echternacht et al., 2011), um ecossistema caracterizado por duas estações bem definidas: um inverno seco e um verão chuvoso (Silveira et al., 2016). Estes estudos demonstraram que o ciclo de dormência de sementes de Xyridaceae e Eriocaulaceae é sincronizado com a sazonalidade da região de ocorrência das espécies. A aquisição da dormência ocorre durante o período chuvoso, enquanto a superação da dormência é gradualmente alcançada durante o período seco. Dessa maneira, a variação cíclica da germinabilidade destas sementes no banco de sementes do solo é influenciada pela variação sazonal do ambiente (Garcia et al., 2014; Silveira et al., 2016).

Syngonanthus verticillatus (Bong.) L.R. Parra & Giul (Eriocaulaceae) é uma espécie perene, herbácea, cujas sementes são dispersas sem dormência primária (Oliveira & Garcia, 2011) e apresentam ciclos anuais de dormência (Garcia et al., 2014). A interação entre umidade e temperatura do solo na modulação da dormência secundária em sementes de *S. verticillatus* foi elucidada por Duarte & Garcia (2015) com experimentos *ex-situ*. Este estudo demonstrou que as condições ambientais características do verão (temperaturas de 25 – 30°C e solo úmido) estimulam a aquisição de dormência secundária, enquanto as condições típicas do inverno (15 – 20°C e solo seco) promovem a superação da dormência.

A variação entre os estados dormente e não-dormente em sementes de *S. verticillatus* é determinada pela integração dos sinais ambientais com alterações no balanço entre os hormônios ABA (ácido abscísico) e GA (giberelina) (Duarte, 2014). Esses dois fitormônios estão diretamente envolvidos com o controle da dormência e da germinação (Bewley et al., 2013; Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006). GAs atuam como promotores da germinação, ativando enzimas hidrolases de parede celular, o que facilita a ruptura do endosperma e favorece a protrusão da radícula (Kucera et al., 2005), enquanto ABA está associado à indução e manutenção da dormência (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006).

Com base nos conhecimentos de que a umidade do solo e a temperatura são fatores que sinalizam os processos de aquisição e superação da dormência secundária nas sementes de *S. verticillatus* (a dormência é induzida no verão, úmido e quente, e superada no inverno, seco e frio); o objetivo deste estudo foi determinar o tempo mínimo de exposição à umidade para que as sementes de *S. verticillatus* adquiram dormência e o tempo mínimo necessário em substrato seco para superarem a dormência sob dois regimes de temperatura (15°C e 25°C). Nossas hipóteses são que a indução da dormência secundária nas sementes de *S. verticillatus* em substrato úmido será mais lenta sob a temperatura de 15°C e mais rápida a 25°C. Por outro lado, a superação da dormência secundária nas sementes *S. verticillatus* será mais rápida no substrato seco na temperatura mais baixa (15°C) do que na temperatura mais alta (25°C). Além disso, baseado na importância do balanço hormonal GA/ABA para superar a dormência e promover a germinação foram testados a aplicação de GA₄ e de fluridone (inibidor da biossíntese de ABA) (Goggin & Powles, 2014), bem como tratamentos de secagem artificial (em sílica e estufa) em sementes induzidas à dormência.

Material e métodos

Coleta de sementes

Foram coletados capítulos maduros de *Syngonanthus verticillatus*, em fase de dispersão, entre os meses de junho e julho de 2016, no Parque Nacional da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. Os campos rupestres da Serra do Cipó, localizados na porção sul da Cadeia do Espinhaço, ocorrem em altitudes acima de 900 metros e estão associados a solos litólicos, arenosos e rasos (Giullietti et al., 1987, Negreiros et al., 2008, Rapini et al., 2008). O clima da região é tropical e mesotérmico devido à altitude (Cwb, segundo o sistema de Köppen), sendo caracterizado por duas estações climáticas bem definidas: seca, correspondente ao período de outono/inverno (que compreende os meses de abril a setembro) e chuvosa (outubro a março), correspondendo à primavera/verão (Garcia et al., 2014; Duarte & Garcia, 2015).

Os capítulos foram triturados em liquidificador e posteriormente peneirados em peneiras granulométricas para facilitar o processo de separação das sementes, de acordo com a metodologia utilizada por Oliveira & Garcia (2005).

Tratamentos para indução e superação da dormência secundária

Os tratamentos para induzir e superar a dormência em laboratório foram realizados em substrato úmido e em substrato seco, respectivamente, conforme descrito por Duarte & Garcia (2015). Amostras de sementes (aproximadamente 2 mg) foram acondicionadas em sacos de tecido *Faillete* (*bags*) e enterradas em potes revestidos com papel alumínio contendo solo proveniente da região de ocorrência natural da espécie, misturado com areia lavada e esterilizada, na proporção 1:1. Após a mistura, esse substrato foi seco e esterilizado em estufa de circulação forçada a 105°C por um período de 24 horas antes da montagem dos experimentos.

Para a indução da dormência o substrato contendo os *bags* foi umedecido até a sua capacidade de campo. Os potes foram mantidos nesta condição em câmaras de germinação nas temperaturas de 15°C e 25°C (Duarte & Garcia, 2015) e exumados após 15, 30, 60 e 90 dias. As sementes exumadas foram submetidas a testes de germinação sob as temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C sob fotoperíodo de 12h com a finalidade de avaliar o nível de dormência das sementes ao longo do tempo.

Para a superação da dormência, os *bags* contendo amostras de sementes mantidas em substrato úmido por 90 dias foram exumados e enterrados novamente em substrato seco, sendo mantidos nas temperaturas de 15°C e 25°C. As sementes destes tratamentos foram exumadas após 60, 90, 120, 150 e 180 dias (sendo o último tempo utilizado apenas para as sementes enterradas a 25°C) e submetidas a testes de germinação sob as mesmas condições descritas acima.

Para testar a eficácia de tratamentos artificiais de superação da dormência, amostras de sementes foram enterradas em substrato úmido por um período de 45 dias a 25°C. Posteriormente, todas as sementes foram exumadas e submetidas à secagem gradativa sob temperatura controlada (25°C) por um período de 30 dias (Oliveira et al., 2017). Em seguida, as sementes foram divididas em oito tratamentos: **1.** controle (sem tratamento); **2.** aplicação de ácido giberélico (GA₄) 125 µM; **3.** GA₄ a 250 µM; **4.** aplicação de fluridone (FLU) na concentração de 100 µM (Vieira et al., 2017); **5.** secagem em estufa de circulação forçada a 45°C por 72 horas; **6.** por 96 h,

7. por 120 h; 8. secagem em dessecador (contendo sílica gel ativada) à temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) por 72 horas, 9. por 96h, 10. por 120 h.

Nos tratamentos de aplicação de GA₄ e de fluridone, as sementes foram mantidas em placas de Petri forradas com camada dupla de papel filtro umedecida com 5 mL das respectivas soluções (Vieira et al., 2017), sob escuro contínuo por 96 horas a 20°C (temperatura ótima, segundo Oliveira & Garcia, 2011). Após este período, as sementes foram transferidas para placas umidificadas com solução de nistatina a 0,5%, retornando à temperatura de 20°C. Ao final de todos os tratamentos, as sementes foram submetidas a testes de germinação.

Testes de germinação

A germinação das sementes recém coletadas e submetidas aos tratamentos de indução e superação de dormência foi testada em placas de Petri forradas com camada dupla de papel filtro umedecida com 5 mL de solução de Nistatina 5%, sob fotoperíodo de 12h (luz fluorescente branca, $\sim 40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C. As sementes exumadas foram lavadas com água destilada para remover os resíduos de substrato antes da montagem dos testes (Duarte & Garcia, 2015). Para todos os tratamentos foram utilizadas seis repetições de 25 sementes

Para sementes provenientes dos tratamentos de superação artificial da dormência, os testes de germinação foram realizados apenas sob temperatura ótima (20°C), de acordo com Oliveira & Garcia (2011), tendo sido utilizadas quatro repetições de 25 sementes. A germinação foi avaliada diariamente por 30 (trinta) dias ou até estabilização da resposta. O critério utilizado para a germinação foi a emergência do eixo vegetativo (Garcia et al., 2014).

Análise Estatística

Os dados expressos como porcentagem final de germinação foram transformados em arco seno da raiz quadrada da porcentagem, e em seguida foram analisados no software estatístico R (versão 3.2.5). Quando os resíduos do modelo ANOVA tiveram distribuição normal (pelo teste de Shapiro-Wilk) e os dados foram homocedásticos (pelo teste de Brown-Forsythe), foram realizados testes de estatística paramétrica (ANOVA e Tukey a 5% de probabilidade para comparações múltiplas das médias). Para os casos em que os resíduos do modelo não possuíam distribuição normal ou os dados não foram homocedásticos, foram utilizados testes

de estatística não-paramétrica (teste de Kruskal-Wallis). Os gráficos foram gerados no software Sigma Plot versão 11.0.

Resultados

A porcentagem final de germinação das sementes recém-coletadas de *S. verticillatus* variou de 44% (30°C) a 99% (20°C) (Tabela 1). A germinabilidade das sementes enterradas em substrato úmido diminuiu gradativamente ao longo do período experimental, tanto a 15 como a 25°C (Figura 1). Entretanto, o tempo requerido para a aquisição da dormência foi dependente da temperatura (Tabela 1).

As sementes de *S. verticillatus* enterradas em substrato úmido e mantidas sob a temperatura de 15°C necessitaram de pelo menos 30 dias para que houvesse uma redução significativa da germinação em algumas temperaturas de incubação (Figura 1A; Tabela 1). Após 60 dias enterradas a 15°C houve diminuição da germinabilidade em todas as temperaturas de incubação (Tabela 1). No entanto, a inibição completa da germinação só foi observada após 90 dias e apenas na temperatura de 30°C (Tabela 1). Por outro lado, um curto período (15 dias) em substrato úmido na temperatura de 25°C foi suficiente para causar uma diminuição significativa da germinabilidade em todas as temperaturas de incubação (Figura 1B; Tabela 1). A partir de 30 dias de exposição à umidade, as sementes já estavam totalmente dormentes (Figura 1B).

A manutenção das sementes em substrato seco por até 150 dias a 15°C e 180 dias a 25°C não promoveu a germinação das sementes de *S. verticillatus* em nenhuma das temperaturas de incubação (Tabela 1; Figura 1A).

Nenhum dos tratamentos de secagem (por 30 dias a 25°C, por 72, 96 e 120 horas em sílica e 72, 96 e 72 horas em estufa) foi eficiente para promover a germinação das sementes de *S. verticillatus* induzidas à dormência por 45 dias em substrato úmido (Figura 2). A aplicação de giberelina (GA₄) nas concentrações de 125 µM e 250 µM também não promoveu a germinação. Apenas a aplicação de fluridone foi efetiva para a superação da dormência das sementes de *S. verticillatus* (Figura 2).

Discussão

Nosso estudo demonstrou, pela primeira vez, que a velocidade da aquisição da dormência é dependente da temperatura em sementes de *S. verticillatus*. As sementes são dispersas sem dormência primária (*sensu* Baskin & Baskin 2014), o que é evidenciado pela germinabilidade de 99% na temperatura de 20°C (temperatura ótima de acordo com Oliveira & Garcia, 2011). Entretanto, a germinabilidade das sementes enterradas em substrato úmido, tanto a 15°C quanto a 25°C, decresceu gradualmente. Estes resultados corroboram o estudo de Duarte & Garcia (2015), que demonstrou a interação entre umidade e temperatura na dinâmica de aquisição e superação de dormência em sementes de *S. verticillatus*.

Em sementes mantidas em substrato úmido a 25°C, um curto período de tempo foi suficiente para a expressão da dormência em todas as temperaturas de incubação. Desse modo, evidenciou-se que condições semelhantes às encontradas na estação chuvosa (umidade e temperatura alta) induzem rapidamente a dormência nestas sementes. Nossos resultados confirmam que as sementes que não germinam após as primeiras chuvas entram em dormência no início do verão, como sugerido por Garcia et al (2012) para sementes de Xyridaceae. Este mecanismo modula a fenologia da germinação desta espécie, de forma que as sementes evitam eficientemente que a germinação ocorra no final da estação chuvosa, uma vez que a seca que se instala subsequentemente poderia ser um elemento limitante ao estabelecimento dos novos indivíduos. Por outro lado, as sementes expostas à umidade sob a temperatura de 15°C necessitaram de um período mais prolongado para que ocorresse a indução de dormência. Desse modo, chuvas ocasionais durante o inverno, quando a temperatura média do solo está mais baixa, como demonstrado por Oliveira et al. (2017), não seriam suficientes para induzir a dormência nestas sementes.

