



# Efeitos de fatores ambientais sobre a germinação de sementes de *Nymphoides indica* (L.) O. Kuntze (Menyanthaceae)

*Effects of environmental factors on germination of seeds Nymphoides indica* (L.) O. Kuntze (Menyanthaceae)

Thasiana de Lima Batista<sup>[a]</sup>, Marcio de Araújo Freire<sup>[b]</sup>, Ubiracy Allan Sousa Magalhães<sup>[a]</sup>, Ioni Gonçalves Colares<sup>[c]</sup>

## Resumo

*Nymphoides indica* é uma macrófita aquática de distribuição pantropical cosmopolita. Neste trabalho avaliamos a influência da temperatura, fotoperíodo e soterramento na germinação de sementes de *N. indica*. Amostras de sementes foram coletadas no Lago Sete, localizado no Câmpus Carreiros da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. A viabilidade foi testada em amostras de 25 sementes com 0, 30, 60 dias de armazenamento utilizando o teste de tetrazólio. Sementes com 0, 30, 60 dias foram submetidas a temperaturas alternadas de 10 °CD-05 °CN; 15 °CD-05 °CN; 15 °CD-10 °CN; 20 °CD-10 °CN; 20 °CD-15 °CN; 25 °CD-15 °CN; 25 °CD-20 °CN; 30 °CD-20 °CN; 30 °CD-25 °CN (Diurna-Noturna) em fotoperíodo constante de 12hL-12hE (Luz-Escuro), durante 30 dias. Para cada teste, quatro réplicas de 25 sementes foram acondicionadas em beakers preenchidos com água do Lago Sete, até a altura de 6 cm. A seguir as sementes foram submetidas a temperaturas de 20 °CD-15 °CN, 30 °CD-25 °CN, no escuro e nos fotoperíodos 10hL-14hE, 12hL-12hED e 14hL-10hE, e nos tratamentos de soterramento de 0,1 e 10 mm. Maiores temperaturas favoreceram a germinação, que foi inibida nas temperaturas de 10 °CD-05 °CN. Na temperatura de 20 °CN-15 °CD a porcentagem de germinação (PG) e a taxa de germinação (TG) aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ), por causa da exposição à luz. Em 30 °CD-25 °CN, os valores de PG e TG não apresentaram mudanças significativas nos diferentes tratamentos de luz. Sob soterramento, as sementes germinaram em todas as profundidades testadas, com maior PG no soterramento zero, temperatura de 20 °CD-15 °CN e fotoperíodo de 10hL-14hE. Os resultados obtidos neste estudo mostram que temperaturas alternadas e luz favorecem a germinação.

**Palavras-chave:** Fotoperíodo. Germinação. Soterramento. Temperatura.

## Abstract

*Nymphoides indica* is an aquatic macrophyte distribution pantropical cosmopolitan. In this study the influence of temperature, photoperiod and burial on seed germination of *N. indica* was evaluated. Seed samples were collected in Lake Seven. Viability was tested on samples of 25 seeds with 0, 30, 60 day storage test using tetrazolium. Seeds with 0, 30, 60 days were subjected to temperatures of 10 °CD-05 °CN; 15 °CD-05 °CN; 15 °CD-10 °CN; 20 °CD-10 °CN; 20 °CD-15 °CN; 25 °CD-15 °CN; 25 °CD-20 °CN; 30 °CD-20 °CN; 30 °CD-25 °CN (daytime-Evening) in constant photoperiod-12hL 12hD (light-dark) for 30 days. For each test, four replicates of 25 seeds were placed in beakers filled with water from Lake Seven, to the height of 6cm. Then the seeds were subjected to temperatures of 20 °CD-15 °CN, 30 °CD-25 °CN in the dark and photoperiods 10hL-14hE, 12hL-12hED and 14hL-10hE, and depth of burial of 0, 1 and 10mm. Higher temperatures favor the germination, which was inhibited at temperatures of 10 °CD-05 °CN. At 20 °CD-15 °CN germination percentage (GP) and germination rate (TG) increased significantly ( $p < 0.05$ ), due to exposure to light. At 30 °CD-25 °CN, the values of GP and TG levels showed no significant change in the various light treatments. Under burial, the seeds germinate at depths tested, with greater burying zero in the PG, 20 °CD-15 °CN and 10hL 14hE photoperiod. The results of this study show that alternating temperatures and light favor the germination.

**Keywords:** Burying. Photoperiod. Seed germination. Temperature.

- <sup>[a]</sup> Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Câmpus Carreiros, Rio Grande, RS - Brasil, e-mail: thasianalb@yahoo.com.br
- <sup>[b]</sup> Mestre em Fisiologia Vegetal, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Câmpus Carreiros, Rio Grande, RS - Brasil, e-mail: docmaf@furg.br
- <sup>[c]</sup> Doutora em Oceanografia Biológica, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal do Rio Grande (FURG) Câmpus Carreiros, Rio Grande, RS - Brasil, e-mail: dmbioni@furg.br

Recebido: 26/02/2013  
Received: 02/26/2013

Aprovado: 22/04/2013  
Approved: 04/22/2013

## Introdução

A espécie *Nymphoides indica* (L.) O. Kuntze (Menyanthaceae), comum em ambientes de água doce, é encontrada na margem de lagos e cursos d'água de pouca profundidade. É uma espécie amplamente distribuída no Leste da Ásia, África, Austrália, América Central e do Sul, até a Argentina e Sul do Brasil (Shibayama & Kadono, 2003). No Brasil é observada em todo território, ocupando diferentes corpos d'água (Pott & Pott, 2000). Apresenta rizomas submersos, ramo ascendente e folhas flutuantes (Fabris & Klein, 1971). Alguns estudos apontam ainda a eficácia de *Nymphoides* na bioacumulação de nutrientes em ambientes alagados (Greenway & Woolley, 1999).

