

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**Caracterização ecofisiológica de três espécies da tribo
Tigridieae (Iridaceae, Iridoideae)**

Alexandre Cristante Martins

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Botânica.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Tatiana Teixeira de Souza Chies

Porto Alegre, Rio Grande do Sul

2019

*Dedico este trabalho à minha família e minha esposa
por todo o companheirismo e apoio.*

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I - Introdução Geral	3
1. INTRODUÇÃO	4
1.1 ECOLOGIA REPRODUTIVA, EVOLUÇÃO E CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES DE PLANTAS	4
1.2 CONSERVAÇÃO E RESTAURAÇÃO DO BIOMA PAMPA	6
1.3 A FAMÍLIA IRIDACEAE E A TRIBO TIGRIDIEAE	8
1.3.1 Tribo Tigridaeae	9
1.3.1.1 Gênero <i>Kelissa</i> Ravenna	10
1.3.1.2 Gênero <i>Herbertia</i> Sweet	11
1.4 CARACTERES ECOFISIOLÓGICOS E A INFLUÊNCIA DO FITNESS NA EVOLUÇÃO ADAPTATIVA DE LINHAGENS DE PLANTAS	13
2. OBJETIVO GERAL	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO II - How do ecophysiological differences contribute to grassland species habitat adaptation? A case study with three species of the tribe Tigridaeae (Iridaceae) from South Brazilian grasslands	22
Abstract	23
1. Introduction	24
2. Materials and methods	28
2.1. Seed collection	28
2.2. Flow cytometry	28
2.3. Seed traits	30
2.3.1. <i>Seed set</i>	30
2.3.2. <i>Seed mass</i>	30
2.3.3. <i>Seed morphology</i>	30
2.3.4. <i>Imbibition test</i>	30
2.4. Germination experiments	31
2.4.1. <i>Dry storage</i>	32
2.4.2. <i>Move-along</i>	32
2.4.3. <i>Photoinhibition</i>	32
2.4.4. <i>Cold stratification</i>	32
2.4.5. <i>Viability tests</i>	32
2.5. Data analysis	33
3. Results	35
4. Discussion	39
Acknowledgements	46
References	47
Figures legends	51
Tables legends	54
Appendix	59
CAPÍTULO III - Considerações Finais	72

RESUMO

A ecologia reprodutiva das plantas está intimamente relacionada com suas adaptações locais a diferentes condições de habitat. Investimentos na produção de sementes viáveis e em mecanismos adaptativos para promover a germinação são essenciais para garantir o sucesso reprodutivo e apresentam requerimentos ecofisiológicos específicos, cruciais para a compreensão do histórico evolutivo associado às adaptações das espécies aos seus ambientes. Apesar da importância da investigação de tais aspectos, pouco se conhece sobre características ecofisiológicas para as espécies da tribo Tigridaeae (Iridaceae, Iridoideae) e como elas possivelmente interferem na manutenção e sobrevivência de seus representantes. Assim, realizamos um estudo sobre aspectos relacionados à biologia reprodutiva de três espécies pertencentes à tribo Tigridaeae com registro de ocorrência para o Rio Grande do Sul: *Herbertia lahue*, que apresenta ampla distribuição geográfica e grande diversidade genética, fenotípica e citotípica; *H. pulchella* e *Kelissa brasiliensis*, com distribuições restritas ao domínio fitogeográfico do Bioma Pampa e na Depressão Central, sendo esta última exclusiva dos campos limpos desta região. Para avaliar suas performances reprodutivas, foram realizadas estimativas de produção e peso de sementes, análises morfológicas, testes de viabilidade e experimentos de germinação sob diferentes condições de armazenamento, temperatura e fotoperíodo. Identificamos várias diferenças significativas entre as espécies quanto às características das sementes analisadas. Nossos resultados sugerem que as sementes de Tigridaeae testadas possuem dormência fisiológica, podendo ser superada através do armazenamento a seco estendido ou estratificação alternada expondo-as primeiramente a condições quentes de temperatura. Além disso, os testes de germinação mostraram que as sementes se beneficiam da fotoinibição como uma estratégia para evitar condições ambientais instáveis na superfície do solo. Em conjunto, “trade-offs” entre produção de sementes, dimensões, biomassa e exigências de germinação, foram interpretados como adaptações explicativas influenciando as espécies na ocupação de seus habitats e, portanto, em sua distribuição natural atual. Por fim, o presente estudo proporcionou um incremento quanto ao conhecimento da ecologia reprodutiva e sucesso de estabelecimento de espécies campestres nativas do bioma Pampa e poderá auxiliar na elaboração de futuros planos de manejo e estratégias de restauração eficazes que promovam a conservação de sua flora.

Palavras-chave: Performance reprodutiva, Germinação, Dormência, Fotoinibição, South Brazilian grasslands, Iridaceae

ABSTRACT

The reproductive ecology of plants is closely related to their local adaptations to different habitat conditions. Investments in viable seed production and in adaptive mechanisms to promote germination are essential to ensure reproductive success, which present specific ecophysiological requirements, crucial to understand the evolutionary history associated with species adaptations to their environments. Little is known about ecophysiological traits for Tigridaeae (Iridaceae, Iridoideae) species and how they possibly interfere in the maintenance and survival of their representatives. We conducted a study on aspects related to the reproductive biology of three species which belong to the Tigridaeae tribe with occurrence record for Rio Grande do Sul: *Herbertia lahue*, which presents a wide geographic distribution and great genetic, phenotypic and cytotypic diversity; *H. pulchella* and *Kelissa brasiliensis*, with distributions restricted to the phytogeographical domain of the Pampa biome and Depressão Central, where the latter is exclusive of open grasslands. To evaluate reproductive performance of these species, seed production and mass estimates, morphology analyzes, viability tests and germination experiments were performed under different storage, temperature and photoperiod conditions. We identified several significant differences among species in relation to the analyzed seed traits. Our results suggest that the seeds of Tigridaeae tested have physiological dormancy which can be overcome through extended dry storage or alternate stratification after primarily exposition to higher temperature conditions. In addition, germination tests showed that seeds benefit from photoinhibition as a strategy to avoid unstable environmental conditions on the soil surface. Altogether, trade-offs between seed production, size, biomass and germination requirements were interpreted as explanatory adaptations that influence species habitat occupation, therefore, their current natural distribution. Finally, a better understanding of the reproductive ecology and success in establishment of native species of the Pampa biome can help in the elaboration of future management plans and effective restoration strategies that can promote the conservation of its flora.