A aquisição da dormência secundária em resposta à umidade nas sementes de *S. verticillatus* foi acompanhada pela redução gradual da amplitude térmica de germinação nos dois tratamentos (15 e 25°C), como sugerido em outros estudos (Benech-Arnold et al., 2000; Batlla & Benech-Arnold, 2007). De acordo com Baskin & Baskin (2014), dormência não é um fenômeno de “tudo” ou “nada”, existindo um contínuo de dormência, fases de transição (níveis) entre os estados de dormência e não-dormência (Baskin & Baskin, 1985). Um baixo nível de dormência se caracteriza

por uma faixa ampla de condições possíveis ao processo germinativo (Batlla & Benech-Arnold, 2007) e conforme o grau de dormência aumenta, essas condições se tornam cada vez mais restritas (Batlla & Benech-Arnold, 2007; Baskin & Baskin, 2014). Nesses estágios intermediários, a semente pode ser considerada condicionalmente dormente (Baskin & Baskin, 1985), e o seu potencial germinativo estará limitado a um subconjunto dentre as condições ambientais permitidas para a espécie, ou seja, a semente não será capaz de germinar como uma semente quiescente (Baskin & Baskin, 2004; Batlla & Benech-Arnold, 2007).

Não foi possível observar a superação da dormência nas sementes de *S. verticillatus* mantidas por 150 ou 180 dias em substrato seco a 15°C e 25°C, respectivamente. Os resultados obtidos diferem dos encontrados para sementes de *S. verticillatus* e *Comanthera bisulcata* por Duarte & Garcia (2015), que verificaram que a dormência foi superada após seis meses de suspensão da irrigação a 25°C. Entretanto, diferentemente deste estudo, Duarte & Garcia (2015) utilizaram a metodologia de secagem gradual do substrato. De acordo com Benech-Arnold et al (2000), a redução progressiva do potencial hídrico do solo pode ser mais eficiente para que a superação da dormência ocorra (Benech-Arnold et al., 2000). A temperatura baixa (15°C), associada ao déficit hídrico do solo, é mais eficiente do que temperaturas elevadas para o processo de superação da dormência em sementes de *S. verticillatus* (Duarte & Garcia, 2015), e após um período de seis a nove meses de suspensão gradual da irrigação, verifica-se que a dormência é superada sob esta temperatura. É importante ressaltar que, embora o estudo de Duarte & Garcia (2015) e o presente estudo tenham sido realizados com a mesma população de *S. verticillatus*, as sementes são provenientes de anos diferentes de produção (2012 e 2016, respectivamente). Deste modo, a resposta observada pode ser consequência das diferenças no ambiente de maturação das sementes na planta-mãe, fator já destacado por outros autores (Fenner, 1991; Steadman et al., 2004)

Estudos prévios com sementes de Eriocaulaceae e Xyridaceae sugerem que a perda de água das sementes pode ser o sinalizador ambiental para a superação da dormência em espécies tropicais que realizam ciclos anuais de dormência, uma vez que a secagem do solo é necessária para que ocorra o alívio da dormência (Garcia et al., 2014; Duarte & Garcia, 2015; Oliveira et al., 2017). Neste estudo os

tratamentos de secagem em estufa e em sílica não se mostraram eficientes para estimular a germinação, contrariando o observado para sementes dormentes de Xyridaceae por Oliveira et al. (2017).

Sementes dormentes de *S. verticillatus* também não foram responsivas aos tratamentos com giberelina (GA₄) exógena, assim como constatado para outras espécies (Ali-Rachedi et, 2004; Barreto, 2012; Macchia et al., 2001; Oliveira et al., 2017; Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga, 2007). A ineficácia de GA na superação da dormência pode estar relacionada à baixa sensibilidade das sementes dormentes a este fitormônio (Karssen et al., 1989) ou devido à concentração utilizada, que pode ter sido insuficiente. Além disso, em algumas sementes dormentes, a utilização de GA só é efetiva quando a síntese de ABA é inibida (Ali-Rachedi et al., 2004). Dessa forma, a superação da dormência secundária pode não depender somente do aumento dos níveis de GA, mas da alteração do balanço hormonal entre ABA e GA (Baskin & Baskin, 2004, Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006). Tratamentos que promovem o catabolismo de ABA e aumentam a biossíntese de GA resultam em baixas razões ABA/GA e podem ser capazes de aliviar a dormência (Ali-Rachedi et al., 2004; Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006).

Nossos resultados mostraram que o tratamento com fluridone foi eficaz para promover a germinação em sementes de *S. verticillatus*, conforme observado para outras espécies (Goggin & Powles, 2014; Hu et al., 2012; Vieira et al., 2017). Fluridone atua como inibidor na rota de biossíntese dos carotenoides (que são precursores do ABA) e, deste modo, inibe a síntese de ácido abscísico (Goggin & Powles, 2014; Yoshioka et al., 1998). A eficácia de inibidores da biossíntese de ABA como promotores da germinação indica que a manutenção do estado dormente em algumas sementes está diretamente ligada à síntese *de novo* de ABA durante a embebição (Ali-Rachedi et al., 2004; Bianco et al., 1997; Grappin et al., 2000). Duarte (2014) demonstrou que a razão ABA/GA é mais alta em sementes dormentes de *S. verticillatus*, quando comparada com sementes não dormentes. Portanto, os resultados deste estudo associados aos obtidos por Duarte (2014) indicam que a manutenção da dormência em sementes de *S. verticillatus* está associada à síntese *de novo* de ABA durante a incubação, sendo necessária a diminuição dos níveis endógenos de ABA (promovida pelo fluridone) para que ocorra superação da dormência e que GA possa atuar como fitormônio promotor da germinação.

Nossos resultados demonstraram que a temperatura modula a velocidade de aquisição da dormência de sementes de *S. verticillatus* em substrato úmido. Temperatura alta, típica da estação primavera/verão, estimula uma resposta rápida, enquanto que a temperatura baixa (outono/inverno) retarda a aquisição da dormência. Não foi possível determinar o tempo necessário para a superação da dormência em substrato seco e este resultado pode estar relacionado com o ambiente maternal de maturação das sementes. Secagem artificial, bem como a aplicação de GA₄ não se mostraram eficazes para a superação da dormência de sementes de *S. verticillatus*. A aplicação de fluridone (inibidor da biossíntese de ABA) foi eficiente para superar a dormência, indicando que ocorre síntese *de novo* de ABA durante a incubação de sementes dormentes de *S. verticillatus*.

Referências Bibliográficas

- Ali-Rachedi, S., Bouinot, D., Wagner, M., Bonnet, M., Sotta B., Grappin, P., Jullien M., 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, 479–488.
- Barreto, L. C., 2012. Estudos em Eriocaulaceae Mart.: caracterização morfológica do tegumento e germinação de sementes. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C., 1985. The annual dormancy cycle in buried weed seeds: a continuum. *BioScience* 35, 8, 92–498.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C., 1988. Germination ecophysiology herbaceous plant species in a temperature region. *American Journal of Botany* 75, 286-305.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M., 2014. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of dormancy and germination*. 2nd edition. San Diego: Academic Press, 1600 p.
- Baskin, C.C., Chesson, P.L., Baskin, J.M., 1993. Annual seed dormancy cycles in two desert winter annual. *Journal of Ecology* 81, 3, 551-556.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C., 1980. Ecophysiology of secondary dormancy in seeds of *Ambrosia artemisiifolia*. *Ecology* 61, 3, 475-480.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C. 1995. Variation in the annual dormancy cycle in buried seeds of the weedy winter annual *Viola arvensis*. *Weed Research* 35, 353-362.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C., 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14, p. 1–16.
- Batlla, D., Benech-Arnold, R. L., 2004. A predictive model for dormancy loss in *Polygonum aviculare* L. seeds based on changes in population hydrotime parameters. *Seed Science Research* 14, 277–286.
- Batlla, D., Benech-Arnold, R. L., 2006. The role of fluctuations in soil water content on the regulation of dormancy changes in buried seeds of *Polygonum aviculare* L. *Seed Science Research* 16, 47–59.
- Batlla, D., Benech-Arnold, R.L., 2007. Predicting changes in dormancy level in weed seed soil banks: Implications for weed management. *Crop Protection* 26, 189–197.
- Benech-Arnold, R.L., Sánchez, R.A., Forcella, F., Kruk, B.C., Ghersa, C.M., 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* 67, 105-122.
- Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H., 2013. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. 3rd edition. New York: Springer Science + Business Media, 381 p.

Bianco, J., Garello, G., Le Page-Degivry, M.T., 1997. *De novo* ABA synthesis and expression of seed dormancy in a gymnosperm: *Pseudotsuga menziesii*. *Plant Growth Regulation* 21,115–119

Cao, D., Baskin, C.C., Baskin; J.M., Yang, F., Huang, Z., 2014. Dormancy cycling and persistence of seeds in soil of a cold desert halophyte shrub. *Annals of Botany* 113, 171–179.

Duarte D.M., 2014. Influência dos fatores ambientais na sinalização e modulação da dormência cíclica em sementes enterradas de duas espécies de Eriocaulaceae. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil.

Duarte, D.M, Garcia, Q.S., 2015 Interactions between substrate temperature and humidity in signaling cyclical dormancy in seeds of two perennial tropical species. *Seed Science Research* 25, 2,170 – 178.

Echternacht, L., Trovó, M., Oliveira, C.T. Pirani, J.R., 2011. Areas of endemism in the Espinhaço Range in Minas Gerais, Brazil. *Flora* 206, 782– 791.

Fenner, M. 1991. The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* 1, 75-84.

Finch-Savage W.E., Leubner-Metzger G., 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501–523.

Garcia, Q.S., Oliveira, P.G., Duarte, D.M., 2014. Seasonal changes in germination and dormancy of buried seeds of endemic Brazilian Eriocaulaceae. *Seed Science Research* 24, 113–117.

Garcia, Q.S., Giorni, T., Müller, M., Munné-Bosch, S., 2012. Common and distinct responses in phytohormone and vitamin E changes during seed burial and dormancy in *Xyris bialata* and *X. peregrina*. *Plant Biology* 14, 347–353.

Giulietti, A. M., Menezes, N. L., Pirani, J. R., Meguro, M., Wanderley, M.G.L., 1987. Flora de Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. *Boletim Botânico da Universidade de São Paulo* 9, 1-151.

Goggin, D.E., Powles, S.B., 2014. Fluridone: a combination germination stimulant and herbicide for problem fields? *Pest Management Science* 70, 1418–1424,

Grappin, P., Bouinot, D., Sotta, B., Miginiac, E., Jullien, M., 2000. Control of seed dormancy in *Nicotiana plumbaginifolia*: post-imbibition abscisic acid synthesis imposes dormancy maintenance. *Planta* 210, 279-285.

Hilhorst, H.W.M., 1998 The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research* 8, 77-90.

Hoang, H.H., Corbineau, F., Leymarie, J., 2013. Induction of secondary dormancy by hypoxia in barley grains and its hormonal regulation. *Journal of Experimental Botany* 64, 2017–2025.

Hu, X.W., Huang, X.H., Wang, Y.R., 2012. Hormonal and temperature regulation of seed dormancy and germination in *Leymus chinensis*. *Plant Growth Regulation* 67, 99–207

Karszen, C.M., Zagorski, S., Kepczynski, J., Groot, S.P.C., 1989. Key Role for Endogenous Gibberellins in the Control of Seed Germination. *Annals of Botany* 63, 71-80.

Kucera B., Cohn M.A., Leubner-Metzger G., 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15, 281–307.

Macchia, M., Angelini, L.G., Ceccarini, L., 2001. Methods to overcome seed dormancy in *Echinaceae angustifolia* DC. *Scientia Horticulturae* 89, 317–324.

Negreiros, D., Moraes, M.L.B., Fernandes, G.W. 2008. Caracterização da fertilidade dos solos de quatro leguminosas de campos rupestres, Serra do Cipó, MG, Brasil. *J. Soil Sc. Plant Nutr* 8, 30-39.

Oliveira, P.G., 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, 3, 639-645.

Oliveira, P.G., Garcia, Q.S., 2011. Germination characteristics of *Syngonanthus* seeds (Eriocaulaceae) in *campos rupestres* vegetation in south-eastern Brazil. *Seed Science Research* 21, 1, 30-39.

Oliveira, T.G.S.; Diamantino, I.P., Garcia, Q.S., 2017. Dormancy cycles in buried seeds of three perennial *Xyris* (Xyridaceae) species from the Brazilian *campo rupestres*. *Plant Biology* 19, 818–823.