A propagação de *N. indica* pode ser por sementes ou pedaços de rizoma com folhas. Desenvolve inflorescências emergentes que nascem na folha flutuante, onde diariamente ocorre a ântese de uma a três flores. A longevidade de cada flor é de um dia, e os frutos amadurecem submersos na água (Shibayama & Kadono, 2003). O fruto, uma cápsula, pode conter de 10-18 sementes de aproximadamente 1mm (Fabris & Klein, 1971), que, ao serem liberadas da planta-mãe, passam a constituir um banco de sementes persistente no solo (Takagawa, Washitani, Uesugi & Tsumura, 2006). Uma das vantagens da existência de um banco de sementes persistente no solo consiste na manutenção e no estabelecimento das plântulas e regeneração da população, quando em condições ambientais favoráveis (Smits, van Avesaath & van der Velde, 1990).

A dinâmica do banco de sementes pode ser afetada pelas condições físicas e químicas do meio e conseqüentemente influenciar no desenvolvimento das plântulas e na ocupação dos ambientes aquáticos, refletindo nas taxas de germinação e no desenvolvimento dos *stands* (Nielsen, Riis & Brix, 2006). Nessas condições, a germinação das sementes de plantas aquáticas reflete sua ecologia, ficando condicionada a aspectos relacionados com a superação da dormência ou presença de condições ambientais propícias à germinação (Titus & Hoover, 1991).

Com relação às condições ambientais, podemos citar o efeito conjugado de luz, temperatura, fotoperíodo ou anoxia, propiciando ou não as respostas germinativas das espécies (Ungar, 1995). Luz tem sido considerada um fator limitante na germinação, uma vez que as espécies apresentam diferentes requerimentos em seu desenvolvimento durante o processo de amadurecimento dos frutos (Kerbauy, 2004). A temperatura

tem sido indicada como um segundo fator determinante, sendo variável entre as espécies (Labouriau, 1983). Temperaturas extremas normalmente inibem a germinação (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989), sendo que, espécies com pequena amplitude de intervalo térmico podem ter sua germinação estimulada quando submetidas a temperaturas constantes (Cardoso & Pereira, 2009). Por outro lado, algumas espécies podem ter sua germinação favorecida na presença de temperaturas alternadas, quando submetidas a variações cíclicas de temperatura similares às médias diárias de temperatura observadas em condições naturais (Fenner, 1985; Kerbauy, 2004; Walck, Baskin, Hidayati & Baskin, 2008).

Os dois fatores ambientais, luz e temperatura, têm sido citados como responsáveis pelo sucesso na ocupação dos ambientes pelas plantas aquáticas em regiões de clima temperado (Colares, Schlee, Santos & Magalhães, 2007a; Colares, Batista, Magalhães, Santos & Schlee, 2007b). Em tais regiões observa-se uma grande interação entre os dois fatores ambientais, embora um ou outro fator isolado possa ser necessário para superar a dormência das sementes de muitas espécies e a posterior colonização dos ambientes (Larcher, 2000). A profundidade de soterramento também pode interferir na germinação de sementes de plantas aquáticas, uma vez que o aumento nos níveis de sedimentação pode causar mudanças no microambiente das sementes (Peterson & Baldwin, 2004), modificando a quantidade de luz ou de temperatura que as atinge (Brändel, 2004).

Estudos sobre a germinação de sementes de *N. indica* têm sido desenvolvidos no Japão em lagos antropogenicamente perturbados (Shibayama, Uesugi, Tsumura & Washitani, 2006). Considerando a capacidade da espécie de dispersão por sementes ou mudas, a ocorrência de *habitats* com características semelhantes, torna-se importante para manter a diversidade genética das populações (Shibayama & Kadono, 2007a). A espécie tem sido citada como de ocorrência pantropical, porém, é encontrada em regiões temperadas, como no Japão (Shibayama, et al., 2006) e no Sul do Brasil (Soares, Ferreira & Barreto, 2006; Palma-Silva, Albertoni, Trindade & Oliveira, 2008). Nessa região, é frequente a ocorrência de invernos rigorosos, com temperaturas baixas, associadas à passagem de frentes frias, bem como a presença de oscilações diárias na temperatura em função do dia e da noite. O conhecimento dos processos que regulam a ocupação da espécie em locais com condições

ambientais diferenciadas é importante para a compreensão do desenvolvimento das populações. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi examinar a influência de fatores ambientais (fotoperíodo, temperatura e soterramento) sobre a germinação de *N. indica*.

## Material e métodos

### Área de estudo

As sementes de *N. indica* utilizadas foram obtidas no Lago Sete (32°04'0,648"S, 52°10'0,092"O) no Câmpus Carreiros da Universidade Federal do Rio Grande – FURG, município de Rio Grande (RS), Brasil, em março, após o período de floração. Segundo a classificação de Koeppen, o clima na região é classificado como temperado úmido. A temperatura local varia em função da época do ano, número e intensidade das passagens de frentes frias, com médias mensais variando entre 13 °C e 24 °C em julho e janeiro, respectivamente. Durante os meses de verão, observa-se um déficit hídrico sazonal associado à elevação da temperatura (Klein, 1998). A profundidade máxima observada na Lago Sete é de 1,70 m, diminuindo os níveis da coluna d'água durante o verão. Nesse período, áreas nuas do fundo arenoso do lago ficam expostas. A população de *N. indica* tem sua distribuição restrita à região litorânea do Lago, com maior densidade na profundidade de 30 cm e não se estabelecendo em profundidades superiores a 48 cm (observações pessoais).