Keywords: Reproductive performance, Germination, Seed dormancy, Photoinhibition, South Brazilian grasslands, Iridaceae

CAPÍTULO I

Introdução Geral

1. INTRODUÇÃO

1.1 ECOLOGIA REPRODUTIVA, EVOLUÇÃO E CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES DE PLANTAS

A ecologia reprodutiva em plantas abrange todos os aspectos dos eventos reprodutivos e suas interações com componentes bióticos e abióticos do meio ambiente. As plantas diferem em suas estratégias reprodutivas visando maximizar seu sucesso reprodutivo e diversidade genética (SHIVANNA; TANDON, 2014). A propagação através de sementes e propágulos vegetativos (reprodução assexuada/vegetativa) são duas das principais estratégias reprodutivas utilizadas de forma combinada por plantas com flores para maximizar sua performance (JACQUEMYN et al., 2011; SHIVANNA; TANDON, 2014). Apesar da propagação vegetativa facilitar a colonização e dominância local de populações em nichos aos quais estão bem adaptados, ela limita sua variabilidade genética devido à falta de troca gênica. Essa estratégia assexuada de reprodução pode limitar a habilidade competitiva das plantas de se adaptarem a novos nichos e assim, restringir suas populações a habitats especializados, que a longo prazo podem inviabilizar sua sobrevivência devido a modificações em seus ambientes naturais (SHIVANNA; TANDON, 2014; VALLEJO-MARÍN; DORKEN; BARRETT, 2010). Já a reprodução sexuada é o único método que permite a recombinação gênica (a partir da polinização e fertilização), resultando em variações herdáveis que subsidiam a evolução das espécies, apesar de serem conhecidos consequentes efeitos de processos como a endogamia, que por muitas gerações pode levar à perda de variabilidade genética, ao efeito de depressão por endogamia, a uma progênie com *fitness* e vigor reduzido e a consequente perda do potencial evolucionário de lidar com alterações de hábitat (RICHARDS, 1997; SHIVANNA; TANDON, 2014). Conhecimento sobre estratégias reprodutivas básicas torna-se crucial para o adequado planejamento de atividades de conservação de espécies (ROSSI et al., 2015).

A reprodução sexuada em plantas com flores envolve amplamente uma série de eventos sequenciais: o desenvolvimento das flores, a produção de gametas funcionais, a transferência dos grãos de pólen da antera ao estigma receptivo (polinização), a germinação dos grãos de pólen para o crescimento dos tubos polínicos que possibilitam a fertilização, o

desenvolvimento de sementes e frutos e, por fim, a dispersão e germinação das sementes que levam ao estabelecimento de descendentes viáveis (ASHMAN et al., 2004; SHIVANNA; TANDON, 2014). Qualquer interrupção provocada nestes eventos resultam na finalização precoce do processo de reprodução.

A persistência de populações de plantas está intimamente ligada ao seu tempo de geração, de modo que estudos sobre sua história de vida geralmente apresentam uma abordagem integrada unindo demografia, biologia reprodutiva e genética para avaliar a persistência de populações de plantas em ecossistemas (OHARA et al., 2006). Apesar dessas contribuições fornecerem informações importantes sobre a distribuição, o habitat e a sistemática das espécies, muitos aspectos ecológicos, incluindo o comportamento reprodutivo, ainda são desconhecidos (ASTUTI et al., 2018; MURRAY et al., 2002). Conhecimento dos detalhes sobre a ecologia reprodutiva das espécies torna-se vital para sua gestão, conservação e utilização sustentável (SHIVANNA; TANDON, 2014). O sucesso na restauração de populações de espécies é maior quando bem estudadas, particularmente no que tange a ecologia reprodutiva (WASER, 2006). Na ausência destes dados, esforços de conservação podem permanecer ineficazes. Aspectos da ecologia reprodutiva das plantas devem ser estudados interdisciplinarmente integrando técnicas aplicadas em diversas áreas da botânica como a ecologia, genética, fisiologia, biologia molecular e biologia da conservação a fim de preencher cada lacuna de conhecimento (ASTUTI et al., 2018; SHIVANNA; TANDON, 2014).

Todas as regiões do planeta fornecem exemplos de restrições ambientais e históricas nos processos de evolução das plantas à medida que as populações se adaptam, sobrevivem e diversificam (ARROYO; THOMPSON, 2018; VAN ANDEL; ARONSON, 2012). Extensos dados estão disponíveis sobre a ecologia reprodutiva de espécies que ocorrem em regiões temperadas (KIEHL et al., 2010; LADOUCEUR et al., 2018; SHIVANNA; TANDON, 2014; VAN ANDEL; ARONSON, 2012). Algumas espécies representam objetos de estudo de especial importância para a ciência da conservação por serem típicas de habitats ameaçados, portanto, fornecendo dados indicativos de como mudanças de habitat podem ter efeitos em escala de comunidade (ARROYO; THOMPSON, 2018). Da mesma forma, faz-se necessário iniciar estudos em larga escala nos trópicos com o objetivo principal de coletar dados básicos sobre a ecologia reprodutiva de espécies e comunidades de plantas, inestimáveis para o gerenciamento eficaz e a conservação de recursos vegetais (KRICHEN; BEN MARIEM;

CHAIEB, 2014; NEVILL et al., 2016; SHIVANNA; TANDON, 2014). Existe muito interesse em compreender como os processos relacionados à ecologia reprodutiva das plantas promovem divergência e contribuem para a persistência de populações e suas linhagens em regiões sob o efeito de mudanças climáticas graduais (ARROYO; THOMPSON, 2018; DAYRELL et al., 2017; WILLIS et al., 2014). Dados sobre ecologia reprodutiva das espécies também são necessários para monitorar o sucesso de qualquer esforço de conservação, possuindo implicações diretas para a ciência da conservação (ARROYO; THOMPSON, 2018; NEVILL et al., 2016; SHIVANNA; TANDON, 2014) em busca de seu aprimoramento.

1.2 CONSERVAÇÃO E RESTAURAÇÃO DO BIOMA PAMPA

Os ecossistemas campestres estão entre os que possuem maior riqueza específica no mundo (WILSON et al., 2012) e providenciam uma grande variedade de serviços ecológicos, como o sequestro de carbono, controle de erosão, infiltração de água no solo e a produção forrageira (PILLAR; TORNQUIST; BAYER, 2012). Quatro dos seis biomas brasileiros terrestres reconhecidos, possuem uma maior predominância de ecossistemas não-florestais (IBGE, 2004; OVERBECK et al., 2007). Entre eles está o Bioma Pampa, que apesar de pouco conhecido internacionalmente, está entre os ambientes campestres mais ricos em espécies do mundo (ANDRADE et al., 2015; OVERBECK et al., 2007). Situado no estado mais ao Sul do Brasil, o Rio Grande do Sul (RS), o Bioma Pampa integra a maior ecorregião campestre contínua das Américas (compartilhada com o Uruguai e a Argentina), denominada de região campestre de Río de la Plata, cuja riqueza específica de sua flora em território brasileiro foi estimada em 3.530 spp., das quais 278 spp. são endêmicas (ANDRADE et al., 2018). Estes campos têm sido a principal fonte de forrageio para a pecuária no RS, sendo uma de suas principais atividades econômicas (DE PATTA PILLAR, 2009). Apesar de sua riqueza e de sua extensão original ter representado cerca de 63% da área do RS, atualmente o Bioma Pampa permanece com menos de 31% de sua cobertura vegetal nativa e possui a menor proporção de território abrangido por Unidades de Conservação (UC) a nível nacional (BRENTANO; FOLLMANN; FOLETO, 2015), com apenas 0,3% de sua área sob proteção integral e 2,4% em áreas de uso extensivo, totalizando 2,7% de sua extensão total (ICMBIO, 2016). A conversão de suas áreas campestres em campos aráveis para produção agrícola e