Ortega-Baes, P., Rojas-Arechiga, M., 2007. Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. *Journal of Arid Environment* 69, 169–176.

Rapini, A., Ribeiro, P.L., Lambert, S., Pirani, J.R., 2008. A flora dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. *Megadiversidade* 4, 1-2, 15-23.

Schütz, W., 1997. Primary dormancy and annual dormancy cycles in seeds of six temperate wetland sedges. *Aquatic Botany* 59, 75-85.

Schütz, W., 1998. Seed dormancy cycles and germination phenologies in sedges (*Carex*) from various habitats. *Wetlands* 18, 2, 288-297.

Silveira, F.A.O., Negreiros, D., Barbosa, N.P.U., Buisson, E., Carmo, F.F., Carstensen, D.W., Conceição, A. A., Cornelissen, T.G., Echternacht, L., Fernandes, G.W., Garcia, Q.S., Guerra, T.J., Jacobi, C.M., Lemos-Filho, J.P., Stradic, S.L.,

Morellato, L.P.C., Neves, F.S., Oliveira, R.S., Schaefer, C.E., Viana, P.L., Lambers, H., 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered *campo rupestre*: a neglected conservation priority. *Plant Soil* 403, 129–152.

Steadman, K.J., Ellery, A. J., Chapman, R., Moore, A., Turner, N. C., 2004. Maturation temperature and rainfall influence seed dormancy characteristics of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Australian Journal of Agricultural Research* 55, 1047–1057.

Vieira B.C., Bicalho E.M., Munné-Bosch, S., Garcia, Q.S., 2017. Abscisic acid regulates seed germination of *Vellozia* species in response to temperature. *Plant Biology* 19, 211–216.

Willis, C.G., Baskin, C. C., Baskin, J. M., Auld, J. R., Venable, D. L., Cavender-Bares, J., Donohue, K., Casas, R. R., 2014. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist* 203, 300–309.

Yoshioka, T., Endo, T., Satoh, S., 1998. Restoration of seed germination at supra optimal temperatures by fluridone, an inhibitor of abscisic biosynthesis. *Plant and Cell Physiology* 39, 307–312.

Tabela 1. Porcentagem de germinação de sementes de *Syngonanthus verticillatus* recém coletadas (RC) e enterradas por 15, 30, 60, 90, 120, 150 dias (substrato úmido (du) e seco (ds) sob as temperaturas de 15°C e 25°C (180 dias apenas a 25°C) e posteriormente submetidas a testes de germinação em quatro temperaturas (15°C, 20°C, 25°C e 30°C). Dados seguidos por letras iguais e minúsculas não diferem dentro da coluna. Dados seguidos por letras iguais e maiúsculas não diferem dentro da linha.

Temperatura (°C)	Tratamentos – Germinação (%)								
	Armazenamento a 15 °C								
	RC	15du	30du	60du	90du	60ds	90ds	120ds	150ds
15°C	76 A a	73 A a	65 AB a	40 BC a	28 C a	4 D a	5 D ab	16 CD a	3,33 D ab
20°C	99 A b	100 A b	60 B a	69 B b	22 C a	5 DE a	12 CD a	1,33 E b	4,67 DE a
25°C	77 A a	90 A b	78 A a	27 B a	17 BC ab	0 D b	5 C ab	10,67 C a	0 D b
30°C	44 A c	49 A c	17 BC b	35 AB a	5 C b	2 C ab	2 C b	3,33 C b	1,33 C ab

Temperatura (°C)	Armazenamento a 25 °C									
	RC	15du	30du	60du	90du	60ds	90ds	120ds	150ds	180ds
15°C	76 A a	39 B a	3 C a	3 D a	0 D	2 D a	0 D	7 D a	0 D a	0 D
20°C	99 A b	51 B a	10 C b	3 D a	0 D	0,7 D a	0 D	5 C ab	2,67 D b	0 D
25°C	77 A a	42 B a	11 C b	5 D a	0 E	0 E a	0 E	0 E c	0 E a	0 E
30°C	44 A c	18 B b	0,7 C a	3 C a	0 C	0 C a	0 C	0,7 C bc	0 C a	0 C

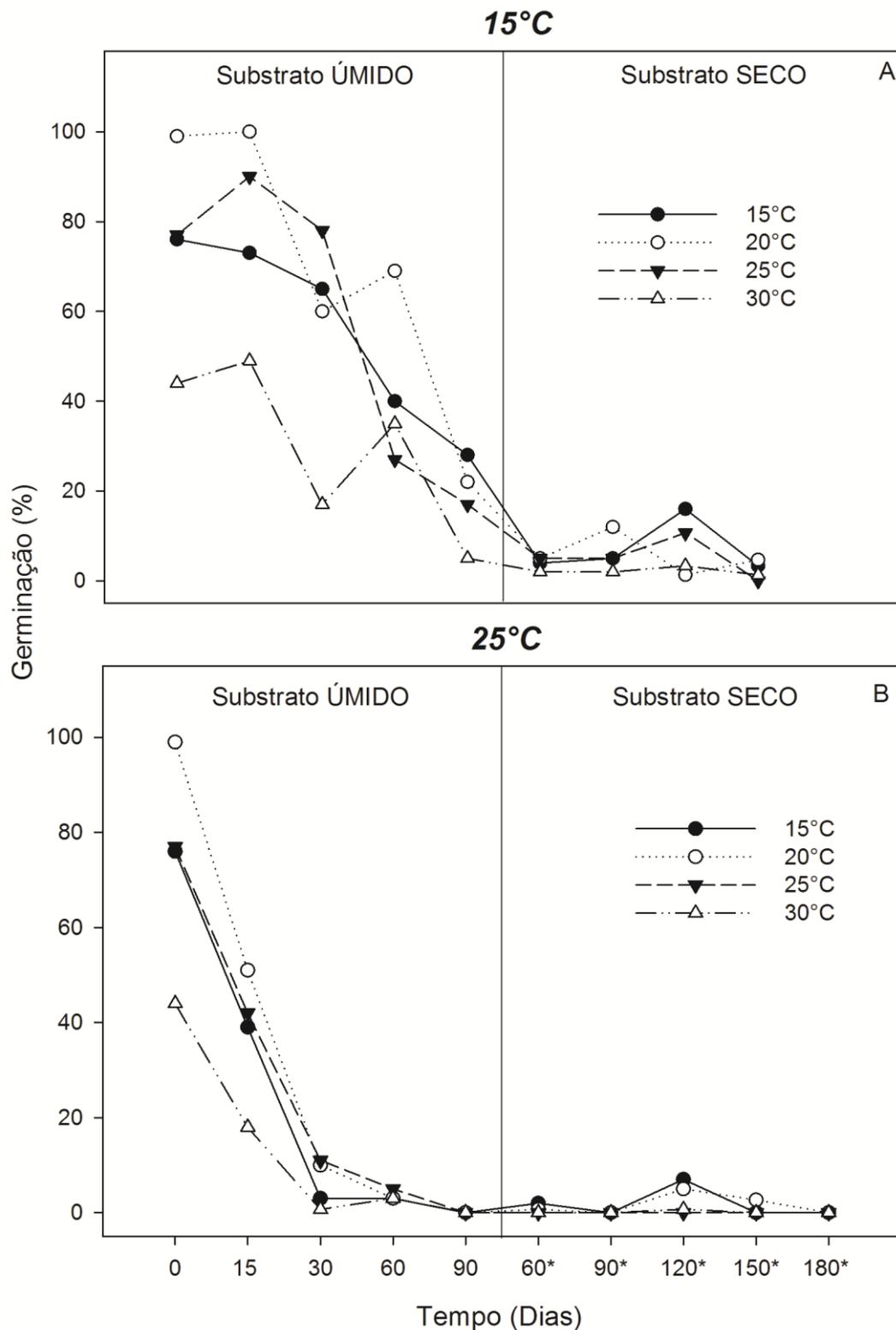


Figura 1. Porcentagem de germinação de sementes de *Syngonanthus verticillatus* enterradas por diferentes tempos a 15°C (A) e a 25°C (B) e em seguida submetidas a testes de germinação em quatro temperaturas (15°C, 20°C, 25°C e 30°C). Os dias sem asterisco representam o período em substrato úmido e os dias seguidos de asterisco são referentes ao substrato seco.

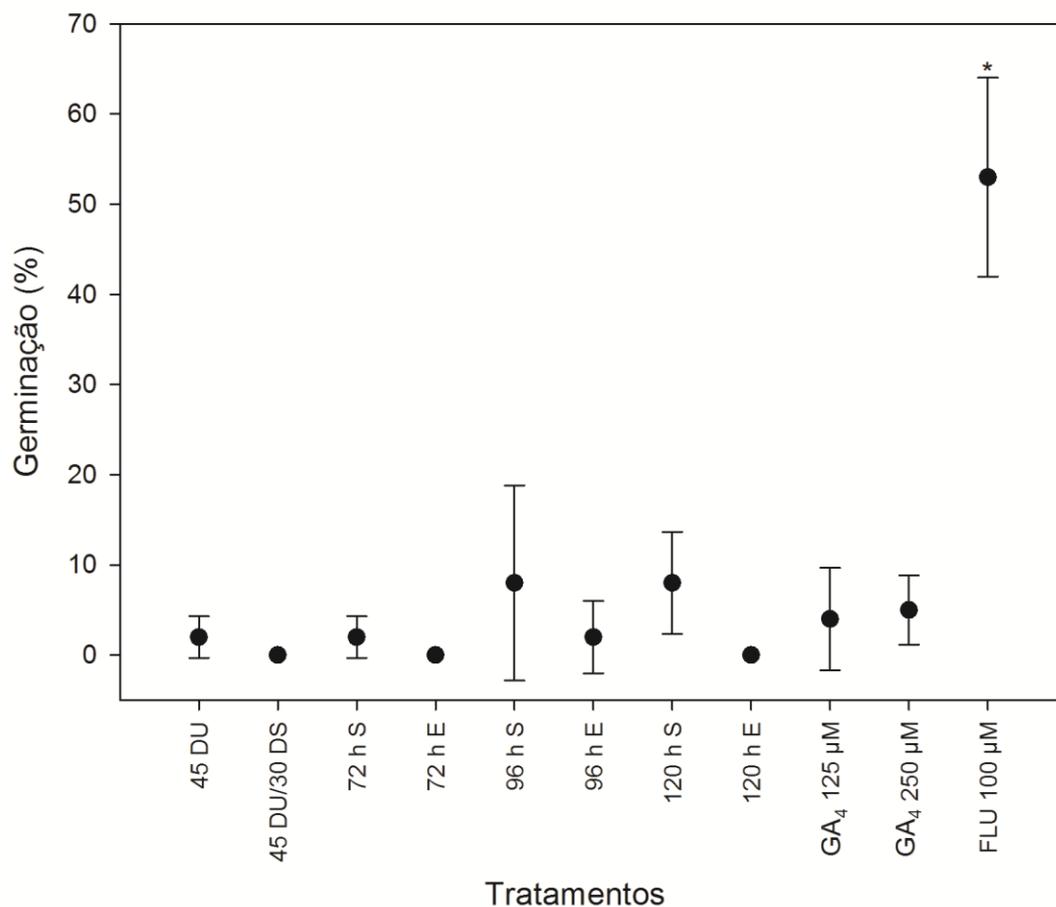


Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de *Syngonanthus verticillatus* enterradas por 45 dias em substrato úmido (DU) e subsequentemente expostas à secagem por 30 dias (DS), além da secagem em sílica (S) e estufa (E) por três tempos (72, 96 e 120 horas) e da aplicação de giberelina (GA₄) em duas concentrações (125 e 250 µM) e fluridone (100 µM). O asterisco indica a diferença significativa do tratamento de fluridone em relação aos demais tratamentos.