### Procedimentos amostrais

As sementes de *N. indica* foram coletadas em amostras de 10 cm de sedimento, com core circular de 7,5 cm de diâmetro. Após seleção e limpeza, as sementes foram acondicionadas em frascos contendo água destilada. Parte das sementes coletadas foram imediatamente utilizadas nos experimentos (zero dias de armazenamento) e parte armazenadas sob refrigeração a 7°C, por 30 e 60 dias, até o início de cada experimento. Todos os experimentos foram conduzidos em câmaras de germinação com temperatura e fotoperíodo controlados, por um período de 30 dias cada. O fotoperíodo foi mantido utilizando lâmpadas fluorescentes brancas frias como fonte de luz, com irradiância de 230  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Para cada teste, quatro réplicas com 25 sementes cada foram acondicionadas em beakers de 250 mL, preenchidos

com água filtrada oriunda do Lago Sete, até a altura de coluna d'água de 6 cm e acondicionados na câmara de germinação. A germinação das sementes foi observada diariamente, sendo consideradas germinadas aquelas cuja radícula ou plúmula tenha emergido (Ungar, 1967).

### Viabilidade das sementes

Para testar a viabilidade das sementes, amostras de 25 sementes aleatoriamente selecionadas, recém-coletadas (zero dias), foram submetidas ao teste de tetrazólio, sendo imersas em solução de 0,2% de 2,3,5-triphenil tetrazolium chloride, num período de 2h a 40 °C, em condições de escuro (Brasil, 2009). Simultaneamente, lotes de 25 sementes foram estocados no escuro, a frio (7 °C). Após 30 e 60 dias de armazenamento foram submetidas novamente ao teste de tetrazólio, testando sua viabilidade.

### Germinação em temperaturas variáveis versus fotoperíodos constante

Inicialmente foram realizados testes utilizando nove variações diurnas (D) e noturnas (N) de temperatura, em fotoperíodo constante de 12hL-12hE (Luz - Escuro). As temperaturas testadas foram: 10 °CD-05 °CN; 15 °CD-05 °CN; 15 °CD-10 °CN; 20 °CD-10 °CN; 20 °CD-15 °CN; 25 °CD-15 °CN; 25 °CD-20 °CN; 30 °CD-20 °CN; 30 °CD-25 °CN. Para cada temperatura testada, foram utilizadas sementes recém-coletadas no sedimento (zero dias), e após 30 e 60 dias de armazenamento a frio (7 °C), seguindo as condições descritas nos procedimentos gerais.

### Germinação em temperaturas variáveis versus fotoperíodos variáveis

A partir dos resultados obtidos no experimento anterior, foi montado um segundo experimento, seguindo as mesmas condições descritas nos procedimentos gerais. Para este segundo experimento, foram utilizadas sementes com 30 dias de armazenamento, nas temperaturas: 20 °CD-15 °CN e 30 °CD-25 °CN. Para cada temperatura, os testes foram feitos sob total escuridão, e em três fotoperíodos distintos sendo: 10hL-14hE, 12hL-12hE e 14hL-10hE. Para os testes em completa escuridão, os copos foram cobertos com sacos de algodão preto.

A germinação foi acompanhada diariamente em sala escura, usando luz verde de segurança, segundo metodologia citada por Cardoso e Pereira (2009).

#### Geminação em temperaturas variáveis versus fotoperíodos variáveis versus soterramento

O efeito do soterramento e da presença da coluna de água sobre a capacidade de emergência das sementes foi avaliado utilizando-se 30 sementes, com 30 dias de armazenamento a frio semeadas em recipientes plásticos de 50 mL, em três réplicas. O substrato para testar o soterramento consistiu de areia oriunda do Lago Sete, previamente lavada e seca em estufa. Os tratamentos testados foram: sem soterramento (0 mm); com soterramento (5 mm e 10 mm). Os recipientes plásticos foram acondicionados num becker de 3.000 mL, preenchido com água filtrada do Lago Sete, com altura de coluna de água de 30 cm. Os beckers foram mantidos na câmara de germinação por 30 dias, utilizando as temperaturas de 20 °CD-15 °CN e 30 °CD-25 °CN, nos fotoperíodos de 10hL-14hE, 12hL-12hE e 14hL-10hE. Os dados para análise do experimento foram obtidos pela contagem diária das sementes emergidas, considerando-se germinadas as sementes que emitiram a epicótilo acima da superfície do substrato.

#### Análises dos resultados

Os resultados foram apresentados como porcentagem total de germinação (PG) para cada temperatura e fotoperíodo testados. A taxa de germinação (TG) foi calculada de acordo com a equação de Mugnisjam e Nakamura (1986) apud Cordazzo e Davy (1997), e pode ser expressa como segue:  $TG = (100/\Sigma Ni) \cdot \Sigma (Ni/Ti)$ , em que Ti é o dia após o início da germinação, e Ni, o número de sementes germinadas no dia Ti. Além disso, o "Lag Time" (número de dias para ocorrer a primeira germinação) e T50 (tempo necessário para que 50% da germinação seja alcançada) foram calculados.

Para a análise estatística, os valores de germinação foram transformados, usando a expressão raiz quadrada do arco seno de x para normalização. No entanto, dados apresentados em tabelas e gráficos não estão transformados. Uma Análise de Variância (ANOVA) foi realizada para comparar a porcentagem total de germinação de sementes, taxa de germinação entre os tratamentos, efeito do soterramento e presença da coluna de água sobre a germinação. Quando F foi significativo, o DMS 5% (Tukey) foi determinado (Zar, 1984).

