

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

Longevidade *in situ* e defesa química em sementes de *Syngonanthus*
(Eriocaulaceae) dos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil

Patrícia Gonçalves de Oliveira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais como parte dos requisitos para obtenção de título de Doutor em Biologia Vegetal

Orientadora: Prof. Dra. Queila Souza Garcia (ICB)
Co-orientadora: Prof. Dra. Lúcia Santos Pinheiro Pimenta (ICEx)

Belo Horizonte – M.G

2009

Agradecimentos

À minha orientadora professora Dra. Queila Souza Garcia, pela amizade, incentivo, apoio, pelos ensinamentos que contribuíram para minha formação e pelos bons momentos que passamos juntas.

À minha co-orientadora professora Dra. Lúcia S. P. Pimenta, pela oportunidade de trabalho no laboratório, por toda a ajuda na execução do projeto e também pela sua disponibilidade.

À professora Jacqueline A. Takahashi, obrigada pela atenção e orientação na realização dos ensaios de atividade antimicrobiana.

Aos professores por terem aceitado nosso convite para fazerem parte da banca, Dr. Edvaldo Aparecido Amaral da Silva, Dra. Flávia de Freitas Coelho, Dra. Jacqueline A. Takahashi e Dr. José Pires de Lemos Filho, como titulares e à Dra. Andréia Rodrigues Marques Guimarães e Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira, como suplentes.

À Universidade Federal de Minas Gerais, pela oportunidade de realização do curso.

Aos professores do Departamento de Botânica da UFMG, por contribuírem na minha formação.

À FAPEMIG pela concessão da bolsa.

À Fundação O Boticário de Proteção à Natureza pelo financiamento do projeto.

Ao IBAMA pela concessão da licença de coleta. Aos funcionários do Parque Nacional da Serra do Cipó por fornecerem todo o apoio logístico para que o trabalho fosse realizado da melhor maneira e em especial à Kátia pela colaboração e fornecimento dos dados climáticos.

Aos motoristas do ICB, Luiz, Marcelo, Messias, Ricardo e Valdizio que nos acompanharam nas viagens para o campo.

Aos funcionários técnicos-administrativos do Departamento Maria Helena, Teresinha, Márcia, Marina, Maria do Socorro, Elisa, Selma, pelo importante serviço prestado.

Ao pessoal do Instituto Eschwege Casa da Glória, em Diamantina, por nos receber durante o trabalho em campo.

Aos inúmeros e queridos estagiários Ana, Brenda, Émilie, Flávio, Heron, Marina Mellino, Marina Dutra e Tati, que tiveram muita paciência em trabalhar com as sementinhas e muito contribuíram para o desenvolvimento do projeto, mesmo aqueles que passaram pelo laboratório por poucas semanas, muito obrigada.

À Letícia e Fernando Marino, meus grandes companheiros no laboratório e em campo, por todos os momentos que compartilhamos e pela certeza de que construímos uma amizade verdadeira.

Aos amigos Ana Cheib, Beth, Carlos, Carol, Cristiano, Dani, Èrica Borsali Janaína Diniz, Flávia Peres, Janaína Guernica, Luciana Melo, Paola, Sandra e Victor pela força, incentivo, carinho, ótimos momentos de convívio e ajuda nos momentos em que precisei.

À Marina Dutra e Ubirajara, por serem tão prestativos, pela amizade, agradável companhia pela ajuda nos trabalhos de campo e pelo muito que aprendi convivendo com os dois.

À Mary Ane e Luciana, do Departamento de Química, ICEx, pela amizade, toda a ajuda no laboratório de química e auxílio nos testes larvicida sobre *Artemia salina*

À Taís e Willian, do Departamento de Química, ICEx, pelo auxílio nos testes antimicrobianos.

Aos colegas Grazi, Marcos, Luciana Kamino, Nara, Marcia Solange, pelo carinho.

Aos meus queridos pais e irmã, que sempre me incentivaram a crescer e buscar meus objetivos, transformando-se em um alicerce forte para a realização de meus sonhos e conquistas.

À minha querida e amada filha Bruna, que muitas vezes teve que se privar de minha companhia, compreendendo minha ausência graças à benção de Deus, dedicação e carinho de minha família.

Aos meus tios Angela e Dênio, pelas palavras de carinho, estímulo e apoio.

A Deus, que me deu a vida e concedeu-me o direito de vive-la.

A todas as pessoas acima citadas e a outras que, direta ou indiretamente, dividiram comigo momentos de crescimento e superação de mais um desafio,

o meu MUITO OBRIGADA!!

Sumário

Introdução geral	7
Referências Bibliográficas	12
Capítulo 1: Ecofisiologia da germinação de sementes de espécies de <i>Syngonanthus</i> (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil	13
Resumo	14
Abstract	14
Introdução	15
Material e Métodos	16
Resultados	18
Discussão	21
Referências Bibliográficas	25
Capítulo 2: Atividade biológica de metabólitos secundários como indicadores de defesa química em sementes de <i>Syngonanthus</i> (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Brasil	30
Resumo	31
Abstract	31
Introdução	32
Material e Métodos	33
Resultados	38
Discussão	43
Referências Bibliográficas	46
Capítulo 3: Longevidade <i>in situ</i> de sementes de <i>Syngonanthus</i> (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil	51
Resumo	52
Abstract	52
Introdução	53
Material e Métodos	54
Resultados	57
Discussão	63
Referências Bibliográficas	67

Índice de tabelas

Capítulo 1

Tabela 1. Lista das espécies, distribuição geográfica e dados de coleta das populações estudadas.

Tabela 2. Medidas das sementes de sete espécies de *Syngonanthus*. Comprimento (mm), largura (mm) e massa de matéria seca (mg) (média \pm desvio padrão; n = 4 x 100). Para *S. gracilis* n = 4 x150 para a medida de massa seca. Valores seguidos por letras iguais não diferem entre si na mesma coluna.

Capítulo 2

Tabela 1. Lista das espécies, distribuição geográfica, local e ano de coleta, coordenada geográfica e altitude (m) das populações estudadas.

Tabela 2. Massa do extrato (mg) e as concentrações ($\mu\text{g/mL}$) utilizadas no teste larvicida sobre *Artemia salina* para sementes recém coletadas (RC) e armazenadas (AR) de cada espécie.

Tabela 3. Prospecção fitoquímica por CCD realizada com os extratos hexânico, clorofórmico e metanólico de sementes recém coletadas (A) e armazenadas no solo por 12 meses (B) para as espécies de *Syngonanthus*.

Tabela 4. Atividade antioxidante revelada nos extratos metanólicos com β -caroteno nas sementes recém coletadas (RC) e armazenadas no solo por 12 meses (AR) para as espécies de *Syngonanthus*.

Tabela 5. Resultado do teste *in vitro* de atividade antimicrobiana com *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhunurium* dos extratos hexânico, clorofórmico e metanólico, de sementes recém coletadas (A) e armazenadas no solo por 12 meses (B) para as espécies de *Syngonanthus*.

Tabela 6. Resultado do teste larvicida sobre *Artemia salina* (TAS) com extratos hexânico, clorofórmico e metanólico, de sementes recém coletadas (A) e sementes armazenadas no solo por 12 meses (B) para as espécies de *Syngonanthus*.

Índice de figuras

Introdução geral

Figura 1. Mapa de altitude da costa leste Brasileira evidenciando a Cadeia do Espinhaço acima de 1000 m. (Fonte: Site do Ministério do meio ambiente: <http://mapas.mma.gov.br/i3geo/aplicmap/geral.htm> Visitado em 03/03/2009).

Figura 2. Campo rupestre da Serra de Grão Mogol (A) (Foto: Fernando Marino), *Syngonanthus bisulcatus* (B), *S. verticilatus* (C) e capítulo jovem de *S. verticilatus* (D) (Fotos: Ubirajara de Oliveira), *S. anthemidiflorus* (E) (Foto: Marina Mellilo), *S. vernonioides* (F) (Foto: Fernando Marino), *S. cipoensis* (G), capítulo jovem de *S. cipoensis* (H) e capítulo em fase de dispersão de *S. cipoensis* (I) (Fotos: Ubirajara de Oliveira), Habitat de *S. caulescens* (J) (Foto: Carlos Pontes).

Figura 3. Coleta de *S. elegans* em Galheiros, distrito de Diamantina (A e B), Transporte e galpão de armazenamento de *S. elegans* (C e D), Produto comercial feito com sempre-vivas (E e F).

(Fotos: (A-E) Terra Brasilis, (F) Letícia Soares)

Capítulo 1

Figura 1. Percentagem final de germinação em sementes de sete espécies de *Syngonanthus*, fotoperíodo de 12h em temperaturas constantes de 10 a 40°C (▪ Media, □ erro padrão,] desvio padrão). Valores seguidos por letras iguais não diferem entre si na mesma espécie.

Figura 2. Velocidade de germinação (dias⁻¹) em sementes de sete espécies de *Syngonanthus*, fotoperíodo de 12h em temperaturas constantes de 10 a 40°C (▪ Media, □ erro padrão,] desvio padrão). Valores seguidos por letras iguais não diferem entre si na mesma espécie.

Figura 3. Faixa de temperatura para germinação (em cinza escuro), germinabilidade abaixo de 11% (em cinza claro) e temperatura ótima de germinação (em preto) para sete espécies de *Syngonanthus*.

Capítulo 3

Figura 1. Precipitação mensal, número de dias com chuva e médias mensais para temperaturas máximas e mínimas. Dados colhidos quatro vezes ao dia na estação meteorológica da sede do Parque. Precipitação anual: 2004 (julho a dezembro) – 681,5mm; 2005 – 1.743,7mm; 2006 – 1.492,1mm. (Dados climáticos, PARNA Serra do Cipó)

Figura 2. Médias pontuais de temperaturas registradas uma vez ao mês durante o período de agosto de 2007 a outubro de 2008 entre 11:00 e 13:00 h. Dados colhidos da superfície (□), dentro de moitas de vegetação (Δ) e a 5 cm de profundidade do solo (○), em ambientes méxico (A) e xérico (B). (Barras indicam desvio padrão)

B

Figura 3. Porcentagem de germinação, sob luz contínua e temperatura ótima, durante o período de armazenamento no solo da Serra do Cipó, de sementes de *S. verticilatus* (A), *S. anthemidiflorus* (B), *S. caulescens* (C) por 34 meses, *S. bisulcatus* (D) por 26 meses; *S. elegans* (E) e *S. venustus* (F) por 22 meses. Linha contínua (sementes *in natura*) e linha pontilhada (sementes com fungicida). (Barras indicam desvio padrão)

Figura 4. Porcentagem final de sementes intactas, sob luz contínua e temperatura ótima, durante o período de armazenamento no solo da Serra do Cipó, para *S. verticilatus* (A), *S. anthemidiflorus* (B), *S. caulescens* (C) por 34 meses, *S. bisulcatus* (D) por 26 meses; *S. elegans* (E) e *S. venustus* (F) por 22 meses. Linha contínua (sementes *in natura*) e linha pontilhada (sementes com fungicida). (Barras indicam desvio padrão)

Figura 5. Relação entre percentual final de sementes deterioradas e o tempo de armazenamento no solo da Serra do Cipó, para *S. verticilatus* (A), *S. anthemidiflorus* (B), *S. caulescens* (C) por 34 meses, *S. bisulcatus* (D) por 26 meses; *S. elegans* (E) e *S. venustus* (F) por 22 meses. Sementes *in natura* (i) e sementes com fungicida (f). (Barras indicam desvio padrão)

Introdução Geral

Longevidade *in situ* e defesa química em sementes de *Syngonanthus*
(Eriocaulaceae) dos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil

A Cadeia do Espinhaço (Fig. 1), recentemente transformada em Reserva da Biosfera pela Unesco (Unesco, 2006), compreende uma área aproximada de 6000 km² entre os estados de Minas Gerais e Bahia (Menezes & Giuliatti, 2000) com altitudes que variam entre 900 e 2000 m (Giuliatti *et al.*, 1987). A região apresenta alta diversidade, principalmente por conter um número excepcional de espécies endêmicas, mas muitas dessas espécies estão ameaçadas, em razão da pequena área que ocupam e da forte ação antrópica que seus habitats vêm sofrendo, principalmente devido a atividades mineradoras e coleta predatória de espécies com algum uso econômico ou ornamental (Menezes & Giuliatti, 2000). Associada à Cadeia do Espinhaço está a vegetação dos campos rupestres (Fig. 2 A), composta principalmente de elementos endêmicos, tanto ao nível de gêneros quanto de espécies (Menezes & Giuliatti 2000), e compreende entre diversas famílias as Eriocaulaceae, que podem ser facilmente reconhecidas por apresentarem flores diclinas reunidas em inflorescências do tipo capítulo, característica que a diferencia de todas as demais famílias de monocotiledôneas (Parra, 2000).

O gênero *Syngonanthus* compreende aproximadamente 200 espécies (Mabberley, 1987) com distribuição pantropical, concentrada na região neotropical (Giuliatti & Hensold, 1991). As espécies são caracterizadas pelo hábito geralmente em roseta, de onde partem escapos portando inflorescências do tipo capítulo (Fig. 2 B) e são conhecidas popularmente como sempre-vivas (Giuliatti *et al.*, 1988; Giuliatti *et al.*, 1996; Menezes & Giuliatti, 2000). A coleta dessas plantas é associada à subsistência de muitas famílias habitantes das Serras da Cadeia do Espinhaço. Os escapos e os capítulos (inflorescências), depois de colhidos e secos (Fig. 3 A-D), são utilizados em artigos de decoração (Fig. 3 E e F) e distribuídos por todo Brasil, além de serem exportados para outros países do mundo (Giuliatti *et al.*, 1988). Porém, as inflorescências são removidas antes da produção de sementes o que compromete o recrutamento e diminui o tamanho das populações (Giuliatti *et al.* 1988, 1996, Menezes & Giuliatti 2000). Por isso, muitas espécies apresentam-se vulneráveis (Giuliatti *et al.*, 1988) e são incluídas na lista vermelha de espécies ameaçadas da IUCN (Menezes & Giuliatti, 2000).

As plantas crescem em solos rochosos, arenosos e/ou brejosos (Fig. 2 A-J), ácidos, pobres em nutrientes, expostos a alta intensidade luminosa e flutuações diárias de temperatura (Giuliatti *et al.*, 1987; Giuliatti & Pirani, 1988). Essas particularidades têm despertado grande interesse na pesquisa devido a suas interações bióticas e abióticas (Giuliatti *et al.*, 1987), mas existem poucos dados quantitativos sobre tamanho de sementes, ecologia da germinação, dormência e longevidade de sementes de espécies desta flora. Estes conhecimentos são considerados essenciais para a compreensão dos processos de estabelecimento, sucessão e regeneração natural da vegetação (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993) e para a viabilização de planos de manejo ou de conservação do ecossistema.

Tendo em vista a importância sócio-econômica apresentada pelo gênero *Syngonanthus*, devido ao seu grande potencial ornamental e sua vulnerabilidade frente à coleta predatória, este estudo torna-se de grande relevância, pois possibilitará obter maiores informações sobre a biologia das espécies e entender o comportamento das sementes no solo frente às interações químicas, biológicas e ecológicas.

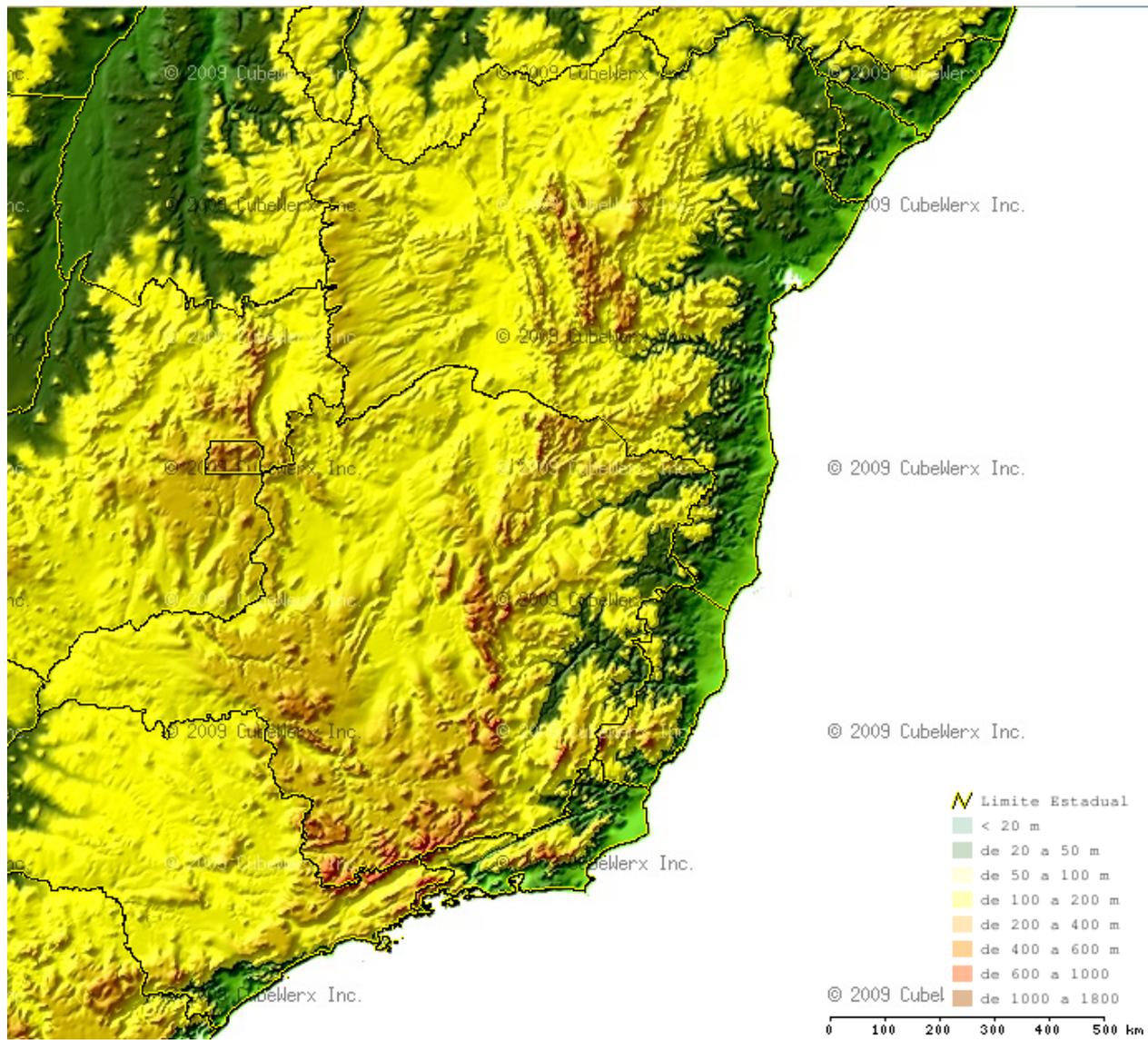


Figura 1. Mapa de altitude da costa leste Brasileira evidenciando a Cadeia do Espinhaço acima de 1000 m (Fonte: Site do Ministério do Meio Ambiente: <http://mapas.mma.gov.br/i3geo/aplicmap/geral.htm> Visitado em 03/03/2009).

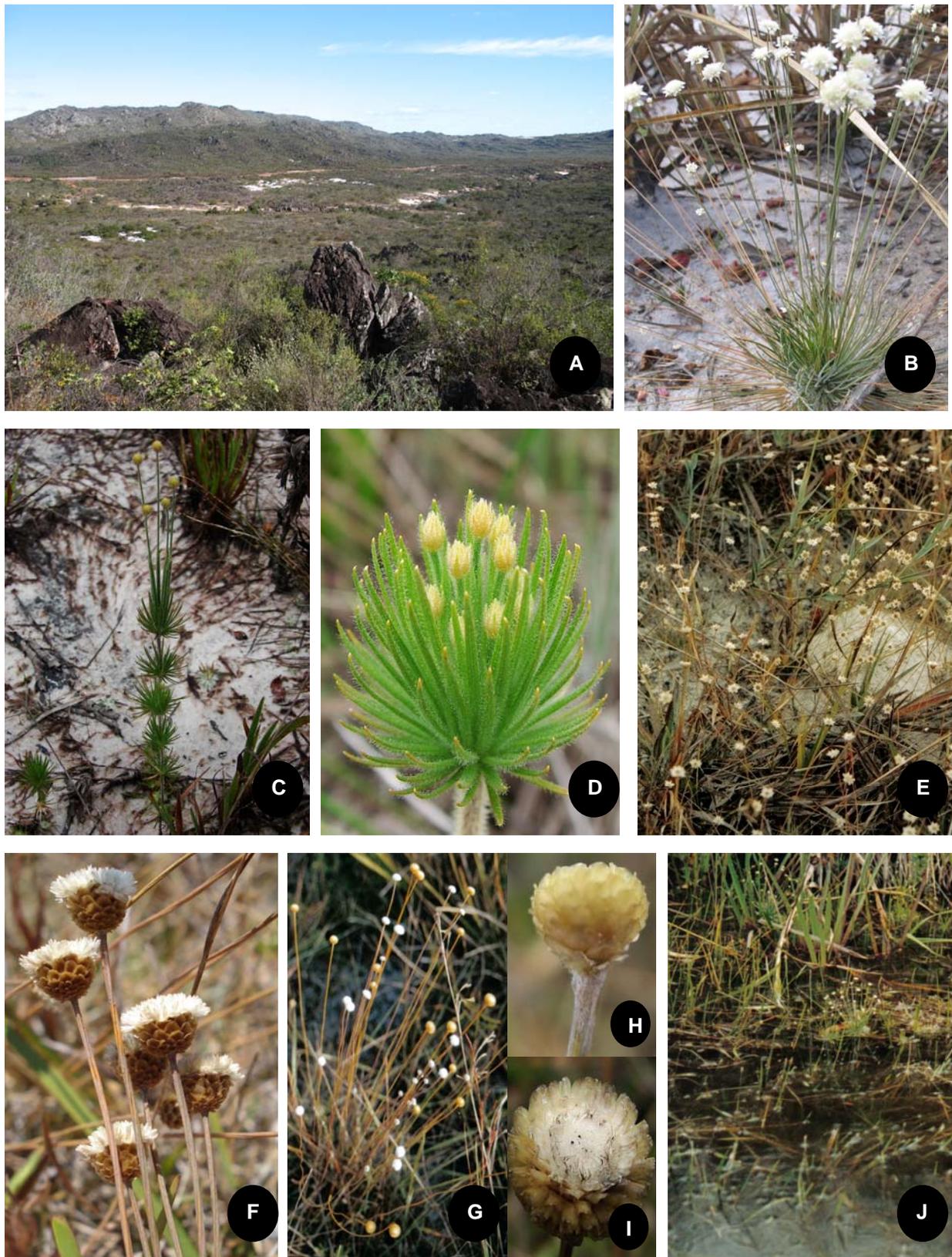


Figura 2. Campo rupestre da Serra de Grão Mogol (A) (Foto: Fernando Marino), *Syngonanthus bisulcatus* (B), *S. verticilatus* (C) e capítulo jovem de *S. verticilatus* (D) (Foto: Ubirajara de Oliveira), *S. anthemidiflorus* (E) (Foto: Marina Mellilo), *S. vernonioides* (F) (Foto: Fernando Marino), *S. cipoensis* (G), capítulo jovem de *S. cipoensis* (H) e capítulo em fase de dispersão de *S. cipoensis* (I) (Foto: Ubirajara de Oliveira), Habitat de *S. caulescens* (J) (Foto: Carlos Pontes).