Capítulo 2

Resposta germinativa de sementes de Eriocaulaceae à diferentes condições de luz e de temperatura

Resumo

Temperatura e luz são alguns dos principais fatores ambientais envolvidos no controle do processo de germinação de sementes. Estudos prévios mostraram que as sementes de Eriocaulaceae requerem luz para germinar e em geral germinam em ampla faixa de temperatura. Este estudo foi realizado com sementes de cinco espécies de Eriocaulaceae, *Actinocephalus geniculatus*, *Comanthera bisulcata*, *Syngonanthus anthemiflorus*, *S. multipes* e *S. niger*, com o objetivo de determinar a quantidade mínima de luz para atingir a germinabilidade máxima e o efeito de diferentes temperaturas na germinação. Para os tratamentos de luz, as sementes foram embebidas por sete dias no escuro a 25°C e expostas a tempos de luz branca por 24, 48, 72 e 96 horas e a pulsos intermitentes por 5 dias consecutivos (1, 2, 4, 6 e 8 horas). Os controles foram feitos com sementes mantidas sob fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo. Para determinar a amplitude térmica de germinação, foram utilizadas as temperaturas de 15 a 35°C. Com os dados de temperatura foi calculada a temperatura base (T_b) para três espécies. Os resultados nos permitem concluir que todas as espécies estudadas necessitam de um longo período de exposição à luz para germinar. Com a aplicação dos pulsos de luz branca, apenas duas espécies alcançaram germinabilidade máxima (6 horas de luz por 5 dias ou 48 horas de luz contínua para *A. geniculatus*; 96 horas de luz contínua para *S. anthemiflorus*). Nenhum tratamento de pulsos de luz promoveu a germinação máxima em sementes de *S. multipes* e *S. niger* não foi responsiva aos pulsos de luz. *A. geniculatus*, *S. anthemiflorus* e *C. bisulcata* mostraram a maior amplitude térmica, com alta germinabilidade na faixa de 15 a 35°C. Para *S. multipes*, a porcentagem de germinação foi alta até 30°C e a faixa térmica mais restrita foi encontrada para *S. niger*. Os valores obtidos para T_b (6.0, 11.2 e 14.1°C) são coerentes com a variação térmica de ecossistema de ocorrência das espécies estudadas.

Palavras-chave: Campos rupestres, pulsos de luz branca, amplitude térmica, Eriocaulaceae

Abstract

Temperature and light are some of the main environmental factors involved in controlling the seed germination process. Previous studies have shown that Eriocaulaceae seeds require light to germinate and generally germinate over a wide temperature range. This study was carried out with seeds of five species of Eriocaulaceae, *Actinocephalus geniculatus*, *Comanthera bisulcata*, *Syngonanthus anthemiflorus*, *S. multipes* and *S. niger*, with the objective of determining the minimum amount of light to reach maximum germinability and the effect of different temperatures on germination. For the light treatments, the seeds were imbibed for seven days in the dark at 25°C and exposed to white light times for 24, 48, 72 and 96 hours and at intermittent pulses for 5 consecutive days (1, 2, 4, 6 and 8 hours). Controls were performed with seeds maintained under 12-hour photoperiod and continuous dark. To determine the thermal range of germination, temperatures of 15 to 35°C were used. With the temperature data, the base temperature (T_b) was calculated for three species. The results showed that all species require a long period of exposure to light to germinate. With the application of white light pulses, only two species reached maximum germinability (6 hours of light for 5 days or 48 hours of continuous light for *A. geniculatus*, 96 hours of continuous light for *S. anthemiflorus*). No light pulse treatment promoted maximum germination in *S. multipes* seeds and *S. niger* was not responsive to light pulses. *A. geniculatus*, *S. anthemiflorus* and *C. bisulcata* showed the highest thermal amplitude, with high germinability in the range of 15 to 35°C. For *S. multipes*, the percentage of germination was high up to 30 °C and the most restricted thermal range was found for *S. niger*. The values obtained for T_b (6.0, 11, .2 and 14.1°C) are consistent with the thermal variation of the occurrence ecosystem of the species studied.

Keywords: Campos rupestres, white light pulses, thermal range, Eriocaulaceae

Introdução

A germinação compreende uma fase crítica e vulnerável no ciclo de vida das fanerógamas (Donohue et al., 2010), que se inicia com a embebição da semente, prossegue com a retomada do metabolismo e culmina no alongamento do eixo embrionário (Bewley et al., 2013). O ambiente atua como um filtro que desempenha um papel fundamental neste estágio inicial da vida das plantas (Jiménez-Alfaro et al., 2016), de forma que as condições ambientais modulam os padrões germinativos encontrados nas diferentes espécies (Baskin & Baskin, 2014). É bem conhecido que luz e temperatura estão entre os principais fatores abióticos que regulam o processo de germinação das sementes no seu habitat (Garcia-Huidobro et al., 1982; Bewley et al., 2013).

A luz é um importante regulador de muitos processos do crescimento e desenvolvimento vegetal (Fankhauser & Chory, 1997), incluindo a germinação das sementes (Baskin & Baskin, 2014). Enquanto algumas sementes são indiferentes à luz, outras têm requerimento absoluto de luz para germinar (fotoblastismo positivo) (Baskin & Baskin, 2014). A resposta à luz é mediada pelos fitocromos, pigmentos fotorreceptores que se localizam no embrião (Pons, 2000) e convertem sinais luminosos em sinais bioquímicos, desencadeando o processo germinativo de forma sincronizada às condições ideais para o estabelecimento das plântulas (Casal & Sánchez, 1998). A necessidade de luz para a germinação é distinta entre espécies, podendo variar de segundos a períodos prolongados, de iluminação constante ou pulsos intermitentes (Bewley et al., 2013).

A temperatura pode afetar tanto o percentual como a velocidade de germinação das sementes, bem como modificar a taxa de absorção de água e das reações bioquímicas envolvidas na mobilização de reservas (Bewley et al., 2013). A resposta à temperatura pode ser definida pelas denominadas “temperaturas cardinais”, sendo assim discriminadas: T_b (mínima) e T_M (máxima), que são os extremos térmicos que limitam a ocorrência de germinação, e T_o (ótima), faixa térmica na qual o processo ocorre de maneira uniforme e atinge o seu máximo (Cardoso, 2011).

A diversidade de características germinativas encontradas entre as espécies determina o momento e o conjunto de fatores abióticos necessários para que a semente germine (Baskin & Baskin, 2014; Jiménez-Alfaro et al., 2016). Além disso,

os requerimentos específicos de luz e temperatura para a germinação podem estar associados à forma de vida, ao ambiente de crescimento da planta adulta ou ao tamanho/massa da semente (Simão et al., 2008). As respostas das sementes ao ambiente podem refletir relações filogenéticas (Schütz & Rave, 1999), distribuição geográfica (Ellison, 2001) ou preferência de habitat de algumas espécies (Pereira et al., 2009).

De modo geral, espécies congêneras e com distribuição geográfica similar possuem histórias e estratégias de vida semelhantes. Portanto, a diferença encontrada no comportamento germinativo pode indicar adaptações aos diferentes ambientes ocupados (Van Assche et al., 2002; Pereira et al., 2009). Sementes de espécies típicas dos campos rupestres, fitofisionomia encontrada nas serras da Cadeia do Espinhaço, apresentam características germinativas parecidas, tais como sincronismo da germinação à estação chuvosa, uma ampla faixa térmica permissível ao processo germinativo e a necessidade de luz para germinar (revisado por Garcia & Oliveira, 2007). Essas particularidades permitem a persistência das comunidades nestes locais, caracterizados por forte sazonalidade e heterogeneidade espacial (Nunes et al., 2016), e sujeitos à alta exposição solar e grandes oscilações diárias de temperatura (Zaidan & Carreira, 2008).

Os campos rupestres concentram cerca de 80% das espécies de Eriocaulaceae (Andrade et al., 2010; Alves et al., 2015; Echternacht et al., 2014), as quais ocorrem geralmente em solos arenosos e ocupam vários microhabitats ao longo da Cadeia do Espinhaço (Oliveira & Garcia, 2011). De acordo com a literatura, as sementes de Eriocaulaceae apresentam requerimento absoluto de luz para germinação e são capazes de germinar sob uma ampla faixa de temperatura (Oliveira & Garcia, 2005; Garcia & Oliveira, 2007; Oliveira & Garcia, 2011; Barreto, 2012). Tendo em vista a importância da luz e da temperatura para iniciar o processo de germinação nas espécies de Eriocaulaceae, os objetivos deste estudo foram: (I) determinar a quantidade mínima de luz necessária para atingir a germinabilidade máxima das sementes; e (II) determinar os parâmetros térmicos para a germinação de cinco espécies de Eriocaulaceae.

Material e métodos

Área de coleta

As sementes das espécies selecionadas para o presente estudo foram obtidas de populações naturais dos campos rupestres do Parque Estadual da Serra do Cabral, localizado na porção centro-norte da Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais, Brasil (IEF, 2013). Na Serra do Cabral, os campos rupestres se encontram em altitudes acima de 1000 metros e são caracterizados por um mosaico vegetacional, cujo substrato é composto por rochas quartzíticas e solos arenosos. Os campos graminóides se constituem como áreas abertas, com estrato herbáceo predominante, sendo a família Eriocaulaceae um dos grupos de maior diversidade (Hatschbach et al., 2006). O clima da região é mesotérmico devido a altitude, classificado como Cwa pelo sistema de Köppen, com verões brandos e úmidos e um inverno seco, com duração de 3 a 6 meses. A precipitação média anual é elevada, atingindo valores próximos de 1250 mm, e a temperatura média anual é de 20°C (IEF, 2013; Pires et al., 2016).

Coleta e tamanho das sementes

Capítulos maduros (em fase de dispersão) de cinco espécies de Eriocaulaceae pertencentes a três gêneros – *Actinocephalus geniculatus* (Bong) F.N. Costa, *Comanthera bisulcata* (Bong) L.R. Parra & Giul, *Syngonanthus anthemiflorus* var. *similis* (Ruhland), *Syngonanthus multipes* (Silveira) e *Syngonanthus niger* (Silveira) – foram coletados em junho de 2017. Os capítulos foram triturados em liquidificador e posteriormente peneirados em peneiras granulométricas para facilitar o processo de separação das sementes, de acordo com a metodologia utilizada por Oliveira & Garcia (2005). Dados relativos às coordenadas geográficas, altitude dos locais de coleta, distribuição e habitat das espécies estão mostrados na Tabela 1. O tamanho das sementes (comprimento e largura em milímetros) foi baseado em uma amostra de 100 sementes, as quais foram medidas com auxílio de paquímetro digital.

Efeitos da luz branca na germinação

A determinação do tempo mínimo de exposição à luz branca foi testada para sementes de quatro espécies (*Actinocephalus geniculatus*, *Syngonanthus anthemiflorus*, *Syngonanthus multipes* e *Syngonanthus niger*). Devido ao número insuficiente de sementes, a espécie *Comanthera bisulcata* não foi utilizada neste

teste. Todas as sementes foram submetidas a um período de sete dias de embebição no escuro sob a temperatura de 25°C (Barreto, 2012) seguidos da aplicação de pulsos contínuos de luz branca ($40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) por 24, 48, 72 e 96 horas. Além destes tratamentos, foram aplicados pulsos intermitentes de luz branca por 1, 2, 4, 6 e 8 horas durante cinco dias consecutivos (Barreto, 2012; Vieira et al., 2018). Após a aplicação dos pulsos de luz todas as sementes retornaram ao escuro (a 25°C) e foram mantidas nesta condição por 20 dias até a observação da porcentagem final de germinação em microscópio estereoscópico. Como grupo-controle, as sementes foram mantidas sob fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo.

Para os testes de germinação as sementes das quatro espécies foram dispostas em placas de Petri forradas com dupla camada de papel filtro umedecida com 5 mL de solução do fungicida Nistatina a 5%, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes por tratamento. O critério de germinação foi a emergência do eixo vegetativo (Oliveira & Garcia 2011). Os dados expressos como porcentagem final de germinação foram transformados em arco seno da raiz quadrada da porcentagem, e em seguida analisados no software estatístico R (versão 3.2.5). Quando os resíduos do modelo ANOVA tiveram distribuição normal (pelo teste de Shapiro-Wilk) e os dados foram homocedásticos (pelo teste de Brown-Forsythe), foram realizados testes de estatística paramétrica (ANOVA e Tukey a 5% de probabilidade para comparações múltiplas das médias). Para os casos em que os resíduos do modelo não possuíam distribuição normal ou os dados não foram homocedásticos, foram utilizados testes de estatística não-paramétrica (teste de Kruskal-Wallis). Os gráficos foram gerados no software Sigma Plot versão 11.0.

Parâmetros térmicos da germinação

O efeito da temperatura sobre a germinação foi verificado para sementes das cinco espécies. As sementes foram mantidas em placas de Petri forradas com dupla camada de papel filtro umedecida com 5 mL de solução do fungicida Nistatina a 5%, sob um gradiente de temperaturas que variou de 15°C a 35°C. Foram utilizadas seis repetições de 25 sementes por tratamento e a germinação foi avaliada diariamente por 30 dias. O critério adotado para avaliar a ocorrência da germinação foi a emergência do eixo vegetativo (Oliveira & Garcia, 2011).