## Resultados

### Viabilidade das sementes

O teste de tetrazolium indicou haver diferença significativa nos processos respiratórios, sinalizados pela coloração dos tecidos das sementes. Sementes recém coletadas de *N. indica* apresentaram um percentual de 92% de viabilidade de germinação. Ao serem armazenadas a frio, a viabilidade diminuiu para percentuais de 72% e 68%, respectivamente para 30 e 60 dias de armazenamento.

### Germinação em temperaturas variáveis versus fotoperíodo constante

Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) nas taxas de germinação com emissão da radícula das sementes recém coletadas (zero dias) e com 30 dias de armazenamento, em todas as temperaturas testadas (Tabela 1). As menores taxas de germinação (5,2), maior "Lag Time" (13 dias) e maior T50 (26 dias) foram observadas na temperatura de 15 °CD-05 °CN. As maiores taxas de germinação (18,8) e menor "Lag Time" (1 dia) foram observados na temperatura de 30 °CD-25 °CN. Não foram observadas germinação de sementes na temperatura de 10 °CD-05 °CN (Tabela 1).

Tabela 1 - Germinação de sementes de *Nymphoides indica* em diferentes temperaturas alternadas

(continua)

ToC	TG 0	TG 30	TG 60	Lag Time 0	Lag Time 30	Lag Time 60	T50 0	T50 30	T50 60
10/05	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15/05	5,5 ± 2,2a	5,2 ± 1,9a	5,5 ± 1,9b	9 ± 0,3	13 ± 0,3	12 ± 0,1	22 ± 0,8	26 ± 0,8	-

Tabela 1 - Germinação de sementes de *Nymphoides indica* em diferentes temperaturas alternadas

(conclusão)

ToC	TG 0	TG 30	TG 60	Lag Time 0	Lag Time 30	Lag Time 60	T50 0	T50 30	T50 60
15/10	7,3 ± 3,1a	7,7 ± 2,9a	8,7 ± 3,2b	6 ± 0,4	6 ± 0,5	6 ± 0,4	17 ± 0,9	15 ± 1,2	-
20/10	7,3 ± 2,8a	8,5 ± 1,6a	8,6 ± 2,5b	7 ± 0,2	5 ± 0,3	8 ± 0,4	-	21 ± 0,7	-
20/15	10,2 ± 1,7a	11,7 ± 1,5a	11,9 ± 1,6a	4 ± 0,5	3 ± 0,7	4 ± 1,3	14 ± 0,9	13 ± 1,1	11 ± 1,2
25/15	9,1 ± 1,9a	9,9 ± 1,3a	8,9 ± 2,2a	5 ± 0,4	4 ± 0,5	5 ± 0,4	18 ± 0,8	15 ± 0,8	-
25/20	12,6 ± 1,4a	12,1 ± 2,4a	11,2 ± 2,5a	3 ± 0,5	3 ± 0,2	3 ± 0,3	-	11 ± 1,2	17 ± 0,8
30/20	15,7 ± 2,1a	15,6 ± 2,3a	11,6 ± 3,0a	2 ± 0,6	2 ± 0,7	3 ± 0,2	7 ± 2,3	7 ± 2,3	12 ± 1,4
30/25	16,3 ± 0,7a	18,8 ± 0,7a	15,7 ± 0,6a	1 ± 0,5	1 ± 0,9	1 ± 0,7	11 ± 0,9	9 ± 1,1	14 ± 0,8

Legenda: T °C = Temperatura Diurna/Noturna; TG = taxa de germinação (dias<sup>-1</sup>); "Lag Time" = tempo para germinação da primeira semente (dias); T(50) = tempo necessário para que 50% da germinação seja alcançada (dias).

Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Médias nas linhas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (n = 100).

### Germinação em temperaturas variáveis versus fotoperíodos variáveis

A estabilização da germinação nas temperaturas de 20 °CD-15 °CN e 30 °CD-25 °CN ocorreu antes do término dos 30 dias de experimento (Figura 1). Na temperatura de 20 °CD-15 °CN foi observado um aumento significativo na porcentagem de germinação (PG) e na taxa de germinação (TG) ( $p < 0,05$ ), com o aumento no tempo de exposição à luz (Tabela 2, Figura 1A).

Na temperatura de 20 °CD-15 °CN, fotoperíodo de 14hL-10hE, o tempo inicial para a germinação da primeira semente (Time Lag) e o tempo para ocorrer 50% da germinação (T50) foram menores, e os valores de PG e TG foram maiores (Tabela 2). Para a temperatura de 30 °CD-25 °CN, os valores de PG e TG não apresentaram diferenças significativas entre os fotoperíodos testados ( $p > 0,05$ ), embora no fotoperíodo de 12hL-12hE (Figura 1B) tenham sido observados os níveis mais elevados de PG e TG, e o menores valores de Time Lag e T50 (Tabela 2).