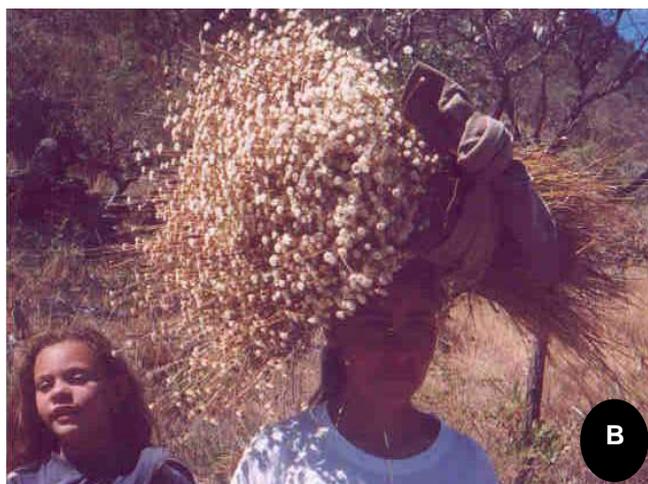


Figura 3. Coleta de *S. elegans* em Galheiros, distrito de Diamantina (A e B), Transporte e galpão de armazenamento de *S. elegans* (C e D), Produto comercial feito com sempre-vivas (E e F).

(Foto: (A-E) Terra Brasilis, (F) Letícia Soares)

Referências bibliográficas

- Giulietti, A. M., & Pirani, J. R. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil, pp. 39-69, *in* W. R. Heyer and P. E. Vanzolini (eds.) **Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns**, Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Giulietti, A. M.; Menezes, N. L.; Pirani, J. R.; Meguro, M. & Wanderley, M. G. L. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 96**: 1-152.
- Giulietti, N., Giulietti, A. M., Pirani, J. R. & Menezes, N. L. 1988. Estudos de sempre-vivas, importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica 1**: 179-194.
- Giulietti, A. M. & Hensold, N. C. 1991. Synonymization of the genera *Comanthera* and *Carptotepala* with *Syngonanthus* (Eriocaulaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden 78**: 273-295.
- Giulietti, A. M.; Wanderley, M. G. L.; Longhi-Wagner, H. M.; Pirani, J. R. & Parra, J. R. 1996. Estudos em “sempre-vivas”: taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica 10**: 329-384.
- Mabberley, D. J. 1987. **The Plant Book**. Cambridge University Press. Cambridge
- Menezes, N. Z. & Giulietti, A. M. 1986. Campos Rupestres: Flora da Serra do Cipó. **Ciência Hoje 5**: 38-44.
- Menezes, N. Z. & Giulietti, A. M. 2000. Campos Rupestres *in* Fundação Biodiversitas & Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte (FZB-BH) **Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de extinção da Flora de Minas Gerais**. pp 65-73.
- Parra, L. R. 2000. **Redelimitação e revisão de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. ex Koern.) Ruhland** Eriocaulaceae. Tese, Instituto de Biociências, São Paulo, Brasil.
- 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

Ecofisiologia da germinação de sementes de espécies de *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil

Patrícia Gonçalves de Oliveira & Queila Souza Garcia

Resumo (Ecofisiologia da germinação de sementes de espécies de *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil).

O objetivo deste estudo foi avaliar a biometria e as características germinativas das sementes de sete espécies de *Syngonanthus*, distribuídas em quatro seções, que ocorrem em diferentes habitats nos campos rupestres de Minas Gerais e responder as questões: Existe semelhança na biometria das sementes dentro das seções? As respostas germinativas caracterizam um padrão de germinação para o gênero? As características germinativas podem explicar a distribuição geográfica das espécies? A resposta germinativa das espécies pode ser associada às condições de saturação de água do solo às quais as plantas estão expostas? As sementes foram medidas, pesadas e os experimentos de germinação foram realizados em câmaras de germinação sob fotoperíodo de 12 horas e escuro contínuo nas temperaturas constantes de 10 a 40 °C (intervalos de 5 °C). Os resultados obtidos mostraram que a biometria das sementes não contribui para os estudos de relações filogenéticas em *Syngonanthus*. Apesar da variabilidade no tamanho das sementes, todas são muito pequenas e fotodormentes o que indica a existência de um padrão para o gênero em relação ao pequeno tamanho e ao requerimento de luz para germinação. A resposta germinativa não explica a distribuição geográfica das espécies, mas os limites de temperatura para germinação mostraram uma relação com as condições edáficas, indicando que as populações estudadas desenvolveram a capacidade de ocupar ambientes específicos de condições de *status* hídrico do solo.

Palavras-chave: distribuição geográfica, fotoblastismo, luz e tamanho de semente

Abstract (Ecophysiology of seed germination in *Syngonanthus* species (Eriocaulaceae) from the rupestrian fields of the Espinhaço Chain, Minas Gerais, Brazil).

The aim of this study was to evaluate the biometry and the germinative characteristics of seeds of seven *Syngonanthus* species, distributed in four distinct sections within the genus, occurring in different habitats in the rupestrian fields of Minas Gerais intending to answer these questions: Is there similarity in seeds' biometry between distinct *Syngonanthus* sections? Is there a pattern in the germinative answers between the different sections of the genus? Do *Syngonanthus* species' germinative characteristics have an influence on their geographical distribution? Can species germinative answers be associated with the water saturation conditions that these species are naturally exposed in the soil? The experiments were made with recently harvested seeds under a 12 - hour photoperiod and continuous darkness in germination chambers, at constant temperatures of 10 to 40 °C (intervals of 5 °C). Although the variability existing in the seed size the results showed that, all seeds are very small and photodorments, indicating the existence of a pattern related to the small size and light requirements for germination. The temperature requirement does not explain the geographical distribution of the *Syngonanthus* species, but the temperature limits for germination showed a relation between habitat and germinative answers. These results indicate that the studied populations are adapted to climatic and edaphic conditions similar to those found in the rupestrian fields.

Keywords: geographical distribution, photoblastism, light, temperature and seed size

Introdução

As Eriocaulaceae são plantas perenes ou raramente anuais, terrestres, paludosas ou aquáticas que variam entre 0,5 cm a 2,0 m de altura (Andrade, 2007). Apresentam distribuição pantropical, concentrada na região neotropical (Giulietti and Hensold, 1991), sendo a Cadeia do Espinhaço, no estado de Minas Gerais, Brasil, considerado o principal centro de diversidade, onde mais de 90% de suas espécies são endêmicas (Giulietti *et al.*, 2005). A família é caracterizada pelo hábito em roseta, de onde partem escapos portando inflorescências do tipo capítulo. São conhecidas popularmente como sempre-vivas por apresentarem inflorescências e escapos que conservam a aparência de estruturas vivas, mesmo depois de destacadas e secas e por isso, são muito usadas como ornamentais, característica que confere a estas plantas um alto valor comercial (Teixeira, 1987; Giulietti *et al.*, 1988; 1996). O endemismo, aliado à coleta predatória dessas plantas para a subsistência da população habitante dos locais de ocorrência das espécies de Eriocaulaceae, as tornam vulneráveis à extinção (Giulietti *et al.*, 1988).

O gênero *Syngonanthus* Ruhland é bem representado, com aproximadamente 200 espécies (Mabberley, 1987). Foi dividido Ruhland (1903) em cinco seções com base nas características florais, *Syngonanthus* Ruhland, *Carphocephalus* (Koern.) Ruhland, *Chalarocaulon* Ruhland, *Eulepis* (Bong. ex Koern.) Ruhland e *Thysanocephalus* (Koern.) Ruhland. As espécies ocupam áreas rochosas, planaltos arenosos e brejosos dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço (Menezes and Giulietti, 2000), em solos ácidos, pobres em nutrientes e expostos a alta luminosidade (Giulietti *et al.*, 1987; Giulietti and Pirani, 1988).

A ocorrência de plantas em vários habitats está relacionada à adaptação fisiológica, anatômica e morfológica que cada uma apresenta, permitindo sua sobrevivência em condições adversas do meio (Angosto and Matilla, 1993; Menezes and Giulietti, 2000) e a chance que uma semente tem de se desenvolver em plântula depende das condições ambientais toleradas pela semente durante a germinação (Sheldon, 1974). A germinação da semente é uma das fases mais críticas do ciclo de vida de uma planta (Kiegel, 1995; Villalobos and Peláez, 2001) e os fatores ambientais mais importantes no controle desse processo são a luz e a temperatura (Baskin and Baskin, 1988; Bewley and Black, 1994; Benech-Arnold and Sánchez, 1995). A germinação responde a padrões que dependem do habitat, estratégias de vida, relações filogenéticas e distribuição geográfica das espécies (Schultz and Rave, 1999; Ellison, 2001). Entre espécies do mesmo gênero são esperados estratégias e ciclos de vidas similares e diferenças observadas no comportamento germinativo podem refletir adaptações ao habitat ocupado (Specht and Keller, 1997; Assche *et al.*, 2002).

O objetivo deste estudo foi avaliar a biometria e as características germinativas das sementes de sete espécies de *Syngonanthus*, distribuídas em quatro seções, que ocorrem em diferentes habitats nos campos rupestres. Tendo em vista a proximidade filogenética, as questões levantadas neste estudo foram: (1) Existe semelhança na biometria das sementes dentro das seções? (2) Existe semelhança nas respostas germinativas que caracterizam um padrão de germinação para o gênero? (3) As características

germinativas podem explicar a distribuição geográfica das espécies? (4) A resposta germinativa pode ser associada às condições de saturação de água do solo às quais as plantas estão naturalmente expostas?

Material e métodos

Área de estudo

A Cadeia do Espinhaço compreende uma área aproximada de 6000 km² entre os estados de Minas Gerais e Bahia (Menezes and Giuliatti, 2000) com altitudes que variam entre 900 e 2000 m (Giuliatti *et al.*, 1987). O clima na Cadeia do Espinhaço é considerado mesotérmico, denominando-se tropical de altitude (Cwb na classificação de Köppen). No inverno ocorre a estação seca com duração de cerca de 6-7 meses e no verão, a estação chuvosa que dura entre 5-6 meses; precipitação média anual de aproximadamente 1600 mm (Marques *et al.*, 2000) e temperatura média anual entre 17,4 e 19,8 °C (Giuliatti and Pirani, 1988).

Espécies estudadas

Capítulos de sete espécies de *Syngonanthus*, *S. aciphyllus* (Bong.) Ruhland, *S. anthemidiflorus* (Bong.) Ruhland, *S. bisulcatus* (Korn.) Ruhland, *S. caulescens* (Poir.) Ruhland, *S. gracilis* (Bong.) Ruhland, *S. verticilatus* (Bong.) Ruhland e *S. vernonioides* foram coletados nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço do estado de Minas Gerais, Brasil. As informações sobre a distribuição geográfica e dados de coleta são listados na Tabela 1.

As coletas dos capítulos foram realizadas nos meses de julho/agosto (com exceção de *S. vernonioides*, coletadas em novembro), época em que os mesmos estão maduros, estágio no qual as sementes apresentam-se livres entre si. Em laboratório, os capítulos foram triturados em liquidificador, peneirados e as sementes separadas para a realização dos experimentos (Oliveira and Garcia, 2005).

Biometria

Para a obtenção dos dados de comprimento (mm), largura (mm) e massa seca (mg) foi utilizada uma amostragem de 400 sementes distribuídas em 4 repetições de 100. Por serem mais leves, a amostragem da medida de massa seca de *S. gracilis* foi 4 de 150 sementes. As sementes foram digitalizadas e as medidas de comprimento e largura das sementes foram registradas pelo Software Quantikov Image Analyzer (1999). A massa seca foi obtida pela pesagem em balança analítica após a secagem em estufa a 105 °C até a estabilização do peso.

Tabela 1. Lista das espécies, distribuição geográfica e dados de coleta das populações estudadas.

Espécie/seção	Distribuição geográfica	Coordenadas geográficas	Altitude	Habitat
---------------	-------------------------	-------------------------	----------	---------

(m)				
Sect. <i>Syngonanthus</i>				
<i>S. anthemidiflorus</i>	Diamantina à Serra do Cipó	19°23'08"S / 43°35'34"O	811	Sazonalmente xérico
<i>S. verticilatus</i>	Serra de Grão-Mogol à Serra do Cipó	19°15'35"S/ 43°33'05"O	1330	Sazonalmente mésico
<i>S. gracilis</i>	América do Sul	20°25'48"S / 43°29'60"O	1580	Sazonalmente xérico
Sect. <i>Carphocephalus</i>				
<i>S. caulescens</i>	América do Sul	19°22'56"S / 43°35'43"O	819	Alagado
Sect. <i>Eulepis</i>				
<i>S. aciphyllus</i>	Itacambira e Chapada do Couto à Serra do Cipó	18°05'23"S / 43°20'41"O	848	Sazonalmente xérico
<i>S. bisulcatus</i>	Serra de Grão-Mogol à Serra do Cipó	19°20'27"S/43°35'07"O	1022	Sazonalmente mésico
Sect. <i>Thysanocephalus</i>				
<i>S. vernonioides</i>	Algumas Serras do Espinhaço	18°33'47"S/ 43°38'35"O	1300	Sazonalmente xérico

Germinação

Os testes de germinação foram realizados em câmaras de germinação sob fotoperíodo de 12 horas ($30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e sob escuro contínuo nas temperaturas constantes de 10 a 40 °C, com intervalos de 5 °C. Apenas para *S. vernonioides* o experimento não foi montado na temperatura de 10 °C, devido à baixa germinabilidade apresentada a 15 °C. As sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri, forradas com folha dupla de papel de filtro e umedecidas com solução de nistatina (100.000 UI/mL) (Lemos Filho *et al.*, 1997), mantendo-se a umidade durante todo o período do experimento. O tratamento de escuro foi obtido envolvendo-se as placas em papel alumínio e em sacos preto de polietileno, sendo os experimentos montados e o acompanhamento feito em câmara escura, sob luz verde de segurança. Para todos os tratamentos foi utilizada uma amostragem de 200 sementes distribuídas em 4 repetições de 50. A germinação foi verificada diariamente com auxílio de um microscópio estereoscópio, sendo a emergência do eixo embrionário o critério adotado para avaliar a ocorrência da germinação (Scatena *et al.*, 1993; Scatena *et al.*, 1996). O experimento foi observado até a estabilização da resposta germinativa.

Análise estatística

Os dados foram submetidos a testes estatísticos não paramétricos por não apresentarem normalidade pelo do teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade pelo teste de Brown-Forsythe, realizados no software JMP (SAS Institute Inc.2002). A velocidade de germinação foi calculada segundo Labouriau (1983). A temperatura ótima foi definida como a temperatura em que há maior germinabilidade associada à maior velocidade de germinação (Labouriau, 1983). Para os dados de germinabilidade e velocidade

média foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido da comparação em pares pelo teste de Conover com 5% de significância (Conover, 1999) utilizando o Software BrightStat (Stricker, 2008).

Resultados

Biometria

As espécies de *Syngonanthus* produzem sementes muito pequenas, elípticas e de coloração castanho avermelhada. O tamanho das sementes variou significativamente entre as espécies de 0,38 a 0,79 mm de comprimento; 0,21 a 0,42 mm de largura e 1,4 a 9,5 mg de massa seca (Tab. 2). Sementes de *S. vernonioides* apresentaram os maiores valores para as três medidas. Sementes de *S. gracilis* e *S. aciphyllus* mostraram os menores valores de comprimento. As espécies *S. verticilatus* e *S. gracilis* apresentaram as menores medidas de largura e as sementes de *S. gracilis* apresentaram os menores valores de massa seca.

Tabela 2. Medidas das sementes de sete espécies de *Syngonanthus*. Comprimento (mm), largura (mm) e massa de matéria seca (mg) (média \pm desvio padrão; n = 100). Para *S. gracilis* n = 150 para a medida de massa seca. Valores seguidos por letras iguais não diferem entre si na mesma coluna.

Espécie	Comprimento	Largura	Massa seca
<i>Sect. Syngonanthus</i>			
<i>S. anthemidiflorus</i>	0,49 \pm 0,04 b	0,25 \pm 0,03 b	2,2 \pm 0,00075 c
<i>S. verticilatus</i>	0,46 \pm 0,04 bc	0,21 \pm 0,02 c	1,4 \pm 0,0016 d
<i>S. gracilis</i>	0,39 \pm 0,02 c	0,21 \pm 0,02 c	1,9 \pm 0,00040 e
<i>Sect. Carphocephalus</i>			
<i>S. caulescens</i>	0,48 \pm 0,03 b	0,29 \pm 0,03 b	2,4 \pm 0,00057 b
<i>Sect. Eulepis</i>			
<i>S. aciphyllus</i>	0,38 \pm 0,03 c	0,22 \pm 0,02 bc	1,5 \pm 0,0005 d
<i>S. bisulcatus</i>	0,46 \pm 0,04 b	0,26 \pm 0,03 b	2,0 \pm 0,00077 c
<i>Sect. Thysanocephalus</i>			
<i>S. vernonioides</i>	0,79 \pm 0,08 a	0,42 \pm 0,05 a	9,5 \pm 0,0047 a

Características germinativas

As sementes de seis espécies estudadas germinaram exclusivamente na presença de luz em ampla faixa de temperatura e apenas as sementes de *S. gracilis* apresentaram germinabilidade sob escuro contínuo, sendo esta muito baixa (máximo de 22% a 35 °C). As sementes das espécies de habitats sazonalmente xéricos germinaram nas temperaturas mais altas (35 e 40 °C), com baixas percentagens (Fig. 1). A germinabilidade foi alta (acima de 85%) na faixa de 10 a 30 °C para *S. anthemidiflorus* e na faixa de 15 a 30 °C para *S. gracilis* e *S. aciphyllus*. Na temperatura de 10 °C a germinação de *S. gracilis* e *S. aciphyllus* foi significativamente inferior. *Syngonanthus vernonioides* apresentou baixa germinabilidade na faixa de 20 a 30 °C e a 15 °C a germinação foi inferior a 10 %.

A germinação das sementes de habitat sazonalmente méxico foi completamente inibida nas temperaturas altas de 35 e 40 °C (Fig. 1). A germinabilidade de *S. bisulcatus* foi semelhante, sem diferença significativa na faixa de 15 a 30 °C e a 10 °C a germinação foi significativamente superior (Fig. 1). Sementes de *S. verticilatus* apresentaram alta germinabilidade sem diferença significativa a 15 e 20 °C, enquanto a 10, 25 e 30 °C foi significativamente inferior. A germinabilidade de *S. caulescens* foi muito baixa na faixa de 15 a 25 °C (máxima de 19 %) e a germinação foi inibida a 10 °C (fig. 1).

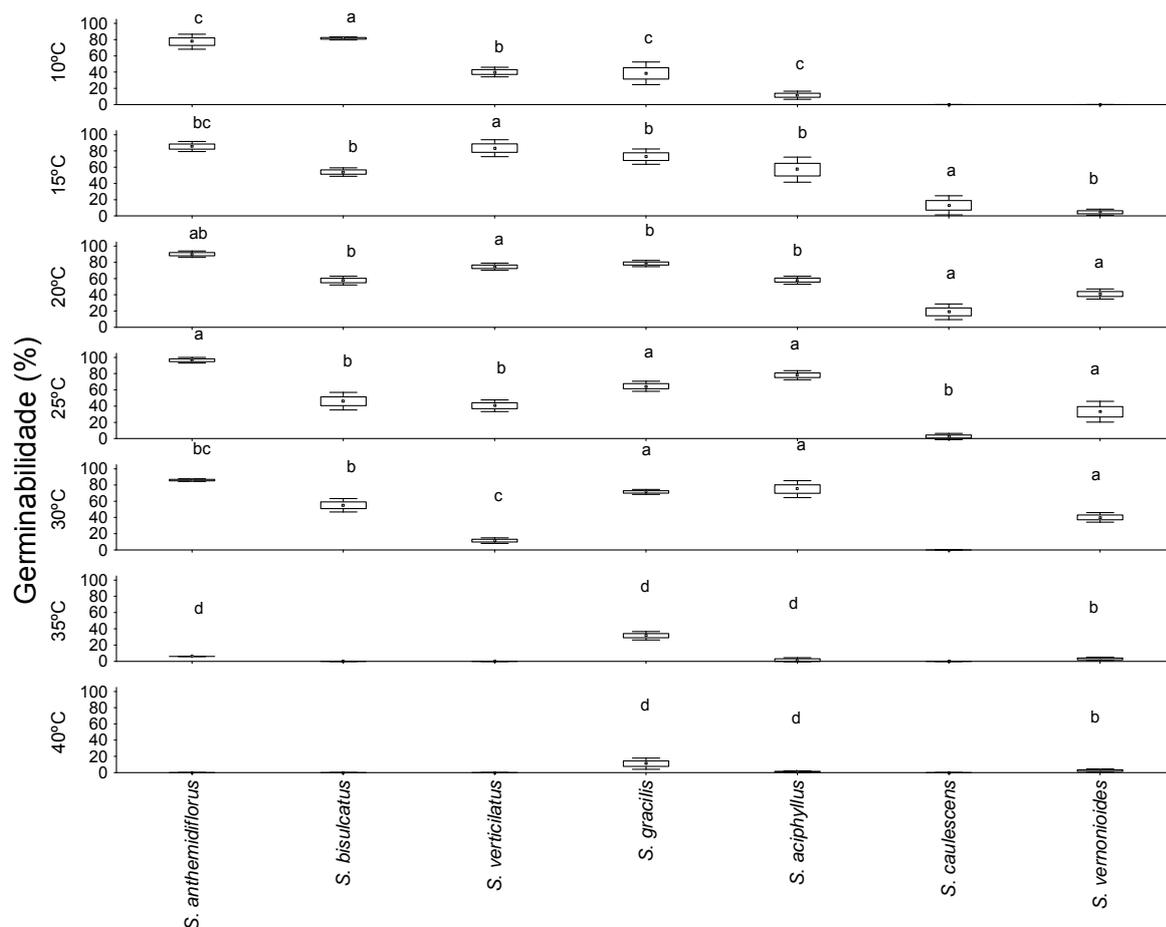


Figura 1. Percentagem final de germinação em sementes de sete espécies de *Syngonanthus*, fotoperíodo de 12h em temperaturas constantes de 10 a 40°C (▪ Média, □ erro padrão, ▭ desvio padrão). Valores seguidos por letras iguais não diferem entre si na mesma espécie.

As sementes de *S. aciphyllus*, *S. gracilis* e *S. verticilatus* apresentaram maior velocidade de germinação nas temperaturas de 25 e 30 °C e as sementes de *S. anthemidiflorus* a 25 °C (Fig. 2). Para estas quatro espécies a velocidade foi menor nas temperaturas mais baixas (10 e 15 °C) e mais altas (35 e 40 °C). Em *S. bisulcatus* a velocidade foi maior a 20 °C, não havendo diferença entre 15, 25 e 30 °C. A velocidade de germinação de *S. caulescens* não diferiu na faixa de 15 a 25 °C e para *S. vernonioides* a velocidade foi semelhante na faixa de 20 a 30 °C e menor nas temperaturas extremas (15, 35 e 40 °C) (Fig. 2).