A germinabilidade foi expressa como porcentagem final de germinação (G) e

as velocidades médias de germinação (V_m) foram determinadas pela fórmula $V_m = 1/t$, sendo t = tempo médio de germinação ($\sum (ni*ti) / \sum ni$), em que ni é o número de sementes germinadas no intervalo de tempo ti (em dias) (Labouriau & Osborn, 1984). As porcentagens finais e velocidades médias de germinação foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey (Cardoso & Pereira, 2009) utilizando o software estatístico R (versão 3.2.5). A temperatura ótima foi definida como aquela sob a qual as sementes apresentaram a maior germinabilidade associada à maior velocidade média de germinação (Labouriau, 1983).

Foi possível selecionar três espécies (*Actinocephalus geniculatus*, *Comanthera bisulcata* e *Syngonanthus multipes*) para o cálculo das temperaturas base (T_b), baseado na metodologia descrita por Cardoso & Pereira (2009) e Cardoso (2011). Para estas espécies, o intervalo infra-ótimo foi estimado a partir dos gráficos de G e V_m plotados em função da temperatura. Neste estudo não foi possível trabalhar com o intervalo supra-ótimo. Para cada temperatura foram geradas curvas de distribuição das porcentagens médias de germinação acumulada ao longo do tempo e os pontos foram ajustados de acordo com a função de Weibull (Dumur et al., 1990), atendendo a equação:

$$G = M \{1 - \exp[-k(t_g - z)^c]\} \text{ (equação 1)}$$

sendo que G é a porcentagem de germinação acumulada e t_g é o tempo (dias). M (germinação máxima), k (velocidade média de germinação), z (tempo entre o início do experimento e a germinação visível) e c (característica da distribuição das frequências de germinação) são os parâmetros da equação (Dumur et al., 1990), os quais foram calculados utilizando o programa Excel.

Para identificar os tempos necessários (t_g) para a germinação das subpopulações que compõem cada espécie, foram determinados os t_g para as frações percentuais (g) que variaram de 10 a 70%, de acordo com o máximo de germinação atingido por cada espécie, usando-se a equação 1, rearranjada da seguinte forma:

$$t_g = \{[\ln(M/(M - G))^{1/c}]/k\} + z \text{ (equação 2)}$$

Os t_g foram calculados para as frações percentuais de 30 a 70% (*A. geniculatus* e *S. multipes*; Figuras 3 e 5) e de 10 a 60% (*C. bisulcata*, Figura 4). Com os valores de t_g definidos, as velocidades de germinação ($1/t_g$) para cada fração

percentual g foram calculadas (Garcia-Huidobro et al.,1982). Posteriormente, para cada espécie, os dados de velocidade (ordenada) em função da temperatura (abscissa) foram plotados em um gráfico. Os pontos foram ajustados por regressão linear resultando em uma reta para cada fração percentual g . O ponto de intersecção de cada reta com o eixo x ($y = 0$) corresponde à T_b para os intervalos térmicos infra-ótimos. Como não foi possível inferir o intervalo supra-ótimo, a temperatura máxima (T_M) não pôde ser calculada.

Resultados

Tamanho das sementes

As sementes das espécies de Eriocaulaceae estudadas são muito pequenas, cujos tamanhos variaram entre 0.46 a 0.74 mm de comprimento e 0.25 a 0.40 mm de largura. *A. geniculatus* possui sementes com as maiores dimensões, seguida por *S. niger* e *S. multipes*. As sementes de *C. bisulcata* e *S. anthemiflorus* possuem medidas semelhantes, com os menores tamanhos (Tabela 2).

Efeitos do tempo de exposição à luz branca na germinação

A germinação das sementes de todas as espécies estudadas foi nula sob escuro contínuo (Figura 1). Os resultados dos testes com pulsos contínuos ou intermitentes de luz branca mostraram que a quantidade de luz requerida variou entre as espécies. Entretanto, as sementes de todas as espécies necessitaram de períodos constantes de exposição à luz acima de 24 horas para germinar, sendo que para *S. niger*, nenhum dos períodos de luz utilizados foi eficaz para estimular a germinação.

A germinabilidade de sementes de *A. geniculatus* expostas a pulsos de 1 e 2 horas de luz por cinco dias consecutivos foi inferior a 25%. O pulso intermitente de 4 horas resultou em germinabilidade superior a 50%. Não houve diferença significativa entre os pulsos intermitentes de 6 e 8 horas de luz e os tempos de 48, 72 e 96 horas, sendo esses tratamentos estatisticamente iguais ao fotoperíodo de 12 horas, onde foi alcançada germinabilidade máxima (80%). Dentre os períodos contínuos, o período de 24 horas foi o único cuja germinabilidade foi abaixo de 50% (34%) (Figura 1).

A germinabilidade das sementes de *S. anthemiflorus* expostas a pulsos

intermitentes de 1 e 2 horas foi baixa (abaixo de 25%). Os pulsos de 4, 6 e 8 horas por 5 dias consecutivos não diferiram entre si, bem como dos períodos contínuos de 48 e 72 horas (Figura 1). A germinabilidade das sementes expostas a 96 horas de luz branca contínua e ao fotoperíodo de 12 horas não diferiram entre si (germinabilidade superior a 80%). Exposição à luz branca por 24 horas não foi suficiente para promover a germinação (Figura 1).

Em *S. multipes*, os pulsos intermitentes de 1, 2, 4 e 8 horas por 5 dias consecutivos não diferiram entre si e apresentaram porcentagens de germinação abaixo de 35%. Os tempos de luz contínua por 24 e 48 horas foram estatisticamente iguais, com germinabilidade inferior a 35% nestes tratamentos (Figura 1). O pulso intermitente de 6 horas por 5 dias consecutivos e os períodos de 72 e 96 horas não diferiram entre si, alcançando valores próximos de 40%. Apenas sob fotoperíodo de 12 horas foi atingida a germinabilidade máxima.

As sementes de *S. niger* não responderam aos períodos de exposição à luz branca contínua por até 96 horas e tampouco aos pulsos intermitentes por cinco dias consecutivos (germinabilidade nula ou abaixo de 10%). Para esta espécie, fotoperíodo de 12 horas foi o único tratamento eficaz para promover a germinação (70%).

Parâmetros térmicos da germinação

As sementes de *A. geniculatus*, *S. anthemiflorus* e *C. bisulcata* apresentaram porcentagens de germinação acima de 50% em todas as temperaturas testadas (15 a 35°C; Figura 2). Em *S. multipes*, apenas sob a temperatura de 35°C a germinabilidade foi inferior a 50% (35%; Figura 2). A faixa térmica permissível para a germinação foi mais restrita para as sementes de *S. niger*, cuja germinabilidade foi superior a 50% apenas na faixa 20 a 30°C (Figura 2).

As velocidades médias de germinação (V_m) não foram significativamente diferentes entre as temperaturas de 25 a 35°C para todas as espécies estudadas (Figura 2). Considerando que a temperatura ótima pode ser definida como aquela em que ocorre a maior germinabilidade associada à maior V_m , algumas espécies mostraram uma faixa de temperatura ótima para germinação (Figura 2). Para as sementes de *A. geniculatus* e *C. bisulcata*, a faixa ótima foi de 25 a 35°C (Figura 2), enquanto para *S. anthemiflorus* e *S. niger* de 25 a 30°C e para *S. multipes*, 25°C pode ser considerada a temperatura ótima (Figura 2).

Para as três espécies selecionadas para o cálculo das temperaturas base (T_b) (*A. geniculatus*, *C. bisulcata* e *S. multipes*), não foi possível observar a queda da V_m (Figura 2), deste modo, apenas o intervalo infra-ótimo foi utilizado (Tabela 3). Quando as velocidades de germinação correspondentes a cada fração ($1/t_{10}$ a $1/t_{70}$) foram plotadas contra a temperatura, observou-se uma resposta linear da velocidade de germinação para todas as espécies estudadas, revelando que o aumento da temperatura foi acompanhado pelo aumento da velocidade na faixa infra-ótima (Figuras 3, 4 e 5). As T_b foram estimadas a partir das equações das retas de regressão (das velocidades sobre as temperaturas infra-ótimas) das frações mais elevadas (60 ou 70%). Os valores de T_b encontrados para as sementes de *A. geniculatus*, *C. bisulcata* e *S. multipes* foram 6.0, 11.2 e 14.1°C, respectivamente.

Discussão

As sementes de *Actinocephalus geniculatus*, *Syngonanthus anthemiflorus*, *S. multipes* e *S. niger* são muito pequenas e possuem requerimento absoluto de luz para a germinação, conforme relatado para outras espécies de Eriocaulaceae (Oliveira & Garcia, 2005; 2011; Barreto, 2012). A necessidade de luz para germinar é uma estratégia comum em sementes de outras espécies dos campos rupestres (Garcia & Diniz, 2003; Silveira et al., 2004, Abreu & Garcia, 2005; Rodrigues & Silveira, 2013; Soares da Mota & Garcia, 2013; Giorni et al., 2018; Vieira et al., 2018) e indica uma adaptação a ambientes abertos (Milberg et al., 2000; Garcia & Oliveira, 2007), expostos a alta irradiância e sujeitos a grandes flutuações de temperatura, como os campos rupestres (Garcia & Oliveira, 2007). O tamanho das sementes geralmente está relacionado à dependência da luz para a germinação (Pons, 2000), de modo que sementes grandes geralmente são indiferentes à luz, enquanto o fotoblastismo é um traço recorrente em sementes pequenas (Milberg et al., 2000; Pons, 2000). Nestas sementes a luz atua como um sinalizador, ajudando a evitar a germinação quando as sementes estão enterradas em camadas muito profundas no solo, onde as reservas poderiam se esgotar antes das plântulas alcançarem a luz e estarem fotossinteticamente ativas (Pons 2000; Bewley et al., 2013). É importante ressaltar que a exigência de luz para a germinação de sementes de Eriocaulaceae também está associada ao rápido desenvolvimento da parte aérea da plântula

(Garcia & Oliveira, 2007), uma vez que as folhas se desenvolvem antes das raízes adventícias, poucos dias após a emergência do eixo embrionário (Scatena et al., 1993; 1996). Portanto, é necessário que a fotossíntese se inicie imediatamente após a conclusão do processo germinativo (Garcia & Oliveira, 2007). Dessa maneira, a responsividade das sementes à luz pode determinar o tempo e o local da germinação e ser um fator crucial para a sobrevivência dos indivíduos jovens (Pons, 2000).

As sementes de duas das espécies estudadas alcançaram germinabilidade máxima em resposta aos pulsos de luz branca (*A. geniculatus* após 48 horas de luz contínua e 6 horas de luz intermitente por 5 dias consecutivos; *S. anthemiflorus* após 96 horas de luz contínua). Os tratamentos com pulsos de luz não promoveram a germinabilidade máxima em sementes de *S. multipes* em comparação com fotoperíodo de 12h (controle) e as sementes de *S. niger* não responderam a nenhum dos tratamentos de pulsos de luz. Espécies de Velloziaceae, outra família típica dos campos rupestres, podem requerer desde curtos períodos como 2h até mais de 96h de exposição à luz contínua para germinar (Vieira et al., 2018). A resposta à luz é espécie-específica; enquanto algumas sementes germinam somente após dias ou semanas de exposição à luz, outras respondem a pulsos curtos, de minutos ou segundos (Kettenring et al., 2006; Barreto, 2012). De acordo com Kettenring et al. (2006), em sementes de *Carex* spp. esse tipo de resposta pode estar associado aos diferentes sítios de regeneração ocupados pelas espécies: Aquelas que requerem longos períodos de exposição à luz podem estar aptas a regenerarem locais que ficam expostos à irradiação solar por dias ou semanas. Em contrapartida, as que exigem tempos menores de exposição à luz branca podem estar adaptadas a colonizarem locais em que a luz solar é disponível por alguns minutos ou horas.

As espécies com distribuição mais ampla na Cadeia do Espinhaço (*A. geniculatus*, *C. bisulcata* e *S. anthemiflorus*) apresentaram as maiores amplitudes térmicas de germinação quando comparadas com as espécies de ocorrência mais restrita (*S. multipes* e *S. niger*). As temperaturas permissíveis à germinação podem determinar a distribuição geográfica das plantas (Labouriau, 1983), entretanto, características germinativas por si só podem não ser a causa de endemismos (Baskin & Baskin, 1988). De fato, Oliveira & Garcia (2011), Soares da Mota & Garcia (2014) e Giorni et al. (2018) demonstraram que em sementes de Eriocaulaceae,

Velloziaceae e Xyridaceae os requerimentos distintos de temperaturas encontrados para as diferentes espécies estão relacionados aos microambientes que as mesmas ocupam e não à distribuição geográfica.