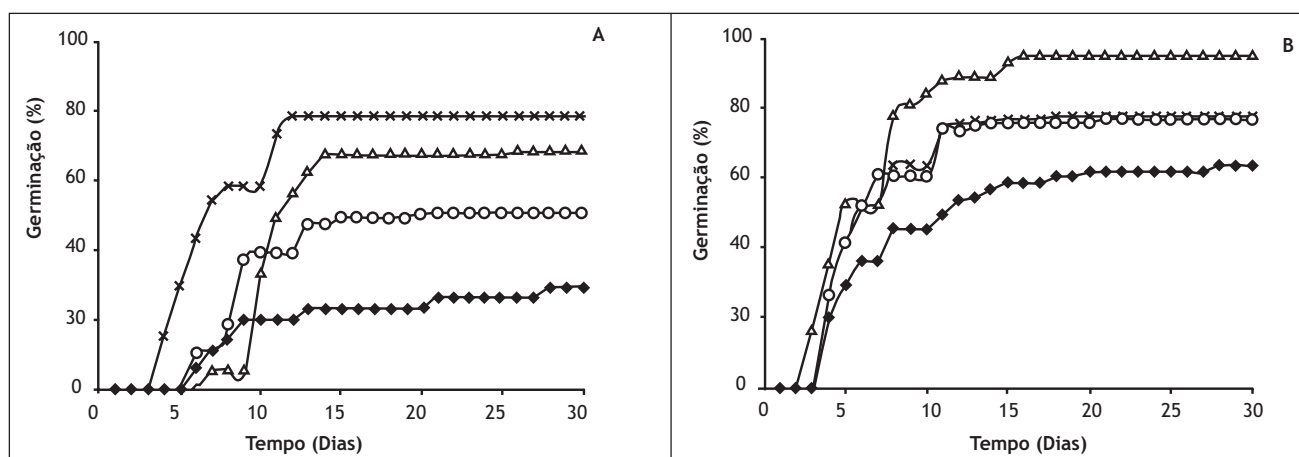


Figura 1 - Porcentagem total de germinação de sementes *Nymphoides indica* em temperaturas alternadas e fotoperíodos diferentes

Legenda: A = Temperatura alternada: 20 °CD-15 °CN; B = Temperatura alternada: 30 °CD-25 °CN; Fotoperíodos = 10hL-14hE (O), 12hL-12hE (Δ), 14hL-10hE (X), escuro total (♦).

Fonte: Dados da pesquisa.



**Tabela 2** - Efeito da temperatura e do fotoperíodo na germinação de sementes de *Nymphoides indica*

T °C	Fotoperíodo	Lag Time	T(50)	Germinação	PG (%)	TG
20D/15N	10L/14E	6	20	13 ± 2,4 <sup>b</sup>	50	6,9
20D/15N	12L/12E	7	12	17 ± 0,8 <sup>a</sup>	68	7,6
20D/15N	14L/10E	4	7	20 ± 1,8 <sup>a</sup>	78	15,2
20D/15N	Escuro	6	8	8 ± 1,3 <sup>c</sup>	30	4,0
30D/25N	10L/14E	4	6	19 ± 3,7 <sup>a</sup>	76	16,4
30D/25N	12L/12E	3	5	24 ± 2,5 <sup>a</sup>	94	21,5
30D/25N	14L/10E	4	6	19 ± 5,2 <sup>a</sup>	77	16,6
30D/25N	Escuro	4	6	16 ± 2,2 <sup>a</sup>	64	12,6

Legenda: T°C = Temperatura Diurna/Noturna; Fotoperíodo = horas Luz/Escuro; "Lag Time" = tempo para germinação da primeira semente (dias); T(50) = tempo necessário para que 50% da germinação seja alcançada (dias); Germinação = Médias ± desvio padrão da germinação de sementes; PG = porcentagem total da germinação; TG = taxa de germinação (dias<sup>-1</sup>).

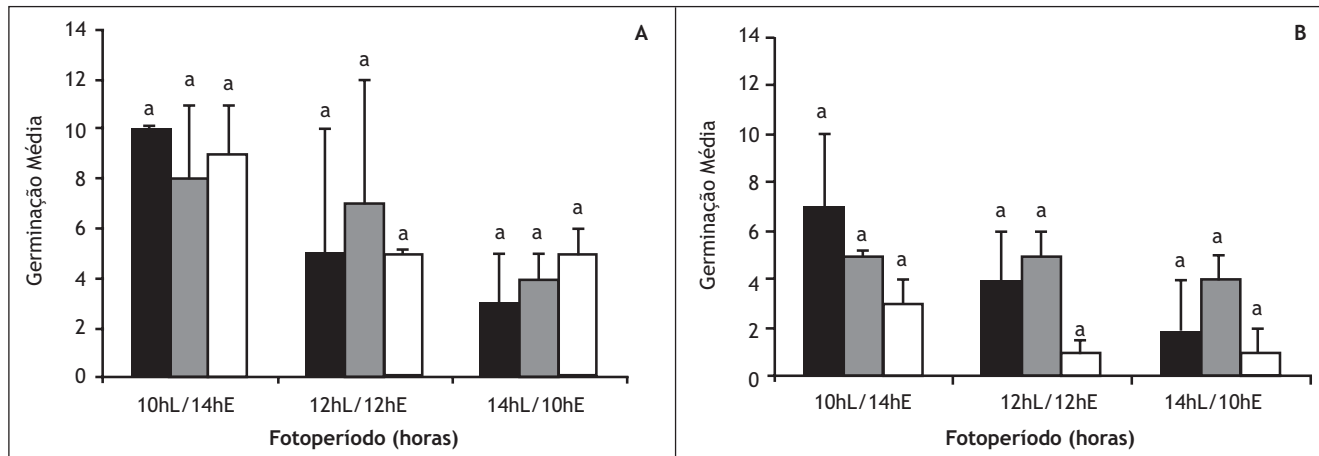
Fonte: Dados da pesquisa.

Nota: Médias nas colunas seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (n = 100).

### Germinação em temperaturas variáveis versus fotoperíodos variáveis versus soterramento

No experimento de soterramento, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), entre os tratamentos. O maior percentual de germinação foi

observado na ausência de soterramento (0 mm), temperatura de 20 °CD-15 °CN e fotoperíodo de 10hL-14hE. Em todos os tratamentos, com ou sem soterramento, observa-se uma redução gradual na germinação das sementes, com o aumento do tempo de exposição à luz, em ambas as temperaturas (Figura 2).



**Figura 2** - Germinação de sementes de *Nymphoides indica* (média ± desvio-padrão) em três diferentes profundidades

Legenda: A = Temperatura alternada: 20 °CD-15 °CN; B = Temperatura alternada: 30 °CD-25 °CN; Profundidade de soterramento = (■) 0 mm; (▒) 5 mm; (□) 10 mm.