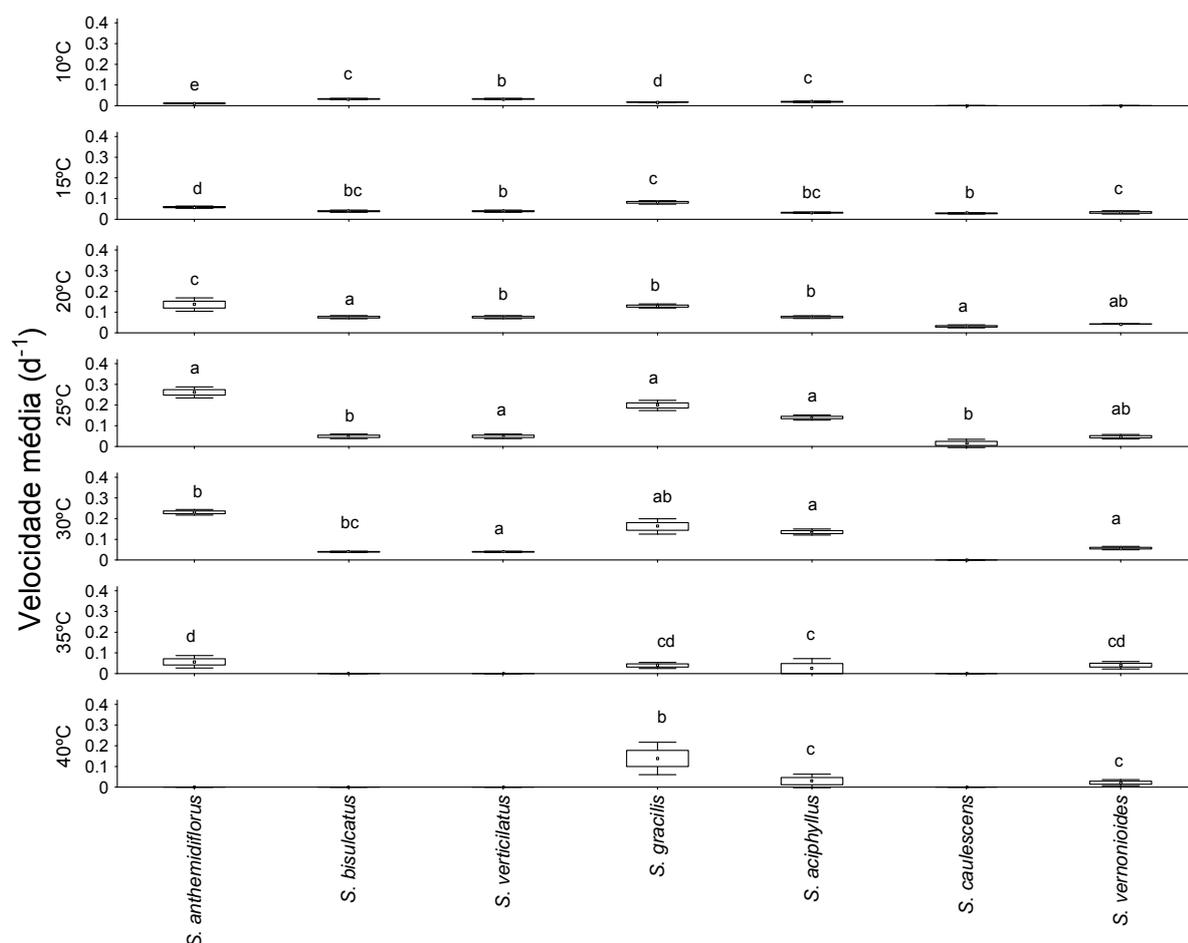


Figura 2. Velocidade de germinação (dias⁻¹) em sementes de sete espécies de *Syngonanthus*, fotoperíodo de 12h em temperaturas constantes de 10 a 40°C (▪ Média, □ erro padrão, | desvio padrão). Valores seguidos por letras iguais não diferem entre si na mesma espécie.

De modo geral as sementes das espécies de habitat sazonalmente xérico germinaram na faixa de 10 a 40 °C e a germinação das sementes das espécies de habitat sazonalmente méxico ocorreu na faixa de 10 a 30 °C (Fig. 3). *Syngonanthus caulescens*, única espécie de habitat alagado, apresentou faixa mais restrita para germinação, entre 15 a 25 °C (Fig. 3). A resposta a temperatura ótima também foi dependente do habitat. A temperatura ótima para as espécies de habitat sazonalmente xérico foi entre 25 e 30 °C (Fig. 3), enquanto a temperatura ótima das espécies de habitat sazonalmente méxico, alagado e de altitudes elevadas foi de 20 °C.

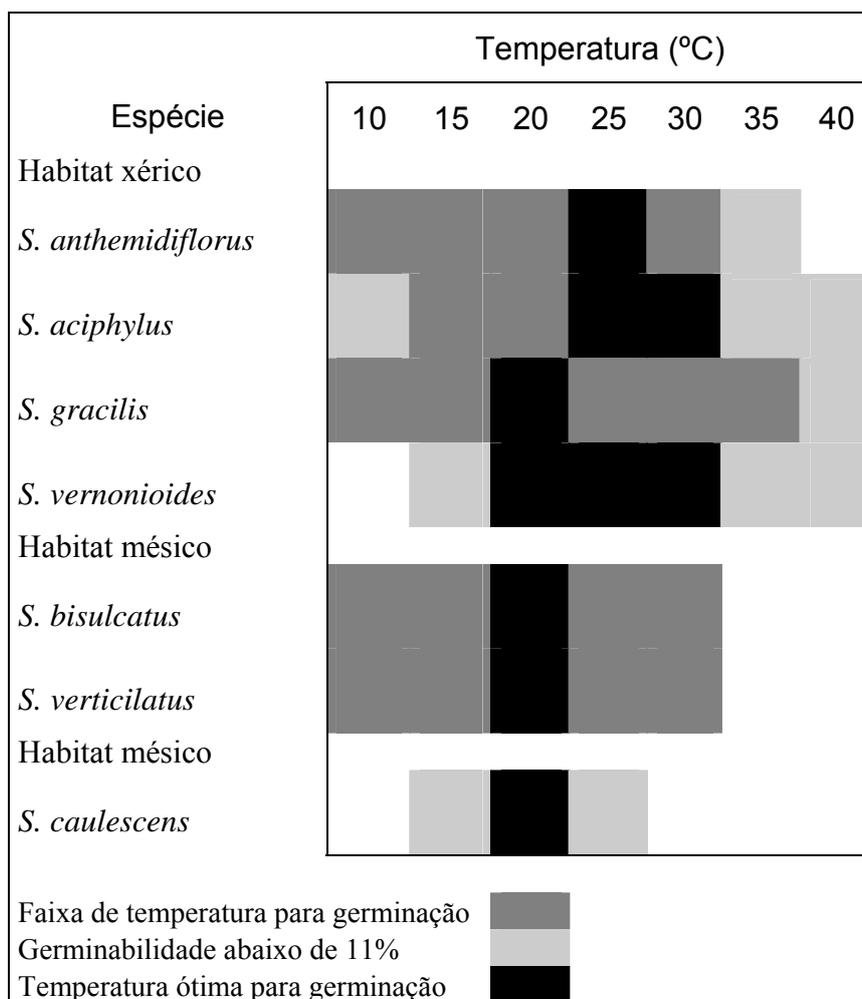


Figura 3. Faixa de temperatura para germinação (em cinza escuro), germinabilidade abaixo de 11% (em cinza claro) e temperatura ótima de germinação (em preto) para sete espécies de *Syngonanthus*.

Discussão

As sementes das sete espécies de *Syngonanthus* investigadas podem ser consideradas muito pequenas (*sensu* Ekstam *et al.*, 1999; Hughes *et al.*, 1994), uma vez que possuem massa seca e comprimento menor ou igual a 1,0 mg e 1 mm, respectivamente. Geralmente, as sementes muito pequenas, não contêm reservas nutricionais suficientes para completar o desenvolvimento do embrião e germinarem, como ocorre em espécies de Orchidaceae e Orobanchaceae (Bradford and Nonogaki, 2008). Entretanto, apesar de muito pequenas, as sementes de *Syngonanthus* possuem reserva nutricional suficiente para completar a germinação. Porém, diferentemente da maioria das espécies, após a emergência do eixo embrionário ocorre primeiramente o desenvolvimento das folhas e posteriormente das raízes adventícias (Scatena *et al.*, 1993;1996; Kraus *et al.*, 1996), estratégia que permite relacionar a exigência de luz com a imediata síntese de fotoassimilados e nutrição da plântula após o processo de germinação.

As sementes de *Syngonanthus* apresentaram variação no tamanho entre as espécies e seções estudadas. Sementes de *S. vernonioides* são significativamente maiores que as demais espécies estudadas assim como as sementes de *S. cipoensis* (dados não apresentados), ambas da seção *Thysanocephalus*. Entretanto, sementes de *S. nitens* (seção *Eulepis*) possui 0,89 mm de comprimento (Schmidt *et al.*, 2007) e se diferencia das outras espécies da mesma seção, que apresentaram comprimento menor que 0,5 mm. Portanto, pode-se inferir que o tamanho das sementes não contribui para os estudos de relações filogenéticas em *Syngonanthus*.

O embrião maduro nas sementes de *Syngonanthus* é indiferenciado ou pouco diferenciado (Scatena *et al.*, 1993). As sementes que possuem embrião indiferenciado não são dormentes no *sensu strictu* e não são incluídas na classificação de dormência (*sensu* Baskin and Baskin, 2004). Entretanto, a exigência de luz para germinação caracteriza estas sementes como fotodormentes (*sensu* Bewley and Black, 1994). O requerimento de luz para germinação está geralmente associado ao pequeno tamanho das sementes (Thompson and Grime, 1983; Bewley and Black, 1994; Milberg *et al.*, 2000; Rosa and Ferreira, 2001) e a habitats abertos (Leishman and Westoby, 1994; Seiwa and Kikuzawa, 1996; Milberg *et al.*, 2000; Malavasi and Malavasi, 2001). Sementes pequenas e fotoblásticas positivas já foram relatadas em outros estudos com espécies de Eriocaulaceae, Xyridaceae e Velloziaceae, famílias típicas dos campos rupestres, ambientes abertos e expostos a alta intensidade luminosa (Mercier and Guerreiro Filho, 1989; Sá e Carvalho and Ribeiro, 1994 a; b; Scatena *et al.*, 1996; Garcia and Diniz, 2003; Abreu and Garcia, 2005; Oliveira and Garcia, 2005; Schmidt *et al.*, 2007; Garcia *et al.*, 2007; Soares, 2008).

A temperatura é outro fator ambiental importante no controle da germinação (Baskin and Baskin, 1988; Bewley and Black, 1994; Benech-Arnold and Sánchez, 1995) e as sementes germinam sob uma faixa definida de temperatura que é característica para cada espécie (Bewley and Black, 1994). A faixa de temperatura para germinação pode determinar a distribuição geográfica das plantas (Thompson, 1973; Labouriau, 1983; Probert, 1992) e está relacionada à adaptação da espécie ao ambiente de ocorrência (Schultz and Rave, 1999).

Syngonanthus gracilis e *S. caulescens* são espécies amplamente distribuídas na América do Sul. *S. aciphyllus*, *S. anthemidiflorus*, *S. bisulcatus* e *S. verticilatus* são encontradas em várias regiões da Cadeia do Espinhaço, enquanto *S. vernonioides* é encontrada apenas em algumas serras. *S. caulescens*, a espécie mais amplamente distribuída apresentou a faixa de temperatura mais restrita para germinação, diferentemente das demais espécies que germinaram em faixa de temperatura relativamente ampla. Outras espécies de Eriocaulaceae (Oliveira and Garcia, 2005), Xyridaceae (Abreu and Garcia, 2005) e Velloziaceae (Garcia and Diniz, 2003, Garcia *et al.*, 2007; Soares, 2008), de distribuição mais ampla na Cadeia do Espinhaço ou de distribuição mais restrita, germinam em ampla faixa de temperatura. Segundo Baskin and Baskin (1988) apenas as características germinativas não podem ser consideradas um fator determinante no endemismo, quando dentro do gênero tanto espécies endêmicas como as amplamente

distribuídas apresentam características germinativas semelhantes. Os resultados observados permitem concluir que a faixa de temperatura para germinação não explica a distribuição das espécies estudadas.

Segundo Giulietti *et al.* (1997), o endemismo na Cadeia do Espinhaço pode estar associado às condições especiais de relevo, solo e clima. Faixa mais ampla de temperatura para germinação é um aspecto importante do comportamento da semente em lugares onde as diferentes condições de temperatura prevalecem como resultado da topografia da região (Orozco-Almanza *et al.*, 2003). A plasticidade na germinação fornece uma flexibilidade às variações ambientais (Venable and Brown, 1988) permitindo à espécie sobreviver em situações adversas (Bewley and Black, 1994; Schmutts *et al.*, 2006). A resposta germinativa das espécies de *Syngonanthus* estudadas à temperatura permite a ocupação de ambientes com diversidade de condições climáticas e edáficas como as encontradas nos campos rupestres.

Os limites de temperatura para germinação mostraram uma relação entre a condição hídrica do habitat ocupado e a resposta germinativa das espécies estudadas. *S. bisulcatus*, *S. verticilatus* e *S. caulescens* são de ambientes méxicos/alagados e não germinaram nas temperaturas mais altas (35 e 40 °C), enquanto *S. aciphyllus*, *S. vernonioides*, *S. anthemidiflorus* e *S. gracilis* que ocorrem em ambientes xéricos germinaram sob temperaturas mais altas, mesmo que em percentuais inferiores.

Resultados semelhantes foram observados em outros estudos. Oliveira and Garcia (2005) verificaram que temperaturas elevadas favorecem a germinação de *S. elegans*, espécie de ambiente xérico e inibem o processo germinativo de *S. elegantulus* e *S. venustus*, de habitats brejosos. Abreu and Garcia (2005) também mostraram que quatro espécies de *Xyris*, típicas dos campos rupestres e que geralmente ocorrem em solos brejosos (Wanderley, 1992), não germinam nas temperaturas mais altas. Em contraste, Soares (2008) relatou que a faixa de temperatura de duas populações de *Vellozia graminea* (Velloziaceae) ocorrentes em área de canga constantemente alagada foi de 25 a 40 °C, enquanto sementes de uma população coletada sobre afloramento quartizítico germinaram na faixa de 15 a 40 °C. A incapacidade das sementes das populações da área de canga em germinar nas temperaturas mais baixas foi atribuída às altas temperaturas (acima de 60 °C) que atinge o substrato ferruginoso durante o dia, mantendo as temperaturas elevadas mesmo nas áreas alagadas. As espécies de *Syngonanthus* (Oliveira and Garcia, 2005 e neste estudo) e *Xyris* (Abreu and Garcia, 2005) ocorrem em solos arenosos quartizíticos onde as temperaturas não alcançam 50 °C (observação pessoal). A alta umidade dos solos a que as sementes destas espécies estão sujeitas em seu ambiente natural causa diminuição na amplitude das flutuações térmicas mantendo as temperaturas mais baixas, o que reflete a intolerância da germinação das sementes das espécies de ambientes méxicos sob temperaturas acima de 30 °C.

A temperatura ótima para germinação também parece estar relacionada à adaptação da espécie ao ambiente de ocorrência. A germinação das sementes das espécies de ambientes sazonalmente méxicos e altitudes elevadas foi mais alta e mais rápida em temperatura mais baixa (20 °C), enquanto a germinabilidade das sementes das espécies de ambiente sazonalmente xérico foi mais elevada e mais rápida entre 25 e 30 °C.

A germinabilidade das sementes de *S. caulescens* foi muito baixa quando recém coletada e aumentou significativamente após embebição no escuro e armazenamento por seis meses no laboratório (dados não apresentados), o que sugere algum tipo de dormência que impediria a germinação no momento da dispersão. A quebra da dormência inata com o armazenamento foi registrado em espécies de diferentes famílias como *Avena fatua* (Simpson, 1990), *Bromus rubens* (Corbineau *et al.*, 1992), *Acanthospermum hispidum* (Garcia and Sharif, 1995), *Scirpus ancistrochaetus* (Lentz and Jonhso, 1998), *Carduus acanthoides*, *Anagallis arvensis* (Kruk and Benech-Arnold, 2000), *Alopecurus myosuroides* (Colbach *et al.*, 2002) e *Onopordum acanthium* (Qaderi *et al.*, 2005).

Os resultados obtidos neste estudo mostram que a biometria das sementes não contribui para os estudos de relações filogenéticas em *Syngonanthus*. Apesar da variabilidade no tamanho das sementes, todas são muito pequenas e fotodormentes o que indica a existência de um padrão para as espécies de *Syngonanthus* em relação ao tamanho e ao requerimento de luz para germinação. A resposta germinativa quanto ao requerimento de temperatura, apesar de não explicar a distribuição geográfica das espécies, tem uma relação com o habitat mostrando que as populações estudadas desenvolveram a capacidade de ocupar ambientes específicos de condições de *status* hídrico do solo.

Referência bibliográfica

- Abreu, M. E. P. and Garcia, Q. S.** (2005) Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de *Xyris* L. (Xyridaceae) ocorrentes na Serra do Cipó, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **19**, 149-154.
- Andrade, M. J. G.** (2007) *Filogenia e taxonomia em Eriocaulaceae neotropicais*. Tese, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil.
- Angosto, T. and Matilla, A. J.** (1993) Variations in seeds of three endemic leguminous species at different altitudes. *Physiologia Plantarum* **87**, 329-334.
- Assche J.V., Diane Van Nerum, D. V. and Darius P.** (2002). The comparative germination ecology of nine *Rumex* species. *Plant Ecology* **159**, 131-142.
- Baskin, J. M. and Baskin, C. C.** (1988) Germination ecophysiology herbaceous plant species in a temperature region. *American Journal of Botany* **75**, 286-305.
- Baskin, J. M. and Baskin, C. C.** (2004) A classification system for seed dormancy *Seed Science Research* **14**, 1-16.
- Benech-Arnold, R. and Sánchez, R. A.** (1995) Modeling weed seed germination, pp 545-566 In Kigel, J. and Galili, G. (eds.) *Seed development and germination*. Academic Press, New York.
- Bewley, J. D. and Balck, M.** (1994) *Seeds, Physiology of Development and Germination*. 2^a ed. 445p.
- Bradford, K. and Nonogaki, H.** (2008) Seed development, dormancy and germination Annual Plant Reviews, V. 27 367p.
- Colbach, H., Dun, C., Chauvel, B. and Richard, G.** (2002) Effects of environmental conditions on *Alopecurus myosuroides* germination. II Effect of moisture conditions and storage length. *Weed Res* **42**, 222-230.
- Conover, W. J.** (1999) *Practical Nonparametric Statistics*. 3^a ed. New York, John Wiley and Sons.
- Corbineau, F., Belaid, D. and Côme, D.** (1992) Dormancy of *Bromus rubens* L. seeds in relation to temperature, light and oxygen effects. *Weed Res.* **32**, 303-310.
- Elison, A. M.** (2001) Interspecific and intraspecific variation in seed size and germination requirements of *Sarracenia* (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany* **88**, 429-437.
- Ekstan, B., Johannesson, R. and Milberg, M. P.** (1999) The effect of light and number of diurnal temperature fluctuations on germination of *Phragmites australis*. *Seed Science Research* **9**, 165-170.
- Garcia, Q. S. and Rosely, R. S.** (1995) Aspectos ecofisiológicos da quebra de dormência em *Acanthospermum hispidum* D C. *Revista Brasileira de Botânica* **18**, 113-117.
- Garcia, Q. S. and Diniz, I. S. S.** (2003). Comportamento germinativo de três espécies de *Vellozia* da Serra do Cipó (MG). *Acta Botanica Brasilica* **17**, 487-494.
- Garcia, Q. S., Jacobi C. M. and Ribeiro, B. A.** (2007) Resposta germinativa de duas espécies de *Vellozia* (Velloziaceae) dos “campos rupestres” de Minas Gerais. *Acta Botanica Brasilica* **21**, 451-456.

- Giulietti, A. M. and Pirani, J. R.** (1988) Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil, pp. 39-69, *In* W. R. Heyer and P. E. Vanzolini (eds.) Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns, Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Giulietti, A. M. and Hensold, N. C.** (1991) Synonymization of the genera *Comanthera* and *Carptotepala* with *Syngonanthus* (Eriocaulaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* **78**, 273-295.
- Giulietti, N., Giulietti, A. M., Pirani, J. R. and Menezes, N. L.** (1988) Estudos de sempre-vivas, importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **1**, 179-194.
- Giulietti, A. M., Menezes, N. L., Pirani, J. R., Meguro, M. and Wanderley, M. G. L.** (1987) Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais, caracterização e lista de espécies. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **96**, 1-152.
- Giulietti, A. M., Wanderley, M. G. L., Longhi-Wagnre, H. M., Pirani, J. R. and Parra, J. R.** (1996) Estudos em “sempre-vivas”, taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **10**, 329-384.
- Giulietti, A. M., Pirani, J. R. and Harley, R.** (1997) Espinhaço Range region, eastern Brazil, pp.397-404 *In* Davis, S.D.; Heywood, V. H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J. and Hamilton, A.C. (eds.) *Centres of Plant Diversity* IUCN publications, Cambridge, U.K, V3.
- Giulietti, A. M., Harley, R. M., Queiróz, L. P., Wanderley, M. G. L., and Van den Berg, C.** (2005) Biodiversity and conservation of plants in Brazil. *Conservation Biology* **19**, 632-639.
- Hughes, L., Dunlop, M., French, K., Leishman, M. R., Rice, B., Rodgerson, L. and Westoby, M.** (1994) Predicting dispersal spectra: a minimal set of hypotheses based on plant attribute. *Journal of Ecology* **82**, 933-950.
- Kigel, J.** (1995) Seed germination in arid and semiarid regions, pp. 645-699 *In* Kigel, J. and Galili, G. (eds) *Seed development and germination*. Academic Press, New York.
- Kraus, J. E., Scatena, V. L., Lewinger, M. E. and Sá Trench, K. U.** (1996) Morfologia externa e interna de quatro espécies de *Paepalanthus* Kunth (Eriocaulaceae) em desenvolvimento pós-seminal. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **15**, 45-53.
- Kruk, B. C., Benech-Arnold, R. L.** (2000) Evaluation of dormancy and germination response to temperature in *Carduus acanthoides* and *Anagallis arvensis* using a screening system and relationship with field observed emergence patterns. *Seed Science Technology* **10**, 77-78.
- Labouriau L.G.** (1983) *A Germinação das Sementes*. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. Washington, DC, 179 pp.
- Lemos filho, J. P., Guerra, S. T. M., Lovato, M. B. and Scotti, M. R. M. M. L.** (1997) Germinação de sementes de *Senna macranthera*, *Senna multifuga* e *Stryphnodendron polyphyllum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **32**, 357-361.