Para as três espécies que ocorrem em solos sujeitos a déficit hídrico (*A. geniculatus*, *C. bisulcata*, *S. anthemiflorus*) foram observadas altas porcentagens e velocidades de germinação sob a temperatura mais elevada (35°C), enquanto para *S. niger*, que ocorre em ambientes úmidos a alagados, a temperatura de 35°C causou uma diminuição significativa na germinabilidade. Oliveira & Garcia (2005) relataram que a germinação de sementes de espécies de *Syngonanthus* de ambientes alagados é inibida ou muito reduzida sob altas temperaturas (35 e 40°C), enquanto uma germinabilidade alta é observada em sementes provenientes de solos sujeitos à seca sazonal. De acordo com Oliveira & Garcia (2011), a disponibilidade hídrica do solo pode modular os limites térmicos permissíveis à germinação dessas espécies, uma vez que a alta umidade do solo reduz as flutuações térmicas e auxilia na manutenção de temperaturas relativamente mais baixas em comparação com solos secos. Assim, as sementes provenientes de ambientes mésicos ou úmidos tendem a germinar melhor sob temperaturas mais baixas, quando comparadas com sementes de ambientes secos (Oliveira & Garcia, 2005).

Neste estudo não foi possível observar a redução da velocidade média (V_m) até a temperatura máxima testada (35°C) para as sementes selecionadas para o cálculo das T_b . As temperaturas cardinais – mínima (T_b), ótima (T_o) e máxima (T_M) – descrevem a gama de temperaturas (T) permissíveis à ocorrência da germinação de sementes (Cardoso, 2011; Bewley et al., 2013). A T_b é considerada o limite térmico inferior, ou seja, é a temperatura abaixo da qual a germinação não ocorre (Cardoso & Pereira, 2009; Cardoso, 2011). Há uma tendência de a V_m aumentar até T_o , a partir da qual diminui até a T_M (Cardoso, 2011). Para as sementes de *A. geniculatus*, *C. bisulcata* e *S. multipes* foi utilizado o conceito de “faixa ótima” (Cardoso & Pereira, 2009), que abrangeu as temperaturas de 25 a 35°C. Tanto a faixa ótima de temperatura para germinação como as T_b (6,0, 11,2 e 14,1°C) encontradas para essas espécies são compatíveis com o ecossistema que elas habitam, cujas temperaturas variam aproximadamente de 18 a 30°C no verão e de 8 a 25°C no inverno (Nunes et al., 2016). Vale ressaltar que esses resultados são preliminares e que serão realizados testes de germinação sob outras temperaturas para que os

valores de T_M e T_b sejam confirmados.

Os resultados deste estudo mostraram que as sementes de *A. geniculatus*, *C. bisulcata*, *S. anthemiflorus*, *S. multipes* e *S. niger* requerem longos períodos de exposição à luz branca para germinar. Esta necessidade pode estar relacionada ao tamanho das sementes e ao ambiente ocupado por estas espécies, que ocorrem em áreas abertas e expostas a alta irradiância. Essas sementes são capazes de germinar sob uma ampla faixa de temperaturas e essa resposta pode estar associada ao habitat das espécies. Os valores de temperaturas base obtidos para três espécies é condizente com a variação térmica do ecossistema de sua ocorrência.

Referências Bibliográficas

Abreu, M.E.P., 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.

Actinocephalus in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB130391>.

Alves, M., Trovó, M., Forzza, R. C., Viana, P. 2015. Overview of the systematics and diversity of Poales in the Neotropics with emphasis on the Brazilian flora. Rodriguésia 66, 305-328.

Andrade, L.E. Sistemática de *Comanthera* e *Syngonanthus*. 2012. Tese (Doutorado em Botânica) – Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Andrade, M.J.G., Giulietti, A.M., Rapini, A., Queiroz, L.P., Conceição, A.S., Almeida, P.R.M., Berg, C.V. 2010. A comprehensive phylogenetic analysis of Eriocaulaceae: Evidence from nuclear (ITS) and plastid (*psbA-trnH* and *trnL-F*) DNA sequences. Taxon 2, 379–388.

Barreto, L.C., 2012. Estudos em Eriocaulaceae Mart.: caracterização morfológica do tegumento e germinação de sementes. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

Baskin, C.C., Baskin, J.M., 2014. Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of dormancy and germination. 2nd edition. San Diego: Academic Press, 1600 p.

Baskin, J.M., Baskin, C.C. 1988. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperature region. American Journal of Botany 75, 286–305.

Bewley, J.D., Bradford, K.J., Hilhorst, H.W.M., Nonogaki, H., 2013. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. 3rd edition. New York: Springer, 381 p.

Cardoso, V.J.M. 2011. Metodologia para análise da dependência térmica da germinação pelo modelo de graus-dia. Oecologia Australis, 15, 236-248.

Cardoso, V.J.M., Pereira, F.J.M. 2009. Dependência térmica da germinação de sementes de *Drymaria cordata* (L.) Willd. ex Roem. & Schult. (Cariophyllaceae). Acta Botanica Brasilica 23, 305-312.

Casal, J.J., Sanchez, R.A. 1998. Phytochromes and seed germination. Seed Science Research 8, 317-329.

Comanthera in Flora do Brasil. 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB116307>.

Donohue, K., Casas, K.K., Burghart, L., Kovach, L.K., Willis, C.G. 2010. Germination, post germination adaptation, and species ecological ranges. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 41, 293–319.

Dumur, D., Pilbeam, C.J. & Craigon, J. 1990. Use of the Weibull function to calculate cardinal temperatures in faba bean. Journal of Experimental Botany 41, 1423-1430.

- Echternacht, L., Sano P.T., Bonillo, C., Cruaud, C., Couloux, A., Dubuisson, J.Y. 2014. Phylogeny and taxonomy of *Syngonanthus* and *Comanthera* (Eriocaulaceae): Evidence from expanded sampling. *Taxon* 63, 47–63.
- Echternacht, L. Trovó, M., Oliveira, C.T., Pirani, J.R, 2011. Areas of endemism in the Espinhaço Range in Minas Gerais, Brazil. *Flora* 206, 782– 791.
- Ellison, A.M. 2001. Interspecific and intraspecific variation in seed size and germination requirements of *Sarracenia* (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany* 88, 429–437.
- Fankhauser, C., Chory, J. 1997. Light control of plant development. *Annuals Reviews in Cell Development Biology*, 13, 203–229.
- Garcia, Q.S. & 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. & Oliveira, P.G. 2007. Germination patterns and seed longevity of monocotyledons from Brazilian campos rupestres. *Seed Science and Biotechnology* 1, 35–41.
- Garcia-Huidobro, J., Monteith, J.L., Squire, G.R. 1982. Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. & H.). *Journal of Experimental Botany* 33, 288-296.
- Giorni, V.T., Bicalho, E.M., Garcia, Q.S. 2018. Seed germination of *Xyris* spp. from Brazilian campo rupestre is not associated to geographic distribution and microhabitat. *Flora* 238,102-109.
- Hatschbach, G., Guarçoni, E.A.E., Sartori, M. A., Ribas, O. S. 2006. Aspectos fisionômicos da vegetação da Serra do Cabral, Minas Gerais, Brasil. *Boletim do Museu Botânico Municipal de Curitiba*. 33 p.
- Instituto Estadual de Florestas, Governo do Estado de Minas Gerais. 2013. Plano de Manejo PES. Encarte I – Diagnóstico do Parque Estadual da Serra do Cabral. 386 p.
- Jiménez-Alfaro, B., Silveira, F.A.O., Fidelis, A., Poschlod, P., Commander, L. E. 2016. Seed germination traits can contribute better to plant community ecology. *Journal of Vegetation Science* 27, 637–645.
- Kettenring, K.M., Gardner, G., Galatowitsch, S.M., 2006. Effect of light on seed germination of eight wetland *Carex* species. *Annals of Botany* 98, 869–874.
- Labouriau, L.G. 1983. A germinação das sementes. Washington, DC, Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos.
- Labouriau, L.G., Osborn, J.H. 1984. Temperature dependence of the germination of tomato seeds. *Journal of thermal Biology* 9, 285-294.
- Milberg, P., Anderson, L., Thompson, K., 2000. Large-seeded spices are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* 10,99–104.

Nunes, F.P., Dayrell, R.L.C., Silveira, F.A.O., Negreiros, D., Santana, D.G.S., Carvalho, F. J., Garcia, Q.S., Fernandes, G.W. 2016. Seed germination ecology in rupestrian grassland. In: G.W. Fernandes (ed.), Ecology and Conservation of Mountaintop Grasslands in Brazil, pp. 207-225.

Oliveira, P. G., 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, 3, 639-645.

Oliveira, P. G., Garcia, Q.S., 2011. Germination characteristics of *Syngonanthus* seeds (Eriocaulaceae) in *campos rupestres* vegetation in south-eastern Brazil. Seed Science Research 21, 1, 30-39.

Parra, L. P. 1998. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: *Syngonanthus* Ruhland (Eriocaulaceae). Boletim Botânico da Universidade de São Paulo 17, 219-254.

Pereira, A.R., Andrade, A.C.S., Pereira, T.S., Forzza, R.C., Rodrigues, A.S. 2009. Comportamento germinativo de espécies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. Revista Brasileira de Botânica, 32, 827-838.

Pires, G.L.P., Meyer, K.E.B., Gomes, M.O.S. 2016. Palinologia da vereda Juquinha/Cuba, Parque Estadual da Serra do Cabral, Minas Gerais, Brasil. Revista Brasileira de Paleontologia 19, 95-110.

Rodrigues, E.R.S., Silveira, F.A.O. 2013. Seed germination requirements of *Trembleya laniflora* (Melastomataceae), an endemic species from neotropical montane rocky savannas. Plant Species Biology 28, 165–168

Pons, T.L., 2000. Seed responses to light. In: Fenner, M. (Ed.), Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities. CABI Publishing, Wallingford, pp.237–260.

Scatena, V.L. & Menezes, N.L. 1993. Embryology and seedling development in *Syngonanthus rufipes* Silveira (Eriocaulaceae). Beitrage Zur Biologie der Pflanzen 67, 333-343.

Scatena, V.L.; Lemos, F.J.P. & Lima, A.A.A. 1996. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus elegans* e *S. niveus* (Eriocaulaceae). Acta Botanica Brasilica 10, 85-91.

Schütz, W., Rave, G. 1999. The effect of cold stratification and light on the seed germination of temperate sedges (*Carex*) from various habitats and implications for regenerative strategies. Plant Ecology 144, 215–230.

Silveira, F.A.O. Negreiros, D., Fernandes, G.W. 2004. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marcetia taxifolia* (A. St.-Hil.) DC. (Melastomataceae). Acta Botanica Brasilica 18, 847 – 851.

Simão, E., Takaki, M., Cardoso, V.J.M. 2008. Germination response of *Hylocereus setaceus* (Salm-Dyck ex DC.) Ralf Bauer (Cactaceae) seeds to temperature and reduced water potentials. Brazilian Journal of Biology, 70, 135-144, 2008.

Soares da Mota, L.A., Garcia, Q.S. 2013. Germination patterns and ecological characteristics of *Vellozia* seeds from high-altitude sites in south-eastern Brazil. *Seed Science Research* 23, 67-74.

Syngonanthus in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponíveis em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB29009>; <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB29090>; <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB29089>

Van Assche, J., Van Nerum, D., Darius, P. 2002. The comparative germination ecology of nine *Rumex* species. *Plant Ecology* 159, 131–142.

Vieira, B.C., Rodrigues, B.M.A., Garcia, Q.S. 2018. Light exposure time and light quality on seed germination of *Vellozia* species (Velloziaceae) from Brazilian campo rupestre. *Flora* 238, 94 -101.

Zaidan, L.B.P., Carreira, R.C. 2008. Seed germination in Cerrado species. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20, 167-181.

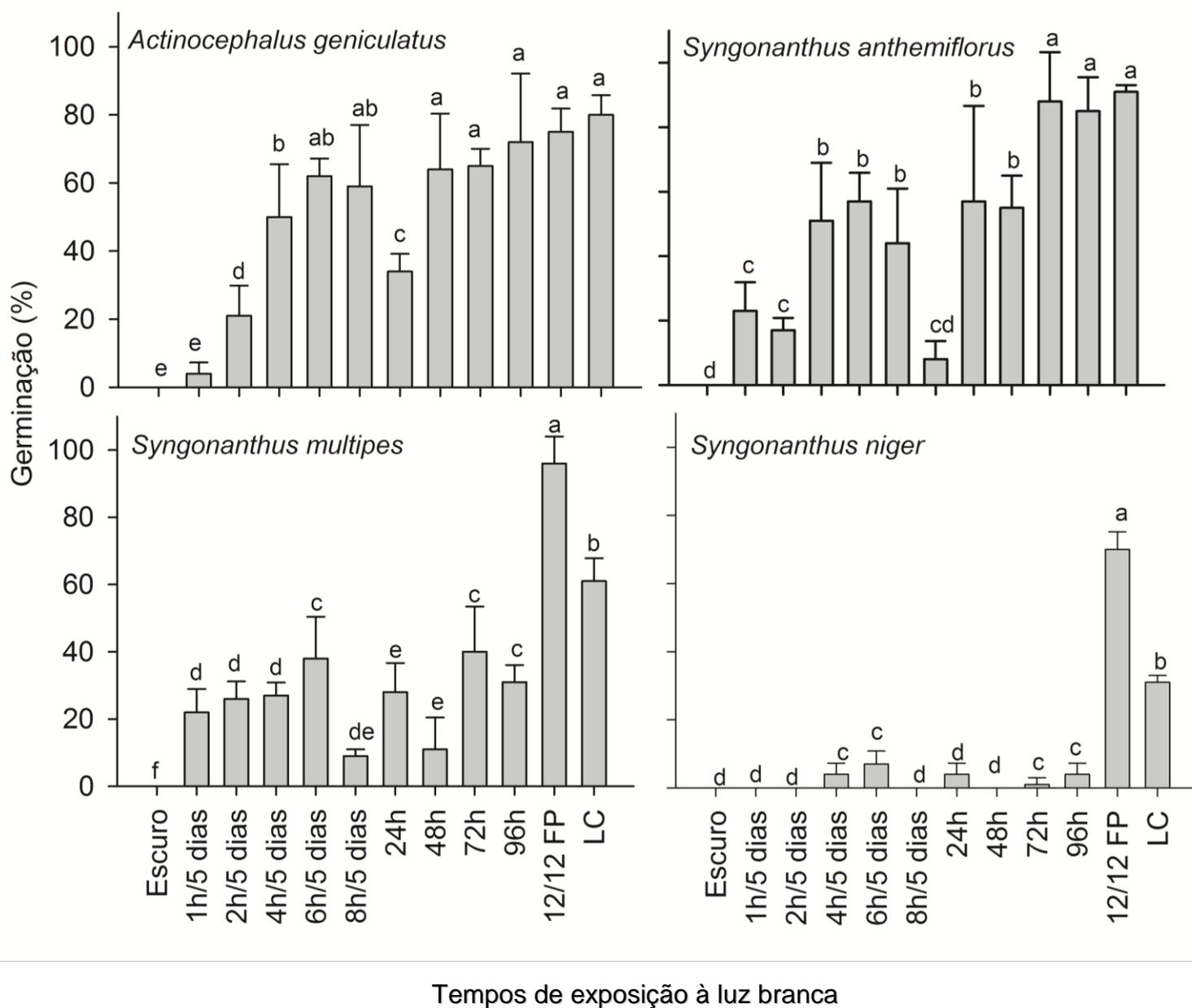


Figura 1. Germinabilidade de quatro espécies de Eriocaulaceae expostas a diferentes pulsos intermitentes (1, 2, 4, 6 e 8 horas por um período de cinco dias) e únicos (24, 48, 72 e 96 horas) de luz branca. Os controles foram feitos sob escuro e fotoperíodo de 12 horas (12/12 FP). As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos de luz (teste de Tukey a 5% de probabilidade); as barras de erro representam o desvio-padrão.

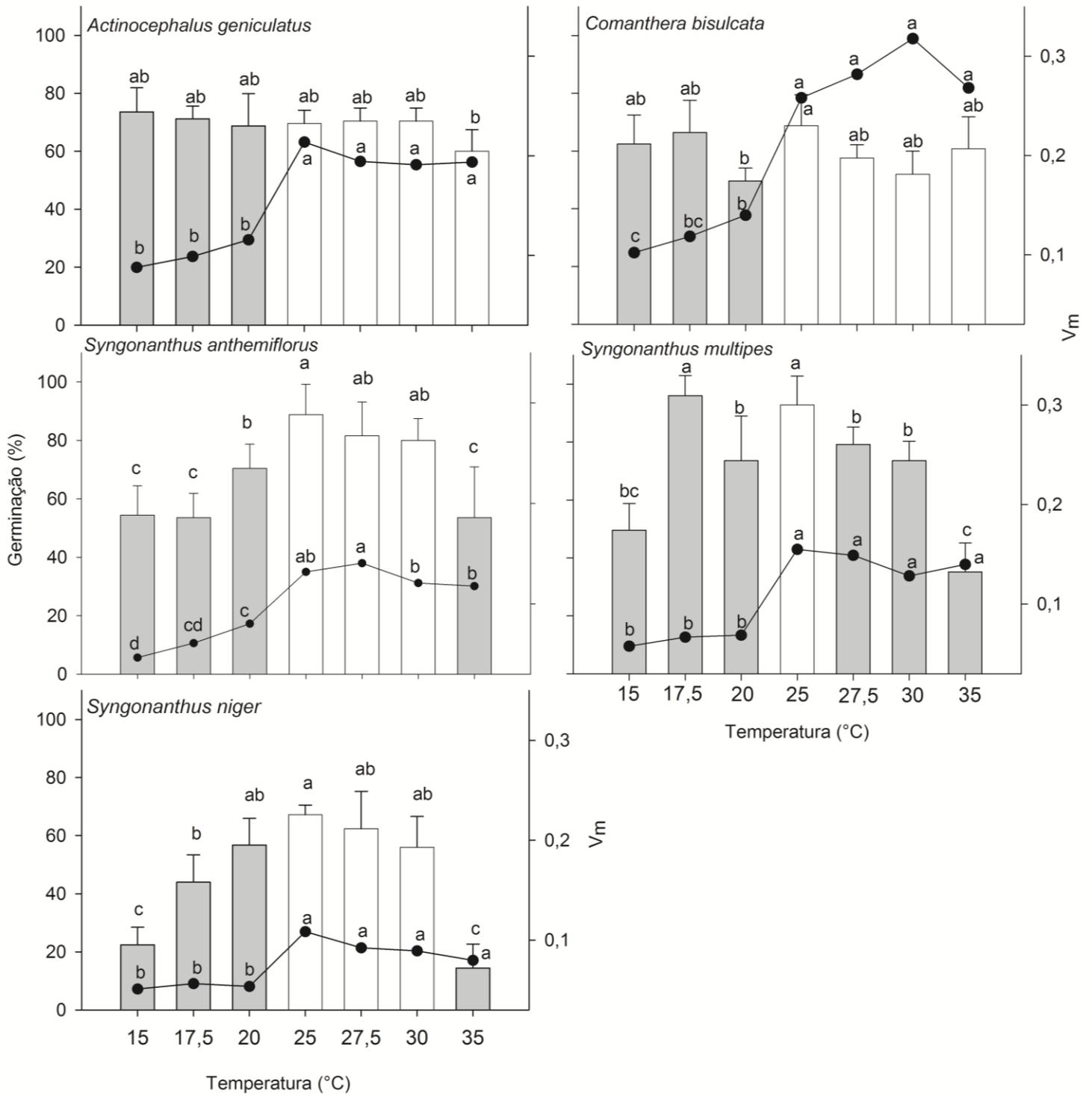


Figura 2. Porcentagem final de germinação (barras) e velocidade média de germinação (V_m , linhas) de sementes de quatro espécies de Eriocaulaceae sob temperaturas constantes de 15 a 35°C. As letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos (teste de Tukey a 5% de probabilidade); as barras de erro representam o desvio-padrão. Barras brancas indicam as temperaturas ótimas de germinação para cada espécie.

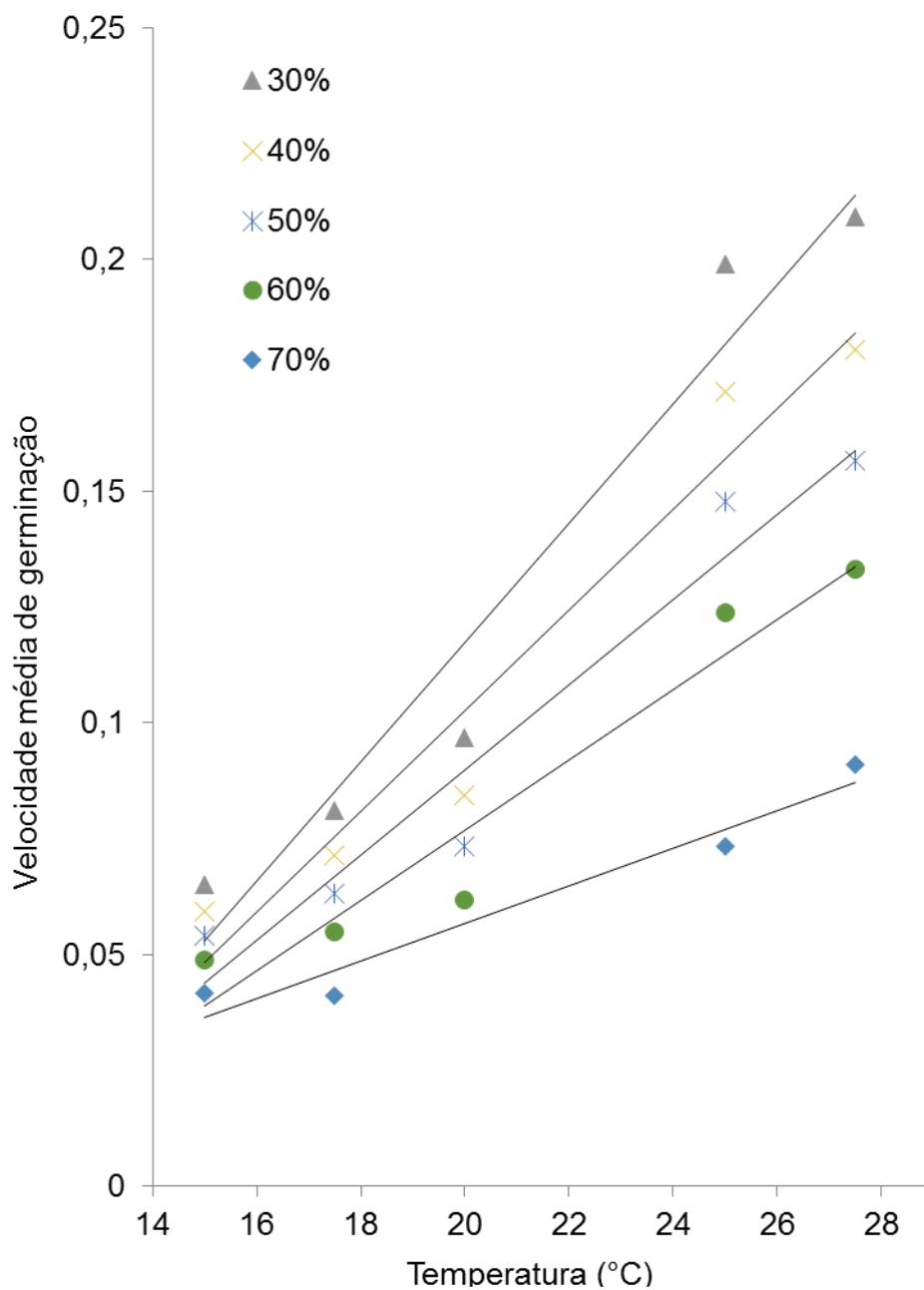


Figura 3. Relação entre temperatura e velocidades de germinação correspondentes às frações 30, 40, 50, 60 e 70% de sementes de *Actinocephalus geniculatus*. A velocidade foi calculada como $1/t_g$, ou seja, como a recíproca de tempo necessário para a germinação das frações percentuais.