Fonte: Dados da pesquisa.

### Discussão

A germinação das sementes é um processo complexo, geralmente afetado pela luz e temperatura (Válio & Scarpa, 2001). A luz é um dos requisitos mais importantes para a germinação, sendo que algumas espécies podem ter sua germinação estimulada e

outras inibida pela presença de luz (Hutchison, 1975; Kerbauy, 2004; Araki & Kunii, 2008). Embora as sementes de *N. indica* tenham germinado tanto em presença como em ausência de luz, as diferentes respostas de germinação em relação ao tempo de exposição à luz são uma evidência da interferência desse fator no processo de germinação.

A queda das sementes está relacionada com o amadurecimento do fruto junto à planta-mãe (Klips & Peñalosa, 2003). Algumas sementes, ao serem liberadas, passam a constituir um banco de sementes no substrato, com a dormência contribuindo para a germinação e estabelecimento das plântulas em condições ambientais favoráveis (Smits et al., 1990). Nessas condições, é possível encontrar sementes viáveis num banco de sementes por longos períodos de tempo, independente das variações de temperatura, profundidade da coluna de água e outros fatores ambientais que possam interferir na viabilidade das sementes (Smits et al., 1990). Em nosso estudo, sementes armazenadas em laboratório, com temperatura constante de 7°C apresentaram perda gradativa da viabilidade, embora ainda com condições de germinação. Como não foram encontradas diferenças significativas no percentual de germinação entre sementes recém coletadas e após 30 dias de armazenamento, a redução na viabilidade observada provavelmente se deve à exposição do armazenamento a frio constante, uma vez que existem registros de bancos de sementes viáveis de *N. indica*, enterradas no sedimento de lagos por mais de três anos, sob condições de flutuações de temperatura (Shibayama & Kadono, 2007b).

Flutuações diárias de temperatura podem promover e acelerar a germinação em muitas plantas, e a eficácia do estímulo varia de acordo com a amplitude de flutuação, associada ou não com a presença de luz (Fenner, 1985; Walck et al., 2008). A presença de temperaturas alternadas pode estimular a germinação, pois simula as variações cíclicas de temperaturas observadas em condições naturais (Fenner, 1985; Kerbauy, 2004). As temperaturas alternadas, utilizadas neste estudo, buscaram simular as variações climáticas vivenciadas na região, onde o regime de temperatura é influenciado pela passagem de frentes frias. Durante o inverno, temperaturas noturnas muito baixas podem causar geadas nas primeiras horas da manhã, contrastando com dias limpos ensolaradas e temperaturas menos rigorosas (Klein, 1998). Segundo Mayer e Poljakoff-Mayber (1989), temperaturas extremas podem inibir a germinação de sementes, o que pode induzir uma dormência impedindo a germinação durante o tempo frio de inverno (Brändel, 2004). Em nosso estudo, a exposição a temperaturas menores do que 10°C, mostraram resultados similares ao observado por Brändel (2004), reduzindo as respostas de germinação *N. indica*, provavelmente induzindo uma

dormência para evitar o desenvolvimento das plântulas nos meses frios de inverno.

Algumas espécies apresentam, como requerimento para superação da dormência e germinação, um período de estratificação a frio. A importância ecológica desta estratificação está em impedir que a germinação ocorra durante o outono, evitando massiva mortalidade das plântulas sensíveis ao frio do inverno. Além disso, as temperaturas frias podem causar lesões graves às sementes, tais como mudanças nas membranas ou desnaturação de proteínas (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989; Benech-Arnold & Sánchez, 1995). A amplitude de temperatura em que ocorre a germinação é ampla para a maioria das espécies, podendo refletir em sua distribuição geográfica (Labouriau, 1983). Assim, o efeito negativo da baixa temperatura na germinação de sementes de *N. indica* pode estar associado a sua origem pantropical (Pott & Pott, 2000) evitando a tentativa de estabelecimento de plântulas no inverno pelas populações do Lago 7. Por sua vez, *Nymphoides peltata*, que é originária de regiões temperadas-frias, tem a sua germinação estimulada por temperaturas mais baixas quando na presença de luz (Smits et al., 1990).

Na temperatura de 20 °CD-15 °CN, a porcentagem de germinação (PG) e a taxa de germinação (TG) de *N. indica* aumentou significativamente com a exposição à luz, demonstrando o efeito conjugado dos dois fatores ambientais. No entanto, temperaturas maiores (30 °CD-25 °CN), mesmo apresentando maiores percentuais de germinação, não apresentaram mudanças significativas entre os tratamentos de luz (Tabelas 1 e 2). Tal resultado pode indicar que temperaturas elevadas podem controlar a germinação, reduzindo a importância do efeito da luz. Esta situação é ainda corroborada pela taxa de germinação no escuro total, que também foi maior nesta temperatura. Temperaturas elevadas (30 °CD-25 °CN) parecem ser mais favoráveis para a germinação de sementes de *N. indica*, pois, além dos maiores valores de PG (94%) e TG (21,2) obtidos, as sementes iniciaram e atingiram 50% da germinação em menor tempo.

Algumas espécies de plantas aquáticas germinam melhor em solos expostos, prevenindo ou reduzindo a germinação, quando soterradas (Lorenzen, Brix, Mckee, Mendelssohn & Miao, 2000). Segundo Smits et al. (1990), o soterramento pode criar condições de hipoxia ou anoxia,

ausência de luz e, conseqüentemente, inibir a germinação de *N. peltata*. Em nosso estudo, condições de hipoxia ou anoxia ou a ausência de luz não limitaram a germinação de *N. indica*, cujas sementes germinaram em todas as profundidades de soterramento testadas, embora as maiores percentagens de germinação tenham ocorrido na ausência deste e sob menor período de exposição à luz (10hL-14hE). No entanto, a presença da coluna de água e do soterramento podem ter provocado um efeito sinérgico, interferindo nas respostas de germinação, assim como ocorreu quando as temperaturas elevadas miminizaram o efeito da luz sobre a germinação.