- Leishman, M. R. and Westoby, M.** (1994) The role of large seed size in shaded conditions, experimental evidence. *Functional Ecology* **8**, 205-214.
- Lentz, K. A. and Johnson, H. A.** (1998) Factores affecting germination of endangered northeastern bulrush. *Scirpus ancistrochaetus* Schuyler (Cyperaceae) *Seed Science Technology* **26**, 733-741.
- Mabberley, D. J.** (1987) The Plant Book. Cambridge University Press. Cambridge
- Malavasi, U. C. and Malavasi, M. M.** (2001) Influência do tamanho do peso da semente na germinação e no estabelecimento de espécies de diferentes estágios da sucessão vegetal. *Floresta e Ambiente* **8**, 211-215.
- Marques, A. R.; Garcia, Q. S.; Resende, J. L. P. and Fernandes, G. W.** (2000) Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. *Tropical Ecology* **41**: 47-60.
- Menezes, N. Z. and Giulietti, A. M.** (2000) Campos Rupestres In Fundação Biodiversitas e Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte (FZB-BH) *Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de extinção da Flora de Minas Gerais*. pp 65-73.
- Mercier, H. and Guerreiro-Filho, O.** (1989) Germinação de *Pleurostima fanniei* Menezes, *P. rogeri* (Hort, ex Moore and Ayres) Menezes e *Vellozia alata* L. B. Smith (Velloziaceae) sob diferentes condições de temperatura. *Hoehnea* **16**, 195-202.
- Milberg, P., Anderson, L. and Thompson, K.** (2000) Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* **10**, 99-104
- Oliveira, P. G. and Garcia, Q. S.** (2005) Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Syngonanthus elegantulus* Ruhland, *S. elegans* (Bong.) Ruhland e *S. venustus* Silveira (Eriocaulaceae). *Acta Botanica Brasílica* **19**, 639-645.
- Orozco-Almanza, M. S., León-García, L. P., Grether, R. and García-Moya, E.** (2003) Germination of four species of the genus *Mimosa* (leguminosae) in a semi-arid zone of Central Mexico. *Journal of Arid Environments* **55**, 75-92.
- Probert, R. J.** (1992) The role of temperature in germination ecophysiology, pp. 285-325 In Fenner, M. (ed) *The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. CAB International Wallingford, UK.
- Qaderi, M. M., Prestil, A. and Cavers, P. B.** (2005) Dry storage effects on germinability of Scotch thistle (*Onopordum acanthium*) cypselas. *Acta Oecologia* **27**, 67-74.
- Rosa, S. G. T and Ferreira, A. G.** (2001) Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. *Acta Botanica Brasílica* **15**, 147-288.
- Ruhland, W.** (1903) Eriocaulaceae, pp. 1 – 294 In Engler (ed) *Das Pflanzenreich* . Wilhelm Engelmann. Leipzig.

- Sá e Carvalho, C. G. and Ribeiro, M. C.** (1994 a). Efeitos do armazenamento e de reguladores de crescimento na germinação de *Paepalanthus speciosus*, Eriocaulaceae. *Revista Brasileira de Botânica* **17**, 61-65.
- Sá e Carvalho, C. G. and Ribeiro, M. C.** (1994 b). Efeitos de choques térmicos na germinação de *Paepalanthus speciosus* Koern. (Eriocaulaceae). *Acta Botanica Brasilica* **8**, 205-211.
- Scatena, V. L. and Menezes, N. L.** (1993) Embryology and seedling development in *Syngonanthus rufipes* Silveira (Eriocaulaceae). *Beitraege Zur Biologie der Pflanzen* **67**, 333-343.
- Scatena, V. L., Lemos, F. J. P. and 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. and 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.
- Schmidt, I. B., Figueiredo, I. B. and Scariot, A.** (2007) Ethnobotany and effects of harvesting on the population ecology of *Syngonanthus nitens* (Bong.) Ruhland (Eriocaulaceae), a NTPF from Jalapão region, Central Brazil. *Economic Botany* **61**, 73-85.
- Schmuths, H., Bachmann, K., Weber, W. E., Horres, R. and Hoffmann, M. H.** (2006) Effects of preconditioning and temperature during germination of 73 natural accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany* **97**, 623-634.
- Seiwa, K. and Kikuzawa, K.** (1996) Importance of seed size for the establishment of seedlings of five deciduous broad-leaved tree species. *Vegetation* **123**, 51-64.
- Specht C. E. and Keller E. R. J.** (1997) Temperature requirements for seed germination in species of the genus *Allium* L. *Genetic Resources and Crop Evolution* **44**, 509-517.
- Sheldon, J. C.** (1974) The Behaviour of seeds in soil: III. The influence of seed morphology and the behaviour of seedlings on the establishment of plants from surface-lying seeds. *Journal of Ecology* **62**, 47-66.
- Simpson, W G. M.** (1990) *Seed Dormancy in Grasses*. Cambridge University Press, New York, NY.
- Soares, L. A.** (2008) *Ecologia da germinação de espécies de Vellozia Vand. (Velloziaceae) ocorrentes na Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas gerais, Belo Horizonte, Brasil.
- Stricker, D.** (2008). BrightStat.com: Free statistics online. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* **92**, 135-143.
- Teixeira, A. M.** (1987) Sempre-vivas: folclore e verdade. *Ciência Hoje* **5**, 14-15.
- Thompson, P. A.** (1973) Geographical adaptation of seeds, pp 31-58. In Heydecker, W. (ed) *Seed Ecology*. Butterworths, London.
- Thompson, K and Grime, J. P.** (1983) A comparative study of germination responses to diurnally-fluctuating temperatures. *Journal of Applied Ecology* **20**:141-156.

- Venable D. L. and Brown J. S.** (1988) The selective interactions of dispersal, dormancy and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *The American Naturalist* **131**, 360-384.
- Villalobos, A. E. and Peláez, D. V.** (2001) Influences of temperature and water stress on germination and establishment of *Prosopis caldenia* Burk. *Journal of Arid Environments* **49**, 321-328.
- Wanderley, M. G. L.** (1992) Estudos taxonômicos no gênero *Xyris* L. (Xyridaceae) da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. São Paulo. PhD Thesis, Instituto de Biociências de São Paulo, 300 p.

Capítulo 2

Atividade biológica de metabólitos secundários como indicadores de defesa química em sementes de *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Brasil

OLIVEIRA, P. G., PIMENTA, L. P. S. E TAKAHASHI, J. A., GARCIA Q. S.

RESUMO (ATIVIDADE BIOLÓGICA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS COMO INDICADORES DE DEFESA QUÍMICA EM SEMENTES DE SYNGONANTHUS (ERIOCAULACEAE) DOS CAMPOS RUPESTRES DA CADEIA DO ESPINHAÇO, BRASIL)

As sementes de *Syngonanthus* são muito pequenas (<1 mm) e sensíveis à luz, características que favorecem a formação de banco de sementes no solo. No entanto, o pequeno tamanho das sementes e a ausência de tegumento firme são fatores fortemente associados à ação de microrganismos. O objetivo deste trabalho foi detectar as classes de metabólitos secundários presentes nas sementes de *Syngonanthus* e, se a presença destes compostos pode contribuir para a defesa química e longevidade das sementes no solo. Os extratos das sementes recém coletadas e das sementes armazenadas por 12 meses no solo foram obtidos com hexano, clorofórmio e metanol. Todos os extratos foram submetidos à cromatografia em camada delgada em sílica gel, teste de atividade antioxidante e testes biológicos: antibiograma e teste larvicida sobre *Artemia salina*. O estudo fitoquímico indicou a presença de terpenóides, flavonóides e alcalóides. Os extratos clorofórmico e metanólico mostraram maior atividade antimicrobiana e larvicida, com maior expressão dos extratos das sementes armazenadas. Os extratos metanólicos apresentaram atividade antioxidante. Esses resultados sugerem que as sementes de *Syngonanthus* possuem uma proteção química que pode contribuir para longevidade e formação de banco de sementes no solo.

PALAVRAS CHAVES: atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, alcalóides, flavonóides, longevidade de sementes e terpenóides.

ABSTRACT (BIOLOGICAL ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITES AS INDICATORS OF CHEMICAL DEFENSE IN SYNGONANTHUS SEEDS (ERIOCAULACEAE) FROM THE RUPESTRIAN FIELDS OF THE ESPINHAÇO RANGE, BRAZIL)

Syngonanthus seeds are very small (<1 mm) and light sensible, characteristics that favor seed bank formation in the soil. However, the small seed size and absence of a firm tegument are factors that are strongly associated with microorganism's action in the soil. The aim of this study was to detect the classes of secondary metabolites existing in the *Syngonanthus* seeds and if its presence contribute for the chemical defense and seed longevity *in situ*. Extracts from recently collected and 12 months soil-stored seeds were obtained using solvents as hexane, chloroform and methanol. All these extracts were submitted to Thin Layer Chromatography using silica gel, antioxidant activity test and biological tests: antimicrobial assay and Brine Shrimp lethality test. The phytochemical study revealed the presence of terpenoids, flavonoids and alkaloids. The chloroform and methanolic extracts both presented antimicrobial and toxicity activities with higher expression on the stored seeds extracts. Methanolic extracts presented antioxidant activity. These results suggest that *Syngonanthus* seeds possess a chemical protection that can contribute for longevity and seed bank formation in the soil.

KEYWORDS: antimicrobial activity, antioxidant activity, alkaloids, flavonoids, terpenoids and seed longevity.

INTRODUÇÃO

As Eriocaulaceae, conhecidas popularmente como sempre-vivas, possuem porte geralmente herbáceo e hábito caracterizado em roseta, escapos e capítulos. A família é típica dos campos rupestres, ecossistema associado à Cadeia do Espinhaço, um maciço montanhoso que se estende pelos estados de Minas Gerais e Bahia (Brasil) em altitudes entre 900 a 2000 m (Giulietti *et al.*, 1987), transformado recentemente em Reserva da Biosfera pela Unesco (Unesco, 2006). As plantas crescem em condições especiais de relevo, solo e clima e apresentam características anatômicas e morfológicas próprias (Giulietti *et al.*, 1987;1997). Estas particularidades têm despertado um grande interesse na pesquisa, sobretudo em relação aos aspectos químicos do metabolismo secundário destas espécies (Giulietti *et al.*, 2000).

Os metabólitos secundários desempenham funções consideradas vitais para a adaptação das espécies, com destaque para a defesa química contra microrganismos e insetos (Wink, 1999) e atividade antioxidante (Cai *et al.* 1997, Santos *et al.* 2003, Munné-Bosch and Alegre 2003). O fato de os metabólitos secundários apresentarem distribuição limitada nas plantas, sendo restrito a grupos taxonômicos particulares (Balandrin *et al.*, 1985), tem estimulado o desenvolvimento de estudos com o objetivo de identificar marcadores químicos que venham contribuir com a análise filogenética de Eriocaulaceae (Bate-Smith and Harborne, 1969; Andrade *et al.*1999, 2002; Dokkedal *et al.*, 2004; Ho and Chen 2002; Ricci *et al.*,1996, Santos *et al.*, 2001; 2002; 2003; 2005a e b; Vilegas *et al.*,1998;1999). No entanto, pouco se conhece sobre a atividade biológica dos compostos secundários da família. Vilegas *et al.* (1990) indicaram forte atividade antibiótica em extratos de capítulos de *Paepalanthus*; Coelho *et al.* (2006) sugeriram uma possível atividade antiulcerogênica nos extratos de capítulos de *Syngonanthus bisulcatus* e Santos *et al.* (2003) mostraram que xantonas isoladas de capítulos de *Leiotrix* apresentam moderada atividade antioxidante. Porém, todo o conhecimento sobre a química da família é proveniente de extratos obtidos de folhas, escapos e capítulos, não havendo nenhum registro de estudos realizados exclusivamente com sementes de Eriocaulaceae.

O pequeno tamanho das sementes e a ausência de tegumento firme, como é o caso de *Syngonanthus* (Oliveira and Garcia, 2005), são características fortemente associadas à susceptibilidade ao ataque de microrganismos (Crist and Friese, 1993; Moles *et al.*, 2003). Entretanto, em resposta à alta taxa de prejuízos algumas espécies investem em estratégias de defesa como a produção de compostos químicos (Kursar and Coley, 2003). Algumas classes de produtos naturais como os alcalóides, glicosídeos cianogênicos, glicosinolatos, lipídios, saponinas, terpenóides e flavonóides podem contribuir para a resistência das sementes e aumentar sua longevidade no solo (Baker, 1989) e, conseqüentemente, ser uma vantagem na proteção contra a extinção (Cota *et al.*, 2002).

As espécies de *Syngonanthus*, conhecidas como sempre-vivas, são muito utilizadas como ornamentais, com grande valor comercial. A coleta indiscriminada, na qual as inflorescências são removidas antes da produção de sementes, compromete o recrutamento e diminui o tamanho das populações, colocando muitas espécies em risco de extinção (Giulietti *et al.* 1988, 1996, Menezes and

Giulietti 2000). Entretanto, a permanência das sementes no solo é de extrema importância para o recrutamento de novos indivíduos e a manutenção da população (Vásquez-Yanes and Orozco-Segovia 1993). Considerando a vulnerabilidade das espécies frente à coleta predatória associada à susceptibilidade das sementes de *Syngonanthus* no solo, o objetivo deste estudo foi verificar as classes de metabólitos secundários presentes nas sementes de *Syngonanthus* spp, testar a atividade biológica dos mesmos e inferir se podem atuar na defesa química e contribuir na manutenção e longevidade das sementes no solo.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação do material vegetal

Capítulos de seis espécies de *Syngonanthus*: *S. anthemidiflorus* (Bong.) Ruhland, *S. bisulcatus* (Korn.) Ruhland, *S. caulescens* (Poir.) Ruhland, *S. elegans* (Bong.) Ruhland, *S. venustus* Silveira e *S. verticilatus* (Bong.) Ruhland foram coletados nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em várias localidades do estado de Minas Gerais, Brasil (Tabela 1). Os capítulos foram coletados na época de dispersão das sementes, sendo processados no laboratório conforme Oliveira and Garcia (2005).

TABELA 1. Lista das espécies, distribuição geográfica, local e ano de coleta, coordenada geográfica e altitude (m) das populações estudadas.

Espécie/seção	Distribuição geográfica	Local/ano de coleta	Coordenada geográfica	Altitude
<i>Sect. Syngonanthus</i>				
<i>S. anthemidiflorus</i>	Diamantina a Serra do Cipó	Serra do Cipó/2005	19°23'08"S/43°35'34"O	811
<i>S. verticilatus</i>	Serra de Grão-Mogol a Serra do Cipó	Serra do Cipó/2005	19°15'35"S/43°33'05"O	1330
<i>Sect. Carphocephalus</i>				
<i>S. caulescens</i>	Ampla distribuição na América do Sul	Serra do Cipó/2005	19°22'56"S/43°35'43"O	819
<i>Sect. Eulepis</i>				
<i>S. elegans</i>	Planalto de Diamantina e Serra do Cabral	Galheiros/2006	18°16'21"S/43°46'09"O	1287
<i>S. bisulcatus</i>	Desde a Serra de Grão-Mogol a Serra do Cipó	Serra do Cipó/2006	19°20'27"S/43°35'07"O	1022
<i>S. venustus</i>	Planalto de Diamantina e Serra do Cabral	Galheiros/2006	-	-

Área de estudo

O clima na Cadeia do Espinhaço é considerado mesotérmico (Cwb na classificação de Köppen) denominando-se tropical de altitude. A estação seca dura cerca de 6-7 meses e a estação chuvosa

(primavera/verão) dura entre 5-6 meses. A precipitação média anual é de aproximadamente 1600 mm (Marques *et al.*, 2000) e a temperatura média anual oscila entre 17,4 e 19,8 °C (Giulietti and Pirani, 1988).

Obtenção dos extratos brutos

Três gramas de sementes recém coletadas, de cada espécie, foram maceradas à temperatura ambiente e submetidas à extração com solventes de diferentes polaridades. As extrações com hexano (3 x 100 mL) e clorofórmio (3 x 100 mL) foram realizadas em banho de ultra-som. Para a extração com o metanol (100 mL) foi utilizando agitador magnético, até o clareamento do solvente. Após cada extração o solvente foi filtrado e evaporado a vácuo, obtendo-se três extratos brutos: hexânico, clorofórmico e metanólico para cada espécie.

Quatro gramas de sementes de *S. anthemidiflorus*, *S. elegans*, *S. venustus* e *S. verticilatus*, foram armazenadas em sacos confeccionados de malha com 55 fios e enterrados no solo da Serra do Cipó. Após 12 meses os sacos foram trazidos para o laboratório e as sementes maceradas à temperatura ambiente. Os extratos das sementes armazenadas foram obtidos da maneira descrita para as sementes recém coletadas. Não foram obtidos extratos das sementes armazenadas de *S. caulescens* e *S. bisulcatus* devido à quantidade insuficiente de sementes.

Caracterização fitoquímica

Os extratos brutos foram submetidos à análise por cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD). Os extratos foram aplicados por capilar e submetidos à eluição com a fase móvel: diclorometano:tolueno (80:20 v/v) para os extratos hexânico e clorofórmico e n-butanol:ácido acético glacial:água (BAW) (40:10:50) para o extrato metanólico (Wagner *et al.* 1984). Após a eluição, as placas foram retiradas da cuba, secas e observadas sob luz ultravioleta (254 nm) em câmara escura e em seguida reveladas, borrifando-se um dos reagentes apropriados.

Reagente: Vanilina - Ácido Perclórico

Solução A: solução etanólica de Vanilina a 1 %.

Solução B: solução aquosa de Ácido Perclórico a 3 %.

As soluções A e B foram misturadas na proporção de 1:1 e pulverizada na placa, seguida de aquecimento a 100 °C. A presença de terpenos foi detectada pelo aparecimento de coloração violeta após o tratamento com Vanilina - Ácido Perclórico (Wagner *et al.*, 1984).

Reagente: NP:PEG

Solução A: Solução metanólica de difenilboriloxietilamina a 2 %.

Solução B: Solução etanólica de polietileno glicol-4000 a 5 %.

Pulverização na placa com a solução A, seguida imediatamente da solução B e observação sob luz UV. Os flavonóides foram detectados pelo aparecimento de fluorescência intensa imediatamente após a borrifação, ou 15 minutos após a borrifação. O comportamento das fluorescências é dependente da estrutura química dos flavonóides. A coloração laranja e amarela é indicativa de flavonóis e flavonas. O

azul intenso é indicativo de compostos fenólicos (Wagner *et al.*, 1984). Nos extratos metanólicos foram observadas principalmente fluorescências nas cores laranja, amarelo e azul.

Reagente: Dragendorff

Solução A: Nitrato de bismuto (0,85 g) dissolvido em 10 mL de ácido acético glacial e 40 mL de água destilada.

Solução B: 20 mL de solução aquosa de iodeto de potássio a 40 %.

As duas soluções foram misturadas obtendo-se a solução mãe. A solução para pulverização foi preparada adicionando-se a 20 mL da solução mãe 20 mL de ácido acético glacial e 60 mL de água destilada.

Os alcalóides foram detectados pelo aparecimento de cor laranja quando revelados com Dragendorff (Wagner *et al.*, 1984). Compostos heterocíclicos nitrogenados, aminas quaternárias, lactonas, lactamas e esteróides também podem ser detectados após o tratamento com Dragendorff (Wagner *et al.*, 1984).

Teste de atividade antioxidante com β -caroteno

Os extratos metanólicos das sementes recém coletadas e armazenadas foram submetidos à análise por cromatografia em camada delgada de sílica gel (CCD). Os extratos foram eluídos com a fase móvel líquida n-butanol:ácido acético glacial:água (BAW) (40:10:50) (Wagner *et al.*, 1984). Após a eluição, as placas foram retiradas da cuba, secas e observadas sob luz ultravioleta (254 nm) em câmara escura. Em seguida as placas foram borrifadas com uma solução a 0,02 % de β -caroteno em diclorometano. O aparecimento de manchas amarelas persistentes indica a presença de substâncias antioxidantes.

Testes biológicos

Teste de atividade antimicrobiana

Preparação dos meios de cultura

1- Meio BHI: 37,0 g/L; água destilada: qsp; 2 mL/ tubo

2- Solução salina: NaCl: 9,0 g/L; MgSO₄.7H₂O: 0,5 g/L; água destilada: qsp;

3- Ágar semi-sólido: Agar antibiótico nº 1: 27 g/L; água destilada: qsp; 8 mL/tubo

Todos os meios foram preparados de acordo com as instruções do fabricante, sendo esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 minutos

Culturas microbianas e condições de crescimento

Foram utilizados no teste os microrganismos *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella thyphinurium*. Estes microrganismos foram cultivados em tubos contendo 2,0 mL de meio BHI a 37 °C por 24 h.

Método

No teste para o potencial antimicrobiano foi empregado o método de difusão em placa. As placas foram preparadas com 8 mL do meio semi-sólido contendo os respectivos inóculos de bactérias (300 μ L da suspensão salina do microrganismo). As suspensões foram padronizadas em solução salina segundo a escala 0,5 de MacFarland (Bier 1994). Após a solidificação e resfriamento do meio, discos de papel estéreis, contendo as substâncias teste (~100 μ g/mL de extrato bruto) foram colocados sobre o ágar.

Foram utilizados como padrões positivos o miconazol (fungicida) e o cloranfenicol (antibiótico). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 e 48 h. O grau de resistência/sensibilidade dos microrganismos selecionados para o teste foi observado pela ausência/presença de halos. A leitura dos halos foi feita medindo-se o diâmetro dos mesmos e os resultados expressos em milímetros. Foram consideradas ativas as amostras que produziram halos de inibição superior a 7 mm. Os experimentos foram realizados em unicatas.

Teste larvicida sobre *Artemia salina* (TAS)

Ovos de *Artemia salina* foram incubados em 100 mL de solução salina (38 g de sal marinho/1L de água deionizada) sob luz artificial a 28 °C e pH 7- 8. Após 24 h de incubação, as larvas obtidas foram coletadas com pipeta de Pasteur, transferidas para um segundo recipiente e mantidas por mais 24 h sob as mesmas condições para alcançar o estágio adulto. Os extratos foram pesados em tubo Eppendorff (~ 4 mg) e solubilizadas em 500 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Esta solução mãe foi diluída seriadamente em aproximadamente 5 mL de solução salina contendo cerca de 10 indivíduos de *Artemia*, em concentrações variando entre 10 a 100 µg/mL (Tabela 2). O experimento foi realizado em triplicata. Como controle positivo foi utilizado o lapachol cuja $DL_{50} = 70 \mu\text{L/mL}$. Os sobreviventes e os mortos foram contados após 24 h de incubação. A determinação da DL_{50} (com intervalo de confiança de 95%) foi feita utilizando-se o método Probitos de análise (Finney, 1971).

TABELA 2. Massa do extrato (mg) e as concentrações ($\mu\text{g/mL}$) utilizadas no teste larvicida sobre *Artemia salina* para sementes recém coletadas (RC) e armazenadas (AR) de cada espécie.