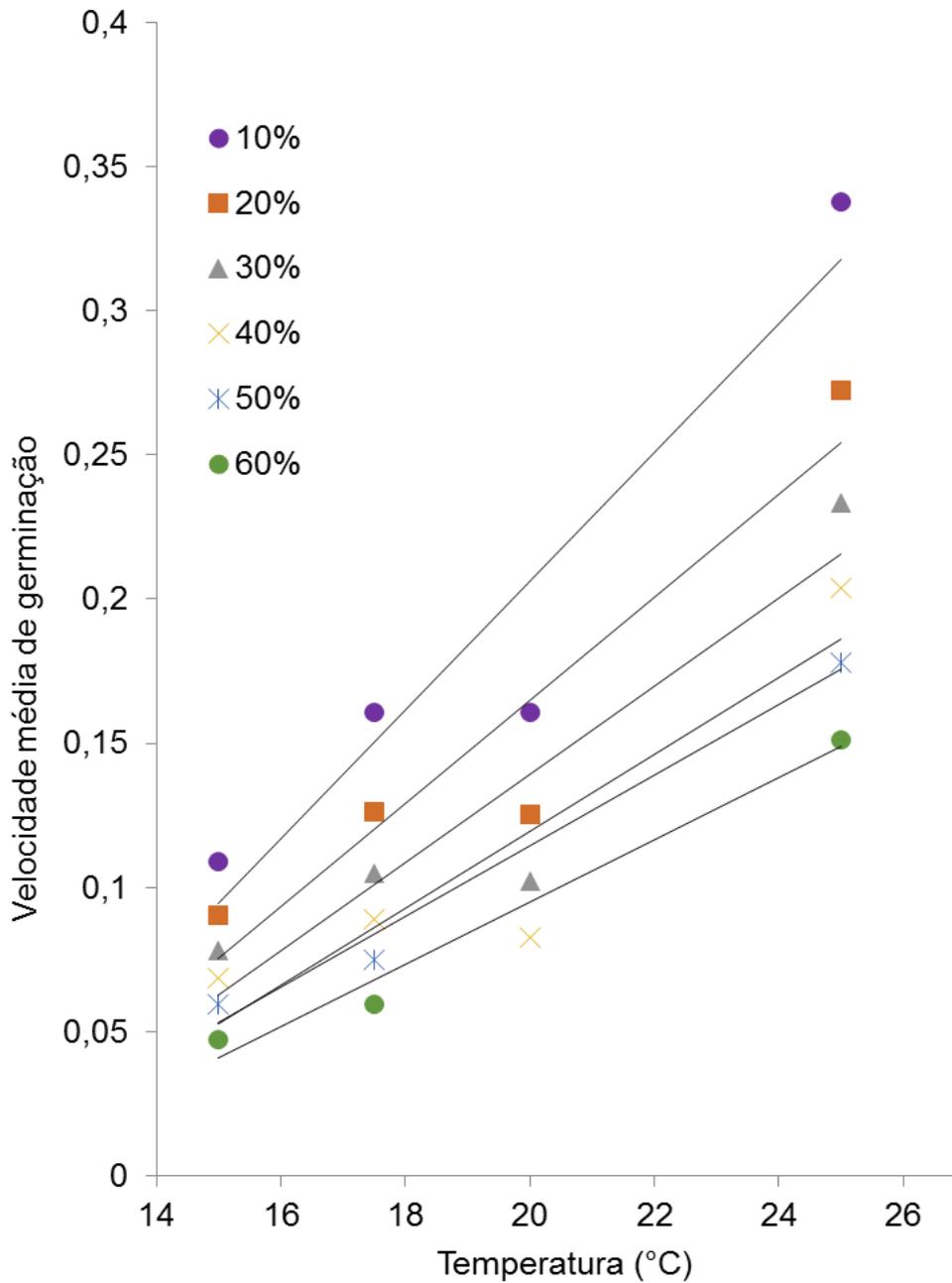


Figura 4. Relação entre temperatura e velocidades de germinação correspondentes às frações 10, 20, 30, 40, 50 e 60% de sementes de *Comanthera bisulcata*. A velocidade foi calculada como $1/t_g$, ou seja, como a recíproca de tempo necessário para a germinação das frações percentuais.

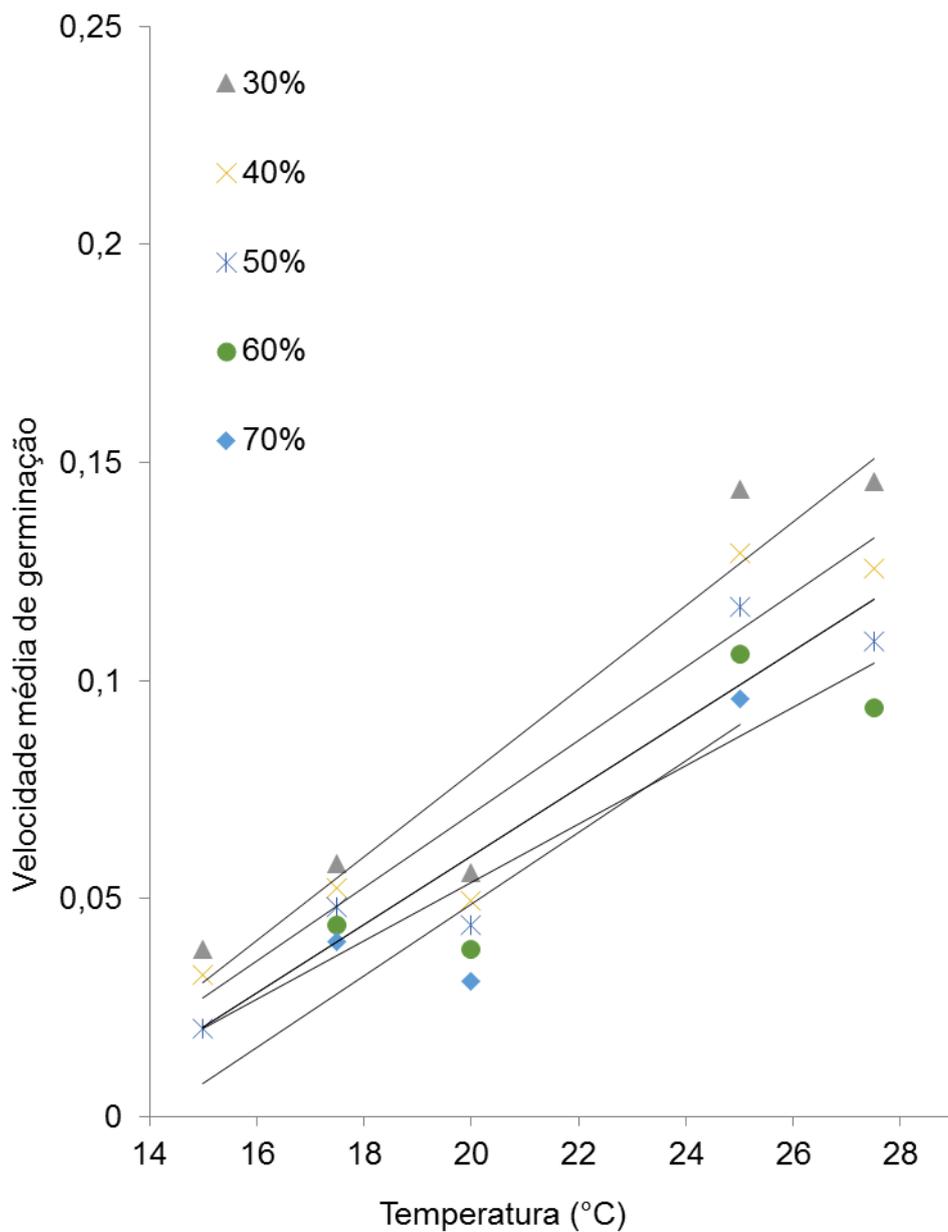


Figura 5. Relação entre temperatura e velocidades de germinação correspondentes às frações 30, 40, 50, 60 e 70% de sementes de *Syngonanthus multipes*. A velocidade foi calculada como $1/t_g$, ou seja, como a recíproca de tempo necessário para a germinação das frações percentuais.

Tabela 1. Espécies de Eriocaulaceae abordadas no presente estudo, distribuição geográfica e dados acerca dos locais de coleta das populações e do habitat.

Espécie	Distribuição geográfica*	Coordenadas geográficas	Altitude (m)	Habitat**
<i>Actinocephalus geniculatus</i>	Minas Gerais - Serra do Cabral a Serra do Cipó e Quadrilátero Ferrífero	17°53'05"S/44°15'51"W	1153	Áreas abertas, solo arenoso sazonalmente seco
<i>Comanthera bisulcata</i>	Minas Gerais - Grão Mogol a Serra do Cipó; Goiás e Bahia	17°55'20"S/44°14'46"W	1038	Áreas abertas, solo arenoso sazonalmente seco
<i>Syngonanthus anthemiflorus</i>	Minas Gerais - Ouro Preto a Grão Mogol	17°42'59"S/44°14'38"W	1159	Áreas abertas, solo arenoso sazonalmente seco
<i>Syngonanthus multipes</i>	Minas Gerais e Goiás - Serra do Cabral, Planalto de Diamantina a Cristalina	17°55'20"S/44°14'46"W	1038	Áreas abertas, solo arenoso sazonalmente seco
<i>Syngonanthus niger</i>	Minas Gerais - Endêmica da Serra do Cabral e Planalto de Diamantina	17°53'05"S/44°15'51"W	1153	Áreas abertas, solo arenoso úmido a alagado

*Dados de Andrade (2012); Echternacht et al. (2011); Parra (1998); Flora do Brasil 2020 em construção

** Dados de Andrade (2012); Parra (1998)

Tabela 2. Tamanho das sementes (comprimento e largura em milímetros) das espécies de Eriocaulaceae investigadas neste estudo.

Espécies	Comprimento (mm)	Largura (mm)
<i>A. geniculatus</i>	0,74 ± 0,06	0,4 ± 0,018
<i>S. anthemiflorus</i> *	0,48 ± 0,05	0,25 ± 0,03
<i>C. bisulcata</i> *	0,46 ± 0,05	0,25 ± 0,03
<i>S. multipes</i>	0,53 ± 0,06	0,25 ± 0,03
<i>S. niger</i>	0,72 ± 0,05	0,35 ± 0,06

*Biometria já descrita na literatura (Oliveira & Garcia, 2011)

Tabela 3. Parâmetros das equações lineares de ajuste das curvas de velocidade de germinação de diferentes frações percentuais em sementes de três espécies de Eriocaulaceae em função da temperatura (na faixa infra-ótima). Os valores de T_b (temperatura base) representam as projeções das retas na abscissa ($y = 0$). Os valores dados pelas frações mais elevadas (em negrito) foram considerados as T_b de cada espécie.

Espécie	Fração	R ²	T _b
<i>A. geniculatus</i>	30%	0,951	10,9
	40%	0,948	10,6
	50%	0,944	10,2
	60%	0,936	9,9
	70%	0,952	6,0
<i>C. bisulcata</i>	10%	0,907	10,8
	20%	0,889	10,8
	30%	0,868	10,9
	40%	0,834	11,1
	50%	0,984	10,7
	60%	0,982	11,2
<i>S. multipes</i>	30%	0,916	11,8
	40%	0,905	11,8
	50%	0,901	12,4
	60%	0,844	13,9
	70%	0,803	14,1

Considerações finais

Nossos resultados mostraram o controle ambiental dos processos de dormência e germinação em sementes de Eriocaulaceae que habitam os campos rupestres. A importância da interação umidade-temperatura na dinâmica da dormência em sementes enterradas de *Syngonanthus verticillatus* já foi elucidada por outros autores. Entretanto, foi demonstrado, pela primeira vez, que a temperatura modula a velocidade de aquisição da dormência de sementes desta espécie em substrato úmido, de forma que condições semelhantes às encontradas na primavera/verão, estimulam uma resposta rápida, enquanto que a temperatura baixa (outono/inverno) retarda a aquisição da dormência. A promoção da germinação de sementes dormentes obtida com a aplicação de fluridone indica que ocorre síntese *de novo* de ABA durante a embebição e que este processo é importante para a manutenção do estado dormente em sementes de *S. verticillatus*.

É conhecido que sementes de Eriocaulaceae são fotoblásticas positivas. Este requerimento absoluto de luz para a germinação se relaciona ao tamanho das sementes e ao ambiente ocupado por estas espécies, que ocorrem em áreas abertas e expostas a alta luminosidade como os campos rupestres. Entretanto, apesar de a germinabilidade sob escuro contínuo ter sido nula para todas as espécies estudadas, a responsividade aos tempos de exposição à luz foi variável entre as espécies. Apenas *A. geniculatus* atingiu germinabilidade máxima em resposta a pulsos mais curtos de luz, enquanto as outras três espécies necessitam de períodos mais prolongados de exposição à luz branca.

A gama de temperaturas permissíveis à germinação das espécies de Eriocaulaceae é ampla e essa resposta está relacionada à variação térmica do ambiente de sua ocorrência. Neste estudo foi possível determinar a temperatura base para três espécies, porém, esses resultados são preliminares e a partir deles, nossos objetivos são calcular as temperaturas ótima e máxima. Com esses valores definidos, os próximos passos serão desenvolver modelos para o tempo térmico, a partir dos quais será possível fazer previsões, como por exemplo aquelas relacionadas à resposta germinativa das sementes frente às mudanças climáticas globais. De forma geral, nosso estudo contribuiu para ampliar o conhecimento acerca da ecofisiologia de sementes de espécies nativas dos campos rupestres, um ecossistema muito importante para a conservação da biodiversidade brasileira.