As sementes da maioria das plantas em ambientes alagados necessitam de luz para a germinação, e também, a temperatura alternada pode ser um requisito necessário para algumas espécies (Peterson & Baldwin, 2004). De acordo com van der Valk (1986), o soterramento reduz a quantidade de luz que atinge a semente, reduzindo a amplitude de oscilação diária de temperatura. Quando os testes de germinação e de soterramento são comparados, as respostas de germinação não seguem o mesmo padrão. Maiores porcentagens de germinação foram observados na temperatura de 30 °CD-25 °CN, enquanto que em presença do soterramento, a germinação tendeu a diminuir nesta temperatura e nas maiores profundidades. É provável que a presença do soterramento controlando a quantidade de luz que atinge as sementes esteja reduzindo a germinação, como observado por van der Valk (1986).

O banco de sementes do solo é considerado uma fonte ideal para recuperação das populações e a aptidão das mudas resultantes será diretamente afetada pelas condições ambientais (Takagawa et al., 2006). De acordo com Baskin, Baskin e Chester (2003), a germinação das sementes em condições naturais, depende da exposição à luz resultante da perturbação do solo. Se nenhum distúrbio ocorre no solo, sementes soterradas podem apresentar dormência condicional, mesmo quando expostas a variações de temperatura. As sementes *N. indica* oriundas do Lago Sete, apesar de tolerarem o processo de soterramento, germinaram melhor na ausência deste e sob temperaturas elevadas, refletindo a sua distribuição biogeográfica. Considerando que a população de *N. indica* no Lago Sete tem sua distribuição restrita à região litorânea do Lago, com maior densidade na profundidade de 30 cm, os testes de

soterramento, com coluna de água de 30 cm, buscaram reproduzir as condições ambientais das sementes no Lago Sete. Sendo assim, o efeito conjugado de temperatura, exposição à luz, a presença de coluna de água e soterramento das sementes, simulando as condições ambientais onde a espécie se desenvolve, reflete as suas exigências de superação da dormência e germinação.

### Considerações finais

As sementes de *N. indica* utilizadas neste estudo apresentaram melhores respostas de germinação quando submetidas a temperaturas elevadas e condições de luz moderadas. A região onde o Lago Sete está localizado caracteriza-se pela ocorrência de invernos frios e úmidos, e verões quentes e secos. Além disso, o período de elevação das temperaturas no verão coincide com uma diminuição dos níveis de água no Lago, expondo áreas nuas do fundo arenoso onde não se observa a ocupação por plantas de *N. indica*. A redução ou inibição da germinação pela exposição a baixas temperaturas (10°CD-05°CN) estaria evitando o crescimento das plântulas durante o clima frio do inverno. Por outro lado, o excesso de luz reduzindo a germinação, seria uma resposta aos períodos de seca observados durante os meses quentes de verão. Assim, as sementes de *N. indica* estariam apresentando uma estratégia de dispersão no fim da primavera e início do verão quando o aumento da temperatura coincide com a diminuição do nível de água no Lago Sete, permitindo que uma maior quantidade de luz alcance as sementes, mas sem deixar as plantas expostas.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG para a prontidão dos recursos utilizados na execução deste trabalho.

### Referências

- Araki, S., & Kunii, H. (2008). Relationship between seed and clonal growth in the reproduction of *Carex rugulosa* Kük. in riverside meadows. *Plant Species Biology*, 23, 81-89.