Extratos	Espécie	Massa	Concentrações
Hexânico	<i>S. anthemidiflorus</i> RC	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. anthemidiflorus</i> AR	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. verticilatus</i> RC	4,2	10, 30, 50 e 70
	<i>S. verticilatus</i> AR	4,1	10, 30, 50 e 70
	<i>S. caulescens</i> RC	4,2	10, 30, 50 e 70
	<i>S. bisulcatus</i> RC	4,2	10, 30, 50 e 70
	<i>S. elegans</i> RC	4,2	10, 30, 50 e 70
	<i>S. elegans</i> AR	5,0	10, 20, 50 e 80
	<i>S. venustus</i> RC	8,0	25, 50, 75 e 100
	<i>S. venustus</i> AR	6,0	10, 20, 50 e 80
Clorofórmico	<i>S. anthemidiflorus</i> RC	4,2	10, 30, 50 e 70
	<i>S. anthemidiflorus</i> AR	4,1	10, 30, 50 e 70
	<i>S. verticilatus</i> RC	4,4	10, 30, 50 e 70
	<i>S. verticilatus</i> AR	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. caulescens</i> RC	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. bisulcatus</i> RC	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. elegans</i> RC	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. elegans</i> AR	4,0	10, 20, 50 e 80
	<i>S. venustus</i> RC	1,0	20, 30, 40 e 70
	<i>S. venustus</i> AR	1,0	20, 30, 40 e 70
Metanólico	<i>S. anthemidiflorus</i> RC	4,1	10, 30, 50 e 70
	<i>S. anthemidiflorus</i> AR	4,1	10, 30, 50 e 70
	<i>S. verticilatus</i> RC	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. verticilatus</i> AR	4,0	10, 30, 50 e 70
	<i>S. caulescens</i> RC	4,2	10, 30, 50 e 70
	<i>S. bisulcatus</i> RC	4,2	10, 30, 50 e 70
	<i>S. elegans</i> RC	4,1	10, 30, 50 e 70
	<i>S. elegans</i> AR	4,0	10, 20, 50 e 80
	<i>S. venustus</i> RC	8,0	5, 10, 25, 75, 100
	<i>S. venustus</i> AR	6,0	20, 50 e 90

RESULTADOS

Caracterização fitoquímica

A análise da cromatografia em camada delgada em sílica gel (CCD) dos extratos hexânicos e clorofórmicos das sementes recém coletadas e armazenadas de todas as espécies estudadas demonstrou a presença (+) de terpenóides com base na coloração violeta após o tratamento com o reagente Vanilina-Ácido Perclórico (Tabela 3A e B).

O tratamento com o reagente NP:PEG demonstrou a presença de flavonóides (+) nos extratos clorofórmicos e metanólicos das sementes recém coletadas e armazenadas, baseado na fluorescência emitida sob luz UV (254 nm) (Tabela 3A e B). O perfil cromatográfico dos extratos foi diferente entre as espécies e entre os tratamentos. A análise dos extratos clorofórmicos das sementes recém coletadas e armazenadas de *S. anthemidiflorus* e *S. verticilatus* (sect. *Syngonanthus*) e das sementes recém coletadas de *S. caulescens* (sect. *Carphocephalus*) revelou uma pequena fluorescência azul, enquanto os extratos metanólicos das sementes recém coletadas destas três espécies revelaram forte fluorescência azul, indicativa de compostos fenólicos. Uma forte fluorescência de cor amarela foi revelada nos extratos metanólicos das sementes recém coletadas de *S. bisulcatus*, *S. elegans* e *S. venustus* (sect. *Eulepis*) e nos extratos metanólicos das sementes de todas as espécies foi observado uma fluorescência de cor laranja após o reagente NP/PEG, indicativas de flavonols e flavonas.

O aparecimento de uma mancha de cor laranja bem claro após o tratamento com o reagente de Dragendorff indicou a presença de alcalóides (+) nos três extratos das sementes recém coletadas e armazenadas das espécies estudadas (Tabela 3A e B).

TABELA 3. Prospecção fitoquímica por CCD realizada com os extratos hexânico, clorofórmico e metanólico de sementes recém coletadas (A) e armazenadas no solo por 12 meses (B) para as espécies de *Syngonanthus*.

A

Extratos testados	Espécie	Classe de produto natural - Revelador		
		Terpenóides - Ácido perclórico e Vanilina	Flavonóides - NP/PEG	Alcalóides - Dragendorff
Hexânico	<i>S. anthemidiflorus</i>	+	-	-
	<i>S. verticilatus</i>	+	-	+
	<i>S. caulescens</i>	+	-	+
	<i>S. bisulcatus</i>	+	-	+
	<i>S. elegans</i>	+	-	+
	<i>S. venustus</i>	+	-	+
Clorofórmico	<i>S. anthemidiflorus</i>	+	+	-
	<i>S. verticilatus</i>	+	+	+
	<i>S. caulescens</i>	+	+	+
	<i>S. bisulcatus</i>	+	-	+
	<i>S. elegans</i>	+	-	+
	<i>S. venustus</i>	+	-	+
Metanólico	<i>S. anthemidiflorus</i>	-	+ ^{az}	+
	<i>S. verticilatus</i>	-	+ ^{az}	+
	<i>S. caulescens</i>	-	+ ^{az}	+
	<i>S. bisulcatus</i>	-	+ ^{am}	+
	<i>S. elegans</i>	-	+ ^{am}	+
	<i>S. venustus</i>	-	+ ^{am}	+

B

Extratos testados	Espécie	Classe de produto natural - Revelador		
		Terpenóides - Ácido perclórico e Vanilina	Flavonóides - NP/PEG	Alcalóides - Dragendorff
Hexânico	<i>S. anthemidiflorus</i>	+	-	-
	<i>S. verticilatus</i>	+	-	+
	<i>S. elegans</i>	+	-	+
	<i>S. venustus</i>	+	-	+
Clorofórmico	<i>S. anthemidiflorus</i>	+	+	-
	<i>S. verticilatus</i>	+	+	+
	<i>S. elegans</i>	+	-	+
	<i>S. venustus</i>	+	+	+
Metanólico	<i>S. anthemidiflorus</i>	-	+	+
	<i>S. verticilatus</i>	-	+	+
	<i>S. elegans</i>	-	+	+
	<i>S. venustus</i>	-	+	+

(+) presença; (-) ausência, (az) fluorescência azul, (am) fluorescência amarela.

Teste de atividade antioxidante com β -caroteno

Os testes com os extratos metanólicos das sementes recém coletadas de todas as espécies e com os extratos metanólicos das sementes armazenadas de *S. venustus* e *S. verticilatus* revelaram uma mancha de cor amarela após o tratamento com β -caroteno (Tabela 4), indicando atividade antioxidante dos extratos.

TABELA 4. Atividade antioxidante revelada nos extratos metanólicos com β -caroteno nas sementes recém coletadas (RC) e armazenadas no solo por 12 meses (AR) para as espécies de *Syngonanthus*.

Atividade antioxidante com β -caroteno		
Espécies	RC	AR
<i>S. anthemidiflorus</i>	+	ND
<i>S. verticilatus</i>	+	+
<i>S. caulescens</i>	+	-
<i>S. bisulcatus</i>	+	-
<i>S. elegans</i>	+	ND
<i>S. venustus</i>	+	+

ND: não detectado

Teste antimicrobiano

No teste de susceptibilidade para a avaliação da atividade antimicrobiana das sementes recém coletadas, apenas o extrato clorofórmico das sementes de *S. verticilatus* apresentou halo de inibição contra *S. thyphinurium* (10,0 mm) e o extrato metanólico de *S. anthemidiflorus* contra *S. aureus* e *B. cerus* (8,0 mm) (Tabela 5 A). Nenhuma atividade dos extratos das sementes recém coletadas foi observada sobre *C. albicans* e *E. coli*. No teste com os extratos das sementes armazenadas por 12 meses no solo foi observada maior atividade antimicrobiana (Tabela 5 B). Os extratos clorofórmicos de *S. elegans* e *S. venustus* apresentou os maiores diâmetros de halo de inibição (9 e 13 mm, respectivamente) contra *S. aureus*. Os extratos clorofórmicos e metanólicos de *S. anthemidiflorus* e *S. verticilatus* foram ativos contra *S. aureus* e *B. cerus* com halos entre 7,5 e 11,0 mm. O extrato metanólico de *S. venustus* mostrou-se ativo contra todos os microrganismos, com halos entre 7,5 e 8,5 mm. Nenhuma atividade dos extratos hexânicos das sementes recém coletadas e armazenadas foi observada sobre os microrganismos testados (Tabela 5 B). Considerando que o teste foi realizado com extratos brutos, não purificados, a formação de halos de inibição em relação ao controle (cloranfenicol e miconazol), mesmo que em pequenas dimensões, indicam atividade antimicrobiana.

TABELA 5. Resultado do teste *in vitro* de atividade antimicrobiana com *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhunurium* dos extratos hexânico, clorofórmico e metanólico, de sementes recém coletadas (A) e armazenadas no solo por 12 meses (B) para as espécies de *Syngonanthus*.

A						
Diâmetro dos halos de inibição de crescimento (mm)						
Extratos testados	Fungo e bactérias utilizados no teste					
	Espécie	<i>C. albicans</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. thyphinurium</i>
Hexânico	<i>S. anthemidiflorus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. verticilatus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. caulescens</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. bisulcatus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. elegans</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. venustus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
Clorofórmico	<i>S. anthemidiflorus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. verticilatus</i>	ND	ND	ND	ND	10,0
	<i>S. caulescens</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. bisulcatus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. elegans</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. venustus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
Metanólico	<i>S. anthemidiflorus</i>	ND	8,0	ND	8,0	ND
	<i>S. verticilatus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. caulescens</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. bisulcatus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. elegans</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. venustus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
B						
Hexânico	<i>S. anthemidiflorus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. verticilatus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. elegans</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. venustus</i>	ND	ND	ND	ND	ND
Clorofórmico	<i>S. anthemidiflorus</i>	ND	8,0	ND	7,5	ND
	<i>S. verticilatus</i>	ND	11,0	ND	7,5	ND
	<i>S. elegans</i>	ND	ND	ND	9,0	ND
	<i>S. venustus</i>	ND	ND	ND	13,0	ND
Metanólico	<i>S. anthemidiflorus</i>	ND	8,0	ND	7,5	ND
	<i>S. verticilatus</i>	ND	8,0	ND	ND	ND
	<i>S. elegans</i>	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>S. venustus</i>	7,5	8,0	8,0	8,5	7,5
	Cloranfenicol	ND	23	23	25	31
	Miconazol	13	ND	ND	ND	ND

ND: não detectado; cloranfenicol: controle positivo para bactéria; miconazol: controle positivo para fungo.

Teste larvicida sobre *Artemia salina*

A toxicidade dos extratos brutos avaliada pelo teste larvicida sobre *Artemia salina*, para as seis espécies estudadas, está apresentada na tabela 6. Os extratos hexânicos testados não se mostraram ativos quando comparados com os extratos clorofórmicos e metanólicos. Apenas dois, os extratos hexânicos das sementes recém coletadas de *S. anthemidiflorus* (Tabela 6A) e o das sementes armazenadas de *S. verticilatus* (Tabela 6B) apresentaram atividades sobre *Artemia salina*, cuja DL₅₀ foi abaixo de 1000 µg/mL, indicando atividade tóxica. Dos extratos clorofórmicos e metanólicos testados, 15 (equivalente a 75 %) apresentaram atividade com as doses testadas, sendo que 13 extratos apresentaram valores abaixo de 200 µg/mL (indicando atividade inseticida). A DL₅₀ dos extratos clorofórmicos e metanólicos das sementes armazenadas foram mais baixas, com doses entre 8 e 109 µg/mL, em relação a das sementes recém coletadas, que apresentaram valores entre 13 e 625 µg/mL (Tabela 6B). Os extratos das sementes recém coletadas de *S. bisulcatus* não mostraram nenhuma atividade com as doses testadas.

TABELA 6. Resultado do teste larvicida sobre *Artemia salina* (TAS) com extratos hexânico, clorofórmico e metanólico, de sementes recém coletadas (A) e sementes armazenadas no solo por 12 meses (B) para as espécies de *Syngonanthus*.

Espécie	Hexânico		Clorofórmico		Metanólico	
	DL ₅₀	IC	DL ₅₀	IC	DL ₅₀	IC
<i>S. anthemidiflorus</i>	154	65 - 361	154	50 - 472	142	100 - 202
<i>S. verticilatus</i>	ND	-	61	36 - 103	509	85 - 3055
<i>S. caulescens</i>	> 1000	ND	38	26 - 57	ND	-
<i>S. bisulcatus</i>	ND	-	ND	-	ND	-
<i>S. elegans</i>	> 1000	ND	ND	-	40	28 - 57
<i>S. venustus</i>	ND	-	13	10 - 16	625	198 - 1974

Espécie	Hexânico		Clorofórmico		Metanólico	
	DL ₅₀	IC	DL ₅₀	IC	DL ₅₀	IC
<i>S. anthemidiflorus</i>	ND	-	80	53 - 121	29	20 - 44
<i>S. verticilatus</i>	317	66 - 1507	72	48 - 108	72	13 - 395
<i>S. elegans</i>	ND	-	39	20 - 76	ND	-
<i>S. venustus</i>	ND	-	8	5 - 14	109	92 - 129

DL₅₀ (dose letal 50 %) e IC (Intervalo de confiança a 95 %) expressos em µg/mL. Extrato ativo: < 1000 µg/mL. ND: não detectado

DISCUSSÃO

Nas sementes das espécies estudadas foram encontradas as principais classes de metabólitos secundários. A presença de terpenóides e alcalóides nos extratos das sementes recém coletadas, sem alterações no perfil cromatográfico entre as espécies, sugerem a ocorrência de um padrão na produção destes compostos no nível genérico. Entretanto, o perfil cromatográfico dos flavonóides nos extratos metanólicos das sementes recém coletadas, distinguiu-se entre as espécies estudadas.

As espécies de *Syngonanthus* pertencentes às seções *Eulepis* e *Thysanocephalus* formam um grupo monofilético e bem sustentado com base nas análises morfológicas (Parra 2000, Giulietti *et al.*, 2000), bem como moleculares e citológicas (Andrade, 2007). Espécies pertencentes a estas seções produzem C-glicoflavona e são separadas também quimicamente das seções *Carphocephalus* e *Syngonanthus* que produzem 6-OH-O-glicoflavona (Ricci *et al.*, 1996). As diferenças no perfil dos flavonóides observadas neste estudo com sementes de *Syngonanthus* corroboram as variações intraespecíficas relatadas por Ricci *et al.* (1996). As glicoflavonas são os principais constituintes químicos de *Syngonanthus* (Ricci *et al.* 1996, Coelho *et al.* 2006) e *Leiotrix* (Santos *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2003), enquanto os glicoflavonols, as naitopironas e as xantonas estão presentes nas espécies de *Paepalanthus* (Vilegas *et al.*, 1998; Vilegas *et al.*, 1999; Andrade *et al.*, 1999; Andrade *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2002; Dokkedal *et al.*, 2004) e *Eriocaulon* (Bate-Smith and Harborne, 1969; Ho and Chen, 2002; Santos *et al.*, 2005 a). Esses estudos têm contribuído significativamente com os estudos filogenéticos de Eriocaulaceae com a identificação de marcadores taxonômicos para a família.

Outros estudos fitoquímicos realizados com espécies de campos rupestres identificaram alcanos, diterpenóides, triterpenóides e flavonóides em Velloziaceae (Silva *et al.*, 2001; Branco *et al.*, 2002; Dantas *et al.*, 2003) e ácidos graxos e flavonóides em Lythraceae (Graham *et al.*, 1980; Graham and Kleiman, 1987; Blatt *et al.*, 1994). A identificação e a distribuição destes compostos nestas famílias também têm mostrado a existência de marcadores taxonômicos (Salatino *et al.*, 2000) e enfatizado a variação intraespecífica na produção de metabólitos secundários. A variação intraespecífica na produção de compostos químicos é a chave para estudos de ecologia química porque muitas funções biológicas são associadas aos metabólitos secundários e também permite o entendimento de questões evolutivas ((Hay, 1996; Wink, 1999).

O teste larvicida sobre *Artemia salina* (TAS) é considerado um estudo preliminar da atividade tóxica dos compostos químicos contra insetos e possibilita encontrar classes naturais de pesticidas (Mc Laughlin *et al.*, 1998). Os extratos com valores de DL₅₀ menores que 1000 µg/mL são considerados tóxicos de acordo com Meyer *et al.* (1982) e valores menores que 200 µg/mL indicam uma possível atividade inseticida do extrato. Os extratos clorofórmicos e metanólicos das sementes recém coletadas apresentaram alta toxicidade, porém, os extratos das sementes armazenadas mostraram-se potencialmente mais tóxicos, evidenciado pela redução da DL₅₀. Os valores da DL₅₀ para os extratos das sementes armazenadas foram todos menores que 200 µg/mL. Os extratos hexânicos das sementes de *Syngonanthus* apresentaram

atividade muito baixa no teste, e apenas o extrato das sementes recém coletadas de *S. anthemidiflorus* e o das sementes armazenadas de *S. verticilatus* foram tóxicos. A alta toxicidade dos extratos clorofórmicos e metalólicos observada para as sementes recém coletadas indicam que as sementes ao serem dispersas já possuem um potencial pesticida e a defesa química é intensificada durante o armazenamento no solo.

Os extratos clorofórmico e metanólico das sementes armazenadas também mostraram maior atividade inibitória ao crescimento de microrganismos (fungos e bactérias) em relação aos extratos das sementes recém coletadas. Ambos os extratos clorofórmicos e metanólicos de *S. anthemidiflorus* e *S. verticilatus* inibiram o crescimento de bactérias gram-positivas *B. cereus* e *S. aureus*. Os extratos clorofórmicos de *S. elegans* e *S. venustus* inibiram o crescimento de *S. aureus* e o extrato metanólico de *S. venustus* inibiu o crescimento de todos os microrganismos. A presença de compostos ativos contra fungos e bactérias sugere uma função de defesa química para a espécie e a atividade de um composto contra mais de um microrganismo é uma vantagem que confere à espécie proteção contra ampla variedade de patógenos (Dellar *et al.*, 1996). Considerando que os extratos clorofórmicos e metanólicos das sementes armazenadas apresentaram atividade frente a um maior número de microrganismos, os resultados sugerem o desenvolvimento de uma defesa química contra ampla variedade microrganismos no solo. Esta estratégia pode ser um diferencial na longevidade das sementes *in situ* conferindo proteção mais efetiva à deterioração por ação de microrganismos.

Os compostos químicos podem contribuir para a longevidade das sementes no solo (Baker, 1989) e a interação entre os compostos pode aumentar a resistência das sementes (Mali and Borges, 2003). A ocorrência de flavonóides e alcalóides nos extratos clorofórmicos e metanólicos associada à atividade biológica indicam que estas duas classes de metabólitos atuam na proteção química das sementes. A maior expressividade da resposta do extrato das sementes armazenadas sugere alteração dos compostos químicos durante o armazenamento no solo. Segundo Elstner and Osswald (1994) fatores como a seca, alagamento, deficiência em macro e micro nutrientes podem alterar a síntese de hormônios e metabólitos secundários na planta e induzir o aumento na resistência, na tolerância e reparação. Durante o período de um ano de armazenamento no solo as sementes de *Syngonanthus* foram submetidas a variações de temperatura, umidade e ação de microrganismos que podem ter provocado alterações nos compostos químicos já existentes nas sementes no momento da dispersão.

Geralmente os alcalóides não são encontrados em sementes e frutos carnosos que apresentam potencial de dispersão zoocórica devido as suas propriedades tóxicas (McKey, 1974). As sementes de *Syngonanthus* são muito pequenas (Oliveira and Garcia, 2005), o fruto é uma cápsula loculicida (Parra, 2000) e os capítulos são formados por brácteas brancas secas, características que não apresentam atrativos para animais e indicam dispersão anemocórica. Estudos realizados com espécies de Asteraceae e Poaceae, que apresentam estruturas de frutificação semelhantes às de Eriocaulaceae e síndrome de dispersão pelo vento, também relatam a presença de alcalóides nas sementes (Sarker *et al.*, 2001).

Os flavonóides, além de atuarem na função de defesa química da semente com suas propriedades antimicrobianas, aumentando a resistência das sementes (Dixon and Paiva, 1995; Skadhauge *et al.*, 1997; Islam *et al.*, 2003), são considerados substâncias com potente propriedade antioxidante, atuando na proteção contra espécies reativas de oxigênio (ROS) (Cai *et al.*, 1997; Munné-Bosch and Alegre, 2003). Os radicais livres causam a peroxidação de lipídios e destruição de membranas (Bewley, 1986; Bewley and Black, 1994; Hendry *et al.*, 1994; Sung and Chiu, 1995) e podem também causar prejuízos oxidativos no DNA (Levin, 1990; Cai *et al.*, 1997), levando à deterioração das sementes e perda da viabilidade. Segundo Wagner *et al.* (1984) derivados de luteolina produzem uma fluorescência laranja após o tratamento com NP:PEG, conforme observado nos extratos metanólicos das sementes de *Syngonanthus*, e glicosídeos de luteolina foram identificados por Ricci *et al.* (1996) nos extratos metanólicos de folhas de *Syngonanthus* spp. A luteolina tem um potente efeito na proteção celular minimizando as injúrias provocadas pelas reações oxidativas e inibindo a peroxidação lipídica (Cai *et al.*, 1997). Segundo Santos *et al.* (2003) os compostos que apresentam o sistema catecólico, como o anel B dos derivados de luteolina, apresentam atividade antioxidante. A atividade antioxidante revelada pelo teste com β -caroteno e a presença de possíveis derivados de luteolina nos extratos das sementes de *Syngonanthus* investigadas neste estudo podem conferir a manutenção da longevidade dessas sementes no solo.

Os terpenóides, dentre outras propriedade químicas, possuem ação repelente (Mann, 1980) e antioxidante (Munné- Bosch, 2005). Apesar da baixa atividade biológica dos extratos hexânicos das sementes de *Syngonanthus*, a presença de terpenóides nesses extratos e também nos extratos clorofórmicos pode aumentar a proteção química das sementes e favorecer a longevidade *in situ*.

As classes de metabólitos secundários presentes nas sementes de *Syngonanthus* promovem a defesa química, favorecendo a longevidade no solo. Os compostos químicos minimizam os prejuízos causados pela ação de microrganismos e/ou herbívora e também pelo estresse, reduzindo a taxa de deterioração das sementes. Essa estratégia contribui com a manutenção das sementes no solo e conseqüentemente com a formação de banco de sementes. Para as espécies de *Syngonanthus* a longevidade das sementes no solo é de extrema importância, especialmente para as ameaçadas e incluídas na categoria criticamente em perigo devido à coleta predatória. Permanecendo no solo as sementes podem garantir o recrutamento de novos indivíduos, (Vásquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993) e, a longo prazo, garantir estabilidade para a população (Epling *et al.* 1960).

REFERÊNCIAS

- Andrade, F. D. P., Santos, L. C., Dokkedal, A. L. and Vilegas, W. 1999. Acyl glucosylated flavonols from *Paepalanthus* species. *Phytochemistry* **51**: 411-415
- Andrade, F. D. P., Rastrelli, L., Pizza, C. Sano, P. T. and Vilegas, W. 2002. Flavonol glycosides and a naphthopyranone glycoside from *Paepalanthus macropodus* (Eriocaulaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **30**: 275-277
- Andrade, M. J. G. 2007. Filogenia e taxonomia em Eriocaulaceae neotropicais. Tese, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil.
- Bate-Smith, E. C. and Harbomer, J. B. 1969. *Phytochemistry* **8**:1025
- Balandrin, M. F., Klocke, J. A., Wurtele, E. S. and Bollinger, W. H. 1985. Natural Plant Chemicals: Sources of Industrial and Medicinal Materials *Science* **228**: 1154-1160
- Baker, H. G. 1989. Some aspects of the natural history of seed banks, pp. 9-21, in M. A. Leck, V. T. Parker and R. L. Simpson (eds.) Ecology of soil seed banks *Acad. Press*. London.
- Bewley, J. D 1986. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration storage, pp. 26-45, in M. B. McDonald, Jr and C. J. Nelson (eds.) Physiology of seed deterioration Crop Science Society of American.
- Bewley, J. D. and Balck, M. 1994. Seeds, Physiology of Development and Germination. 2^a ed. 445p.
- Bier, O. 1994. Microbiologia e Imunologia, 30^a ed., Ed Melhoramentos, São Paulo.
- Blatt, C. T. T., Salatino, A., Salatino, M. L. F., Del Pero Martinez, M. A. and Cavalcanti, T. B. 1994. flavonoids of *Diplusodon* (Lythraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **22**: 101-107
- Branco, A., Pinto, A. C., Ifa, D. R. and Braz-Filho, R. 2002. Two 8C-methylated flavonols from the leaves of *Vellozia candida* Mikan (Velloziaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* **13**: 318-323.
- Cai, Q., Rahn, R. O. and Zhang, 1997. Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals. *Cancer letters* **119**: 99-107
- Cota, B. B., Oliveira, A. B., Ventura, C. P., Mendonça, M. P. and Braga, F. C. 2002 Antimicrobial activity of plant species from a Brazilian Hotspot for Conservation Priority. *Pharmaceutical Biology* **40**: 542-547.
- Coelho, R. G., Batista, L. M., Santos, L., C., Regina, A., Brito, M. S. and Vilegas, W. 2006. Phytochemical study and antiulcerogenic activity of *Syngonanthus bisulcatus* (Eriocaulaceae) *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **42**:
- Crist, T. O. and Friese, C. F. 1993. The impact of fungi on soil seeds: implications for plants and granivores in a semiarid shrub-steppe. *Ecology* **74**: 2231-2239.
- Epling, C., Lewis, H. and Ball, F. 1960. The breeding group and seed storage: a study in populations dynamics. *Evolution* **14**: 238-255.
- Dantas, A. L., Valente, L.M. and Pinto, A. C. 2003. A new isopimarane diterpenoid from *vellozia pusilla* Pohl (Velloziaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* **14**: 126-128.

- Dellar, E. J., Cole, M. D. and Waterman P. G. 1996. Antimicrobial abietante diterpenoides from *Plectranthus elegans*. *Phytochemistry* **41**: 735-738
- Dixon, R. A. and Paiva, N. L. 1995. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism *The Plant Cell*, **7**: 1085-1097.
- Dokkedal, A. L., Sano, P. T. and Vilegas, W. 2004. Chemistry in *Paepalanthus* and taxonomic implications. *Biochemical Systematics and Ecology* **32**: 503-504
- Elstner, E. F. and Osswald, W. 1994. Mechanisms of oxygen activation during plant stress. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* **102**: 131-154
- Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis*. Cambridge University Press. Cambridge
- Giulietti, A. M. and Pirani, J. R. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil, pp. 39-69, in W. R. Heyer and P. E. Vanzolini (eds.) *Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns*, Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Giulietti, A. M.; Menezes, N. L.; Pirani, J. R.; Meguro, M. and Wanderley, M. G. L. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais, caracterização e lista de espécies. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **96**: 1-152.
- Giulietti, A. M., Wanderley, M. G. L., Longhi-Wagnre, H. M., Pirani, J. R. and Parra, J. R. 1996. Estudos em “sempre-vivas”, taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **10**: 329-384.
- Giulietti, A. M., Pirani, J.R. and Harley, R. 1997. Espinhaço Range region, eastern Brazil pp.397-404 in Davis, S.D.; Heywood, V. H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J. and Hamilton, A.C. (eds.) *Centres of Plant Diversity* IUCN publications, Cambridge, U.K.
- Giulietti, A. M.; Scatena, V. L; Sano, P. T.; Parra, L. R.; Queiroz, L. P.; Harley, R. M.; Menezes, N. L.; Ysepson, A. M. B.; Salatino, A.; Salatino, M. L.; Vilegas, W.; Santos, L. C.; Ricini, C. V.; Bonfim, M. C. P. and Miranda, E. B. 2000. Multidisciplinary studies on Neotropical Eriocaulaceae, pp. 580-589, in K. L. Wilson, D. A. Morrison (eds.) *Monocots: Systematics and evolution*. CSIRO, Melbourne, Australia.
- Graham, S. A. and Kleiman, R. 1987. Seed lipids of the Lythraceae *Biochemical Systematics and Ecology* **15**: 433-439
- Graham, S. A., Timmermann, B. N. and Mabry, T. J. 1980. Flavonoids glycsides in *Ammania coccinea* (Lythraceae) *Journal of Natural Products* **31**: 644-645.
- Hendry, G. A. F., Thompson, K. Moss, C. J, Edwards, E. and Thorpe, P. C. 1994. Seed persistence: a correlation between seed longevity in the soil and *ortho*-dihydroxyphenol concentration. *Functional Ecology* **8**: 658-664.
- Hay, M. E. 1996. Marine chemical ecology: what's known and what's next? *Journal Experimental Marine Biology and Ecology* **200**: 103-134

- Ho, Jiau-Ching and Chen, Chiu-Ming. 2002. Flavonoids from the aquatic plant *Eriocaulon buergerianum*. *Phytochemistry* **61**: 405-408.
- Islam, F. M. A., Rengifo, J., Redden, R. J., Basford, K. E. and Beebe, S. E. 2003. Association Between Seed Coat Polyphenolics (Tannins) and Disease Resistance in Common Bean *Plant Foods for Human Nutrition* **58**: 285–297.
- Kursar, T. A. and Coley, P. D. 2003. Convergence in defense syndromes of young leaves in tropical rainforests. *Biochemical Systematics and Ecology* **31**: 929-949.
- Levin, D. A. 1990. The seed bank as a source of genetic novelty in plants. *The American Naturalist* **135**: 563-572.
- Mali, S. and Borges, R. M. 2003. Phenolics, fibre, alkaloids, saponins, and cyanogenic glycosides in a seasonal cloud forest in India *Biochemical Systematics and Ecology* **31**: 1221-1246.
- Mann, J. 1980. Secondary Metabolism. Oxford University Press, 322p.
- Marques, A. R., Garcia, Q. S., Resende, J. L. P. and Fernandes, G. W. 2000. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. *Tropical Ecology* **41**: 47-60.
- McLaughlin. J. L, Rogers, L.L and Anderson, J.E. 1998. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal* **32**: 53-524
- MecKey, D. 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology *America Naturalist* **108**: 305-320.
- Menezes, N. Z. and Giulietti, A. M. 2000. Campos Rupestres, pp 65-73 in Fundação Biodiversitas e Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte (FZB-BH) *Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de extinção da Flora de Minas Gerais.*.
- Meyer, B. N., Ferrigni N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. and McLaughlin. J. L. 1982 Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* **45**: 31-34.
- Moles, A.,T., Warton, D. I. and Westoby, M. 2003. Seed size and survival in the soil in arid Australia. *Austral Ecology* **28**: 575-585.
- Munné-Bosch, S. and Alegre, L. 2003. Drought-induced changes in the redox state of α -tocopherol, ascorbate and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of *Labiatae* species differing in carnosic acid contents. *Plant Physiol* **131**: 1816-1825.
- Munné-Bosch, S. 2005. The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology* **162**: 743-748
- Oliveira, P. G. and Garcia, Q. S. 2005. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Syngonanthus elegantulus* Ruhland, *S. elegans* (Bong.) Ruhland e *S. venustus* Silveira (Eriocaulaceae). *Acta Botanica Brasílica* **19**: 639-645.
- Parra, L. R. 2000. Redelimitação e revisão de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. ex Koern.)Ruhland Eriocaulaceae. Tese, Instituto de Biociências, São Paulo, Brasil
- Ricci, C. V., Patrício, M. C. B., Salatino, M. L. F., Salatino, A. and Giulietti, A. M. 1996. Flavonoids of

- Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae): Taxonomic implications. *Biochemical Systematic and Ecology* **24**: 577-583
- Salatino, A., Salatino, M. L. F. and Giulietti, A. M. 1990. Contents of soluble phenolic compounds of capitula of Eriocaulaceae *Química Nova* **13**: 289-292.
- Salatino, A., Salatino, M. L. F., Santos, D. Y. A. C. and Patrício, M. C. 2000. Distribution and evolution of secondary metabolites in Eriocaulaceae, Lythraceae and Velloziaceae from “campos rupestres” *Genetics and Molecular Biology* **23**: 931-940.
- Santos, L. C., Piacente, S., De Riccardis, F., Eletto, A. M., Pizza, C. and Vilegas, W. 2001. Xanthonés and flavonoids from *Leiotrix flavescens* *Phytochemistry* **56**: 853-856.
- Santos, L. C., Piacente, S., Pizza, C., Toro, R., Sano, P. T. and Vilegas, W. 2002. 6-Methoxyquercetin-3-O-(6''-E-feruloyl)β-D-glucopyranoside from *Paepalanthus polyanthus* (Eriocaulaceae) *Biochemical Systematics and Ecology* **30**: 451-456.
- Santos, L. C., Piacente, S., Montoro, P., Pizza, C. and Vilegas, W. 2003. Atividade antioxidante de xantonas isoladas de espécies de leiotrix (Eriocaulaceae) *Revista Brasileira de Farmacologia* **13**: 67-74.
- Santos, L. C., Rodrigues, M. A., Silva, Coelho, R. G., Sannomiya, M. and Vilegas, W. 2005 a. Chemical profile of *Eriocaulon ligulatum* (Vell.) L. B. Smith (Eriocaulaceae) *Biochemical Systematics and Ecology* **33**: 1159-1166.
- Santos, L. C., Dokkedal, A. L., Sannomiya, M., Soares, M. C. P. and Vilegas, W. 2005 b. *n*-alkanes from *Paepalanthus* Mart. Species (Eriocaulaceae) *Acta Botanica Brasilica* **4**: 727-732.
- Sarker, S. D., Laird, A. and Lutfun, N. 2001. Indole alkaloids from the seeds of *Centaurea cyanus* (Asteraceae) *Phytochemistry* **57**: 1273-1276.
- Skadhauge, B., Thomsen, K. K. and Von Wettstein, D. 1997. The role of the barley testa layer and its flavonoid content in resistance to *Fusarium* infections. *Hereditas* **126**: 147-160
- Silva, G. C., Valente, L. M. M., Patitueel, M. L. and Pinto, A. C. 2001. Diterpenóides com esqueleto cleistantano de *Vellozia* aff. *carunculares* Martius ex Seubert (Velloziaceae) *Química Nova* **24**: 619-625.
- Sung, J. M. and Chiu, C. C. 1995. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. *Plant Science* **110**: 45-52.
- Vilegas, W., Roque, N. F., Salatino, A., Giesbrecht, A. M. and Davinon S. 1990. *Phytochemistry* **29**: 2299
- Vilegas, W., Santos, A. C., Alécio, C. P., Piacente, S., Pauw, E. and Sano, P. T. 1998. Naphthopyranone glycosides from *Paepalanthus bromelioides*. *Phytochemistry* **49**: 207-210.
- Vilegas, W., Nehme, C. J., Dokkedal, Piacente, S., Rastrelli, L. and Pizza, C. 1999. Quercetagin 7-methyl ether glycosides from *Paepalanthus vellozioides* and *Paepalanthus latipes*. *Phytochemistry* **51**: 403-409.

- Wagner, H., Blatt, S. and Zgainski, E. M. 1984. Plant Drug Analysis A Thin layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag Berlin heidelberg, pp. 51-92.
- Vázquez-Yanes C. and Orozco-Segovia, A. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**: 69-87.
- Wink, M .1999. Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual Plant Reviews V.2 Sheffield Academic Press 358 p.

Capítulo 3

Longevidade *in situ* de sementes de *Syngonanthus* spp. (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil

Patrícia Gonçalves de Oliveira & Queila Souza Garcia

Resumo: (Longevidade *in situ* de sementes de *Syngonanthus* spp. (Eriocaulaceae) dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil).

Syngonanthus é um gênero predominantemente herbáceo, ocorre em planaltos arenosos e brejosos dos campos rupestres. As sementes são muito pequenas, lisas e sensíveis à luz, características que favorecem o armazenamento e a persistência no solo. O objetivo deste estudo foi avaliar a longevidade *in situ* entre as sementes *in natura* e tratadas com fungicida de seis espécies de *Syngonanthus* que ocorrem em diferentes ambientes. Lotes de 500 sementes foram armazenados em sacos enterrados no solo. Metade dos sacos continha sementes *in natura* e a outra metade sementes tratadas com fungicida. As coletas foram realizadas bimestralmente e as sementes foram colocadas para germinar no laboratório, sob luz e temperatura ótima. Os resultados obtidos mostram que as sementes de todas as espécies estudadas, quando enterradas, podem permanecer viáveis no solo por um período superior a 12 meses e formar banco de sementes do tipo persistente. Quatro das seis espécies estudadas desenvolveram dormência secundária, sendo três delas com ciclos sazonais. O fungicida atuou significativamente na proteção de apenas duas espécies e as taxas de mortalidade foram maiores nas espécies de ambientes xéricos. Portanto, a longevidade das sementes de *Syngonanthus in situ* pode ser relacionada a uma proteção endógena como a presença de compostos químicos, especialmente as espécies de habitats méxicos e alagados.

Palavras chaves: Armazenamento no solo, banco de sementes, deterioração e dormência secundária

Abstract (*In situ* longevity of *Syngonanthus* species seeds (Eriocaulaceae) from the rupestrian fields of the Espinhaço Range, Minas Gerais, Brazil).

Syngonanthus is a predominantly herbaceous genus, occurring on the sandy and boggy uplands of the Rupestrian fields. Their seeds are very small, smooth and light sensitive, characteristics that favor their storage and persistence in soil. The aim of this study was to compare the *in situ* *Syngonanthus* seeds longevity between *in natura* and fungicide treated seeds of six species that occur in different environments. 500 seeds lots were stored in buried bags in soil. Half of the bags contained non-treated seeds and half fungicide treated seeds. Bimonthly collections were made and the seeds were germinated in the laboratory tests under each species optimal light and temperature. The results showed that seeds from all studied species, when buried, can remain viable in soil for a period exceeding 12 months and form a persistence seed bank. Four of the six studied species developed secondary dormancy, being three of them with seasonal cycles. The fungicide significantly increased the protection of only two species. The mortality rates were higher in species from xeric environments. Therefore, the longevity of *in situ* *Syngonanthus* seeds may be related to an endogenous protection such as the presence of chemical compounds, especially on the species from mesic habitats and flooded.

Keywords: Soil storage, seed bank, seed deterioration and secondary dormancy

Introdução

O banco de sementes do solo representa um reservatório de material genético capaz de repor os indivíduos de uma população (Baker, 1989; Simpson 1989; Bewley and Black, 1994; Doucet and Cavers, 1996). Permanecendo viáveis no solo, por tempo indeterminado, as sementes podem garantir o recrutamento de novos indivíduos através da germinação sob condições ambientais favoráveis (Vásquez-Yanes and Orozco–Segovia, 1993) e a longo prazo podem garantir estabilidade para a população (Epling *et al.*, 1960). Os bancos de sementes são classificados como transitórios, quando as sementes sobrevivem por menos de um ano, persistentes de curto prazo, quando se mantêm viáveis por um período entre um e cinco anos e persistente de longo prazo, quando a viabilidade se estende por períodos maiores de tempo (Thompson, 1993).

A persistência das sementes no solo é fortemente relacionada a características como o pequeno tamanho e a necessidade de luz para germinação (Thompson and Grime, 1983; Pons, 1991; Baskin and Baskin, 1992; Bowers, 2000). Condições desfavoráveis do meio, como alterações na temperatura e na umidade do solo, podem impor o desenvolvimento de dormência secundária que propicia a distribuição da germinação ao longo do tempo e favorecer a longevidade das sementes no solo (Priestley, 1986; Baskin and Baskin, 1988; Bewley and Black, 1994). Cavers (1983) relaciona a persistência das sementes no solo com a taxa de mortalidade, demonstrando que a viabilidade da maioria das sementes diminui com o tempo.

As perdas de sementes no banco ocorrem através da germinação ou mortalidade, que pode ser devido ao envelhecimento natural (morte fisiológica), predação ou ação de microrganismos (Simpson, 1989; Leishman *et al.*, 2000; Wijdeven and Kuzee, 2000). A ação de microrganismos é uma fonte significativa de mortalidade das sementes no solo (Crist and Friese, 1993; Leishman *et al.*, 2000; Moles *et al.*, 2003) e o pequeno tamanho das sementes e a ausência de tegumento firme são fatores associados à susceptibilidade ao ataque de microrganismos (Crist and Friese, 1993; Moles *et al.*, 2003). O tipo de habitat também favorece a deterioração das sementes (Hong *et al.*, 1997; Blaney and Kotanen, 2001), sendo que solos quentes e úmidos apresentam maiores conteúdos de matéria orgânica e conseqüentemente maior atividade de microrganismos (Hong *et al.*, 1997; Blaney and Kotanen, 2001; Espeleta and Donovan, 2002).

Syngonanthus é um gênero predominantemente herbáceo, típico dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, que ocorre em áreas rochosas, planaltos arenosos e brejosos. As espécies possuem sementes muito pequenas, lisas e sensíveis à luz (Oliveira and Garcia 2005), características que favorecem o armazenamento e a persistência no solo. O objetivo deste estudo foi avaliar a longevidade *in situ* entre sementes *in natura* e tratadas com fungicida de seis espécies de *Syngonanthus* que ocorrem em diferentes ambientes nos campos rupestres, com a finalidade de testar: se as espécies apresentam potencial para formarem banco de sementes do tipo persistente; se as sementes desenvolvem dormência secundária quando enterradas no solo; se a ação do fungicida contribui significativamente para a redução da

mortalidade das sementes no solo; se a longevidade das sementes de habitats xéricos é maior quando comparada às sementes de ambientes méxicos.

Material e métodos

Área de estudo

Os experimentos de campo foram conduzidos no Parque Nacional da Serra do Cipó. A Serra do Cipó está situada na porção Sul da Cadeia do Espinhaço, no município de Santana do Riacho, Minas Gerais, Brasil, entre as coordenadas 19°12"-19°20'S e 43°30'-43°40'W. O clima da região é do tipo tropical de altitude (Cwb na classificação de Köppen) com precipitação média anual de aproximadamente 1600 mm (Marques *et al.*, 2000). A estação chuvosa ocorre nos meses de novembro a março e a estação seca no período de abril a outubro. De acordo com os dados climáticos da estação climática do Parque Nacional da Serra do Cipó (PARNA) a temperatura na estação chuvosa, entre julho de 2004 a dezembro de 2006, oscilou entre 17 e 31 °C e na estação seca as temperaturas variaram entre 12 e 27 °C (Fig. 1).

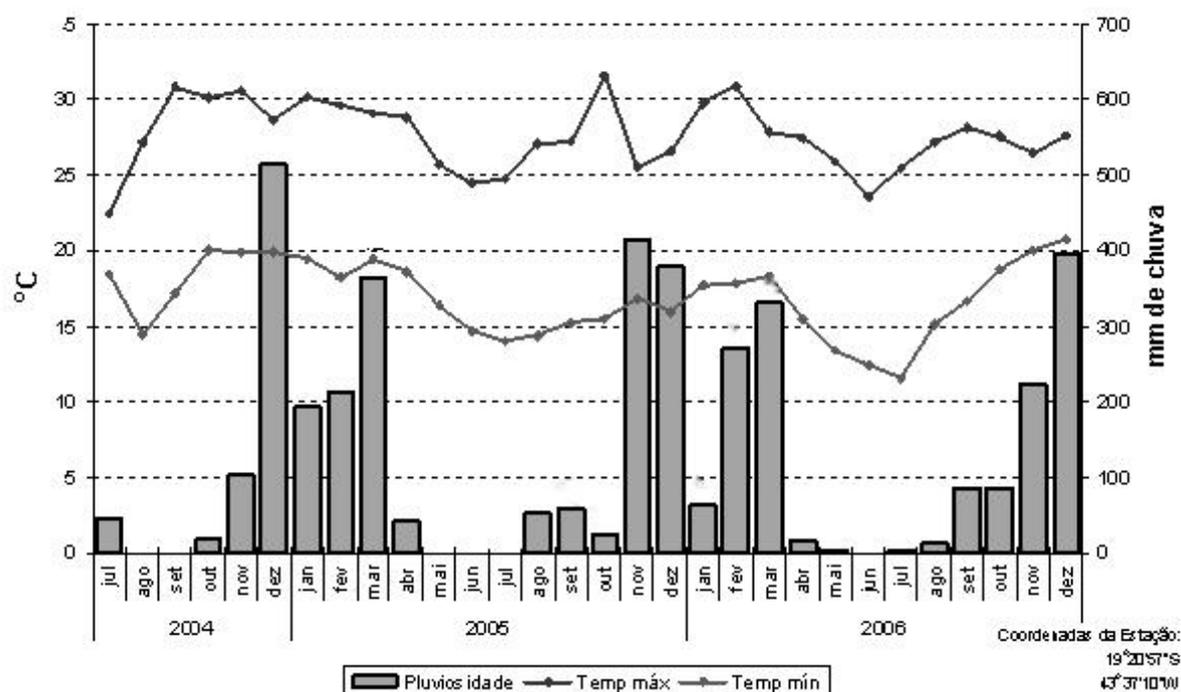


Figura 1: Precipitação mensal, número de dias com chuva e médias mensais para temperaturas máximas e mínimas. Dados colhidos quatro vezes ao dia na estação meteorológica da sede do Parque. Precipitação anual: 2004 (julho a dezembro) – 681,5 mm; 2005 – 1.743,7 mm; 2006 – 1.492,1 mm. (Dados climáticos, PARNA Serra do Cipó)

Medidas de temperatura do solo foram realizadas, uma vez ao mês, durante o período de agosto de 2007 a outubro de 2008, entre 11:00 e 13:00 h, nas duas regiões onde foi realizado o estudo. As médias foram obtidas de cinco pontos aleatórios colhidos na superfície do solo, a 5 cm de profundidade e dentro de moitas de vegetação (Fig. 2).

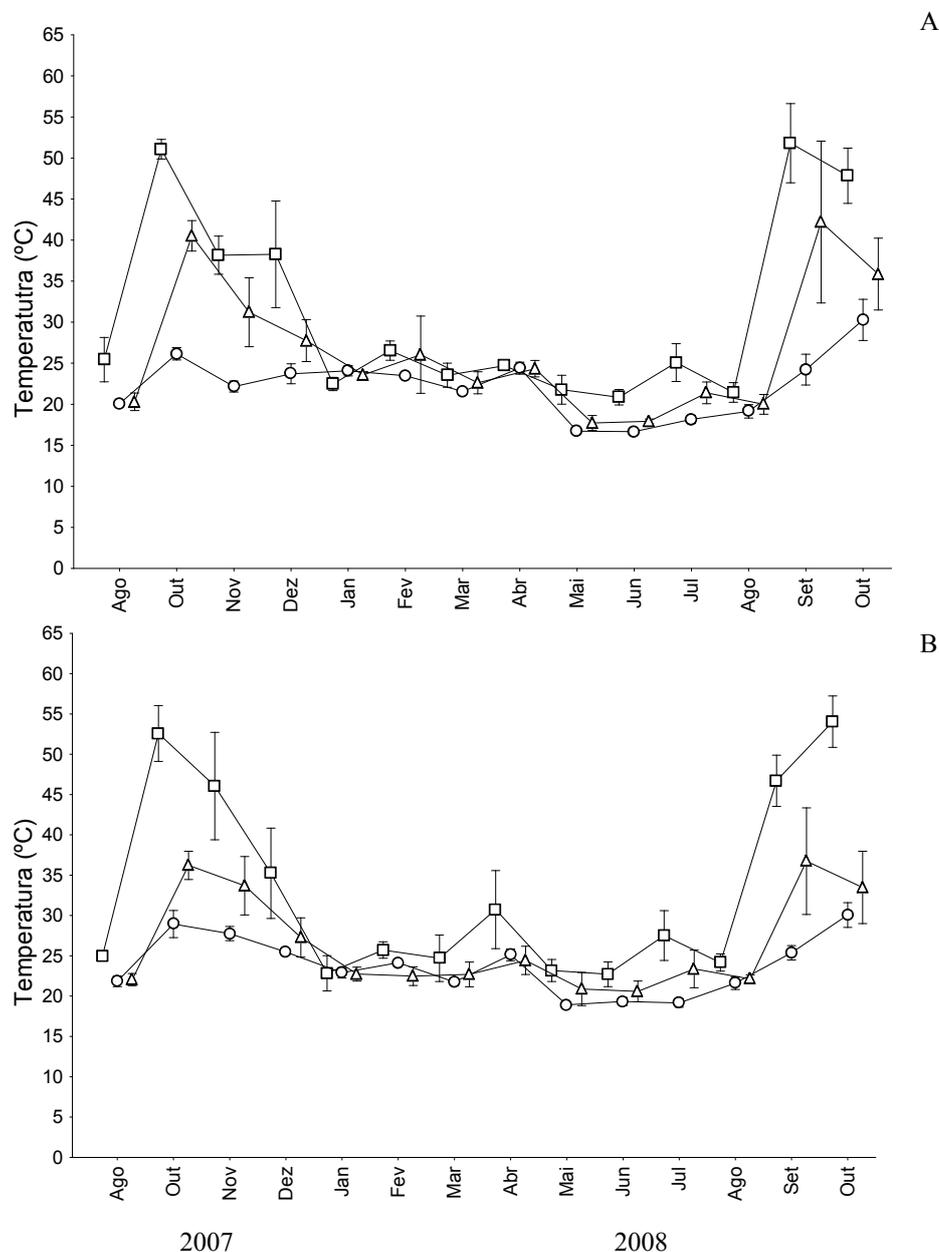


Figura 2: Médias pontuais de temperaturas registradas uma vez ao mês durante o período de agosto de 2007 a outubro de 2008 entre 11:00 e 13:00 h. Dados colhidos da superfície (□), dentro de moitas de vegetação (Δ) e a 5 cm de profundidade do solo (○), em ambientes mésico (A) e xérico (B). (Barras indicam desvio padrão)

Espécies estudadas

Capítulos de *S. anthemidiflorus* (Bong.) Ruhland, *S. bisulcatus* (Korn.) Ruhland, *S. caulescens* (Poir.) Ruhland, *S. verticilatus* (Bong.) Ruhland, foram coletadas nos campos rupestres da Serra do Cipó Minas Gerais, Brasil, enquanto as coletas de *S. elegans* (Bong.) Ruhland e *S. venustus* Silveira foram realizadas no distrito de Galheiros, município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Foram selecionados escapos florais cujos capítulos estavam em fase de dispersão, estágio no qual as sementes possuem coloração castanho-avermelhada e apresentam-se livres entre si. Em laboratório, os capítulos foram triturados em liquidificador, peneirados e as sementes separadas para a realização do experimento (Oliveira and Garcia, 2005).

Longevidade in situ

Para avaliar a longevidade no solo, as sementes foram armazenadas em sacos de malha com 55 fios, que permite a entrada e saída de água e evita a perda de sementes por predadores. Metade dos sacos continha sementes *in natura* e a outra metade sementes tratadas com o fungicida thiabendazol. O thiabendazol é um fungicida sistêmico e de amplo espectro e a concentração utilizada foi de 0,02 g do fungicida para 0,1 g de semente (Machado, 1999). O fungicida foi misturado à água destilada formando uma pasta e adicionado às sementes (Leishman *et al.*, 2000).

Os sacos foram enterrados a uma profundidade aproximada de 5 cm no solo, sendo os que continham sementes das espécies de ambientes brejosos, enterrados em solo mal drenado, sujeito ao acúmulo de água, enquanto aqueles com sementes das espécies de habitats xéricos, enterrados onde o solo é sazonalmente seco. As sementes de *S. anthemidiflorus*, *S. caulescens* e *S. verticilatus* foram enterradas em dezembro de 2005; as sementes de *S. bisulcatus* em outubro de 2006 e as sementes de *S. elegans* e *S. venustus* em dezembro de 2006. As coletas foram realizadas bimestralmente, retirando um saco para cada tratamento, completando um total de 34 meses de experimento para *S. anthemidiflorus*, *S. caulescens* e *S. verticilatus*; 26 meses para *S. bisulcatus* e 22 para *S. elegans* e *S. venustus*. Após a retirada do solo, os sacos foram envolvidos em sacos pretos de polietileno e no laboratório as sementes foram colocadas para germinar sob temperatura ótima, definida como a temperatura em que há maior germinabilidade associada a uma maior velocidade de germinação (Oliveira and Garcia, 2005 e Capítulo 1).

Em todos os experimentos, as sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri forradas com folha dupla de papel de filtro umedecidas com solução de nistatina (100 UI/L) (Lemos Filho *et al.*, 1997). Para todos os tratamentos foi utilizada uma amostragem de 200 sementes distribuídas em 4 repetições de 50. A germinação foi verificada diariamente com auxílio de uma lupa, sendo a emergência do eixo embrionário (Scatena and Menezes, 1993; Scatena *et al.*, 1996), o critério adotado para determinar a germinação. Foi também contabilizado o número de sementes intactas (que restaram na placa) e decompostas (sementes de cor preta ou apenas a casca).

Análise estatística

Os dados não apresentaram normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade pelo teste de Brown-Forsythe, realizados no software JMP (SAS Institute Inc. 2002). Os dados de germinabilidade foram submetidos a testes estatísticos não paramétricos de Kruskal-Wallis, seguido da comparação em pares pelo teste de Conover com 5% de significância (Conover, 1999), utilizando-se o Software Brightstat (Stricker, 2008). A comparação entre os dados de germinabilidade e porcentagem de sementes que restaram na placa (intactas) foram realizados através da análise de correlação de Serman e os dados de deterioração das sementes foram submetidos à análise de regressão linear (Software GraphPad Prism * versão 5.0).

Resultados

Os dados de longevidade das sementes armazenadas no solo da Serra do Cipó estão apresentados na Figura 3. As sementes enterradas de *S. verticilatus* e de *S. caulescens*, *in natura* e tratadas com fungicida, permaneceram viáveis no solo por todo o período avaliado, mostrando alta germinabilidade (acima de 85 %) no 34º mês (outubro de 2008) (Fig. 3. A e C). As sementes de *S. anthemidiflorus* apresentaram redução significativa na germinabilidade após o 12º mês de armazenamento (fevereiro de 2006) ($P < 0,05$), com nenhuma germinabilidade no 34º mês (Fig. 3 B). Sementes de *S. bisulcatus*, *S. elegans* e *S. venustus* mostraram redução significativa da germinabilidade ao longo de 26 meses (*S. bisulcatus*) e 22 meses de armazenamento (*S. elegans* e *S. venustus*), apresentando percentagens inferiores a 40 % no final do experimento (Fig. 3 D-F).

Sementes de *S. verticilatus in natura* apresentaram redução significativa da germinabilidade, a partir de fevereiro de 2006 (estação chuvosa) (máxima de 23%) e aumento significativo no mês de agosto (estação seca), alcançando porcentagens semelhantes às obtidas para as sementes recém coletadas, cerca de 80% ($P < 0,05$) (Fig. 3A). Esse resultado se repetiu nos dois anos seguintes com uma redução acentuada da germinabilidade durante a estação chuvosa e aumento significativo na estação seca. Comportamento similar foi observado para as sementes de *S. verticilatus* tratadas com fungicida (Fig. 3A) e para as sementes de *S. bisulcatus in natura* e tratadas com fungicida (Fig. 3C). A germinabilidade das sementes de *S. bisulcatus in natura* e tratadas com fungicida foi significativamente reduzida na estação chuvosa de 2007 e 2008. Na estação seca as sementes voltaram a germinar, porém, as sementes *in natura* apresentaram percentuais inferiores ao das recém coletadas ($P < 0,05$), enquanto as tratadas com fungicida mantiveram sua germinabilidade (Fig. 3C).

As sementes de *S. anthemidiflorus in natura* mostraram redução significativa da germinação nos meses de abril a agosto de 2006 (estação seca), voltando a germinar em outubro de 2006 (final da estação seca) com germinabilidade de 90% ($P < 0,05$) (Fig. 3B). Em 2007, as sementes mostraram redução na

germinabilidade na estação seca e voltaram a germinar na estação chuvosa, mas com porcentagens inferiores às das sementes recém coletadas (60%). Após o 26º mês de armazenamento as sementes apresentaram comportamento diferente dos anos anteriores, com redução da germinabilidade no final da estação chuvosa e pequeno aumento na estação seca. As sementes de *S. anthemidiflorus* tratadas com fungicida mostraram germinação reduzida em meados da estação seca de 2006 (abril e junho) com aumento em agosto, alcançando 60% de germinação ($P < 0,05$). Durante a estação chuvosa de 2007 e 2008 as porcentagens variaram entre 40 e 20%, com aumento na estação seca (superior a 70%) (Fig. 3B).

A germinabilidade das sementes de *S. caulescens* no segundo mês de armazenamento (fevereiro 2006) foi significativamente superior em relação à das sementes recém coletadas, passando de 19% para cerca de 90% (Fig. 3D). Durante o período de armazenamento a germinabilidade das sementes *in natura* foi significativamente reduzida em épocas esporádicas, independente da sazonalidade ($P < 0,05$) e a germinação das sementes tratadas com fungicida foi reduzida em junho de 2006 e junho de 2007. Após 34 meses de armazenamento as sementes de *S. caulescens in natura* e tratadas com fungicida, apresentaram altas porcentagens de germinação, aproximadamente 90% (Fig. 4D).

A germinabilidade das sementes de *S. elegans* e *S. venustus in natura* e tratadas com fungicida foi muito reduzida desde o segundo mês de armazenamento (Fig. 3E e F) e manteve-se baixa em relação às sementes recém coletadas durante os 22 meses de armazenamento no solo ($P < 0,05$).

O percentual de sementes não germinadas que restaram nas placas (íntactas) durante o período de armazenamento está apresentado na figura 4. O número de sementes íntactas foi inversamente proporcional ao das sementes germinadas para quatro espécies estudadas. A correlação foi significativa para *S. verticilatus* ($r_{in natura} = -0,66$ $P = 0,0034$ e $r_{fungicida} = -0,90$ $P < 0,0001$), *S. caulescens* ($r_{in natura} = -0,57$ $P = 0,0154$ e $r_{fungicida} = -0,98$ $P < 0,0001$) e para sementes de *S. bisulcatus* e *S. anthemidiflorus* tratadas com fungicida ($r_{fungicida} = -0,62$ $P = 0,0210$ e $r_{fungicida} = -0,97$ $P < 0,0001$, respectivamente). Nas sementes *in natura* de *S. anthemidiflorus* a correlação foi significativa nos 12 primeiros meses de armazenamento ($r_{in natura} = -0,89$ $P < 0,0001$). Não foi encontrada correlação para *S. elegans* e *S. venustus*.

Os dados de deterioração das sementes de *S. anthemidiflorus in natura* indicou uma relação linear significativa entre o percentual de deterioração e o tempo de armazenamento no solo ($r_{in natura} = 0,76$ $P < 0,0001$) (Fig. 5A). A deterioração foi inferior a 12,5% nos primeiros 12 meses e alcançou valores acima de 90% no 26º mês de armazenamento (fevereiro de 2008). O tratamento com o fungicida reduziu significativamente a taxa de mortalidade das sementes de *S. anthemidiflorus* ($r_{fungicida} = 0,1$ $P = 0,0774$). A porcentagem de deterioração das sementes tratadas foi inferior a 5% ao longo do período de armazenamento no solo e para sementes *in natura* alcançou 95% (Fig. 5A).

A análise dos dados das sementes de *S. verticilatus*, *S. caulescens*, *S. bisulcatus* e *S. venustus* não mostrou relação linear entre a porcentagem de deterioração e tempo de armazenamento. A taxa de mortalidade das sementes de *S. verticilatus* foi muito baixa durante os 34 meses de armazenamento no solo, sem diferenças significativas entre os dois tratamentos ($r_{in natura} = 0,02$ $P = 0,5667$ e $r_{fungicida} = 0,00$

$P= 0,9373$) (Fig 5B). Resultados similares foram obtidos para sementes de *S. caulescens* ($r_{in\ natura} = 0,02$ $P= 0,5667$ e $r_{fungicida} = 0,002$ $P= 0,8582$) (Fig. 5C). O percentual de deterioração das sementes de *S. bisulcatus in natura* foi alto, superior a 50%, no segundo mês de armazenamento, que se manteve durante os 26 meses de armazenamento no solo ($r_{in\ natura} = 0,00$ $P= 0,9983$) (Fig. 5D). O tratamento com fungicida reduziu a taxa de mortalidade das sementes de *S. bisulcatus* ($r_{fungicida} = 0,37$ $P= 0,0256$). O percentual de deterioração declinou durante o armazenamento (Fig. 5D). A taxa de mortalidade das sementes de *S. venustus* foi alta, superior a 50%, desde o segundo mês de armazenamento e se manteve relativamente constante durante o experimento ($r_{in\ natura} = 0,06$ $P= 0,4433$ e $r_{fungicida} = 0,001$ $P= 0,9018$), sem diferença significativa entre os tratamentos (Fig 5F).

O percentual de deterioração de sementes de *S. elegans in natura* e tratadas com fungicida aumentou com o tempo de armazenamento ($r_{in\ natura} = 0,56$ $P= 0,0077$ $r_{fungicida} = 0,44$ $P= 0,0257$), sem diferença entre os tratamentos (Fig. 5E).

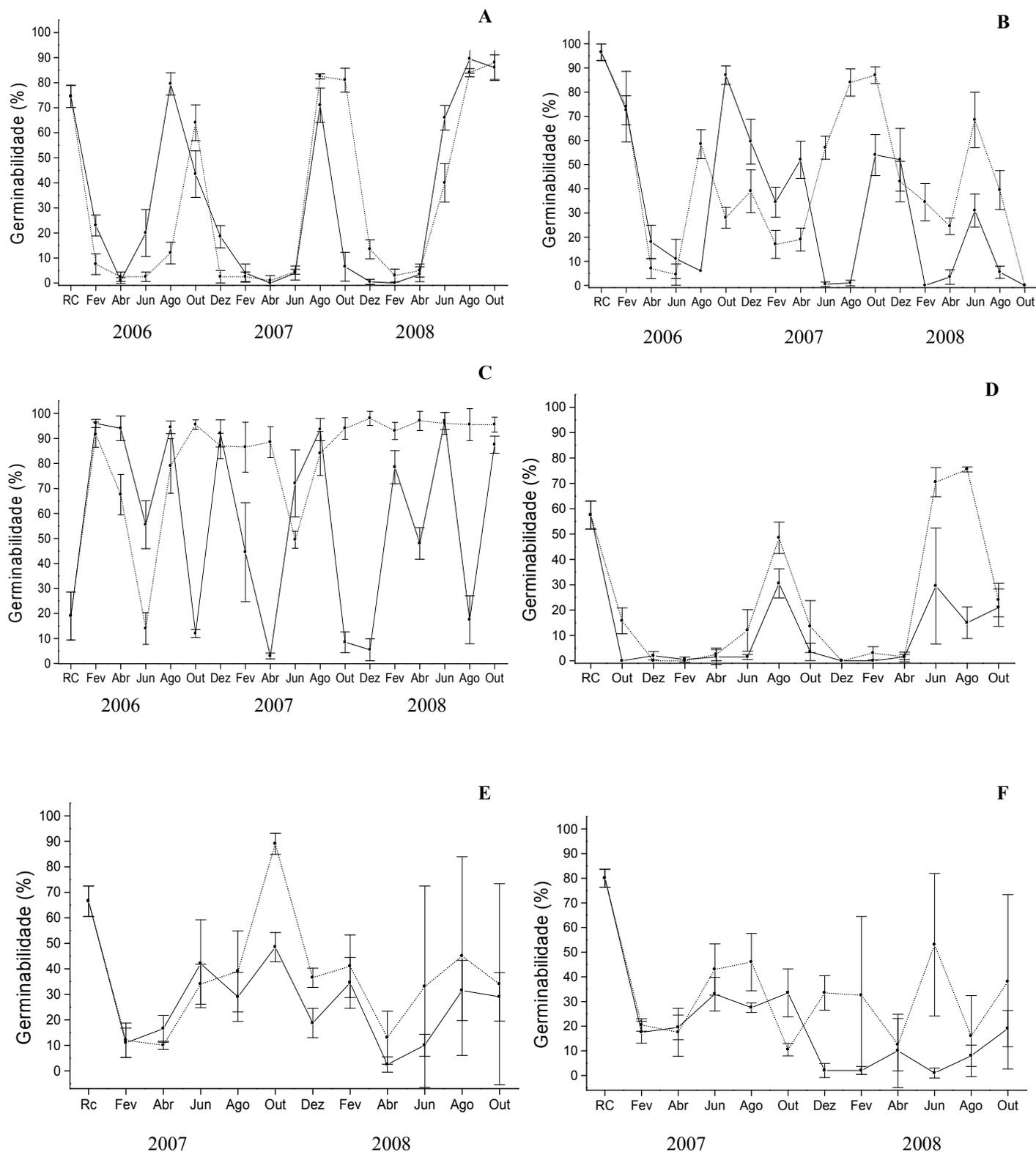


Figura 3. Porcentagem de germinação, sob luz contínua e temperatura ótima, durante o período de armazenamento no solo da Serra do Cipó, de sementes de *S. verticilatus* (A), *S. anthemidiflorus* (B), *S. caulescens* (C) por 34 meses, *S. bisulcatus* (D) por 26 meses; *S. elegans* (E) e *S. venustus* (F) por 22 meses. Linha contínua (sementes *in natura*) e linha pontilhada (sementes com fungicida), RC (recém coletada) (Barras indicam desvio padrão)

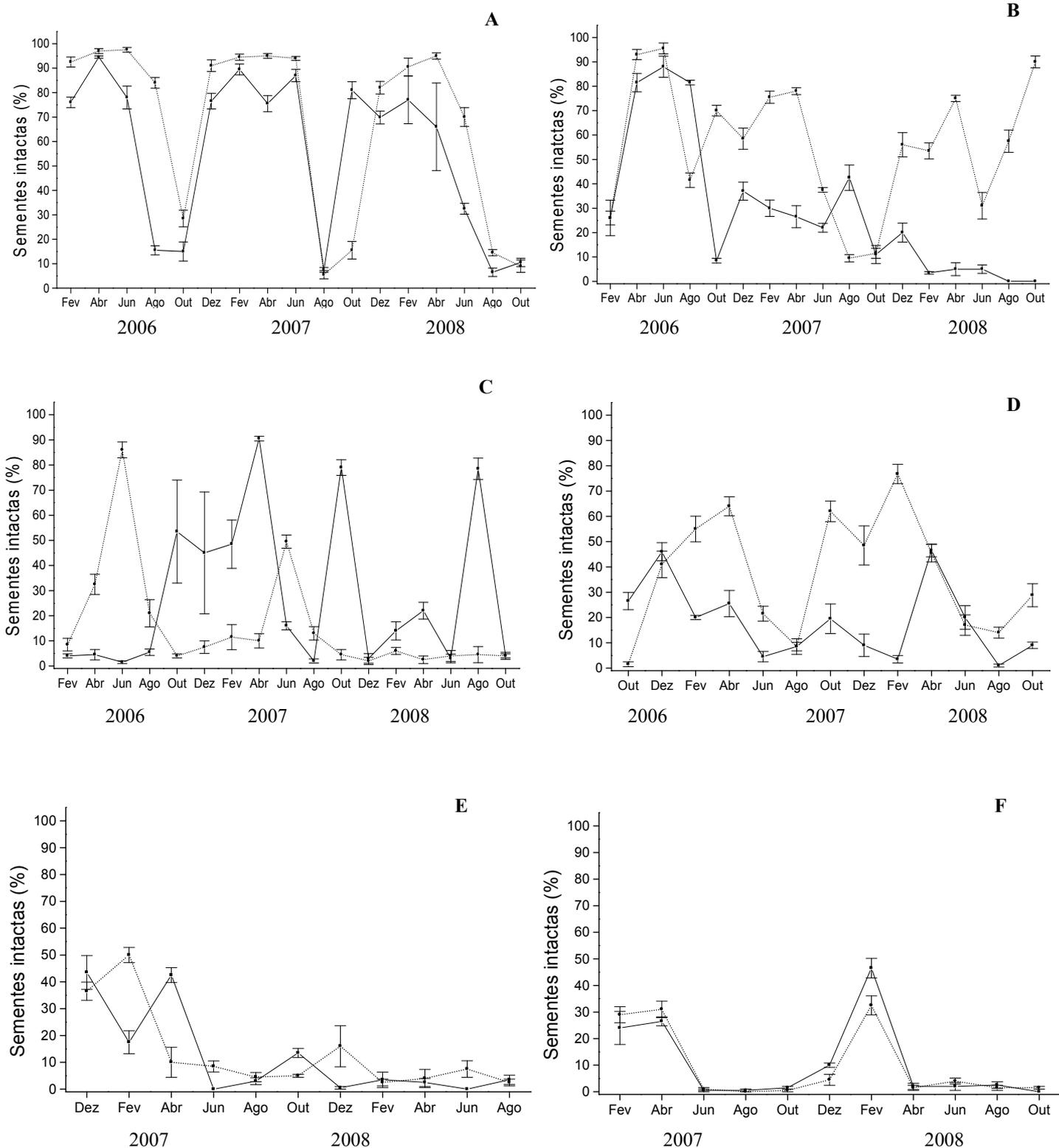


Figura 4. Porcentagem final de sementes intactas, sob luz contínua e temperatura ótima, durante o período de armazenamento no solo da Serra do Cipó, para *S. verticilatus* (A), *S. anthemidiflorus* (B), *S. caulescens* (C) por 34 meses, *S. bisulcatus* (D) por 26 meses; *S. elegans* (E) e *S. venustus* (F) por 22 meses. Linha contínua (sementes *in natura*) e linha pontilhada (sementes com fungicida), RC (recém coletada). Barras indicam desvio padrão.

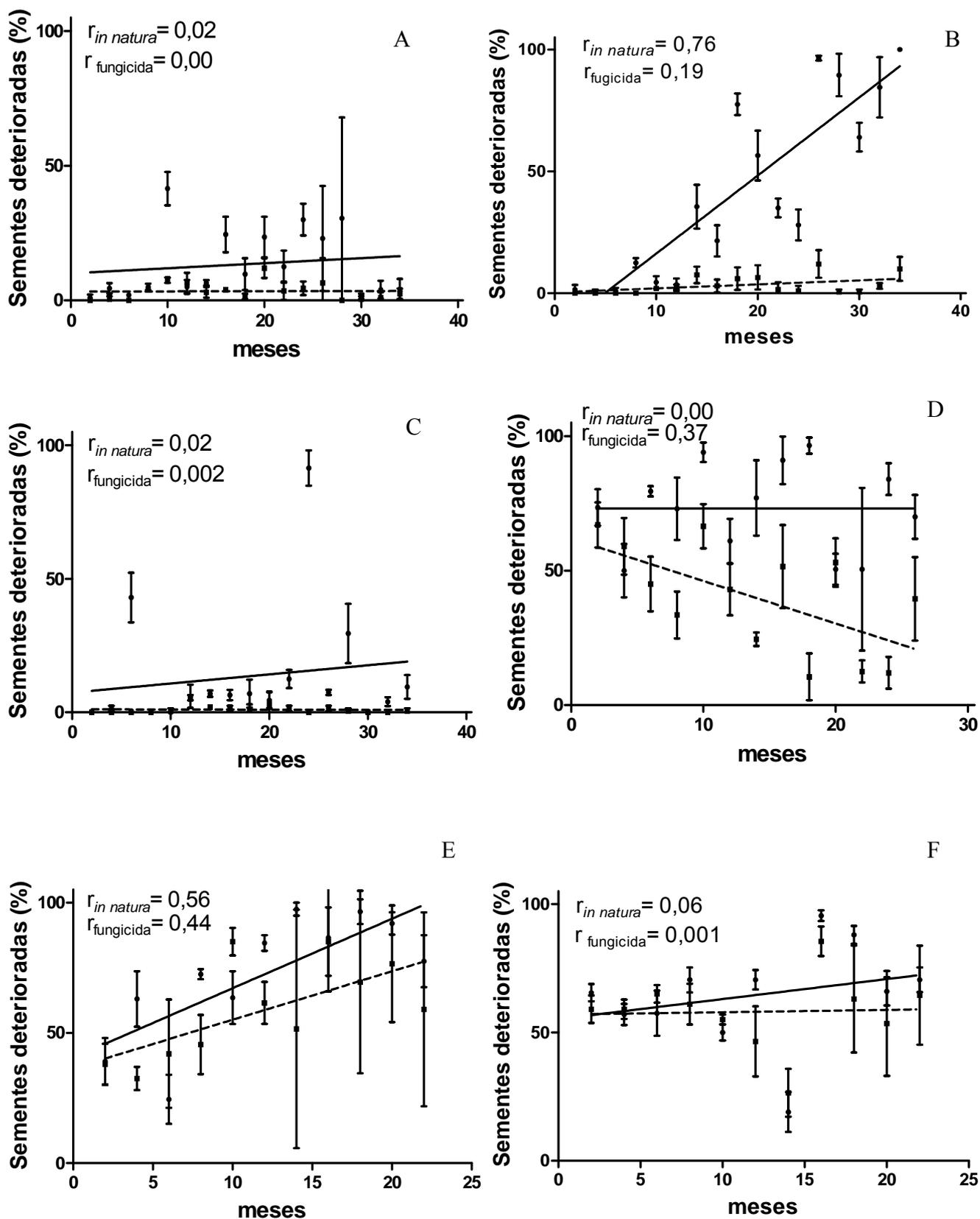


Figura 5. Relação entre percentual final de sementes deterioradas e o tempo de armazenamento no solo da Serra do Cipó, para *S. verticilatus* (A), *S. anthemidiflorus* (B), *S. caulescens* (C) por 34 meses, *S. bisulcatus* (D) por 26 meses; *S. elegans* (E) e *S. venustus* (F) por 22 meses. Linha contínua (sementes *in natura*) e linha pontilhada (sementes com fungicida). Barras indicam desvio padrão.

Discussão

A temperatura e a umidade do solo são os principais fatores que afetam o comportamento da semente sob condições naturais e influenciam a viabilidade e a longevidade *in situ* (Bewley and Black, 1994). Durante o armazenamento no solo foram observadas diferenças no comportamento das sementes das espécies estudadas, que podem ser atribuídas parcialmente a alterações de temperatura e umidade do solo.

As sementes de *S. verticilatus* exibiram claramente um modelo de ciclo de dormência anual. Com a baixa precipitação e o aumento da temperatura do solo em outubro (final da estação seca) a germinabilidade foi reduzida e as sementes permaneceram dormentes durante a estação chuvosa. No final da estação chuvosa e início da seca, com redução da temperatura e umidade do solo, as sementes voltaram a germinar com porcentagens semelhantes à das sementes recém coletadas. Sementes de *S. bisulcatus* mostraram comportamento similar, apresentando germinabilidade reduzida durante a estação chuvosa e aumento na germinação em meados da estação seca, apesar de grande parte das sementes desta espécie ter perdido a viabilidade ao final do experimento. A redução da germinação durante a estação chuvosa, com alto número de sementes intactas nas placas, indica que as sementes de ambas as espécies desenvolvem dormência secundária que é perdida na estação seca, após a exposição das sementes a temperaturas mais baixas e menor umidade do solo (Fig. 1 e 2). Segundo Karsen (1980), as sementes desenvolvem dormência secundária durante o período precedente à estação em que as condições são desfavoráveis ao crescimento e desenvolvimento. Assim, a inibição da germinabilidade das sementes de *S. verticilatus* e *S. bisulcatus* durante a estação chuvosa indica que as espécies evitam o estabelecimento da plântula na estação seca.

S. anthemidiflorus também apresentou ciclo de dormência anual durante os dois primeiros anos de estudo. A exposição das sementes a baixas temperaturas e menor umidade durante a estação seca induziu o desenvolvimento da dormência secundária caracterizada pela redução na germinação. A dormência foi quebrada com o aumento da temperatura e da umidade do solo no final da estação seca e início da chuvosa (Fig 1 e 2). Em fevereiro de 2006 as sementes apresentaram alta germinabilidade (70 %) e a redução foi registrada em abril, quando se observa uma diminuição na precipitação acompanhada por uma queda da temperatura e umidade do solo. O aumento da germinabilidade das sementes enterradas em outubro coincide com o aumento da temperatura do solo acompanhado do aumento da umidade (início da estação chuvosa). A população estudada de *S. anthemidiflorus* é proveniente de habitat xérico, dessa forma a germinação das sementes poderá ocorrer quando as mesmas forem expostas à luz, e a umidade do solo não for um fator limitante. Sementes de *Xyris trachyphylla* (Xyridaceae), uma espécie típica dos campos rupestres, também desenvolveram dormência secundária durante a estação seca, que foi quebrada com o início da estação chuvosa (Abreu, 2004).

O comportamento observado para as sementes de *S. anthemidiflorus in natura*, durante os dois primeiros anos de estudo, parece ter sido perdido no terceiro ano de armazenamento no solo. A queda brusca na germinabilidade durante a estação chuvosa em fevereiro de 2008 (correspondente ao 26º mês de armazenamento) e a germinação durante a estação seca (junho de 2008), observadas também nas sementes tratadas com fungicida, indicam uma mudança no comportamento das sementes no solo com o tempo de armazenamento. Para as sementes *in natura*, a queda na germinabilidade pode estar relacionada com aumento significativo da deterioração no 26º mês de armazenamento. Por outro lado, o aumento na germinabilidade das sementes tratadas com fungicida em junho de 2008 e a redução em outubro, associada à baixa porcentagem de sementes deterioradas (<5%) sugere uma mudança no nível de dormência com o tempo de armazenamento. Em geral, as sementes alteram sua sensibilidade com o envelhecimento (Kruk and Benech-Arnold, 2000). A redução da germinabilidade em outubro de 2008, apesar de permanecerem intactas, sugere que as sementes tratadas de *S. anthemidiflorus* sofreram alguma alteração fisiológica que as mantiveram dormentes no período ou que as mesmas perderam a viabilidade sem sinais visíveis de deterioração.

Sementes de *S. caulescens* perderam a dormência inata durante o armazenamento no solo. A germinabilidade passou de 19% nas sementes recém coletadas para 96% no segundo mês de armazenamento no solo. As sementes também apresentaram dormência em intervalos de tempos irregulares, exibindo uma germinação intermitente. Este comportamento também foi observado em *Onopordum acanthium* (Asteraceae) (Qaderi *et al.*, 2002), cujas cipselas necessitam de um período pós-maturação para germinarem e perdem a dormência inata durante o armazenamento no solo, exibindo germinação em intervalos de tempo irregulares. Segundo Qaderi *et al.* (2002) esta é uma estratégia de sobrevivência que leva a um modelo intermitente de emergência da plântula apenas quando os períodos são favoráveis à germinação.

Sementes de *S. elegans* e *S. venustus* não desenvolveram dormência secundária durante o armazenamento. Ambas as espécies mostraram perda da viabilidade caracterizada pela deterioração e germinabilidade com porcentagens inferiores a 50% após os 22 meses de armazenamento no solo.

O tamanho pode ser negativamente correlacionado com a longevidade das sementes no solo (Moles *et al.*, 2003; Thompson, 2000). Sementes com massa < ca. 0,14 mg exibem forte tendência de se acumularem no solo, enquanto sementes com massa > 2,7 mg são quase que completamente ausentes no banco de sementes (Norbert and Annette 2004). As sementes das seis espécies estudadas são muito pequenas (< 0,1 mg), fotodormentes (Capítulo 1) e mantiveram a longevidade no solo por períodos superiores a 12 meses. A alta viabilidade das sementes de *S. caulescens* e *S. verticilatus* verificada após 34 meses de armazenamento no solo mostra que estas espécies formam bancos de sementes do tipo persistente (*sensu* Thompson, 1993). A manutenção da viabilidade de parte das sementes de *S. anthemidiflorus* por quase três anos, de *S. bisulcatus* por 26 meses, *S. elegans* e *S. venustus* por 22 meses, indica o potencial destas espécies para formar banco de sementes do tipo persistente, embora esse banco

seja relativamente pequeno (*sensu* Baskin and Baskin, 1996). Outros estudos realizados com espécies de Velloziaceae (Diniz, 2002) e Xyridaceae (Abreu, 2004), típicas de campos rupestres, mostram que as sementes são pequenas, fotoblásticas positivas e apresentam potencial para formarem banco de sementes persistente no solo.

S. verticilatus e *S. caulescens* apresentaram taxas muito baixas de deterioração (inferior a 10%) e alta viabilidade no solo, enquanto as espécies que formaram pequeno banco de sementes apresentaram porcentagens muito altas de deterioração (acima de 50%). A alta taxa de deterioração apresentada pelas sementes das espécies estudadas pode ser devido à ação dos microrganismos. A adição de fungicida reduziu significativamente a taxa de mortalidade das sementes de duas espécies, *S. anthemidiflorus* e *S. bisulcatus*. Nas outras, a diferença na porcentagem de deterioração entre sementes *in natura* e tratadas com fungicida não foi significativa. A resposta das sementes ao tratamento com fungicida sugere que a ação dos microrganismos seja a principal causa da perda das sementes de *Syngonanthus* no solo. Por outro lado, Mourik *et al.* (2005) mostram que alta taxa de deterioração também pode ser atribuída à proximidade entre as sementes dentro do *bag*. Devido a proximidade, uma semente infectada aumenta as chances de infecção das outras, o que pode causar alta deterioração das sementes dentro do *bag*. Desta forma, a deterioração verificada neste estudo pode ter sido superestimada e a viabilidade das sementes pode ser mantida por um período maior no banco de sementes natural. Em contrapartida, o pequeno efeito da adição do fungicida em quatro das espécies estudadas indica que as mesmas apresentam uma defesa química atuando na proteção de suas sementes.

S. verticilatus, *S. caulescens*, *S. bisulcatus* e *S. venustus*, espécies de ambientes méxicos/alagados, mantiveram a taxa de deterioração relativamente constante durante todo o período de armazenamento no solo, enquanto *S. anthemidiflorus* e *S. elegans*, espécies de ambiente xéricos, mostraram uma tendência de aumento na taxa de mortalidade das sementes com o tempo de armazenamento. O fato das espécies de habitats méxicos não aumentarem sua taxa de deterioração ao longo do experimento indica que estas apresentam uma estratégia de defesa contra a ação dos microrganismos, provavelmente com a produção de compostos químicos que atuam na proteção das sementes. A atividade antimicrobiana dos extratos clorofórmico e metanólico das sementes armazenadas de *S. verticilatus* e *S. venustus* contra mais de um microrganismo evidencia a proteção química que pode contribuir para aumentar a longevidade das sementes no solo (Capítulo 2). Salatino *et al.* (1990) mostraram que espécies aquáticas de *Leiothrix* (Eriocaulaceae) possuem altas concentrações de compostos fenólicos em comparação a seus congêneres terrestres e sugerem que esta seja uma adaptação à sobrevivência em ambientes aquáticos.

Apesar do alto percentual de deterioração apresentado pelas sementes de *S. anthemidiflorus* após 34 meses de armazenamento, durante os primeiros 14 meses, a taxa de mortalidade foi baixa (inferior a 18%) alcançando 50% após o 20º mês. A baixa deterioração no primeiro ano pode estar relacionada à defesa química das sementes. Os extratos clorofórmico e metanólico das sementes armazenadas por um ano no solo mostraram atividade contra dois microrganismos (Capítulo 2) e a alta taxa de deterioração após esse

período pode estar associada à perda dessa atividade com o tempo de armazenamento. Diferentemente, as sementes de *S. elegans* alcançaram 50% de deterioração já no quarto mês de armazenamento e apresentaram baixa atividade antimicrobiana; apenas o extrato clorofórmico das sementes armazenadas mostrou atividade contra um microrganismo (Capítulo 2). *S. elegans* está incluída na lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção devido à coleta predatória que geralmente ocorre antes da produção de sementes (Giulietti *et al.*, 1988; Menezes and Giulietti, 2000). A espécie forma um pequeno banco de sementes persistente e apresenta altas taxas de deterioração, resultados que reforçam a necessidade do desenvolvimento de um plano de manejo sustentável para a conservação dessa espécie e de seu habitat.

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que, por apresentarem tamanho muito pequeno e exigência de luz para germinação, as sementes de todas as espécies estudadas, quando enterradas, podem permanecer viáveis no solo por um período superior a 12 meses e formar banco de sementes do tipo persistente. Quatro das seis espécies estudadas desenvolveram dormência secundária, sendo três delas com marcantes ciclos sazonais. O fungicida utilizado atuou positivamente na proteção de apenas duas espécies (*S. anthemidiflorus* e *S. bisulcatus*) e, ao contrário do esperado, as taxas de mortalidade foram maiores nas espécies de ambientes xéricos. Portanto, a longevidade das sementes de *Syngonanthus* no solo pode ser relacionada a uma proteção endógena como a presença de compostos do metabolismo secundário, especialmente as espécies de habitats méxicos e alagados, concordando com Salatino *et al.* (1990).

Referência Bibliográfica

- Abreu, M. E. P.** (2004) *Germinação e formação de banco de sementes de espécies de Xyris (Xyridaceae) da Serra do Cipó*. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Baker, H. G.** (1989) Some aspects of the natural history of seed banks, pp. 9-21 *In* Leck, M. A; Parker, V. T. and Simpson, R. L. (eds.) *Ecology of soil seed banks* Acad. Press. London.
- Baskin, J. M. and Baskin, C. C.** (1988) Germination ecophysiology herbaceous plant species in a temperature region. *American Journal of Botany* **75**, 286-305
- Baskin, J. M. and Baskin, C. C.** (1992) Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of disturbed forest. I. *Lobelia inflata*. *Canadian Journal of Botany* **70**, 589-592.
- Baskin, J. M. and Baskin, C. C.** (1996) Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of weedy species of disturbed forests. II. *Erechtites hieracifolia*. *Canadian Journal of Botany* **74**, 2002-2005.
- Bewley, J. D. and Balck, M.** (1994) *Seeds: Physiology of Development and Germination*. 2^a ed. 445 p.
- Blaney, C. S. and Kotanen, P. M.** (2001) Effects of fungal pathogens on seeds of native and exotic plants: a test using congeneric pairs. *Journal of Applied Ecology* **38**, 1104-1113.
- Bowers, J. E.** (2000) Does *Ferocactus wislizeni* (Cactaceae) have a between-years seed bank? *Journal of Arid Environments* **45**, 197-205.
- Cavers, P. B.** (1983) Seed demography. *Canadian Journal of Botany* **61**, 3578-3590.
- Conover, W. J.** (1999) *Practical Nonparametric Statistics*. 3^a ed. New York, John Wiley and Sons.
- Crist, T. O. and Friese, C. F.** (1993) The impact of fungi on soil seeds: implications for plants and granivores in a semiarid shrub-steppe. *Ecology* **74**, 2231-2239.
- Diniz, I. S. S.** (2002) *Comportamento germinativo e potencial para formação de banco de sementes em espécies de Velloziaceae da Serra do Cipó (MG)*. Dissertação. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.
- Doucet, C. and Cavers, P. B.** (1996) A persistent seed bank of the bull thistle *Cirsium vulgare*. *Canadian Journal of Botany* **74**, 1386-1391.
- Espeleta, J. F. and Donovan.** (2002) Fine root demography and morphology in response to soil resources availability among xeric and mesic sandhill tree species. *Functional Ecology* **16**: 113-121.
- Epling, C., Lewis, H. and Ball, F.** (1960) The breeding group and seed storage: a study in populations dynamics. *Evolution* **14**, 238-255.
- Giulietti, N., Giulietti, A. M., Pirani, J. R. and Menezes, N. L.** (1988) Estudos de sempre-vivas, importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **1**, 179-194.
- Hong, T. D., Ellis, R. H. and Moore, D.** (1997) Development of a model to predict the effect of temperature and moisture on fungal spore longevity. *Annals of Botany* **79**, 121-128.

- Karsen, C. M.** (1980) Patterns of change in dormancy during burial of seeds in soil. *Israel Journal of Botany* **29**, 65-73
- Kruk, B. C. and Benech-Arnold, R. L.** (2000) Evaluation of dormancy and germination responses to temperature in *Carduus acanthoides* and *Anagallis arvensis* using a screening system, and relationship with field-observed emergence patterns. *Seed Science Research* **10**, 77-88.
- Leishman, M. R., Masters, G. J., Clarke L. P. and Brown, V. K.** (2000) Seed bank dynamics: the role of fungal pathogens and climate change *Functional Ecology* **14**, 293-299.
- Lemos filho, J. P., Guerra, S. T. M., Lovato, M. B. and Scotti, M. R. M. M. L.** (1997) Germinação de sementes de *Senna macranthera*, *Senna multifuga* e *Stryphnodendron polyphyllum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **32**, 357-361.
- Machado, J. C.** (1999) Manejo Sanitário de sementes no controle de doenças Lavras: UFLA/FAEPE
- Marques, A. R., Garcia, Q. S., Resende, J. L. P. and Fernandes, G. W.** (2000) Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. *Tropical Ecology* **41**, 47-60.
- Menezes, N. Z. and Giulietti, A. M.** (2000) Campos Rupestres In Fundação Biodiversitas e Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte (FZB-BH) *Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de extinção da Flora de Minas Gerais*. pp 65-73.
- Moles, A., T., Warton, D. I. and Westoby, M.** (2003) Seed size and survival in the soil in arid Australia. *Austral Ecology* **28**, 575-585.
- Mourik, T. A. V., Stomph, T. J. and Murdoch, A. J.** (2005) Why high seed densities within buried mesh bags may overestimate depletion rates of soil seed banks. *Journal of Applied Ecology* **42**, 299-305.
- Norbert, H. and Annette, O.** (2004) Assessing soil seed bank persistence in floodmeadows: The search for reliable traits. *Journal of Vegetation Science* **15**, 93-100.
- Oliveira, P. G. and Garcia, Q. S.** (2005) Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Syngonanthus elegantulus* Ruhland, *S. elegans* (Bong.) Ruhland e *S. venustus* Silveira (Eriocaulaceae). *Acta Botanica Brasílica* **19**, 639-645.
- Pons, T. L.** (1991) Induction of dark dormancy in seeds: its importance for the seed bank in the soil. *Functional Ecology* **5**, 669-675.
- Priestley, D. A.** (1986) The longevity of seeds in the soil, pp. 88-104 In (eds) *Seed Aging: Implications for seed storage and persistence in the soil*.
- Qaderi, M. M., Cavers, P. B. and Bernards, M. A.** (2002) Seed bank dynamics of *Onopordum acanthium*: emergence patterns and chemical attributes. *Journal of Ecology* **90**, 672-683.

- Thompson, K.** (1993) Seeds, pp. 176-205 *In* Hendry, G. A. F. and Grime, J. P. (eds.) *Methods in comparative plant ecology* Chapman & Hall, Great Britain.
- Thompson, K.** (2000) The functional ecology of soil seed banks, pp. 215-236 *In* Fenner, M (ed) *The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, CAB International Wallingford, UK.
- Thompson, K and Grime, J. P.** (1983) A comparative study of germination responses to diurnally-fluctuating temperatures. *Journal of Applied Ecology* **20**,141-156.
- Salatino, A., Salatino, M. L. F. and Giulietti, A. M.** (1990) Contents of soluble phenolic compounds of capitula of Eriocaulaceae *Química Nova* **13**, 289-292.
- Scatena, V. L. and Menezes, N. L.** (1993) Embryology and seedling development in *Syngonanthus rufipes* Silveira (Eriocaulaceae). *Beitraege Zur Biologie der Pflanzen* **67**, 333-343.
- Scatena, V. L., Lemos, F. J. P. and Lima, A. A. A.** (1996) Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus elegans* e *S. niveus* (Eriocaulaceae). *Acta Botanica Brasilica* **10**, 85-91.
- Simpson, R. L.** (1989) Seed banks: general concepts and methodological Issues, pp.3-8 *In* Leck, M. A.; Parker, V. T. and Simpson, R. L.(eds.) *Ecology of soil seed banks* London.
- Stricker, D.** (2008). BrightStat.com: Free statistics online. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* **92**, 135-143.
- Vázquez-Yanes C and Orozco-Segovia, A.** (1993) Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**, 69-87.
- Wijdeven, S. M. J. and Kuzee, M. E.** (2000) Seed availability as a limiting factor in forest recovery processes in Costa Rica. *Restoration Ecology* **8**, 414-424.