plantio de espécies exóticas de árvores para extração da madeira têm sido apontadas como as principais causas da perda e fragmentação dos campos nativos (ANDRADE et al., 2015; OVERBECK et al., 2007). Por outro lado, o manejo desses ambientes campestres através de distúrbios como o pastejo e o uso do fogo são reconhecidos como vitais para manter sua diversidade, serviços ecossistêmicos e conservação, devido à dinâmica sucessional de expansão natural das florestas, quando em clima favorável, sobre o campo (OVERBECK et al., 2013; PILLAR; TORNQUIST; BAYER, 2012). Concentrar esforços na restauração da vegetação não florestal do Bioma Pampa pode ajudar a reduzir e, eventualmente, impedir a contínua perda da biodiversidade campestre e suas funções ambientais (OVERBECK et al., 2013). Para que estes objetivos sejam alcançados com sucesso, reunir um acervo de técnicas de manejo que reconheçam as funções e necessidades essenciais da biodiversidade campestre, promovam sua efetiva restauração, incentivem sua conservação através do manejo adequado e possibilitem o desenvolvimento de atividades econômicas sustentáveis, são medidas imprescindíveis para a longevidade do Bioma Pampa (ARONSON; VAN ANDEL, 2012; BULLOCK et al., 2011; DE FREITAS; DE OLIVEIRA; DE OLIVEIRA, 2019; OVERBECK et al., 2013; PILLAR; TORNQUIST; BAYER, 2012).

Existem muitos exemplos de restauração bem sucedida em ecossistemas campestres desenvolvidos em outros países, sob uma ampla gama de condições climáticas, diferentes regimes de manejo e processos de degradação (ARONSON; VAN ANDEL, 2012; CONRAD; TISCHEW, 2011; KIEHL et al., 2010; MULLER et al., 1998; RUPRECHT, 2006; STROMBERG et al., 2007; TÖRÖK et al., 2011). Porém, estudos que evidenciem experiências em restauração com campos sulinos no RS ainda são muito escassos (THOMAS et al., 2018), pois muitas das abordagens desenvolvidas para outros tipos de vegetação campestre necessitam de adaptações, já que as características abióticas e bióticas assim como a dinâmica sucessional entre os campos e florestas no RS são bastante singulares (OVERBECK et al., 2013, 2018). Além disso, outros fatores que vem restringindo o avanço desses estudos são: o escasso conhecimento sobre a ecologia reprodutiva e requerimentos específicos das espécies nativas dos campos sulinos (THOMAS et al., 2018), e a falta de sementes nativas regionais comercialmente disponíveis (OVERBECK et al., 2013). Para que a produção de sementes nativas seja viável e áreas de produção de sementes sejam criadas no RS, mostra-se necessário compreender melhor os processos ecossistêmicos relacionados com a ecologia reprodutiva e ecofisiologia das espécies (MATTHEW; PEREIRA, 2017; NEVILL

et al., 2016; SHIVANNA; TANDON, 2014). Realizar estudos sobre produção, viabilidade, morfologia e germinação polínica, para compreensão do sucesso reprodutivo das plantas (MAITI; GONZALEZ-RODRIGUEZ; OJHA, 2016), assim como estudos sobre estes mesmos aspectos para sementes, que contemplem a caracterização de dormência e dos requerimentos ecofisiológicos específicos para que a germinação ocorra (AIRES; SATO; MIRANDA, 2013; LE STRADIC et al., 2015; SAATKAMP et al., 2018) em espécies nativas do Bioma Pampa. A obtenção de conhecimento suficiente sobre as sementes campestres nativas para que a produção, o armazenamento, a dispersão e a manutenção de sua viabilidade no banco de sementes do solo até que as condições ambientais necessárias para a germinação e estabelecimento de plântulas estejam adequadas viabiliza um recrutamento bem sucedido (SHIVANNA; TANDON, 2014) e, conseqüentemente a restauração de campos degradados.

Neste âmbito, a família Iridaceae mostra-se promissora, pois é a família botânica com maior número de representantes exclusivos do Bioma Pampa (ZAPPI et al., 2015). De acordo com o recente levantamento realizado por Ladouceur *et al.* (2018), que identificou a proporção de espécies nativas por família botânica com sementes comercialmente disponíveis no continente europeu, a família Iridaceae está entre as dez famílias taxonômicas com menor disponibilidade. Até o presente momento, não foi realizado nenhum levantamento equivalente que contemple espécies nativas brasileiras comercialmente disponíveis, e o único registro similar que existe atualmente contempla apenas quatro gêneros de espécies exóticas de Iridaceae (*Crocus* L., *Freesia* Klatt, *Gladiolus* L. e *Iris* L.) (BRASIL, 2009).

1.3 A FAMÍLIA IRIDACEAE E A TRIBO TIGRIDIEAE

A família Iridaceae é um grupo de plantas herbáceas perenes que inclui espécies de grande valor econômico (RODRIGUEZ; SYTSMA, 2006). Dentre elas, destacam-se *Crocus sativus* L., o açafrão, por sua importância econômica na indústria alimentícia como aromatizante culinário (MATHEW, 1977) e espécies dos gêneros *Iris*, *Gladiolus* e *Freesia* pelo potencial ornamental de suas flores (GOLDBLATT; MANNING; RUDALL, 1998).

Estima-se que esta família apresenta aproximadamente 2.030 espécies de plantas, divididas entre 65 e 75 gêneros (GOLDBLATT et al., 2008; STEVENS, 2001 onwards).

Pertencente à ordem Asparagales, é reconhecida como uma das maiores famílias de monocotiledôneas, que difere das demais pelas flores de seus representantes possuírem três estames no androceu (GOLDBLATT; MANNING, 2008), e perianto petaloide com três tépalas internas e três externas geralmente similares em textura, formato e coloração (SOUZA-CHIES et al., 2012). A família apresenta distribuição global, concentrando-se no Hemisfério Sul, com seus dois maiores centros de diversidade, respectivamente, no Sul da África e região neotropical (GOLDBLATT, 1982; GOLDBLATT; MANNING, 2008).

A partir das análises filogenéticas de cinco regiões do DNA plastidial realizada por Goldblatt *et al.* (2008), a família Iridaceae foi subdividida em sete subfamílias: Isophysidoideae, Patersonioideae, Geosiridoideae, Aristeoideae, Nivenioideae, Crocoideae e Iridoideae, sendo esta última a única com representantes na América do Sul. A subfamília Iridoideae, definida morfológicamente por suas flores com tépalas fendidas, estiletos ramificados e ausência de nectários septais, compreende ao menos 900 espécies de plantas, o que representa cerca de 40% da riqueza específica em Iridaceae (GOLDBLATT et al., 2008). Por sua vez, Iridoideae se subdivide em cinco tribos: Diplarreneae, Irideae, Sisyrinchieae, Trimezieae e Tigridieae.

No Brasil, são encontradas aproximadamente 200 espécies de Iridaceae pertencentes às tribos Sisyrinchieae, Trimezia e Tigridieae (FLORA DO BRASIL, 2020 em construção), que compartilham características florais marcantes, como a presença de glândulas produtoras de óleos em suas tépalas ou coluna estaminal (CHAUVEAU et al., 2012). Na região sul do país, Sisyrinchieae e Tigridieae são as tribos com maior riqueza específica, cujos representantes em Sisyrinchieae são caracterizados pela presença de rizomas ou sistemas radiculares fibrosos e folhas planas ou teretes, enquanto, em Tigridieae, pela presença de bulbos e folhas plicadas (SOUZA-CHIES et al., 2012).

1.3.1 Tribo Tigridieae

A tribo Tigridieae compreende vários gêneros de plantas com características vegetativas muito similares, sendo possível diferenciá-los apenas durante o período de floração (RODRIGUEZ; SYTSMA, 2006). Verifica-se também uma ampla variabilidade

morfológica nas flores de uma mesma espécie, o que dificulta a circunscrição taxonômica das mesmas (SOUZA-CHIES et al., 2012).

Em abordagem filogenética recente, baseada em sete marcadores moleculares obtidos de 97 espécies que contemplam a maior parte dos gêneros das tribos da subfamília Iridoideae do Novo Mundo, Chauveau *et al.* (2012) reconheceram a divisão da tribo Tigridieae em dois clados bem suportados, denominados A e B. Dos dez gêneros pertencentes atualmente ao Clado A da tribo Tigridieae, seis possuem representantes com registro de ocorrência nas paisagens naturais do Rio Grande Sul: *Cypella* Herb. (17 spp.), *Calydorea* Herb. (12 spp.), *Herbertia* Sweet (8 spp.), *Onira* Ravenna (1 spp.), *Catila* Ravenna (1 spp.) e *Kelissa* Ravenna (1 spp.) (FLORA DO BRASIL, 2020 em construção). Sugere-se que delimitações alternativas sejam propostas para alguns dos gêneros dentro destes clados por terem se revelado não monofiléticos, como *Cypella* e *Calydorea*, ou por estarem incluídos dentro destas linhagens, como as espécies do clado que compreende *Kelissa*, *Herbertia* e *Onira* (CHAUVEAU et al., 2012). Buscando compreender melhor os processos evolutivos relacionados com a diversificação das espécies destes gêneros, estudos com análises de dados citogenéticos, tamanho genômico e genética de populações vêm sendo realizados (MORAES et al., 2015; STIEHL-ALVES et al., 2016, 2017). Neste contexto, foram selecionadas espécies dos gêneros *Kelissa* e *Herbertia* para este estudo que busca a caracterização ecofisiológica devido à proximidade evolutiva das espécies escolhidas para estes gêneros e suas distintas características de distribuição geográfica, morfológicas e citogenéticas.

1.3.1.1 Gênero *Kelissa* Ravenna

Com base em análises de morfologia floral, Ravenna (1981) modificou a classificação de *Herbertia brasiliensis* Barker, criou o gênero monotípico *Kelissa* e descreveu sua única espécie *Kelissa brasiliensis* (Barker) Ravenna. Esta planta pode ser reconhecida por suas flores com tépalas livres (sendo as externas maiores que as internas) de cor violeta pálido, cuja extensão da lâmina possui máculas púrpuras com tricomas esparsos na base, áreas laterais amarelas, área glandular longitudinal densa e esbranquiçada (elaióforos), coluna estaminal cilíndrica e inteira, anteras lineares eretas e gineceu com estilete filiforme fino

(FLORA DO BRASIL, 2020 em construção; GOLDBLATT; MANNING, 2008; GOLDBLATT; MANNING; RUDALL, 1998). Sua principal região de ocorrência são os campos limpos da Serra do Sudeste, sendo considerada endêmica destes ambientes no RS (FLORA DO BRASIL, 2020 em construção).

Apesar de seu potencial ornamental (Barroso, 2006) e elevado grau de ameaça (vulnerável) (LIVE, 2014), *Kelissa brasiliensis* é uma espécie pouco estudada, sendo nosso conhecimento acerca desta espécie bastante limitado (CHAUVEAU et al., 2012; MORAES et al., 2015).

Barroso (2006) avaliou a qualidade fisiológica de sementes e estratégias reprodutivas de *Kelissa brasiliensis*, determinando que 10 °C seria a temperatura ótima para germinação de suas sementes (que iniciam o processo entre o vigésimo e sexagésimo dia de incubação em substrato de papel na presença de luz), sendo que temperaturas superiores a 20 °C estimulam a dormência. O padrão de distribuição de suas populações foi interpretado como gregário devido à capacidade de dispersão limitada de suas sementes (BARROSO, 2006). Chauveau *et al.* (2012) em sua abordagem filogenética para a subfamília Iridoideae, demonstraram que *Kelissa brasiliensis* forma um clado bem suportado junto com *Cypella hauthalli* (Kuntze) R.C. Foster e *Onira unguiculata* (Baker) Ravenna, representando um clado próximo aos demais representantes dos gêneros *Cypella* e *Herbertia*. No RS, foram encontrados apenas indivíduos diploides até o momento (MORAES et al., 2015).

1.3.1.2 Gênero *Herbertia* Sweet

O gênero *Herbertia* tem se mostrado um interessante objeto de estudo devido à problemática relacionada com a delimitação de suas espécies, que exibem pouca distinção vegetativa, alta variabilidade morfológica floral (inter e intraespecífica), diferenças de comportamento reprodutivo (autocompatível e auto-incompatível), diferentes citótipos para algumas de suas espécies e variações genéticas significativas entre populações (SOUZA-CHIES et al., 2012; STIEHL-ALVES et al., 2016, 2017). As flores de *Herbertia* apresentam tépalas desiguais arranjadas em dois verticilos (externo maior e interno menor), androceu com coluna estaminal formada pela união de três filamentos que culminam em

antras divergentes, e gineceu com três ramos bifurcados nas extremidades, onde se encontram apicalmente as regiões estigmáticas (GOLDBLATT; MANNING, 2008; STIEHL-ALVES et al., 2016). As duas espécies mais comuns são *Herbertia lahue* (Molina) Goldblatt e *H. pulchella* Sweet, que podem ser prontamente distinguidas pela presença de uma listra branca longitudinal nas tépalas do verticilo externo de *H. pulchella* (SOUZA-CHIES et al., 2012).

Quanto à distribuição destas espécies, *H. lahue* possui maior amplitude de ocorrência (sul do Brasil, Uruguai, Norte da Argentina e sul do Chile), sendo encontrada praticamente em todas as regiões do RS, muitas vezes em simpatria com *H. pulchella*, que se restringe ao Pampa brasileiro (SOUZA-CHIES et al., 2012; STIEHL-ALVES et al., 2016, 2017). Séries poliploides são particularmente comuns em ambas as espécies - *H. pulchella* ($2x$, $4x$ e $6x$, sendo indivíduos $4x$ encontrados no RS) e *H. lahue* ($2x$, $4x$, $6x$ e $8x$, sendo indivíduos $6x$ e $8x$ encontrados no RS). No caso dos citótipos hexaploides e octoploides, estes apresentam valores de tamanho genômico monoploide menores que os diploides, possivelmente originados a partir de um fenômeno de redução após poliploidia (MORAES et al., 2015). De acordo com Stiehl-Alves et al. (2016), variações morfológicas sutis entre os citótipos de *H. lahue* são detectáveis, onde indivíduos hexaploides possuem tépalas internas lanceoladas e as tépalas externas, frequentemente com constrição na base, e ápice uncinado. Já as octoploides possuem as tépalas dos dois verticilos obovadas com constrição basal ou ápice uncinado ausentes (STIEHL-ALVES et al., 2016). Diferenças de morfologia entre os citótipos de *H. pulchella* até então não foram reconhecidas.

Experimentos de viabilidade polínica indicam que *H. lahue* e *H. pulchella* produzem pólen viável (> 90%) (MORAES et al., 2015), porém os citótipos de *H. lahue* são autocompatíveis e os de *H. pulchella* são auto-incompatíveis (STIEHL-ALVES et al., 2016, 2017). Através da identificação de polimorfismos entre regiões de microssatélites com o uso de marcadores moleculares *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) e *Analysis of Molecular Variance* (AMOVA), detectou-se que a maior fonte de variação genética em *H. lahue* reside entre suas populações e quando analisadas isoladamente as populações hexaploides exibem menor variação genética do que as octoploides (STIEHL-ALVES et al., 2017). Este comportamento autogâmico, somado à distância geográfica e à capacidade de dispersão de sementes limitada, possivelmente contribuem para o isolamento reprodutivo entre populações e consequente restrição de fluxo gênico (STIEHL-ALVES et al., 2016). Em abordagem

semelhante empregando marcadores ISSR para estimar a variação genética em populações de três espécies de *Herbertia*, Stiehl-Alves *et al.* (2017) detectaram três grupos genéticos estatisticamente divergentes (AMOVA, $P = 0.001$), sendo um deles, próprio de *H. pulchella*. Apesar das análises moleculares distinguirem grupos genéticos tanto para *H. lahue* como *H. pulchella*, não têm sido possível definir diferenças morfológicas claras entre estes grupos genéticos para cada espécie através de análises morfológicas quantitativa para caracteres florais (STIEHL-ALVES *et al.*, 2016, 2017). No caso de *Herbertia lahue*, para a qual são conhecidos diferentes citótipos, destaca-se um grande polimorfismo floral intraespecífico (STIEHL-ALVES *et al.*, 2016, 2017). Devido a este polimorfismo floral intraespecífico, a identificação de novas características (ex. morfológicas, anatômicas, fisiológicas, etc) que sirvam de diagnóstico para delimitar estas linhagens genéticas distintas são necessárias.

1.4 CARACTERES ECOFISIOLÓGICOS E A INFLUÊNCIA DO FITNESS NA EVOLUÇÃO ADAPTATIVA DE LINHAGENS DE PLANTAS

Caracteres ecofisiológicos em plantas são considerados como todos os aspectos de sua fisiologia relacionados com a captação e utilização de recursos (nutrição, metabolismo, alocação de biomassa, etc) que costumam influenciar seu *fitness*, adaptando as espécies às circunstâncias locais dos ambientes em que vivem (ACKERLY *et al.*, 2000). Por ser muito ambíguo e com uma série de definições, o conceito de *fitness* já foi interpretado de diversas maneiras (BROWN; MARQUET; TAPER, 1993; HECHT; MACINTYRE; CLEGG, 1998; WIKBERG, 1995). Resumidamente, o termo *fitness* pode ser entendido como uma medida de curto prazo do sucesso reprodutivo das espécies, levando em consideração aspectos relativos à genética populacional (DE JONG, 1994; HANSEN, 2018). De acordo com Younginger *et al.* (2017), o termo *fitness relativo* vem sendo utilizado atualmente para referir-se ao sucesso reprodutivo de um genótipo particular comparado a todos os genótipos de uma população. O sucesso reprodutivo de uma espécie em seu habitat pode ser avaliado através de seu desempenho levando em consideração sua habilidade de se desenvolver, reproduzir e sobreviver (JACQUEMYN *et al.*, 2011; VIOLLE *et al.*, 2007). Diversos caracteres ecofisiológicos são utilizados como preditores de desempenho (VIOLLE *et al.*, 2007; YOUNGINGER *et al.*, 2017). Portanto, conjuntos de caracteres que permitam avaliar

investimentos realizados pelas espécies em prol de seu desempenho reprodutivo (produção, massa, morfologia, germinabilidade de sementes) têm sido reconhecidas como importantes medidas de *fitness* relativo (ACKERLY et al., 2000; SHIVANNA; TANDON, 2014; YOUNGINGER et al., 2017). Atualmente muitos deles vêm sendo resgatados de estudos sobre pólen e sementes (DELPH; JOHANNSSON; STEPHENSON, 1997; JOHNSTON; BARTKOWSKA, 2017; PÉLABON et al., 2015; WILLIAMS; MAZER, 2016) para serem utilizados em abordagens filogenéticas, devido ao potencial que possuem para esclarecer melhor o histórico evolutivo de linhagens de espécies (VANDELOOK; NEWTON; CARTA, 2018). Um pressuposto central da ecologia baseada em caracteres é que a morfologia determina o desempenho fisiológico, influenciando taxas vitais (sobrevivência e fecundidade) na manutenção de indivíduos em seus ambientes e conseqüentemente na evolução da história de vida das espécies (ACKERLY; MONSON, 2003; ADLER et al., 2014; VIOLLE et al., 2007). Novas abordagens vêm buscando evidências quanto à evolução adaptativa de caracteres ecofisiológicos em populações naturais associadas à diferenciação de nichos ecológicos para corroborar divergências entre espécies (ACKERLY et al., 2000; CARTA et al., 2014). Estudos recentes com representantes da família Iridaceae demonstram divergências evolutivas entre espécies filogeneticamente próximas com relação a caracteres ecofisiológicos (germinação, dormência e crescimento embrionário de sementes) em resposta a diferenças de fotoperíodo, temperatura e distribuição geográfica (CARTA et al., 2014; CARTA; HANSON; MÜLLER, 2016; FORGIARINI et al., 2017).

Diante do cenário evolutivo complexo dos representantes da tribo Tigridieae (CHAUVEAU et al., 2012; MORAES et al., 2015; STIEHL-ALVES et al., 2016, 2017) e sabendo que o sistema reprodutivo desempenha um papel importante na configuração das variações entre suas linhagens genéticas (STIEHL-ALVES et al., 2017), a detecção de características diagnósticas ligadas ao sucesso reprodutivo podem ser de grande valia para uma melhor compreensão do histórico evolutivo de suas espécies e como possivelmente influenciaram sua adaptabilidade na conquista de ambientes naturais. Considerando os avanços com foco na análise do valor adaptativo de caracteres ecofisiológicos somados a variações morfológicas e genéticas de suas populações, uma abordagem integrativa que estime os investimentos reprodutivos das espécies *Herbertia lahue*, *H. pulchella* e *K. brasiliensis* pode auxiliar a contextualizar impactos evolutivos em linhagens de espécies intimamente relacionadas da tribo Tigridieae.

2. OBJETIVO GERAL

Esta dissertação tem por objetivo caracterizar três espécies da tribo Tigridaeae, sendo duas pertencentes ao gênero *Herbertia* (*H. lahue* e *H. pulchella*) e uma ao gênero *Kelissa* (*K. brasiliensis*), todas ocorrentes no Rio Grande do Sul, quanto a aspectos ecofisiológicos e morfológicos importantes para seu desempenho reprodutivo.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Estimar o investimento em produção de sementes das espécies *Herbertia lahue*, *H. pulchella* e *Kelissa brasiliensis*.
- b) Avaliar variações morfológicas das sementes das espécies *Herbertia lahue*, *H. pulchella* e *Kelissa brasiliensis*.
- c) Verificar a existência de dormência nas sementes das espécies *Herbertia lahue*, *H. pulchella* e *Kelissa brasiliensis*.
- d) Avaliar a germinação das sementes das espécies *Herbertia lahue*, *H. pulchella* e *Kelissa brasiliensis* após intervalos distintos de armazenamento e sob diferentes condições de temperatura e fotoperíodo.
- e) Determinar o percentual de sementes viáveis provenientes das espécies *Herbertia lahue*, *H. pulchella* e *Kelissa brasiliensis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERLY, D. D. et al. The Evolution of Plant Ecophysiological Traits: Recent Advances and Future Directions. **Bioscience**, v. 50, n. 11, p. 979, 2000.
- ACKERLY, D. D.; MONSON, R. K. Waking the Sleeping Giant: The Evolutionary Foundations of Plant Function. **International journal of plant sciences**, v. 164, n. S3, p. S1–S6, 2003.
- ADLER, P. B. et al. Functional traits explain variation in plant life history strategies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 2, p. 740–745, 14 jan. 2014.
- AIRES, S. S.; SATO, M. N.; MIRANDA, H. S. Seed characterization and direct sowing of native grass species as a management tool. **Grass and Forage Science**, v. 69, n. 3, p. 470–478, 2013.
- ANDRADE, B. O. et al. Grassland degradation and restoration: a conceptual framework of stages and thresholds illustrated by southern Brazilian grasslands. **Natureza & Conservação**, v. 13, n. 2, p. 95–104, 2015.
- ANDRADE, B. O. et al. Vascular plant species richness and distribution in the Río de la Plata grasslands. **Botanical journal of the Linnean Society. Linnean Society of London**, 2018.
- ARONSON, J.; VAN ANDEL, J. Restoration Ecology and the Path to Sustainability. In: **Restoration Ecology**. 2012. p. 293–304.
- ARROYO, J.; THOMPSON, J. D. Plant reproductive ecology and evolution in a changing Mediterranean climate. **Plant biology**, v. 20, p. 3–7, 2018.
- ASHMAN, T.-L. et al. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. **Ecology**, v. 85, n. 9, p. 2408–2421, set. 2004.
- ASTUTI, G. et al. Comparative assessment of reproductive traits across different habitats in the endangered Webb's hyacinth (*Bellevalia webbiana* Parl.). **Nature Conservation**, v. 24, p. 81–92, 2018.
- BARROSO, C. M. Propagação de espécies nativas com potencial ornamental: *Kelissa brasiliensis* (Baker) Ravenna e *Sinningia lineata* (Hjelmq.) Chautems. 2006.
- BRASIL. Regras para análise de sementes. **Ministério da Agricultura e Reforma Agrária**. 2009.
- BRENTANO, B.; FOLLMANN, F. M.; FOLETO, E. Contextualização das unidades de conservação no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 3, 2015.
- BROWN, J. H.; MARQUET, P. A.; TAPER, M. L. Evolution of body size: consequences of an energetic definition of fitness. **The American naturalist**, v. 142, n. 4, p. 573–584, out. 1993.

- BULLOCK, J. M. et al. Restoration of ecosystem services and biodiversity: conflicts and opportunities. **Trends in ecology & evolution**, v. 26, n. 10, p. 541–549, out. 2011.
- CARTA, A. et al. Seed dormancy and germination in three *Crocus* ser. Verni species (Iridaceae): implications for evolution of dormancy within the genus. **Plant biology**, v. 16, n. 6, p. 1065–1074, nov. 2014.
- CARTA, A.; HANSON, S.; MÜLLER, J. V. Plant regeneration from seeds responds to phylogenetic relatedness and local adaptation in Mediterranean *Romulea* (Iridaceae) species. **Ecology and evolution**, v. 6, n. 12, p. 4166–4178, jun. 2016.
- CHAUVEAU, O. et al. Oil-producing flowers within the Iridoideae (Iridaceae): evolutionary trends in the flowers of the New World genera. **Annals of botany**, v. 110, n. 3, p. 713–729, ago. 2012.
- CONRAD, M. K.; TISCHEW, S. Grassland restoration in practice: Do we achieve the targets? A case study from Saxony-Anhalt/Germany. **Ecological engineering**, v. 37, n. 8, p. 1149–1157, 1 ago. 2011.
- DAYRELL, R. L. C. et al. Phylogeny strongly drives seed dormancy and quality in a climatically buffered hotspot for plant endemism. **Annals of botany**, v. 119, n. 2, p. 267–277, jan. 2017.
- DE FREITAS, D. S.; DE OLIVEIRA, T. E.; DE OLIVEIRA, J. M. Sustainability in the Brazilian pampa biome: A composite index to integrate beef production, social equity, and ecosystem conservation. **Ecological indicators**, v. 98, p. 317–326, 2019.
- DE JONG, G. The Fitness of Fitness Concepts and the Description of Natural Selection. **The Quarterly review of biology**, v. 69, n. 1, p. 3–29, 1 mar. 1994.
- DELPH, L. F.; JOHANNSSON, M. H.; STEPHENSON, A. G. How Environmental Factors Affect Pollen Performance: Ecological and Evolutionary Perspectives. **Ecology**, v. 78, n. 6, p. 1632, 1997.
- DE PATTA PILLAR, V. **Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. 2009.
- FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. **Flora do Brasil 2020 em construção**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB136>>. Acesso em: 2019.
- FORGIARINI, C. et al. Using population characteristics to evaluate the conservation status of endangered grassland species – The case of *Herbertia zebrina* in southern Brazil. **Flora**, v. 234, p. 119–125, 2017.
- GOLDBLATT, P. Chromosome Cytology in Relation to Suprageneric Systematics of Neotropical Iridaceae. **Systematic botany**, v. 7, n. 2, p. 186, 1982.
- GOLDBLATT, P. et al. Iridaceae “Out of Australasia”? Phylogeny, Biogeography, and Divergence Time Based on Plastid DNA Sequences. **Systematic botany**, v. 33, n. 3, p.

495–508, 2008.

GOLDBLATT, P.; MANNING, J. C. **The Iris Family: Natural History & Classification**. [s.l.] Timber Press, 2008.

GOLDBLATT, P.; MANNING, J. C.; RUDALL, P. Iridaceae. In: **Flowering Plants · Monocotyledons**. 1998. p. 295–333.

HANSEN, T. F. **Fitness in Evolutionary Biology**, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.20944/preprints201804.0271.v1>>

HECHT, M. K.; MACINTYRE, R. J.; CLEGG, M. T. **Evolutionary Biology**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 1998.

IBGE, I. B. DE G. E. E. **Mapa da vegetação do Brasil e Mapa de Biomas do Brasil**.

Disponível em:

<<https://www.ibge.gov.br/geociencias-novoportal/informacoes-ambientais/estudos-ambientais/15842-biomas.html?edicao=16060&t=sobre>>. Acesso em: 14 jan. 2019.

ICMBIO. **Percentual do Território Brasileiro Abrangido por Unidades de Conservação**.

Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/informma/item/11276-uc-terrestres>>. Acesso em: 16 jan. 2019.

JACQUEMYN, H. et al. Evolutionary changes in plant reproductive traits following habitat fragmentation and their consequences for population fitness. **The Journal of ecology**, v. 100, n. 1, p. 76–87, 2011.

JOHNSTON, M. O.; BARTKOWSKA, M. P. Individual pollen limitation, phylogeny and selection. **The New phytologist**, v. 214, n. 3, p. 909–912, maio 2017.

KIEHL, K. et al. Species introduction in restoration projects - Evaluation of different techniques for the establishment of semi-natural grasslands in Central and Northwestern Europe. **Basic and applied ecology**, v. 11, n. 4, p. 285–299, 2010.

KRICHEN, K.; BEN MARIEM, H.; CHAIEB, M. Ecophysiological requirements on seed germination of a Mediterranean perennial grass (*Stipa tenacissima* L.) under controlled temperatures and water stress. **South African journal of botany: official journal of the South African Association of Botanists = Suid-Afrikaanse tydskrif vir plantkunde: amptelike tydskrif van die Suid-Afrikaanse Genootskap van Plantkundiges**, v. 94, p. 210–217, 1 set. 2014.

LADOUCEUR, E. et al. Native Seed Supply and the Restoration Species Pool. **Conservation letters**, v. 11, n. 2, p. e12381, mar. 2018.

LE STRADIC, S. et al. Diversity of germination strategies and seed dormancy in herbaceous species of campo rupestre grasslands. **Austral ecology**, v. 40, n. 5, p. 537–546, 2015.

LIVE. **Avaliação do Estado de Conservação de Espécies**. Disponível em:

<<http://www.liv.fzb.rs.gov.br/livlof/>>. Acesso em: 8 out. 2017.

MAITI, R.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, H.; OJHA, E. R. Pollen biology and plant

- productivity: A review. In: **Autoecology and ecophysiology of woody shrubs and trees**. 2016. p. 133–157.
- MATHEW, B. *Crocus sativus* and its allies (Iridaceae). **Plant systematics and evolution = Entwicklungsgeschichte und Systematik der Pflanzen**, v. 128, n. 1-2, p. 89–103, 1977.
- MATTHEW, C.; PEREIRA, L. T. Forage Plant Ecophysiology: A Discipline Come of Age. **Collection FAO: Agriculture**, v. 7, n. 8, p. 63, 2017.
- MORAES, A. P. et al. Evolutionary trends in Iridaceae: new cytogenetic findings from the New World. **Botanical journal of the Linnean Society. Linnean Society of London**, v. 177, n. 1, p. 27–49, 2015.
- MULLER, S. et al. Restoration and Rehabilitation of Species-Rich Grassland Ecosystems in France: a Review. **Restoration Ecology**, v. 6, n. 1, p. 94–101, 5 mar. 1998.
- MURRAY, B. R. et al. How plant life-history and ecological traits relate to species rarity and commonness at varying spatial scales. **Austral ecology**, v. 27, n. 3, p. 291–310, 2002.
- NEVILL, P. G. et al. Seed production areas for the global restoration challenge. **Ecology and evolution**, v. 6, n. 20, p. 7490–7497, out. 2016.
- OHARA, M. et al. Importance of life history studies for conservation of fragmented populations: A case study of the understory herb, *Trillium camschatcense*. **Plant species biology**, v. 21, n. 1, p. 1–12, 2006.
- OVERBECK, G. et al. Brazil's neglected biome: The South Brazilian Campos. **Perspectives in plant ecology, evolution and systematics**, v. 9, n. 2, p. 101–116, 2007.
- OVERBECK, G. E. et al. Restoration Ecology in Brazil Time to Step Out of the Forest. **Natureza & Conservação**, v. 11, n. 1, p. 92–95, 2013.
- OVERBECK, G. E. et al. The South Brazilian grasslands – A South American tallgrass prairie? Parallels and implications of fire dependency. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 16, n. 1, p. 24–30, 2018.
- PÉLABON, C. et al. Does stronger pollen competition improve offspring fitness when pollen load does not vary? **American journal of botany**, v. 103, n. 3, p. 522–531, 2015.
- PILLAR, V. D.; TORNQUIST, C. G.; BAYER, C. The southern Brazilian grassland biome: soil carbon stocks, fluxes of greenhouse gases and some options for mitigation. **Brazilian journal of biology = Revista brasileira de biologia**, v. 72, n. 3 Suppl, p. 673–681, ago. 2012.
- RICHARDS, A. J. **Plant Breeding Systems**. 1997.
- RODRIGUEZ, A.; SYTSMA, K. Phylogenetics of the “Tiger-flower” Group (Tigridieae: Iridaceae): Molecular and Morphological Evidence. **Aliso**, v. 22, n. 1, p. 412–424, 2006.
- ROSSI, G. et al. Is legal protection sufficient to ensure plant conservation? The Italian Red List of policy species as a case study. **Oryx: the journal of the Fauna Preservation Society**,

v. 50, n. 03, p. 431–436, 2015.

RUPRECHT, E. Successfully recovered grassland: a promising example from Romanian old-fields. **Restoration Ecology**, v. 14, n. 3, p. 473–480, 2006.

SAATKAMP, A. et al. A research agenda for seed-trait functional ecology. **The New phytologist**, 30 set. 2018.

SHIVANNA, K. R.; TANDON, R. **Reproductive Ecology of Flowering Plants: A Manual**. 2014.

SOUZA-CHIES, T. T. et al. Studies on diversity and evolution of Iridaceae species in southern Brazil. **Genetics and molecular biology**, v. 35, n. 4 suppl 1, p. 1027–1035, 2012.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>. Acesso em: jan. 2019.

STIEHL-ALVES, E. M. et al. Differentiation between two self-compatible cytotypes of *Herbertia lahue* (Iridaceae): evidence from genotypic and phenotypic variation. **Plant systematics and evolution = Entwicklungsgeschichte und Systematik der Pflanzen**, v. 302, n. 6, p. 669–682, 2016.

STIEHL-ALVES, E. M. et al. Using a Population Genetics Approach for a Preliminary Investigation concerning Species Boundaries in *Herbertia* (Iridaceae). **International journal of plant sciences**, v. 178, n. 6, p. 439–449, 2017.

STROMBERG, M. R. et al. California grassland restoration. **California grasslands: ecology and management**. University of California Press, Berkeley, p. 254–280, 2007.

THOMAS, P. A. et al. Controlling the invader *Urochloa decumbens*: Subsidies for ecological restoration in subtropical Campos grassland. **Applied Vegetation Science**, 2018.

TÖRÖK, P. et al. Grassland restoration on former croplands in Europe: an assessment of applicability of techniques and costs. **Biodiversity and conservation**, v. 20, n. 11, p. 2311–2332, 1 out. 2011.

VALLEJO-MARÍN, M.; DORKEN, M. E.; BARRETT, S. C. H. The Ecological and Evolutionary Consequences of Clonality for Plant Mating. **Annual review of ecology, evolution, and systematics**, v. 41, n. 1, p. 193–213, 1 dez. 2010.

VAN ANDEL, J.; ARONSON, J. **Restoration Ecology: The New Frontier**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2012.

VANDELOOK, F.; NEWTON, R. J.; CARTA, A. Photophobia in Lilioid monocots: photoinhibition of seed germination explained by seed traits, habitat adaptation and phylogenetic inertia. **Annals of botany**, v. 121, n. 3, p. 405–413, 5 mar. 2018.

VIOLLE, C. et al. Let the concept of trait be functional! **Oikos**, v. 116, n. 5, p. 882–892, 2007.

WASER, N. M. **Plant-Pollinator Interactions: From Specialization to Generalization**.

[s.l.] University of Chicago Press, 2006.

WIKBERG, S. Fitness in Clonal Plants. **Oikos** , v. 72, n. 2, p. 293, 1995.

WILLIAMS, J. H.; MAZER, S. J. Pollen-Tiny and ephemeral but not forgotten: New ideas on their ecology and evolution. **American journal of botany**, v. 103, n. 3, p. 365–374, 2016.

WILLIS, C. G. et al. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. **The New phytologist**, v. 203, n. 1, p. 300–309, jul. 2014.

WILSON, J. B. et al. Plant species richness: the world records. **Journal of vegetation science: official organ of the International Association for Vegetation Science**, v. 23, n. 4, p. 796–802, 2012.

YOUNGINGER, B. S. et al. Is biomass a reliable estimate of plant fitness? **Applications in plant sciences**, v. 5, n. 2, fev. 2017.

ZAPPI, D. C. et al. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.

CAPÍTULO III

Considerações Finais

Este foi o primeiro estudo de caracterização ecofisiológica de espécies nativas campestres da família Iridaceae do bioma Pampa para a região do Rio Grande do Sul. De acordo com as características das sementes estudadas para *Herbertia lahue*, *H. pulchella* e *Kelissa brasiliensis*, detectamos diversas diferenças relacionadas a sua ecologia reprodutiva. Este conhecimento se mostra essencial para a elaboração de efetivas estratégias de conservação que visem a restauração do bioma Pampa através no manejo de sua flora nativa.

Mesmo sendo bastante conservados evolutivamente, todos os caracteres de sementes analisados neste trabalho demonstraram variações significativas entre as espécies analisadas. Apesar de não ter sido possível distinguí-las taxonomicamente através deles, caracteres de sementes potencialmente informativos foram reconhecidos. Futuras investigações com representantes da tribo Tigridieae que busquem contemplar os caracteres de sementes analisados em nosso estudo e combinação com diversos outros apontados na literatura (ex. categorias de formato de sementes, coloração, dimensões do embrião, micromorfologia da superfície de revestimento, etc) podem auxiliar a esclarecer melhor a história evolutiva do grupo.

Um dos resultados mais relevantes deste estudo foi o reconhecimento dos requerimentos e preferências ecofisiológicas das espécies observadas. De acordo com os testes de embebição e germinação de sementes pode-se revelar informações acerca dos mecanismos adaptativos desenvolvidos por estas espécies campestres que possivelmente garantem sua sobrevivência em seus ambientes de naturais. Registramos a ocorrência de dormência fisiológica nas sementes de todas as espécies investigadas. Ademais, a resposta germinativa de todas as sementes foi favorecida ao serem incubadas sob condições de fotoinibição. Apesar destas convergências, distintas preferências por condições de temperatura foram verificadas. Estes requisitos germinativos associados aos dados levantados sobre produção de sementes, suas dimensões e investimentos em biomassa, foram interpretados como adaptações que influenciam o *fitness* das espécies na conquista de seu habitat e, portanto, em sua distribuição natural.

Adicionalmente, confirmamos através de citometria de fluxo que os níveis de ploidia de *Herbertia lahue* podem ser distinguidos por caracteres florais e possuem diferenças notáveis entre suas características de sementes e ecofisiologia. De fato, nosso estudo está registrando pela primeira vez populações diploides de *Herbertia lahue*. Porém, estudos citogenéticos que contemplem essas populações precisam ser feitos para confirmar o citótipo.

Além disso, uma reavaliação dos limites das espécies através de uma abordagem de genética populacional dentre os citótipos de *Herbertia lahue*, que reconheça grupos genéticos distintos suportados por características de sementes e adaptações ecofisiológicas como caracteres diagnósticos, poderia revelar um processo de especiação recente.

Ao final, recomenda-se que a partir das informações adquiridas sobre o comportamento ecofisiológico destes representantes da tribo Tigridieae, futuros estudos de germinação de médio e longo prazo com espécies de parentesco próximo aos gêneros *Herbertia* e *Kelissa* sejam realizados *in situ*. Deste modo, poderá se verificar se os dados até então obtidos podem ser utilizados na confecção de práticas de manejo em prol da restauração de áreas campestres do bioma Pampa.