- Baskin, C. C., Baskin, J. M., & Chester, E. W. (2003). Sea-sonal changes in the germination responses of buried seeds of three native eastern North American winter annuals. *Plant Species Biology*, 18, 59-66.
- Bernech-Arnold, R., & Sánchez, R. A. (1995). Modeling weed seed germination. In J.Kigel & G.Galili, (Ed.). *Seed development and germination* (pp. 545-566). New York: Marcel Dekker.
- Bochenek, A., Gołaszewski, J., & Gielwanowska, I. (2010). Hydrotime model analysis of *Matricaria maritima* ssp. *inodora* seed dormancy. *Plant Species Biology*, 25, 136-148.
- Brändel, M. (2004). The role of temperature in the regulation of dormancy and germination of two related summer-annual mudflat species. *Aquatic Botany*, 79, 15-32.
- Brasil. (2009). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Brasília: Mapa; ACS.
- Cardoso, V. J. M., & Pereira, F. J. M. (2009). Dependência térmica da germinação de sementes de *Drymaria cordata* (L.) Willd.ex Roem. & Schult. (Cariophyllaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 23 (2), 305-312.
- Colares, I. G., Schlee, M. D. B., Santos, L. C., & Magalhães, U. A. S. (2007a). Variação da biomassa e produtividade de *Potamogeton pectinatus* L. (Potamogetonaceae) na Lagoa Verde, Rio Grande, RS. *Iheringia, Série Botânica*, 62 (1), 133-139.
- Colares, I. G., Batista, T. L., Magalhães, U. A. S., Santos, L. C., & Schlee, M. D. B. (2007b). Efeito da temperatura e do fotoperíodo no crescimento e nas respostas fotossintéticas de *Potamogeton pectinatus* L. (Potamogetonaceae), em cultivo experimental. *Estudos de Biologia*, 29 (68-69), 297-306.
- Cordazzo, C. V., & Davy, A. J. (1997). Effects of temperature and light on seed germination in the dune-building grass *Panicum racemosum* Spreng. *Atlântica*, 19, 87-97.
- Fabris, H. A., & Klein, R. M. (1971). *Meniantáceas* (Flora Ilustrada Catarinense). Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues.
- Fenner, M. (1985). *Seed Ecology*. London: Chapman and Hall.
- Greenway, M., & Woolley, A. (1999). Constructed wetlands in Queensland: Performance efficiency and nutrient bioaccumulation. *Ecological Engineering*, 12, 39-55.
- Hutchison, G. E. (1975). A treatise on Limnology. *Limnological Botany* (Vol. 3). New York: John Wiley and Sons.
- Kerbauy, G. B. (2004). *Fisiologia Vegetal* São Paulo: Guanabara Koogan.
- Klein, A. H. F. (1998). Clima Regional. In U. Seeliger, C. Odebrecht & J.P. Castello (Ed). *Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo Sul do Brasil* (pp. 5-7). Rio Grande: Ecocientia.
- Klips, R. A., & Peñalosa, J. (2003). The timing of seed fall, innate dormancy, and ambient temperature in *Lythrum salicaria*. *Aquatic Botany*, 75, 1-7.
- Labouriau, L. G. (1983). *A germinação das Sementes*. Série de Biologia. Monografia n. 24. Washington D.C.: Departamento de Assuntos Científicos da OEA.
- Larcher, W. (2000). *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima.
- Lorenzen, B., Brix, H., Mckee, K. L., Mendelssohn, I. A., & Miao, S. (2000). Seed germination of two Everglades species, *Cladium jamaicense* and *Typha domingensis*. *Aquatic Botany*, 66, 169-180.
- Mayer, A. M., & Poljakoff-Mayber, A. (1989). *The germination of seeds*. Oxford: Pergamon Press.
- Nielsen, U. N., Riis T., & Brix H. (2006). The importance of vegetative and sexual dispersal of *Luronium natans*. *Aquatic Botany*, 84, 165-170.
- Palma-Silva, C., Albertoni, E. F., Trindade, C. R. T., & Oliveira, S. S. (2008). *Nymphoides indica* (L.) O.Kuntze (Menyanthaceae) em um pequeno lago raso subtropical, Rio Grande - RS. *Iheringia, Série Botânica*, 63(2), 249-256.
- Peterson, J. E., & Baldwin, A. H. (2004). Seedling emergence from seed banks of tidal freshwater wetlands: response to inundation and sedimentation. *Aquatic Botany*, 78, 234-254.
- Pott, V. J., & Pott, A. (2000). *Plantas Aquáticas do Pantanal*. Brasília: Embrapa.
- Shibayama, Y., & Kadono, Y. (2003). Floral morph composition and pollen limitation in the seed set of *Nymphoides indica* populations. *Ecological Research*, 18, 725-737.
- Shibayama, Y., & Kadono, Y. (2007a). The effect of water-level fluctuations on seedling recruitment in an macrophyte *Nymphoides indica* (L.) Kuntze (Menyanthaceae). *Aquatic Botany*, 87, 320-324.

- Shibayama, Y., & Kadono, Y. (2007b). Reproductive success and genetic structure of populations of the heterostylous aquatic plant *Nymphoides indica* (L.) Kuntze (Menyanthaceae). *Aquatic Botany*, 86, 1-8.
- Shibayama, Y., Uesugi, R., Tsumura, Y., & Washitani, I. (2006). Conservation of the Lake Kasumigaura population of *Nymphoides indica* (L.) Kuntze based on genetic evaluation using microsatellite markers. *Limnology*, 7, 193-197.
- Smits, A. J. M., van Avesaath, P. H., & van der Velde, G. (1990). Germination requirements and seed bank of some nymphaeid macrophytes: *Nymphaea alba* L., *Nuphar lutea* (L.) Sm. and *Nymphoides peltata* (Gmel.) O. Kuntze. *Freshwater Biology*, 24, 315-326.
- Soares, D. J., Ferreira, F. A., & Barreto, R. W. (2006). First report of the aecial stage of *Puccinia scirp* on *Nymphoides indica* in Brazil, with comments on its world distribution. *Australasian Plant Pathology*, 35, 1-4.
- Takagawa, S., Washitani, I., Uesugi, R., & Tsumura, Y. (2006). Influence of inbreeding depression on a lake population of *Nymphoides peltata* after restoration from the soil seed bank. *Conservation Genetics*, 7, 705-716.
- Titus, J. E., & Hoover, D. T. (1991). Toward predicting reproductive success in submerged freshwater angiosperms. *Aquatic Botany*, 41, 11-136.
- Ungar, I. A. (1967). Influence of salinity and temperature on seed germination. *The Ohio Journal of Science*, 7, 120-123.
- Ungar, I. A. (1995). Seed germination and seed-bank ecology in halophytes. In J. Kigel & G. Galili (Eds). *Seed development and germination*. (pp. 599-628). New York: Marcel Dekker.
- Válio, I. F. M., & Scarpa, F. M. (2001). Germination of seeds of tropical pioneer species under controlled and natural conditions. *Revista Brasileira Botânica*, 24, 79-84.
- van der Valk, A. G. (1986). The impact of litter annual plants on recruitment from the seed bank of a lacustrine wetland. *Aquatic Botany*, 24, 13-26.
- Walck, J. L., Baskin, C. C., Hidayati, S. N., & Baskin, J. M. (2008). Comparison of the seed germination of native and non-native winter annual Apiaceae in North America, with particular focus on *Cyclospermum leptophyllum* naturalized from South America. *Plant Species Biology*, 23, 33-42.
- Zar, J. H. (1984). *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall.