

**ESTUDO DO POTENCIAL GERMINATIVO, DO DESENVOLVIMENTO
GAMETOFÍTICO E DO POTENCIAL DE REPRODUÇÃO VEGETATIVA DE
Gleichenella pectinata (Willd.) Ching (PTERIDOPHYTA – GLEICHENIACEAE)**

EUNICE PEREIRA GONÇALVES DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para a obtenção do título do Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Dra. Áurea Maria Randi
Co-orientadora: Dra. Marisa Santos

FLORIANÓPOLIS, SC
2006

A Deus,
Ao meu esposo Valdei e meu filho
Mateus por serem minha fonte
inesgotável de Fé, esperança e amor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em nenhum momento da minha vida me abandonou, dando força e coragem para prosseguir.

À Profª Dra. Áurea Maria Randi, pela orientação, pela amizade, pela paciência e todas as conversas que tivemos.

À Profª Dra. Marisa Santos, pela co-orientação e paciência na realização das fotografias.

À Profª Aldaleia responsável pela Unidade de Conservação Ambiental Desterro, em especial o Silvanio Guilherme da Costa, pela ajuda na realização das coletas.

À Vera Lúcia de Mello Araújo Zapelini, secretária do curso de Pós-graduação em Biologia Vegetal, pela disposição em facilitar as informações, sempre com um grande sorriso.

À minha mãe Elice, pelo amor, pela compreensão da minha vida, que soube e sabe reclamar da minha ausência com tanto carinho e pelas orações.

Ao meu esposo Valdei, pela paciência e o amor durante o decorrer do curso.

Ao meu filho Mateus, que compartilhou minhas aflições e alegria em todas as etapas do trabalho.

À Divina Falquetti e seus filhos André e Noé Filho, por mostrarem que para amizade não existe distância.

Aos meus irmãos José, Maria Rosa e João, pelo carinho e atenção.

Aos colegas e amigos, em especial à Eliane e a Cíntia.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que este trabalho fosse realizado e à CAPES pela ajuda financeira.

“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos e não tivesse caridade, seria como o metal que soa ou como o sino que tine”. Co 13.1

RESUMO

As pteridófitas representam um importante grupo vegetal da flora brasileira. Espécies são encontradas em diferentes regiões, desde cerrado, dunas, matas ou rochas. Algumas pteridófitas mostram-se pioneiras e eficientes na regeneração de fragmentos de floresta degradadas. Este trabalho tem a finalidade de estudar o potencial germinativo dos esporos e do desenvolvimento gametofítico de *Gleichenella pectinata* (Willd) Ching, o potencial de brotamento de rizomas e estacas caulinares, bem como analisar a morfo-anatomia dos gametófitos durante seu desenvolvimento e verificar o efeito de diferentes níveis de luz e temperatura no processo germinativo da espécie. As frondes férteis foram coletadas na Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UCAD), Florianópolis-SC. Esporos foram separados dos esporângios por filtragem em papel entretela e armazenados a 7 ± 1 °C. Observaram-se três padrões de desenvolvimento inicial gametofítico: clorócitos ricos em cloroplastos, gametófitos filamentosos com rizóide não desenvolvido e gametófitos com três a cinco células protaliais com rizóides desenvolvidos. Esporos foram esterilizados superficialmente em solução de hipoclorito de sódio comercial a 10% (v/v) durante 15 min, filtrados através de papel de filtro esterilizado e lavados diversas vezes com água destilada autoclavada. Foram semeados em frascos contendo 20 mL de meio mineral proposto por Mohr e modificado por Dyer, suplementado por Benomyl a 0,01%. Todos os procedimentos foram conduzidos em capela de fluxo laminar. Os testes de germinação foram realizados em sala de cultivo a 25 ± 2 °C ($30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), câmara de germinação a 30 ± 2 °C ($19 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) sob fotoperíodo de 16 horas, e diferentes níveis de luz (62, 42, 22 e 5% da luz natural). A germinação dos esporos iniciou-se após quatro dias de cultivo. Aos 14 dias os gametófitos eram formados por um ou mais clorócitos ricos em cloroplastos. Aos 21 dias os gametófitos possuíam de três a cinco células protonemais. Aos 34 dias alguns gametófitos permaneciam filamentosos e outros se apresentaram como um protalo laminar espatulado. Aos 48 dias os gametófitos tornaram-se cordiformes. Somente gametófitos com rizóides desenvolvidos atingiram a fase cordiforme. A maior porcentagem de gametófitos com rizóides, foi observada após 331 dias de armazenamento ($18,16 \pm 3,54\%$) para a coleta realizada em 06/11/2004 e a menor ($1,53 \pm 1,02\%$) para a coleta realizada em 29/05/2004 cujos esporos foram armazenados por 49 dias. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados dos testes de germinação com e sem adição de Benlate ao meio mineral. O meio mineral solidificado com agar não foi mais eficiente que o meio líquido na produção de gametófitos com rizóides. As porcentagens de gametófitos com rizóides foram maiores a 25 °C e menores a 30 °C. As maiores porcentagens de gametófitos com rizóides ocorreram sob 22 e 5% de luz natural nos testes realizados em novembro (2004) e outubro (2005). O uso de reguladores de crescimento em métodos de propagação vegetativa foi ineficiente para a produção de mudas de *G. pectinata*.

Palavras-chaves: *Gleichenella pectinata*, germinação, irradiância, gametófito

ABSTRACT

Ferns are an important group in the Brazilian flora. They are found at different regions, including open pastureland, dunes, bushes and rocks. Some ferns are pioneers and very efficient in the regeneration of degraded forest fragments. The aim of this study was to analyze the potential of spore germination and gametophyte development of *Gleichenella pectinata* (Willd) Ching, as well as the morpho-anatomy of gametophytes during their development and to study the effects of different light levels and temperature on their germination. Fertile fronds were collected at the “Unidade de Conservação Ambiental Desterro” (UCAD), Florianópolis-SC. The spores were removed and separated from debris by filtering through lens paper and stored in glass jars under refrigeration at 7 ± 1 °C. Spores were surface sterilized using a 10% (v/v) solution of commercial bleach (2% of active chlorine) for a period of 15 min and then filtered through sterile filter paper, being washed several times with sterile distilled water. Spores were sown in bottles containing 20 mL mineral medium as proposed by Mohr, modified by Dyer and supplemented with Benomyl 0.01%. All the procedures were carried out in a laminar hood. The germination tests were carried out in growth room at 25 ± 2 °C ($30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), in growth chamber at 30 ± 2 °C ($19 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) under a 16 hour photoperiod and under the following light levels: 62, 42, 22 and 5% of natural light. Three patterns of young gametophytes were observed: rich chloroplasts chlorenchytes, filamentous gametophytes without a developed rhizoid and from three to five protallial cell filamentous gametophytes with developed rhizoids. After 14 days, gametophytes presented one or more chlorenchytes rich in chloroplasts. After 21 days, gametophytes presented three to five protallial cells. After 34 days some gametophytes remained filamentous and other presented a spatulated protallus. After 48 days, they presented the heart shape. The greater percentage of gametophytes with rhizoid was observed after 331 days of storage ($18.16 \pm 3.54\%$) for spores collected in 06/11/2004 and the minor ($1.53 \pm 1.02\%$) for spores collected in 29/05/2004 and stored for 49 days. No statistically significant differences were observed between results with and without the addition of Benlate® to the mineral medium. The agar gelled medium was not more efficient than the liquid medium in the production of gametophytes with rhizoids. The germination percentages were higher at 25 °C and lower at 30 °C. The highest percentages of gametophytes with rhizoids were observed at 22 and 5% of natural light in November (2004) and October (2005). The use of growth regulators in vegetative propagation methods was not efficient for the production of *G. pectinata* plantlets.

Key-words: *Gleichenella pectinata*, gametophytes, germination, irradiance.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
SUMÁRIO.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE QUADROS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2 . OBJETIVOS	8
2.1. OBJETIVO GERAL.....	8
2.1. 1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3. MATERIAL E MÉTODOS	9
3.1. ÁREA DE COLETA	9
3.2. COLETA DE MATERIAL BOTÂNICO.....	11
3.3. ESTERILIZAÇÃO DE ESPOROS	11
3.4. GERMINAÇÃO DE ESPOROS	12
3.5. EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ NA GERMINAÇÃO.....	13
3.6. ANÁLISE MORFO-ANATÔMICA DE GAMETÓFITOS.....	14
3.7. CULTIVO DE RIZOMAS.....	15
3.8. CULTIVO DE ESTACAS FOLIARES	18
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1. MORFOLOGIA DE ESPOROS E MORFO-ANATOMIA DE GAMETÓFITOS	21
4.2. GERMINAÇÃO DE ESPOROS FORMADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO	29
4.3. EFEITO DE MEIO SOLIDIFICADO COM AGAR E DE DIFERENTES TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO DE <i>GLEICHENELLA PECTINATA</i>	41
4.4. EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ NA GERMINAÇÃO DE <i>GLEICHENELLA PECTINATA</i>	48
4.5. EFEITO DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO NA GERMINAÇÃO DE <i>GLEICHENELLA PECTINATA</i>	59
5. CULTIVO DE RIZOMAS E ENRAIZAMENTO DE ESTACAS FOLIARES	61
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida de uma pteridófita homosporada	2
Figura 2 – Localização da Unidade de Conservação Ambiental Desterro na ilha de Santa Catarina (Fonte: Queiroz <i>et al.</i> 2002).....	10
Figura 3 – Representação esquemática de uma fronde de <i>Gleichenella pectinata</i> (Willd.) Ching e estacas foliares utilizada.....	19
Figura 4 - Fotomicrografia em MO, de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i>	21
Figura 5 - Fotomicrografia em MO, de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> aos 14 dias de cultivo.....	25
Figura 6 - Fotomicrografia em MO de diferentes padrões de gametófitos de <i>Gleichenella pectinata</i>	26
Figura 7 - Fotomicrografia em MO de diferentes fases do desenvolvimento gametofítico de <i>Gleichenella pectinata</i>	27
Figura 8 - Fotomicrografia em MO de gametófito de <i>Gleichenella pectinata</i>	28
Figura 9- Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 26/03/2004 e armazenados durante 86 dias sob refrigeração.	31
Figura 10 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 07/04/2004 e armazenados durante 74 dias sob refrigeração..	32
Figura 11 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 29/05/2004 e armazenados durante 49 dias sob refrigeração.....	33
Figura 12 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 29/05/2004 e armazenados durante 49 dias sob refrigeração.....	34
Figura 13 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 04/07/2004 e armazenados durante 82 dias sob refrigeração.....	44
Figura 14 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração.....	45

Figura 15 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração.....	46
Figura 16 – Gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> , coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração.....	47
Figura 17 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de novembro, a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 06/10/2004 e armazenados durante 29 dias sob refrigeração.....	50
Figura 18 - Densidades de fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtidas as 14h no mês de novembro de 2004, durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de <i>Gleichenella pectinata</i> , dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite”	51
Figura 19 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de novembro de 2004 a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 06/10/2004 e armazenados durante 29 dias sob refrigeração..	52
Figura 20 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de outubro de 2005, a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração..	56
Figura 21 – Densidades de fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtidas as 14h no mês de outubro de 2005, durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de <i>Gleichenella pectinata</i> , dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite”	57
Figura 22 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de outubro 2005 a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 06/11/2004 e armazenados sob refrigeração durante 331 dias.....	58
Figura 23 – Gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos de <i>Gleichenella pectinata</i> coletados em 06/11/2004, armazenados durante 331 dias sob refrigeração e cultivados em diferentes condições experimentais.....	60

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Composição química do Meio Mineral de DYER.	13
Quadro 2 - Metodologia para fixação das amostras de gametófitos.....	15
Quadro 3 - Método para preparo da Solução de Lugol.	15
Quadro 4 - Solução nutritiva de Hoagland.	17

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Porcentagem final de gametófitos com rizóides produzidos a partir de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 29/05/2004 e armazenados durante 49 dias sob refrigeração, inoculados em meio mineral de Dyer com e sem adição de Benlate. 35
- Tabela 2 - Porcentagem final de gametófitos com rizóides produzidos a partir de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em diferentes meses de 2004..... 35
- Tabela 3 - Porcentagem de esporos viáveis de *Gleichenella pectinata* coletados em diferentes meses de 2004. 36
- Tabela 4 – Gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata*, coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração. 47
- Tabela 5 - Temperaturas mínimas e máximas obtidas no mês de novembro de 2004 as 14 h durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de *Gleichenella pectinata*, dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite” 51
- Tabela 6 - Dias para atingir a máxima germinação e porcentagem final de gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/10/2004 e armazenados sob refrigeração durante 29 dias. 52
- Tabela 7 - Temperaturas mínimas e máximas obtidas no mês de outubro de 2005 as 14h durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de *Gleichenella pectinata*, dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite” 57
- Tabela 8 - Dias para atingir a máxima germinação e porcentagem final de gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004 e armazenados sob refrigeração durante 331 dias..... 58
- Tabela 9 - Dias para atingir a máxima germinação e porcentagem final gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004, armazenados durante 331 dias e cultivados em diferentes condições experimentais..... 60
- Tabela 10 - Cultivo de rizomas de *Gleichenella pectinata*, em diferentes tratamentos. 61
- Tabela 11 - Efeito de AIB na sobrevivência de estacas foliares de *Gleichenella pectinata* em sala de cultivo. 62

Tabela 12 – Efeito de AIB na sobrevivência de estacas foliares de <i>Gleichenella pectinata</i> em condições de laboratório.....	63
Tabela 13 - Efeito de AIB na sobrevivência de estacas foliares de <i>Gleichenella pectinata</i> na casa de vegetação do Dept. de Botânica.....	63

1. INTRODUÇÃO

As pteridófitas possuem uma megadiversidade na flora brasileira. Constituem um importante grupo vegetal, com cerca de 1.200 a 1.300 espécies ocorrentes no Brasil (Prado 1997), de um total estimado em 9.000 a 12.000 espécies no mundo (Tryon & Tryon 1982). Estima-se que 700 espécies estejam ameaçadas de extinção (Windisch 2002).

No continente americano há cerca de 3.250 espécies, das quais 3.000 podem ser encontradas em territórios neotrópicos (Tryon & Tryon 1982). Segundo Tryon (1986), as regiões Sul e Sudoeste do Brasil contêm cerca de 600 espécies e abrigam um dos centros de endemismo e especiação de pteridófitas no continente Sul-Americano. No Brasil, ocorrem principalmente em regiões de matas, especialmente na Mata Atlântica e Matas de regiões serranas (Prado 1997).

Os esporos de pteridófitas possuem entre si, semelhante capacidade de dispersão pelo ar. Distâncias de 800 Km não são impedimentos significativos para sua dispersão (Tryon 1970). Esta capacidade de dispersão dos esporos a longa distância, possibilitaria ocuparem uma ampla área geográfica, diminuindo a influencia de fatores históricos ou barreiras geográficas na sua distribuição (Tryon 1972).

A maioria das espécies de pteridófitas pertencem à ordem Filicales. A maioria das espécies dessa ordem possuem esporos homosporados. Essas plantas caracterizam-se por possuir alternância de geração, uma gametofítica e outra esporofítica (Fig. 1). O gametófito inicialmente apresenta-se filamentosos e amerístico e posteriormente torna-se uma estrutura membranosa achatada e cordiforme, o protalo, com numerosos rizóides na parte central da superfície inferior. Tanto os anterídios quanto os arquegônios desenvolvem-se na superfície ventral do protalo. Os anterídios ocorrem principalmente entre os rizóides, enquanto os arquegônios são geralmente formados próximos à reentrância, um entalhe na extremidade

anterior do gametófito. A ordem de aparecimento destes gametângios é controlada geneticamente e pode ser mediada por substâncias químicas especiais produzidas pelos gametófitos. O momento de surgimento dos gametângios pode influenciar se o sistema de cruzamento é primariamente de autofecundação ou de fecundação cruzada. A água é necessária para o anterozóide multiflagelado nadar até as oosferas (Raven *at al.* 2001).

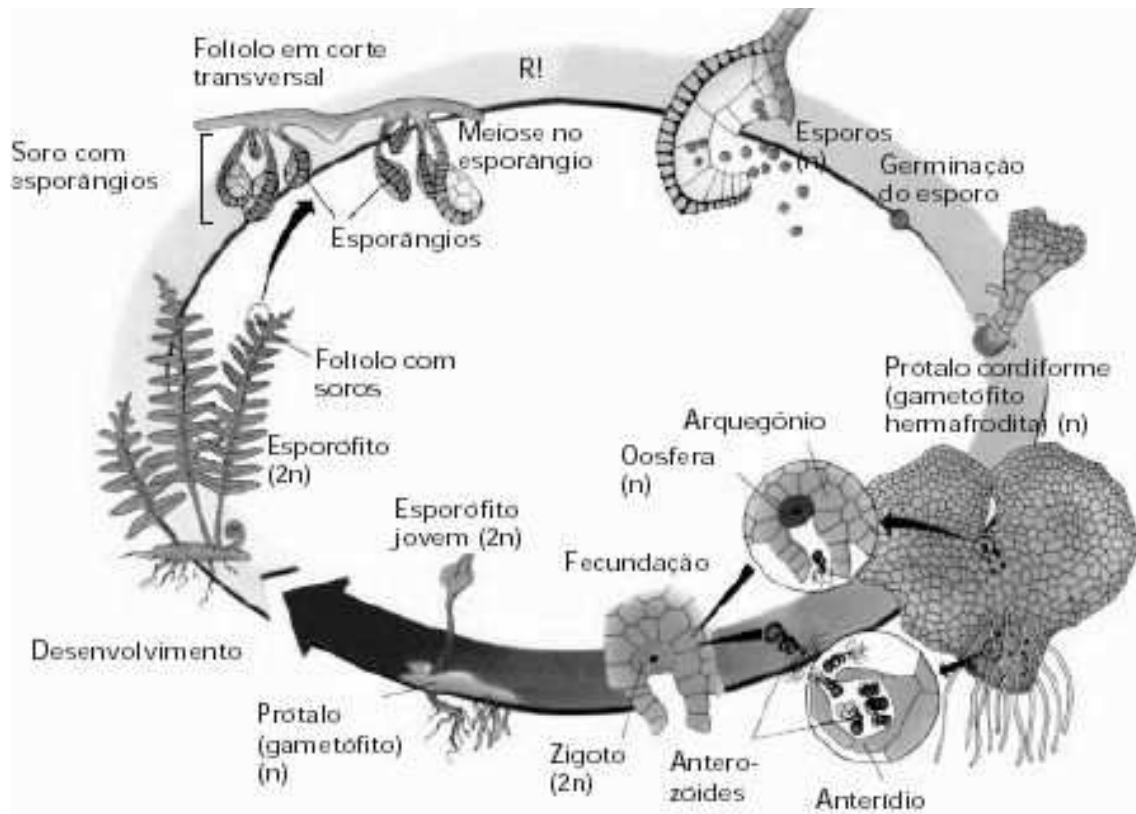


Figura 1 - Ciclo de vida de uma pteridófita homosporada (Fonte: <http://www.lssa.com.br>).

Com relação à fisiologia da germinação de pteridófitas, estudos pioneiros realizados por Mohr (1956) mostram que os esporos da maioria das pteridófitas necessitam da luz para germinação. Miller (1968) constatou que, dentre 88 espécies estudadas, apenas sete possuíam esporos que germinavam em número considerável na escuridão completa quando recebiam umidade, oxigênio e temperaturas favoráveis. Alguns estudos realizados no Brasil, por

Esteves & Felipe (1985), mostraram que dentre nove espécies estudadas apenas duas apresentaram esporos que germinavam no escuro. A germinação dos esporos de pteridófitas geralmente ocorre em poucos dias. Simabukuro *et al.* (1993) estudaram a germinação de oito espécies de pteridófitas de mata ciliar e constataram que o tempo médio de germinação (\bar{t}) variou de 2,61 dias para *Blechnum brasiliense* Desv. (Blechnaceae) a 9,01 dias para *Asplenium serra* Langsd & Fisch. (Aspleniaceae) e que todas germinavam na presença de luz. Filippini *et al.* (1999) mostraram que esporos de *Dicksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae) atingiram a máxima porcentagem de germinação a 23 ± 2 °C em luz branca constante, após 8 ou 9 dias de inoculação. Brum & Randi (2002) relatam que os esporos de *Rumohra adiantiformis* (Forst.) Ching. (Dryopteridaceae) apresentaram o menor tempo médio de germinação, sob 9% de luz solar nos meses de março e agosto em Florianópolis, SC.

É vasta a literatura científica sobre o desenvolvimento gametofítico das pteridófitas. Por exemplo, Suzuki (2003) analisou o desenvolvimento gametofítico de *Dicksonia sellowiana*. Após 15 dias de cultivo em meio líquido, os gametófitos eram filamentosos e possuíam uma célula rizoidal e três a sete células protonemais. Quando a região apical apresentou aproximadamente quatro células, a célula apical diferenciou-se em célula obcônica ou meristemática, entre 30 a 35 dias de cultivo. Aos 45 dias o gametófito adquiriu a forma cordiforme. Aos 75 dias, os gametófitos apresentaram-se cordiformes e aos 90 dias apresentaram-se arquegoniados e sem tricomas. Sob microscopia eletrônica de varredura, constatou que os arquegônios são multicelulares e formados por quatro colunas de células. Aos 84 dias de cultivo, foram observados os primeiros esporófitos.

Diversos autores pesquisaram as exigências edáficas necessárias ao crescimento de pteridófitas. Carlson (1979) conduziu um estudo comparativo do habitat de dez espécies do gênero *Dryopteris*, reunindo-as em quatro grupos: espécies típicas de solos de pH ácido, espécies de solos de pH ácido a neutro, espécies de solos de pH neutro e espécies de solos de

pH neutro a básico, havendo um maior número de espécies desse gênero que preferem solos com pH acidificado. Estudos realizados por Graves & Monk (1982), com pteridófitas herbáceas, na Georgia (EUA) mostraram que dentre as espécies estudadas, *Polystichum acrostichoides* (Michx.) Schott (Dryopteridaceae) é de ocorrência mais restrita a solos fortemente ácidos. Já, *Athyrium pycnocarpum* (Spreng.) Tidestrom é mais abundante em solos com pH acima de 6,6 e mais ricos em nutrientes. *A. thelypterioides* (Michx.) Desv. e *Cystopteris protusa* (Weath.) Blasdell da família Woodsiaceae, são espécies generalistas, uma vez que suas distribuições não têm correlação significativa com o pH. Suzuki *et al.* (2005) mostraram que em terra roxa estruturada, cujo pH era baixo (4,4), com baixa disponibilidade de cálcio, nitrogênio, fósforo e alta concentração de alumínio, ocorreu o desenvolvimento gametofítico de *D. sellowiana* e houve a formação de esporófitos. Porém, nesse solo, o desenvolvimento foi muito mais lento quando comparado ao desenvolvimento na mesma terra roxa com adição de composto orgânico termofílico na proporção de 3:1. Observaram que essa espécie não se desenvolveu em solo de floricultura destinado a plantas ornamentais, cujo pH era 6,6. Esse solo, embora tenha uma boa disponibilidade de nutrientes, não foi eficiente para o desenvolvimento gametofítico de *D. sellowiana*. Segundo Suzuki *et al.* (2005), o substrato coxim (fibra de coco moída), pelo seu altíssimo nível de potássio, provavelmente foi tóxico para o desenvolvimento da espécie.

Diversas espécies de pteridófitas, quando cultivadas “*in vitro*”, respondem aos hormônios e reguladores vegetais, especialmente auxinas e citocininas, em procedimentos de reprodução vegetativa. Por exemplo, Camloha *et al.* (1994) regeneraram “*in vitro*” plântulas de *Platyserium bifurcatum* (Cav.) (Polypodiaceae) em meio Murashigi & Skoog suplementado com citocinina sintética BAP (benzil-amino purina) e posteriormente AIB (ácido indol-butírico), para induzir o enraizamento. Fernández *et al.* (1996a) cultivaram “*in vitro*” rizomas de esporófitos jovens de *Blechnum spicant* L. (Blechnaceae) e *Pteris*

ensiformis L. (Pteridaceae) em meio MS contendo BAP associado ao ANA (ácido naftaleno acético). Kwa *et al.* (1997) observaram que ANA promoveu a formação de rizóides em culturas de suspensões celulares de *Platyterium coronarium* (Koenig) Desv. (Polypodiaceae). Tais informações atestam o potencial de uso de hormônios e reguladores de crescimento em métodos de propagação vegetativa de pteridófitas.

Estudos mostram que fragmentos de floresta quando degradados regeneram-se em florestas secundárias. As sucessivas degradações e posteriores regenerações desses fragmentos causam perdas de nutrientes minerais devido à lixiviação do solo. Esses fragmentos passam a abrigar algumas espécies de pteridófitas dos gêneros *Pteridium* (Dennstaedtiaceae) ou *Gleichenia* (= *Gleichenella*) (Gleicheniaceae) (Heinrich 1986). Reis *et al.* (1999) relatam que *Gleichenella pectinata* (Willd) Ching é uma das primeiras espécies a surgir em áreas degradadas pela ação do homem (como, por exemplo, roças abandonadas), propiciando um exemplo de sucessão secundária na Floresta Atlântica. Cusatis (2001) realizou estudos fitossociológicos e observou que *Melinis minutiflora* Beauv. (capim-gordura) e duas espécies de Gleicheniaceae, *Sticherus penninger* (Mart.) Mart. & Copel. e *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw são as plantas que mais se adaptam a solos de extrema pobreza em Minas Gerais. As duas espécies de Gleicheniaceae foram registradas em todas as escalas de cobertura variando de um indivíduo até acima de 75% de cobertura na parcela analisada. Esses dados atestam o potencial das espécies de Gleicheniaceae como colonizadoras de taludes e encostas degradadas. No entanto, a escassez de estudos ecofisiológicos torna imprescindível o desenvolvimento de projetos de pesquisa que forneçam os conhecimentos necessários sobre a biologia reprodutiva e desenvolvimento inicial dessas espécies a fim de que possam ser utilizadas em programas de recuperação de áreas degradadas.

Segundo Østergaard-Andersen & Øllgarard (2001), a família Gleicheniaceae possui cinco gêneros, com 120 a 140 espécies, de distribuição pantropical. Quatro gêneros ocorrem nas Américas, apresentado de 40 a 50 espécies. Estes gêneros são reconhecidos pelo padrão de ramificação da fronde e pelo indumento. A família Gleicheniaceae é muito diferente das outras pteridófitas por possuir frondes com ramificações pseudodicotômicas e os segmentos geralmente pectinados nas ultimas ramificações (Østergaard-Andersen & Øllgarard 1996).

A família apresenta plantas terrestres, com caules longo-reptantes, dicotomicamente ramificados, com escamas ou tricomas. As frondes são escandentes ou eretas, monomorfas, pseudodicotômicas (com uma gema na axila de cada pseudodicotomia); pecíolos contínuos com o caule, com um feixe vascular em forma de “C” na base; raque no ápice também com uma gema dormente ou não; esta gema é protegida por indumentos, escamas ou tricomas. Soros ocorrem na face abaxial dos segmentos e são formados na região mediana da nervura acroscópica da furca, sendo arredondados, sem indúsio, com ou sem paráfise; esporângios são globosos, subésseis; esporos são monoletes ou triletes sem clorofila. O gametófito é cordiforme, apresentando um notável espessamento longitudinal na região mediana. Os anterídios formam uma quarta célula no ápice. O número de anterozóides produzidos é muito grande (Tryon & Tryon 1982; Prado 2004).

Conforme Tryon & Tryon (1982) e Prado (2004), o gênero *Gleichenella* distribuí-se geograficamente do sul do México ao Panama, América Central, Guiana Francesa, Guiana, Trinidad, Suriname, Antilhas, Bolívia, Argentina, Uruguai, Chile, Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Bolívia e Brasil.

A espécie a ser estudada neste trabalho foi identificada por Prado (2004) como *Gleichenella pectinata* (Willd) Ching. De acordo com Tryon & Tryon (1982), essa espécie é classificada como *Dicranopteris pectinata* Willd. Und = *Gleichenella pectinata* (Willd) PR.

Segundo Queiroz (1994), *Gleichenia pectinata* (= *Gleichenella pectinata*) forma associações caracterizadas pela forte dominância desta espécie, apresentando um cortejo florístico bastante reduzido, que denominou de *Gleichnietum pectinatae*. Frequentemente os grupamento têm dezenas de anos. A altura média de uma associação encontra-se em torno de 1,5 m.

Este trabalho tem a finalidade de estudar o potencial germinativo dos esporos e do desenvolvimento gametofítico de *Gleichenella pectinata*, bem como analisar o potencial de brotamento de rizomas e estacas caulinares a fim de gerar conhecimentos que possam ser utilizados para o manejo dessa espécie e recomendá-la como planta de cobertura para proteger o solo contra perdas por erosão e restauração de paisagem, principalmente em taludes.

2 . OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar o potencial germinativo dos esporos, o desenvolvimento dos gametófitos de *Gleichenella pectinata* e o potencial de propagação através de rizomas e estacas foliares.

2.1. 1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Analisar a morfo-anatomia de gametófitos obtidos a partir de cultivo “*in vitro*” de esporos.
- 2- Determinar taxas de porcentagens de germinação para diferentes coletas realizadas durante um ano.
- 3- Estudar o efeito de diferentes temperaturas (25 e 30 °C) na germinação de esporos.
- 4- Estudar o efeito de diferentes níveis de luz na germinação.
- 5- Analisar o potencial de produção de mudas de *G. pectinata* a partir de cultivo de rizomas.
- 6- Analisar o potencial de enraizamento de estacas foliares com gemas entre as furcas, de *G.pectinata* com adição de auxinas sintéticas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ÁREA DE COLETA

O material foi coletado no Brasil, Estado de Santa Catarina, Ilha de Florianópolis, na Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UCAD), localizada no setor norte da ilha à margem direita da SC 401 no sentido norte. A área que atualmente corresponde a UCAD, até meados de 70 esteve sob domínio privado e sofreu sucessivas alterações em sua cobertura vegetal. No ano de 1995, esta área foi adquirida pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) através de uma doação do Governo estadual. A UCAD situa-se entre as coordenadas geográficas aproximadas de 27°30'48" a 27°32'34" de latitude sul e 48°29'38" a 48°30'42" de longitude oeste. Sua área corresponde a 4.915.332.085 m², de Floresta Ombrófila Densa, representando 1,1% da superfície da Ilha. Localiza-se nos distritos de Santo Antônio de Lisboa, Ratoles e Lagoa da Conceição no município de Florianópolis/SC (Ladwig 1998) (Fig. 2).

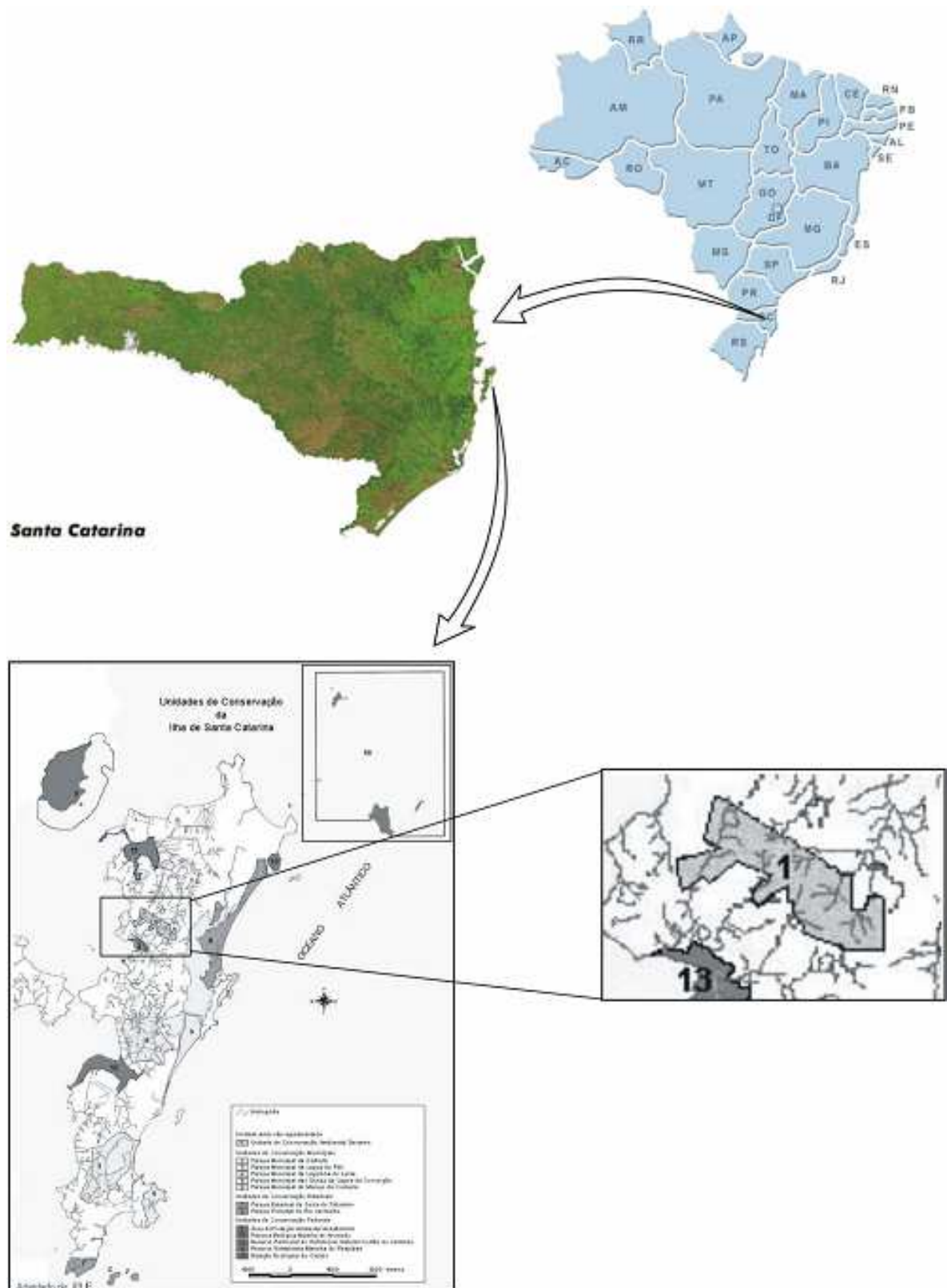


Figura 2 – Localização da Unidade de Conservação Ambiental Desterro na ilha de Santa Catarina (Fonte: Queiroz *et al.* 2002).

3.2. COLETA DE MATERIAL BOTÂNICO

Gleichenella pectinata possui caule densamente pubescente, tricomas não ramificados, castanho-amarelados, medindo 4mm. Frondes são eretas, com 1 a 2 m de comprimento; pecíolos castanho-claros, com tricomas esparsos na base, iguais aos do caule, glabro distalmente; pinas 1-2-furcadas, sem um par de pinas acessórias na base de cada furca; gemas com tricomas pluricelulares, castanho-avermelhados, segmentos adaxialmente glabros, abaxialmente pilosos, tricomas sobre as nervuras, castanho-alaranjados, estrelados; nervuras livres, simples a 2-4-furcadas. Soros como esporângios em posição mediana.

Frondes férteis de *G. pectinata* foram coletadas na Unidade de Conservação Ambiental Desterro-UCAD nos meses de março (26/03), abril (07/04), maio (29/05), julho (04/07), outubro (06/10) e novembro (06/11) de 2004.

Após a coleta, as frondes secaram sobre papel de filtro, em temperatura ambiente durante 72 horas, para induzir a abertura dos esporângios e liberação dos esporos. Posteriormente, os esporos foram separados dos esporângios, com auxílio de um pincel. O material foi filtrado em entretela de papel (ou papel de lente) e os esporos foram armazenados em frascos de vidro sob refrigeração a 7 ± 1 °C (Rogge *et al.* 2000).

3.3. ESTERILIZAÇÃO DE ESPOROS

Esporos de *G. pectinata* foram previamente esterilizados pela imersão durante 15 minutos, em solução de hipoclorito de sódio comercial (Q-Boa[®], com 2% de cloro ativo), diluída a 10% e posteriormente foram lavados em água destilada autoclavada e filtrados a vácuo, sobre papel de filtro. Este procedimento foi realizado em capela de fluxo lumínar, onde o material permaneceu até a secagem completa.

3.4. GERMINAÇÃO DE ESPOROS

Os esporos germinaram em meio mineral líquido e em meio mineral solidificado. Na germinação em meio líquido, os esporos foram semeados em quatro frascos Erlenmeyer, contendo 20 ml de meio mineral de Mohr (1956), modificado por Dyer (1979) (Quadro 1), acrescido de Benlate[®] (25 mg.L⁻¹) para evitar o aparecimento de fungos, com exceção da coleta realizada em 29/05/2004 onde empregou-se meio sem adição de Benlate. Para se analisar o comportamento germinativo em meio solidificado, esporos foram semeados em oito placas de Petri, contendo 20ml de meio solidificado com 0,8% de Agar. O pH dos meios foi de aproximadamente 6,5. Os meios e vidrarias foram previamente autoclavados durante 30 minutos a 1 atm. Aproximadamente 10 mg (cerca de 200000) de esporos esterilizados, foram semeados em cada frasco ou placa com auxílio de uma espátula. Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar. O efeito de temperaturas de 25 °C e 30 °C foi analisado. A germinação a 25 °C ocorreu em sala de cultivo com irradiância à altura dos frascos de aproximadamente 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A germinação a 30 °C ocorreu em câmara de germinação com irradiância à altura dos frascos de aproximadamente 19 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A iluminação foi obtida pelo uso de lâmpadas fluorescentes brancas e o fotoperíodo foi de 16 horas. A germinação foi avaliada a cada quatro ou sete dias até a estabilidade. Foram preparadas oito lâminas e contados 100 esporos por lâmina, em microscópio binocular Carl Zeiss e aumento de 100 vezes. Esporos de *G. pectinata* após procedimentos de germinação utilizados neste trabalho originam três padrões de desenvolvimento inicial gametofítico: 1) esporos com cloroplastos; 2) gametófitos filamentosos com rizóides não desenvolvidos ou parcialmente desenvolvidos, 3) gametófitos com rizóides em desenvolvimento.

Quadro 1 - Composição química do Meio Mineral de DYER.

Reagentes	Quantidade
MgSO ₄ . 7H ₂ O	510 mg.L ⁻¹
KNO ₃	1 20 mg.L ⁻¹
Ca (NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	1440 mg.L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	250 mg.L ⁻¹
Solução de FeSO ₄ .7H ₂ O e NaEDTA	1ml.L ⁻¹
Preparo da solução de FeSO ₄ .7H ₂ O e NaEDTA:	
NaEDTA.....	33,2 g . L ⁻¹
NaOH.....	3,65 g. L ⁻¹
FeSO ₄	25 g. L ⁻¹

3.5. EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ NA GERMINAÇÃO

Os frascos contendo esporos semeados em meio mineral líquido, foram colocados em bandejas, sob armações de madeira de 50 cm³, revestidas com telas sombrite, que reduzem a insolação natural em aproximadamente 62, 42, 22 e 5%. Os testes foram realizados no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. Os níveis de luz dentro das caixas foram avaliados a cada três ou quatro dias, sempre as 14h, por quantômetro LICOR 250, munido de sensor PAR (400 a 700 nm), exceto em dias de chuva, quando não foi possível proceder à avaliação. Em um dia ensolarado de março, ao meio dia, a densidade de fluxo de fótons nesse local atinge 1400 μmol. m⁻².s⁻¹.

Foram realizados dois testes: em novembro de 2004 com esporos coletados em outubro de 2004 e em outubro de 2005 com esporos coletados em novembro de 2004.

3.6. ANÁLISE MORFO-ANATÔMICA DE GAMETÓFITOS

Amostras de esporos e gametófitos de *G. pectinata*, foram fixados semanalmente, após os esporos serem inoculados em meio mineral, durante 48 dias. A fixação foi realizada em glutaraldeído 2,5%, diluído em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 (Bozzola & Russel 1991), lavados no mesmo tampão e desidratados até etanol 70^oGL, em tubos de polietileno tipo "Eppendorf", para preservação das estruturas e posterior estudo e documentação em microscopia óptica (Quadro 2).

Para confirmar a presença de cloroplastos, algumas amostras foram transferidas para lâminas de microscopia e receberam algumas gotas de indicador de amido "Iugol" (Quadro 3). Para observação, o material foi retirado com auxílio de pipeta Pasteur, transferido para lâminas, com uma gota de etanol 70^oGL, cobertas por lamínulas e analisado em microscópio óptico marca Carl Zeiss Jena, modelo Loboval 4.

Foram também realizados registros fotográficos de gametófitos frescos, com 59 dias de idade, que haviam sido anteriormente transferidos para solo tipo terra roxa estruturada e cultivados em sala de cultivo.

O registro de fotomicrografias realizou-se em microscópio óptico marca Leica, modelo RM 2125, equipado com fotoautomático.

Quadro 2 - Metodologia para fixação das amostras de gametófitos.

Reagentes	Quantidade
Glutaraldeído 25%	5 ml
Tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2	45 ml
Solução A – KH_2PO_4	2,76 g
diluir em 100 ml de H_2O destilada.	
Solução B – $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5,37 g
diluir em 100 ml de H_2O destilada.	
Tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 - Misturar 28 ml de solução A e 72 ml de solução B (volume final – 100 ml). Adicionar 5 ml de glutaraldeído em 45 ml da solução final de tampão fosfato. Manter sob refrigeração.	
Procedimento de uso: O material permaneceu na solução de fixação por 2 horas.	
Posteriormente o material foi lavado por três vezes em tampão fosfato e desidratado em etanol: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70° GL – 15 minutos cada. O material foi conservado em etanol 70°GL.	

Quadro 3 - Método para preparo da Solução de Lugol.

Reagentes	Quantidade
Iodo cristalino	2,0g
Iodeto de potássio	4,0g
Água destilada	100ml

3.7. CULTIVO DE RIZOMAS

Foram realizados seis testes sendo utilizados quatro blocos de seis segmentos de rizomas (24 segmentos) em delineamento completamente casualizado. Os rizomas foram cultivados em caixas de plástico transparente, com tampa, de 8 cm de altura por 23 cm de comprimento e 14 cm de largura .

O primeiro teste teve início em 29/05/2004 e os segmentos de rizomas (10 cm) foram cultivados em terra roxa estruturada (A). O segundo e terceiro testes tiveram início em 23/06/2004. Os segmentos (30 cm) foram cultivados em terra roxa estruturada (B) e em solo retirado da UCAD (C). Estes testes foram desenvolvidos em sala de cultivo a 25 ± 2 °C, umidade relativa de 74%, irradiância de aproximadamente $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas. O quarto teste teve início em 07/10/2004. Os segmentos (30 a 40 cm) foram cultivados em areia e vermiculite na proporção de 1:1 (D) em laboratório, sem controle de temperatura e com luz natural. Os rizomas destes quatro testes foram regados regularmente com água. O quinto e sexto testes tiveram início em 13/12/2004. Os rizomas (30 a 40 cm) foram cultivados em terra roxa (E), areia e vermiculite na proporção de 1:1 (F). Os testes foram conduzidos na casa de vegetação do Departamento de Botânica, com sistema de nebulização. Os rizomas foram regados semanalmente com solução nutritiva de Hoagland & Arnon (Hoagland & Arnon, 1950) (Quadro 4).

Semanalmente foram observados os seguintes aspectos dos rizomas: desenvolvimento foliar, morte, sobrevivência e ausência de brotação.

Quadro 4 - Solução nutritiva de Hoagland & Arnon.

Soluções estoques	g/ 100 ml	ml . l ⁻¹
NH ₄ H ₂ PO ₄	11,5	1
KNO ₃	10,11	6
Ca(NO ₃) ₂	23,61	4
MgSO ₄ .7H ₂ O	24,64	2
EDTA – Fé		Mg/1000 ml
NaEDTA		33,2
NaOH		3,65
FeSO ₄		25
Micronutrientes*		Mg/ 1000 ml
a) MnSO ₄ . 4H ₂ O		22,3
b) ZnSO ₄ . 4H ₂ O		8,6
c) H ₃ BO ₃		6,2
Soluções		Mg/ 100 ml
d) Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O		25
e) CuSO ₄ . 5H ₂ O		2,5
f) CoCl ₂ . 6H ₂ O		2,5
EDTA – Fé		1 ml/l de solução de Hoagland
*Retirar 10 ml das soluções d,e,f, completar o volume para 1 litro e acrescentar os sais de micronutrientes a,b,c.		

3.8. CULTIVO DE ESTACAS FOLIARES

As estacas foliares em forma de **Y**, de 5 cm, contendo uma gema entre as furcas (Fig. 3) foram cultivadas em quatro blocos de seis estacas. Os experimentos foram realizados com ácido indol-3-butírico (AIB), Merck, nas concentrações 250, 500, 1000, 1500 e 2000 mg. Kg⁻¹, na forma de pó em talco neutro. As estacas foram preparadas e imediatamente colocadas em frascos com água. A seguir, a base das estacas (1 cm) foi colocada em contato com o talco contendo as auxinas sintéticas. As estacas foram plantadas em vasos plásticos de 2cm de raio na base, 2,8cm de raio na parte superior e 5 cm de altura, contendo areia lavada e vermiculite (1:1) e mantidas em caixas de polietileno transparente, com tampa. Utilizou-se o delineamento completamente casualizado.

O primeiro teste foi realizado em 12/07/2004. As estacas foram mantidas em sala de cultivo a 25 ± 2 °C, umidade relativa de 74% e irradiância de aproximadamente $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com fotoperíodo de 16 horas. O segundo teste foi realizado em 07/10/2004 em laboratório, sem controle de temperatura e com luz natural. Em ambos os testes, as estacas foram regadas a cada três dias. O terceiro teste foi realizado em 13/12/2004. As estacas foram cultivadas em casa de vegetação do Departamento de Botânica, com sistema de nebulização e foram regadas com solução nutritiva de Hoagland & Arnon semanalmente. Durante os testes, essas estacas foram periodicamente pulverizadas com solução de Benlate[®] a 25mg. L⁻¹, para evitar o aparecimento de fungos.

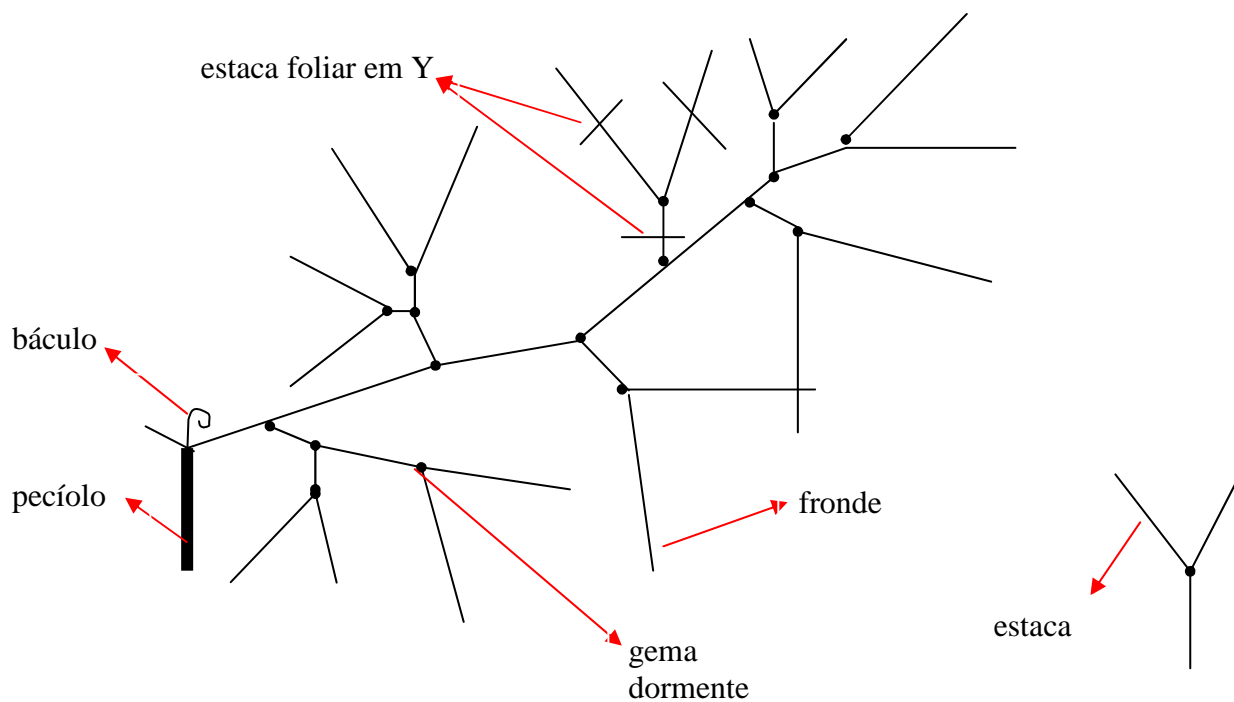


Figura 3 – Representação esquemática de uma fronde de *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching e estacas foliares utilizada.

3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a confecção de curvas de germinação, foram examinadas de seis a oito lâminas com 100 esporos cada. Para cada dia de avaliação foram calculados: porcentagem média de germinação, variância e desvio padrão (Sokal & Rohlf 1969). Os resultados foram analisados pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov (D_{max}) e pelos testes F de Snedecor (F) (quando se compararam dois tratamentos) e de Bartlett (X^2) (quando se compararam mais de dois tratamentos), para verificação da homogeneidade das variâncias (Santana & Ranal 2004). Sempre que se constatou que os dados não seguiam a distribuição normal, estes foram transformados em valor angular ($\arcseno x \sqrt{\%}$) e novamente submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade das variâncias. A análise de variância (Multifactor ANOVA) foi seguida do teste de comparação de médias quando se compararam mais de dois tratamentos (Tukey 5%) quando os dados apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas. No caso de os dados não apresentarem normalidade ou homogeneidade de variâncias, mesmo após a transformação angular, a análise de variância foi realizada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (H) seguido de teste de Dunn (Zar 1999). O teste “t” de Student foi utilizado para se comparar dois tratamentos. Os resultados foram analisados pelos softwares Excel e Minitab (Microsoft) e Statgraphics (1993).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. MORFOLOGIA DE ESPOROS E MORFO-ANATOMIA DE GAMETÓFITOS

A Figura 4 mostra aspectos de esporos de *G. pectinata* vistos em microscopia óptica. Estes esporos são monoletes, lisos e com aspecto reniforme. Os esporos considerados inviáveis mostram-se transparentes, sem conteúdos de reserva ou parcialmente preenchidos com grânulos de reserva. Os esporos considerados viáveis apresentam-se totalmente preenchidos com conteúdos de reservas e seu aspecto é opaco.

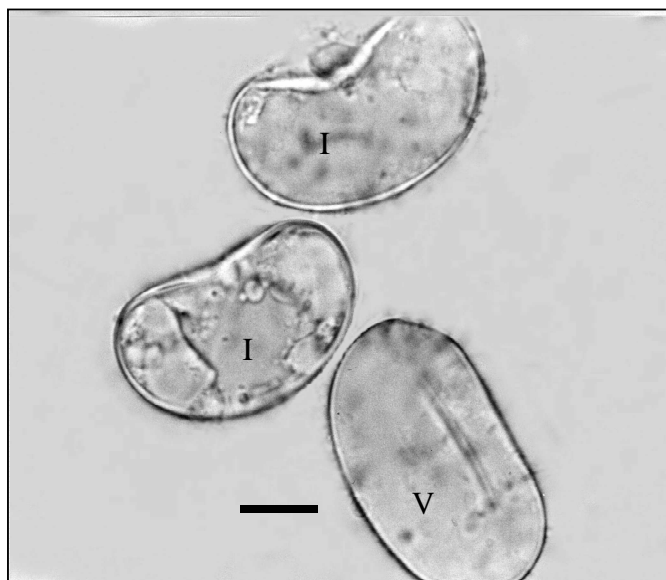


Figura 4 - Fotomicrografia em MO, de esporos de *Gleichenella pectinata* I- inviáveis; V- viáveis (Barras = 10 μ m).

A Figura 5 mostra um espоро de *G. pectinata* em início de germinação, com cloroplastos corados com lugol, indicando depósito de amido.

Esporos de *G. pectinata* após procedimentos de germinação utilizados neste trabalho originam três padrões de desenvolvimento inicial gametofítico: 1) esporos com cloroplastos e gametófitos formados por clorócitos ricos em cloroplastos, porém sem rizóides (Fig. 6A); 2) gametófitos filamentosos com rizóides não desenvolvidos ou parcialmente desenvolvidos, que

se caracterizam por serem curtos e apresentarem coloração marrom clara (Fig. 6B e 6C); 3) gametófitos com 3 a 5 células protoliais e rizóides em desenvolvimento (Fig. 6D). Somente o terceiro padrão foi capaz de produzir gametófitos cordiformes. A fase filamentosa do terceiro padrão é aparente depois de oito dias, consistindo de 2 a 6 células protonemais e geralmente um rizóide desenvolvido.

Segundo o esquema baseado em Nayar, Kaur e Raghavan (*apud* Jaramillo *et al.* 2003), o terceiro padrão gametofítico observado neste trabalho ocorre a partir de divisão assimétrica perpendicular ao maior eixo do esporo, onde a célula menor origina o rizóide e a maior dá origem à célula protonemal. Esta sofre sucessivas divisões perpendiculares ao maior eixo do esporo, produzindo um gametófito filamentoso de várias células.

O primeiro padrão observado para a germinação de esporos de *G. pectinata* assemelha-se ao padrão de germinação de esporos que germinam no escuro, de algumas espécies dos gêneros *Psilotum* e *Tmesipteris* (família Psilotaceae), os quais durante o início da germinação produzem proplastídios e não ocorre diferenciação de rizóides (Whittier & Braggins 1993).

A germinação de esporos de muitas pteridófitas sensíveis à luz necessita da presença do fitocromo na forma Fve (fitocromo vermelho-extremo) para a indução. A germinação dependente de Fve pode ser reversivelmente inibida pela exposição subsequente com vermelho-extremo e irreversivelmente pela exposição com luz azul. Nos esporos de *Adiantum capillus – veneris* L. (Pteridaceae), durante a primeira mitose induzida pela luz vermelha, o núcleo migra do centro para a extremidade da abertura do esporo. Se este movimento for inibido, não haverá diferenciação de rizóide após a mitose. Então, conseqüentemente, a luz ambiental controla a primeira mitose de esporos de samambaias, que geralmente produz uma célula protonemal (clorócito) e um rizóide. A segunda mitose, que ocorre na célula protonemal é induzida pela luz azul do espectro luminoso e inibida pela luz vermelha

monocromática. A qualidade da luz ambiental é crítica para o desenvolvimento gametofítico (Furuya 1983; Furuya *et al.* 1997; Uchida & Furuya 1997).

Os dados apresentados neste trabalho sugerem que parte dos gametófitos produzidos a partir de esporos de *G. pectinata* apresentaram inibição de crescimento de rizóides.

A figura 7 mostra diferentes fases de desenvolvimento gametofítico de *G. pectinata*, do terceiro padrão. A figura 7A mostra um gametófito com vários rizóides desenvolvidos, em início de fase espatulada, pois apresenta uma célula apical e logo abaixo, duas células oriundas de uma divisão celular paralela ao maior eixo do gametófito. As células protonemais mostram abundância de cloroplastos. A figura 7B mostra gametófitos com início de formação de expansões laterais (abas ou asas), apresentando tricomas marginais. A figura 7C mostra um gametófito cordiforme, aos 48 dias de cultivo, com evidente meristema apical.

De acordo com Nayar & Kaur (1969), o padrão de desenvolvimento gametofítico da família Gleicheniaceae é do tipo Drynaria, que se caracteriza pelo estabelecimento de um meristema apical após a formação de tricomas marginais. A germinação dos esporos forma um filamento unisseriado. Uma placa protálica larga e espatulada é formada por sucessivas divisões longitudinais e transversais e a expansão das células filhas. A placa protálica geralmente é formada de 5 a 10 células alongadas, mas é desprovida de meristema organizado. Mais tarde, uma célula obconica diferencia-se por duas divisões oblíquas em uma das células marginais na extremidade da placa protálica. O protalo jovem torna-se cordiforme, a célula meristemática apical é substituída por um meristema pluricelular e uma região central desenvolve-se. O protalo jovem geralmente é glabro: tricomas geralmente são formados quando o protalo torna-se cordiforme. *G. pectinata* distingue-se pela grande assimetria entre as asas protálicas e tricomas marginais curtos, que aparecem nos protalos espatulados, no início de desenvolvimento de expansões laterais.

A figura 8 mostra detalhes de gametófitos cordiformes de *G. pectinata*. Na figura 8A observa-se o meristema apical com célula obconica em gametófito aos 48 dias de cultivo. Tricomas marginais unicelulares, curtos e longos crescem a partir de células marginais da lâmina do protalo (Fig. 8B). Esses tricomas são muito semelhantes aos observados por Pérez-García *et al* (1998) para *Phlebodium araneosum* (M. Martens & Galeotti) Mickel & Beitel; e *Phlebodium pseudoaureum* (Cav.) Lellinger, duas espécies de Polypodiaceae. Esses mesmos tricomas podem ser observados também na lâmina do gametófito (Fig. 8C).

Segundo Nayar & Kaur (1969) esse padrão de desenvolvimento gametofítico ocorre também para as famílias Cheiropleuriaceae, Dipteridaceae, Lomariopsidaceae, Loxsomaceae, Thelypteridaceae e na maioria dos gêneros de Polypodiaceae. Exemplos de espécies que apresentam desenvolvimento gametofítico semelhante ao encontrado para o gênero *Drynaria* são: *Thelypteris rhachiflexuosa* Riba (Thelypteridaceae), *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger (Polypodiaceae) *Thyrsopteris elegans* Kze. (Thyrsopteridaceae), *Microgramma nitida* (J. Sm.) AR Sm. (Polypodiaceae) e *Pseudocolysis bradeorum* (Rosenst.) L. D. Gómez (Polypodiaceae) (Pérez-García *et al.* 1994; Jaramillo *et al.* 1996; Pérez-García *et al.* 1996-1997; Ramírez & García 1998; Pérez-García *et al.* 2001).



Figura 5 – Fotomicrografia em MO, de esporos de *Gleichenella pectinata* aos 14 dias de cultivo; a seta indica grãos de amido corados com lugol, dentro de cloroplastos. c- cloroplasto (Barra = 20 μ m).

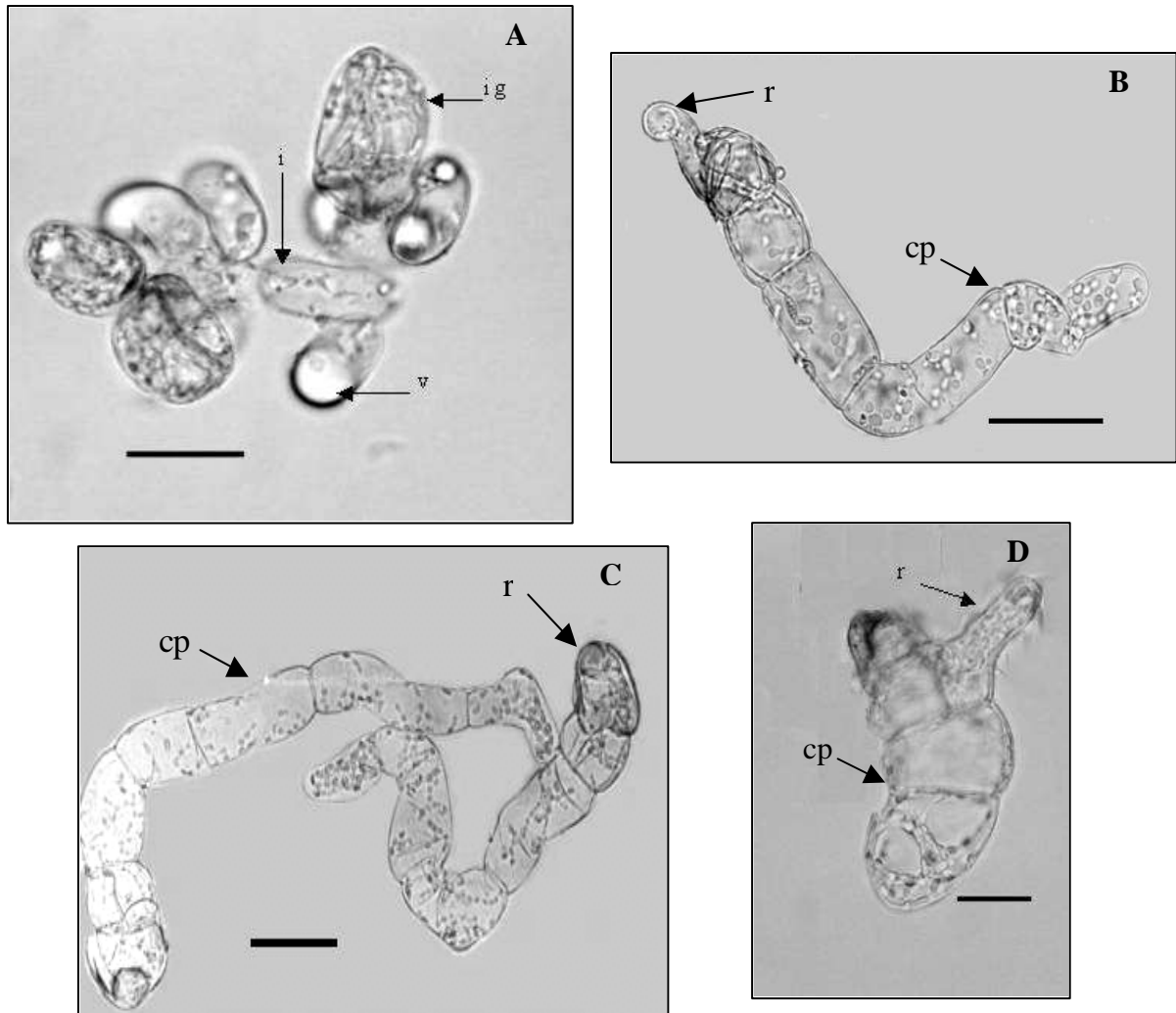


Figura 6 - Fotomicrografia em MO de diferentes padrões de gametófitos de *Gleichenella pectinata*. A- Esporos não germinados ou clorofilados aos 14 dias de cultivo (Barra = 30 μ m, 40x). B- Gametófito filamentosos com início de desenvolvimento do rizóide aos 34 dias de cultivo (Barra = 50 μ m, 40x). C- Gametófitos filamentosos sem rizóides desenvolvido aos 34 dias de cultivo (Barra = 50 μ m, 20x). D- Gametófito em fase filamentosos com 4 células, após 21 dias de cultivo (Barra = 20 μ m, 40x). ig- início da germinação, v- espora viável, i- espora inviável. r- rizóide, cp- célula protonemal.

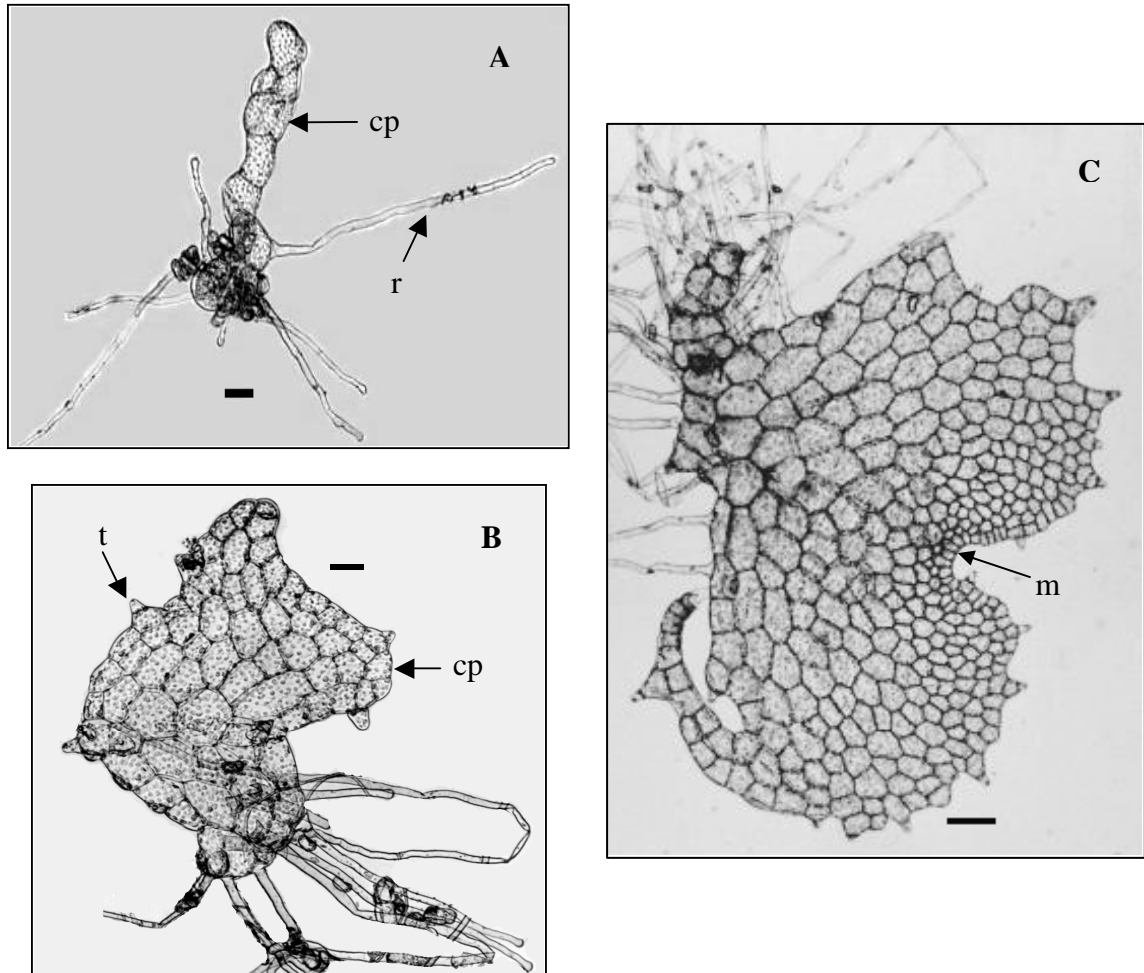


Figura 7 – Fotomicrografia em MO de diferentes fases do desenvolvimento gametofítico de *Gleichenella pectinata*. **A-** Gametófito filamentososo com vários rizóides aos 34 dias de cultivo (Barra = 50µm, 10x). **B-** gametófito espatulado com início de formação de expansões laterais (asas) (Barra = 50µm). **C-** Aspecto geral do gametófito cordiforme com 48 dias de cultivo (Barra = 50µm). r-rizóide, t- tricoma, cp- célula protonemal, m- meristema apical.

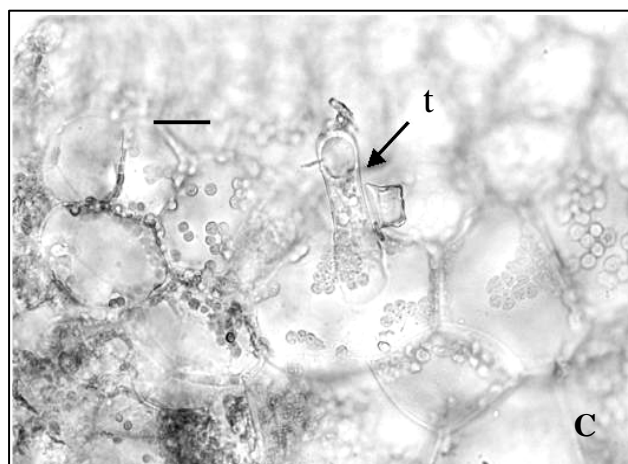
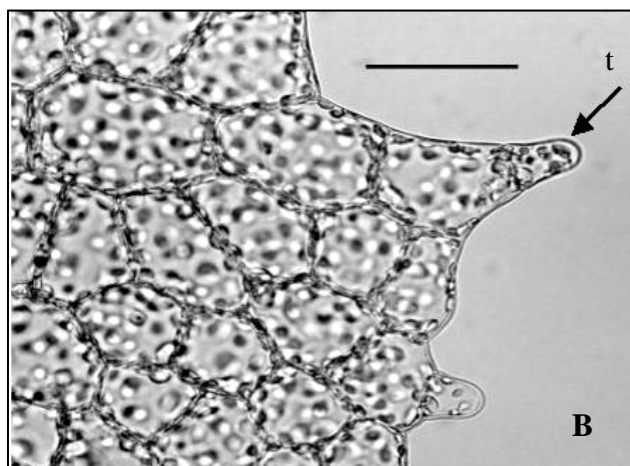
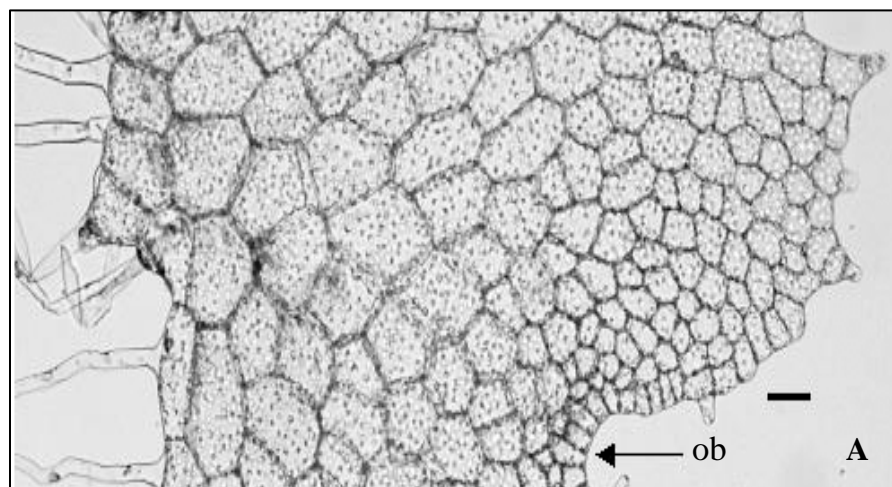


Figura 8 - Fotomicrografia em MO de gametófito de *Gleichenella pectinata*. A- Gametófito codiforme, detalhando a região meristemática (Barra = 50 μ m, 10x). B- Lâmina protálica de gametófito aos 48 dias de cultivo, apresentando tricomas unicelulares marginais (Barra = 50 μ m). C- Lâmina do gametófito aos 59 de cultivo; seta indica tricoma (Barra = 20 μ m), t- tricoma, m- meristema apical.

4.2. GERMINAÇÃO DE ESPOROS FORMADOS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO.

O teste de germinação de esporos de *G. pectinata* da coleta realizada em março de 2004, iniciou em junho de 2004. Após oito dias, foram observados esporos preenchidos com cloroplastos ($46,75 \pm 7,86\%$). No 16º dia surgiram os primeiros gametófitos sem rizóides ($4,0 \pm 2,67\%$) e com rizóides ($0,96 \pm 0,72\%$). A germinação estabilizou com aproximadamente $4,37 \pm 2,72\%$ de gametófitos filamentosos com rizóides (Fig. 9). Somente os gametófitos que desenvolveram rizóides foram capazes de continuar seu crescimento, tornando-se espatulados.

A figura 10 apresenta dados sobre a germinação de esporos da coleta realizada em 07/04/2004. o teste iniciou em 21 de junho de 2004. A germinação começou após oito dias com o surgimento de esporos apresentando cloroplastos ($46,87 \pm 6,57\%$). Após 16 dias, observaram-se gametófitos filamentosos sem rizóides ($6,5 \pm 3,77\%$) e com rizóides ($1,43 \pm 0,97\%$). A germinação estabilizou no 28º dia com aproximadamente $2,84 \pm 3,10\%$ de gametófitos filamentosos com rizóides.

As figuras 11 e 12 mostram dados da germinação de esporos da coleta realizada em maio de 2004. O teste iniciou em julho de 2004. Com o intuito de se analisar a ação do Benlate[®] no desenvolvimento de rizóides, esporos foram semeados em meios com e sem adição de Benlate[®]. A germinação em ambos os tratamentos iniciou após quatro dias com o surgimento de esporos com cloroplastos. No tratamento com adição de Benlate[®], esse padrão de germinação atingiu $28,37 \pm 5,31\%$ e no sem adição de Benlate[®] atingiu $28,62 \pm 5,62\%$. Gametófitos sem rizóides foram observados a partir de oito dias e atingiram $4,37 \pm 3,54\%$ no meio com Benlat[®] e no meio sem Belante[®], atingiram $0,34 \pm 0,26\%$. A produção de gametófitos com rizóides no meio com adição de Benlate[®] estabilizou aos 28 dias de cultivo ($1,53 \pm 1,02\%$). No meio sem Benlate[®], estabilizou após 24 dias ($1,18 \pm 0,91\%$). O meio com

adição de Benlate[®] não apresentou inibição de formação dos rizóides e mostrou-se eficiente em evitar o aparecimento de fungos durante a germinação.

A tabela 1 mostra as máximas porcentagens de gametófitos com rizóides para esporos coletados em 29/05/2004, inoculados em meio mineral de Dyer, com e sem adição de Benlate a 25mg.L⁻¹. O teste “*t*” de Student mostrou que não houve diferença significativa entre os dois tratamentos.

A tabela 2 mostra as máximas porcentagens de gametófitos com rizóides cultivados em sala de cultivo a 25 ± 2 °C para esporos de *G. pectinata* de diferentes coletas com diferentes períodos de armazenamento sob refrigeração a 7 ± 2 °C. A maior porcentagem de gametófitos filamentosos com rizóides foi encontrada na coleta de novembro de 2004. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as porcentagens de gametófitos filamentosos com rizóides, entre as demais coletas.

A tabela 3 mostra as porcentagens de esporos que foram considerados viáveis no início dos testes de germinação. Os valores variaram de $55,87 \pm 6,77$ a $89,25 \pm 2,43$. Aparentemente, a maioria dos esporos considerados viáveis não foi capaz de produzir gametófitos com rizóides nas condições experimentais deste trabalho.

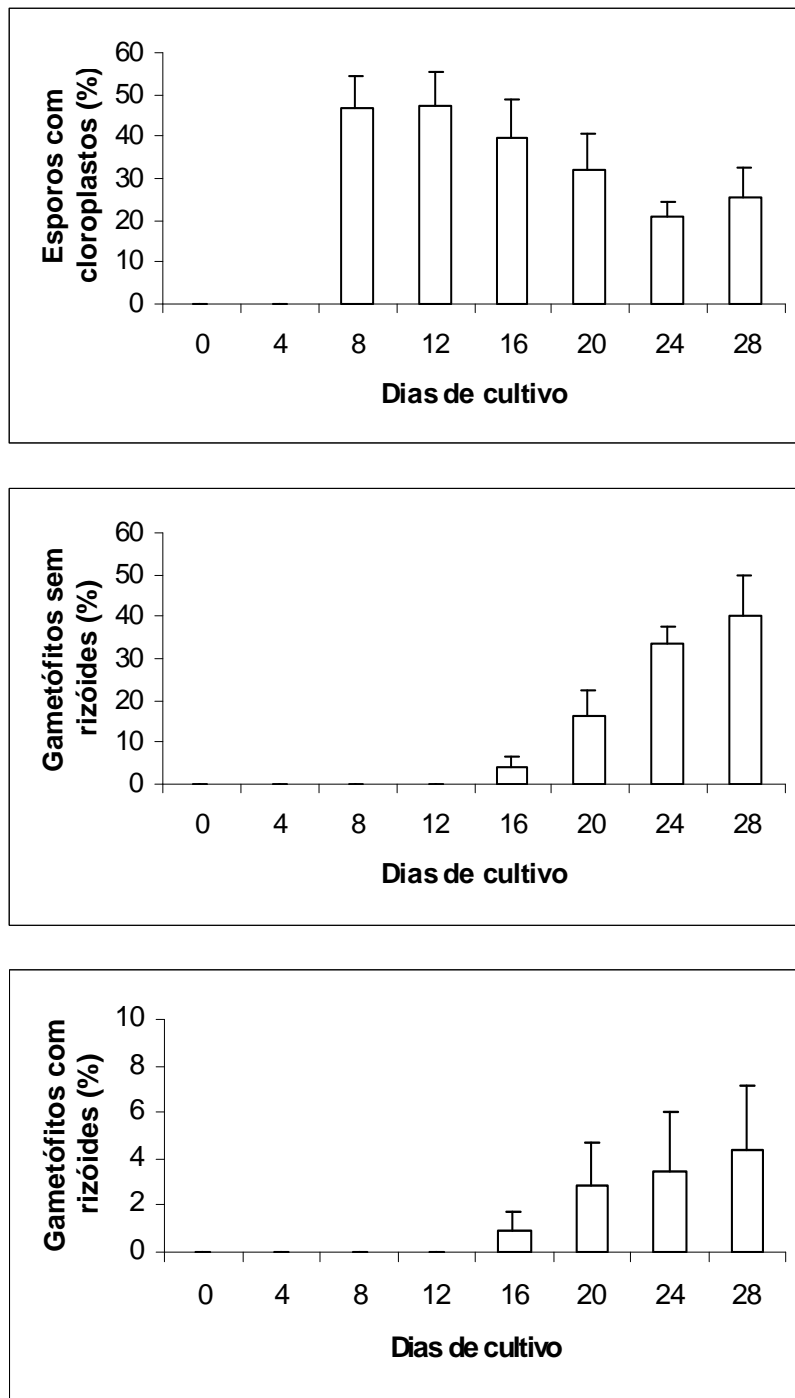


Figura 9 – Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 26/03/2004 e armazenados durante 86 dias sob refrigeração. Os esporos foram inoculados em meio mineral de Dyer e mantidos em sala de cultivo a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas. Barras indicam desvio padrão.

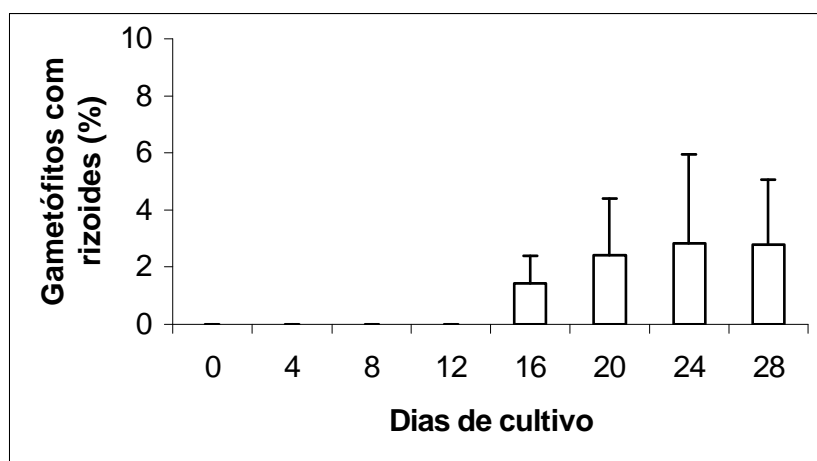
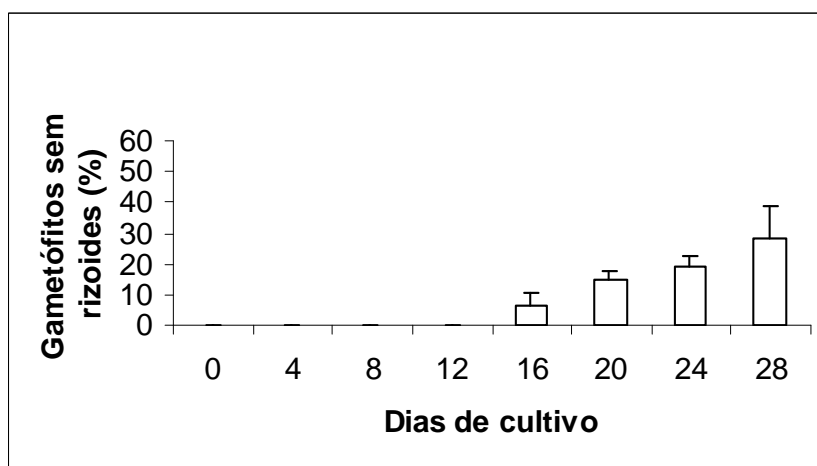
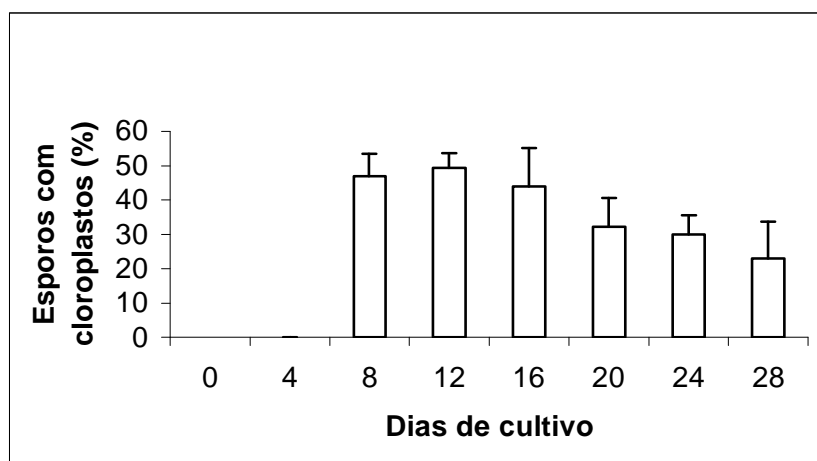


Figura 10 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 07/04/2004 e armazenados durante 74 dias sob refrigeração. Os esporos foram inoculados em meio mineral de Dyer e mantidos em sala de cultivo a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas. Barras indicam desvio padrão.

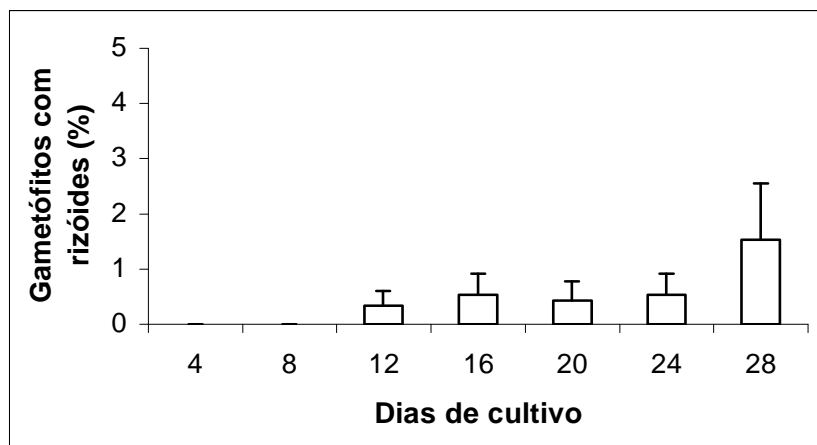
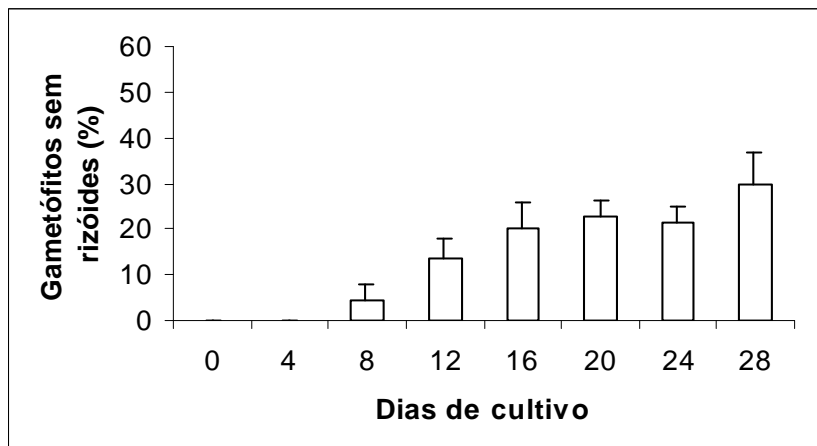
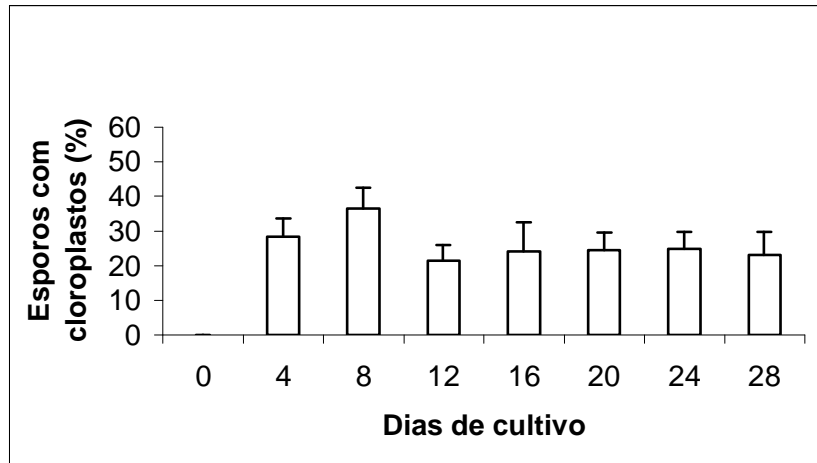


Figura 11 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 29/05/2004 e armazenados durante 49 dias sob refrigeração. Esporos foram inoculados em meio mineral de Dyer com adição de Benlate. Os esporos foram mantidos em sala de cultivo a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas. Barras indicam desvio padrão.

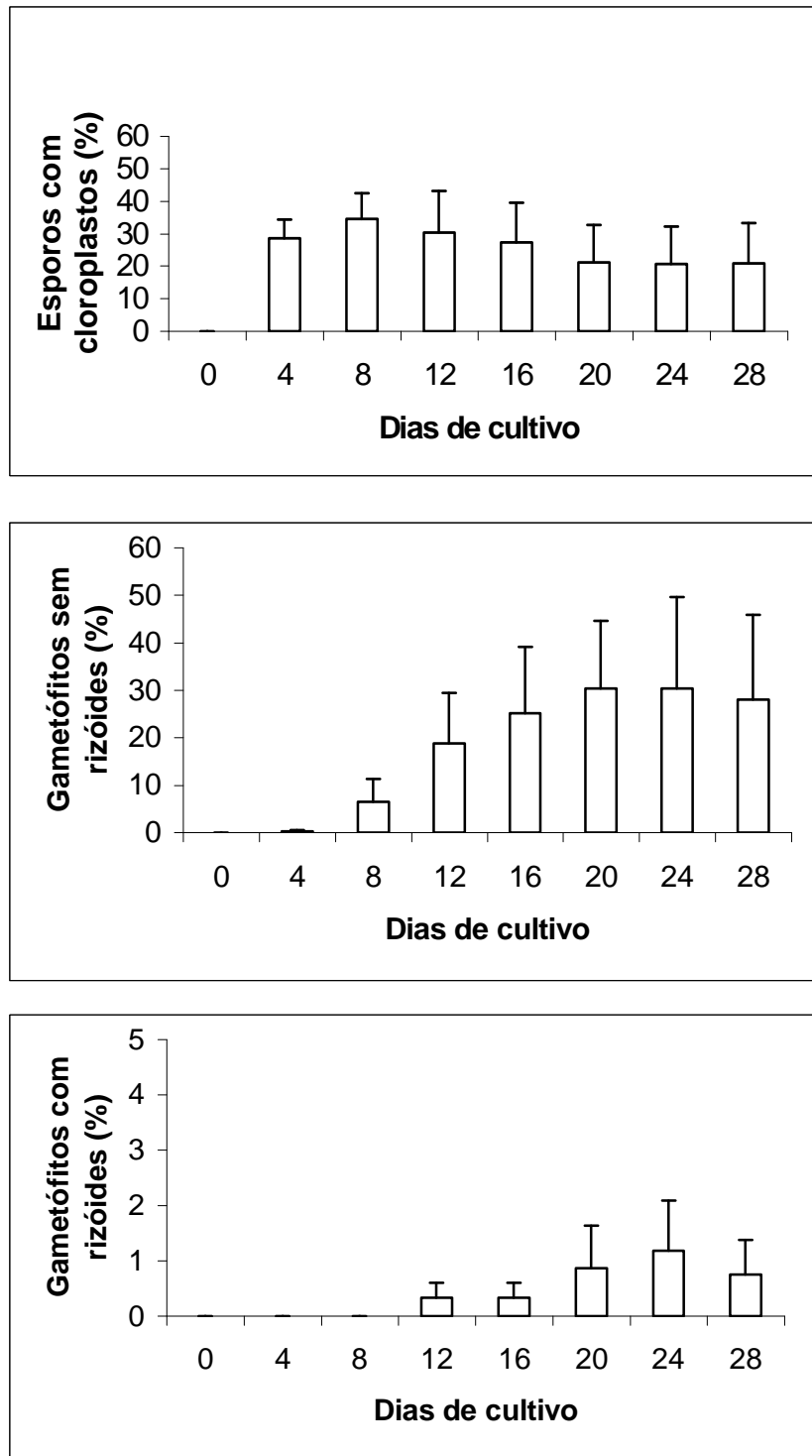


Figura 12 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 29/05/2004 e armazenados durante 49 dias sob refrigeração. Esporos foram inoculados em meio mineral de Dyer sem adição de Benlate. Os esporos foram mantidos em sala de cultivo a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas. Barras indicam desvio padrão.

Tabela 1 - Porcentagem final de gametófitos com rizóides produzidos a partir de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 29/05/2004 e armazenados durante 49 dias sob refrigeração, inoculados em meio mineral de Dyer com e sem adição de Benlate.

Tratamento	Gametófitos com rizóide (%)	
	Médias \pm desvio padrão	s^2
Com adição de Benlate	1,53 \pm 1,02a	5,98
Sem adição de Benlate	1,18 \pm 0,91a	3,65
$*D_{max}$		0,061
$*F$		1,046

Médias \pm desvio padrão com letras iguais não diferem significativamente entre si de acordo com o teste de “*t*” de Student ao nível de 5% de probabilidade. * Após transformação angular.

Tabela 2 - Porcentagem final de gametófitos com rizóides produzidos a partir de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em diferentes meses de 2004.

Datas das coletas	Dias de armazenamento a 7 \pm 1 °C	Gametófitos com rizóides (%)	
		Médias \pm desvio padrão	s^2
26/03/2004	86	4,37 \pm 2,72a	14,43
07/04/2004	74	2,84 \pm 3,10a	30,51
29/05/2004	49	1,53 \pm 1,02a	5,98
06/11/2004	331	18,16 \pm 3,54b	7,56
$*X^2$			4,337
$*D_{max}$			0,159
$*H$			16,73

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras distintas diferem entre si pelo testes de Dunn ao nível de 5% de probabilidade. *Valores não seguem a distribuição normal após a transformação angular.

Tabela 3 - Porcentagem de esporos viáveis de *Gleichenella pectinata* coletados em diferentes meses de 2004.

Datas das coletas	Esporos viáveis	
	Médias \pm desvio padrão	s^2
26/03/2004	89,25 \pm 2,43	5,93
07/04/2004	83,13 \pm 7,58	58,98
29/05/2004	55,87 \pm 6,77	45,84
06/11/2004	58,67 \pm 10,76	115,86

Os dados apresentados neste trabalho mostram que nas condições utilizadas, a germinação de esporos de *G. pectinata* foi baixa e irregular. As porcentagens de germinação variaram em função da época da coleta. É possível que a formação de esporos seja influenciada pelas alterações climáticas sazonais, tais como temperaturas, fotoperíodo e períodos chuvosos ou de estiagem. No entanto, a fenologia de *G. pectinata* não foi estudada neste trabalho, cuja ênfase foi na germinação e reprodução vegetativa. Não houve perda de viabilidade dos esporos em função do período de armazenamento, já que esporos coletados em novembro de 2004 e que foram armazenados durante 331 dias produziram as maiores porcentagens de gametófitos com rizóides. Poderia ser sugerido que a armazenagem a seco sob baixas temperaturas, estaria induzindo quebra de dormência de esporos de *G. pectinata*. Novos testes deverão ser realizados para se confirmar o papel da baixa temperatura de armazenamento na quebra de dormência de esporos de *G. pectinata*.

Esporos de *G. pectinata* foram previamente esterilizados antes da inoculação em meio mineral líquido, para evitar o desenvolvimento de fungos. Simabukuro *et al.* (1998) comentam que antes da inoculação de esporos para a germinação, é necessário que sejam esterilizados. Camloh (1993, 1999) observou que a maior germinação ocorreu quando esporos não esterilizados de *P. bifurcatum* foram inoculados, mas que houve contaminação após 10

dias de cultivo, o que provavelmente reduziu o número de células dos gametófitos, em comparação aos esporos previamente esterilizados.

A germinação de esporos de pteridófitas é altamente variável. Esteves & Felipe (1985), estudaram a germinação de nove espécies de samambaias que ocorrem em cerrados do Estado de São Paulo. Observaram que as nove espécies possuem esporos que germinavam na luz e duas que também germinavam no escuro. As porcentagens de germinação variaram de valores próximos a 100% para *Polypodium latipes* Langsd. & Fisch, *P. pleopeltifolium* Raddi e *P. squamulosum* Kaulf. (Polypodiaceae), ao redor de 25% para *Adiantum serratodentatum* Willd. e ao redor de 48% para *P. hirsutissimum* Raddi. Esporos recém coletados de *Acrostichum danaeifolium* Langsd. & Fisch. (Pteridaceae) atingiram ao redor de 90% de germinação em luz contínua a 25 ± 1 °C (Randi 1996). A germinação de *Rumohra adiantiformis* (Forst.) Ching (Dryopteridaceae) em sala de cultivo a 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 16 horas atingiu 97,5% (Brum & Randi 2002). Bernabe *et al.* (1999) trabalhando com duas espécies de Cyatheaceae, *Lophosoria quadripinnata* (Gmel.) C.Chr. e *Alsophila firma* (Baker) D.S. Conant, observaram aproximadamente 85% de germinação para a primeira espécie e 16% para a segunda. Filippini *et al.* (1999) mostraram que esporos de *Dicksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae) atingiram a máxima porcentagem de germinação (88%) a 23 ± 2 °C em luz branca constante após oito ou nove dias de cultivo. Hiendlemeyer (2004), trabalhou com quatro espécies de pteridófitas da Floresta Atlântica: *Blechnum brasiliense* Desv. (Blechnaceae) (herbácea); *Saccoloma inaequale* (Kze.) Mett. (Dennstaedtiaceae), (herbácea); *Cyathea corcovadensis* (Raddi) Domin e *Cyathea delgadii* Sternb. (Cyatheaceae), espécies arborescentes. Verificou que as porcentagens de germinação variaram de $77,5 \pm 5,19\%$ (*C. delgadii*) a $31,75 \pm 2,5\%$ (*C. corcovadensis*). O menor tempo médio de germinação foi observado para *B. brasiliense* ($9,89 \pm 0,06$ dias) e o maior foi observado para *S. inaequale* ($17,85 \pm 0,15$ dias)

Há na literatura, exemplos de espécies da família Psilotaceae, cuja germinação em condições de laboratório é muito baixa. Espécies cujos esporos germinam no escuro, como *Tmesipteris tannensis*, (Spreng.) Bernh., *Tmesipteris elongata* Dang. e *Psilotum x intermedium* Wagner. nunca germinam ou germinam raramente (menos de 1%) e nunca formam gametófitos maduros em condições de laboratório (Whittier & Braggins 1993).

Simabukuro *et al.* (1993) avaliaram a curva de germinação em luz constante a 25 ± 1 °C, para oito espécies de pteridófitas: *Asplenium serra* Langsd. & Fisch., *Blechnum brasiliense* Desv., *Blechnum glandulosum* Link., *Campyloneurum phyllitidis* (L.) C. Presl., *Cyathea delgadii* Sternb., *Polypodium fraxinifolium* Jacq., *Pecluma ptilodon* (Kunze) Price var. *robusta* (Fée) Lellinger e *Thelypteris chrysodioides* (Fée) Morton. A menor porcentagem de germinação foi observada em *P. fraxinifolium* com aproximadamente 49% e as maiores observadas em *A. serra* e *C. delgadii* (93%).

No presente trabalho, não foram testados meios com diferentes pHs na germinação de esporos de *G. pectinata*, o que pode ter influenciado as baixas porcentagens de germinação obtidas, já que o pH utilizado foi de aproximadamente 6,5 e esta espécie se desenvolve bem em solos pobres, cujo pH é geralmente ácido (abaixo de 5,0). Há na literatura exemplos de espécies cuja germinação é mais alta em baixos pHs. É o caso de *Ophioglossum palmatum* L. (Ophioglossaceae) cuja germinação de esporos ocorreu no escuro e foi mais alta após oito meses de inoculação em meio líquido cujo pH foi ajustado para 4,0 (Whittier & Moyroud 1993). A maior porcentagem de germinação de esporos de *Cheilanthes feei* Moore (Pteridaceae) foi observada em meio líquido com pH ajustado para 4,5 (Nondorf *et al.* 2003).

As pteridófitas do sub-bosque podem atuar como um filtro, afetando a germinação, o crescimento e a sobrevivência de plântulas de espécies arbóreas bem como a sua própria germinação. O estrato de pteridófitas pode também afetar o processo biológico de predação

por insetos de plantas sob sua cobertura, bem como alterar o nível de luminosidade e exposição do solo (George & Bazzar 1999a e George & Bazzar 1999b).

Peres (1997) e Peres *et al.* (1998) detectaram atividade alelopática em diferentes extratos e frações semipurificadas de *G. pectinata*. As três frações dos extratos aquosos de *G. pectinata* provocaram um retardo no tempo de germinação e aumentaram a taxa final de germinação de sementes de *Clidemia hirta* (L.) D. Don (Melastomataceae). As frações n-butanólicas de *G. pectinata* nas três estações do ano estudadas (primavera, outono e inverno) anteciparam e aumentaram a taxa final de germinação de *C. hirta*, enquanto retardaram e inibiram a germinação de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). Essas frações também causaram reduções no comprimento do hipocótilo e da radícula de *L. sativa* de até 91%. A análise histológica das células do hipocótilo de alface submetidas à fração n-butanólica de frondes jovens de inverno e primavera mostrou uma redução significativa no comprimento médio das células do hipocótilo sugerindo também a inibição das divisões celulares, porém sem a estratégia de compensação via alongamento celular. Os autores demonstraram que dependendo da época de coleta das frondes, da idade das frondes e da semente testada (*C. hirta* ou *L. sativa*), o extrato de *G. pectinata* pode apresentar um efeito estimulante ou inibidor. Peres (1997) constatou a presença dos flavonóides canferol e quercetina e do ácido siquímico em frondes de *G. pectinata*. Os resultados mostraram efeito sinérgico desses compostos, porém não houve efeito quando os compostos isolados foram aplicados aos testes biológicos. Os extratos de frondes coletadas na primavera apresentaram os maiores efeitos inibidores da germinação de *C. hirta*.

Soares *et al.* (2000) observaram que extratos aquosos de frondes verdes de diferentes espécies da família Gleicheniaceae: *Dicranopteris flexuosa* (Schrader) Underw, *G. pectinata*, *Stricherus bifidus* (Will) Ching, *S. nigropaleaceus* (Stum.) J. Prado & Lellinger e *S.* (Schrader) Underw, reduziram significativamente a germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.

cv. “Grand Rapids”) e o crescimento radicular. Essa toxidez pode ser um dos fatores responsáveis pela elevada capacidade apresentada por essas espécies em colonizar ambientes degradados e com alta atividade antrópica.

Tais compostos evidenciados para frondes jovens e verdes de *G. pectinata* poderiam estar sendo produzidos por alguns dos gametófitos jovens produzidos no sistema “*in vitro*” e afetar a germinação de esporos da própria espécie, uma vez que aparentemente, nem todos os esporos viáveis foram capazes de germinar (Fig. 3). Poderiam também inibir o desenvolvimento de rizóides e a divisão celular dos gametófitos impedindo sua progressão para a fase espatulada e cordiforme, como foi observado neste trabalho. Tal observação poderia ser decorrente da densidade dos esporos nos testes de germinação “*in vitro*”, que não foi testada neste trabalho.

4.3. EFEITO DE MEIO SOLIDIFICADO COM AGAR E DE DIFERENTES TEMPERATURAS NA GERMINAÇÃO DE *GLEICHENELLA PECTINATA*

A figura 13 mostra a germinação de esporos de *G. pectinata*, coletados em julho de 2004. Esporos foram inoculados em meio de Dyer solidificado com Agar. O teste teve início em 27 de setembro de 2004. A germinação iniciou após 8 dias com $18,38 \pm 6,58\%$ de esporos preenchidos por cloroplastos e $0,56 \pm 0,63\%$ de gametófitos com rizóides; já os gametófitos sem rizóides foram observados após 24 dias e perfizeram $26,94 \pm 18,30\%$. A germinação estabilizou em aproximadamente $1,9 \pm 2,65\%$ de gametófitos com rizóides. A germinação em meio solidificado não se mostrou mais eficiente do que em meio líquido sendo que ocorreu contaminação por fungos e os gametófitos resistiram por pouco tempo sem adição de água destilada sobre o meio.

Raghavan (1989) mostrou que em geral, a germinação de esporos em meio líquido é ligeiramente superior ao meio solidificado, porém essa variação na germinação pode ser influenciada pela difusão dos nutrientes nos diferentes estados físicos do meio de cultura. Conforme Camloh (1993), não houve diferença na germinação de esporos de *Platyserium bifurcatum* L. em meio líquido e meio solidificado com agar, porém a utilização do meio líquido acelerou o desenvolvimento dos gametófitos de *Platyserium bifurcatum* L.. Por outro lado, Sheffield *et al.* (2001) observaram que o meio solidificado com agar foi superior ao meio líquido para a germinação e o desenvolvimento gametofítico de *Pteridium aquilinum* L.. Os mesmos autores sugerem que as respostas de germinação em meio líquido sejam espécie- ou ecótipo específicas, já que a mesma espécie pode se comportar de maneira diferente em função do local de coleta ou mesmo de período de armazenamento dos esporos.

A figura 14 mostra os resultados do teste de germinação de esporos coletados em novembro de 2004. O teste teve início em 03 de outubro de 2005. Os esporos germinaram em

sala de cultivo com temperatura regulada para $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. Após 14 dias de cultivo foram observados $17,33 \pm 3,01\%$ de esporos contendo cloroplastos, $2,58 \pm 2,57\%$ de gametófitos sem rizóides e $1,37 \pm 0,73\%$ de gametófitos com rizóides. Após 28 dias de cultivo, foram observados $18,16 \pm 3,54\%$ de gametófitos com rizóides, havendo um decréscimo na porcentagem de esporos com cloroplastos que possivelmente evoluíram para a fase filamentosa.

A figura 15 mostra os resultados do teste de germinação da coleta de esporos realizada em novembro de 2004. O teste teve início em 03 de outubro de 2005. Os esporos germinaram em câmara de germinação com temperatura regulada para $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. Após 14 dias de cultivo foram observados $46,33 \pm 7,14\%$ de esporos contendo cloroplastos, $0,87 \pm 1,53\%$ de gametófitos sem rizóides e $0,5 \pm 0,38\%$ de gametófitos com rizóides. Após 28 dias de cultivo foram observados $4,83 \pm 3,43\%$ de gametófitos com rizóides. A figura 16 e a tabela 4 comparam os dados da germinação de esporos da coleta de novembro de 2004 a 25°C e a 30°C constantes. O teste “t” de Student mostra que a maior porcentagem de germinação foi obtida a 25°C .

Resultados semelhantes foram obtidos por Pérez-García & Riba (1982) que trabalharam com as seguintes espécies de ciateáceas e dicksoniáceas arborescentes: *Lophosoria quadripinnata* (Gmel.) C. Chr, *Trichipteris bicrenata* (Liebm) Tryon, *Trichipteris scabriuscula* (Maxon) Tryon, *Nephelea mexicana* (Schl. & Cham.) Tryon e *Cyathea fulva* (Mart.& Gal.) Fée e observaram que temperaturas acima de 25°C diminuíram a porcentagem de germinação de todas as espécies, sendo que a tolerância de temperaturas variou de 11 a 32°C e o ótimo entre 18 a 25°C . Ranal (1999) trabalhou com espécies de pteridófitas de floresta mesofítica semidecídua do estado de S.Paulo. A autora observou que a germinabilidade foi semelhante para todas as temperaturas testadas para *Polypodium hirsutissimum* Raddi, *P. latipes* (L.) Watt. e *Pteris denticulata* Sw. (Polypodiaceae); a maior

germinabilidade foi observada entre temperaturas de 18 e 25 °C para esporos de *Microgramma lindbergii* (Kuhn) Sota, *M. squamulosa* (Kaulf.) Sota e *P. polypodioides* (L.) Watt. espécies da família Polypodiaceae; para esporos de *Adiantopsis radiata* (L) Fée (Pteridaceae) e *P. pleopeltifolium* Raddi (Polipodiaceae) a maior germinabilidade foi encontrada entre 21 e 29 °C.

As maiores porcentagens de germinação de esporos de *Rumohra adiantiformis* (Forst.) Ching (Dryopteridaceae) foram observadas a 15, 20 e 25 ± 1 °C e a germinação foi parcialmente inibida a 30 ± 1 °C (Brum & Randi 2002). As autoras observaram que o menor tempo médio de germinação ocorreu a 25 ± 1 °C.

Segundo Towill (1978), a germinação de *Onoclea sensibilis* L. (Dryopteridaceae) é controlada pela luz e temperatura. Ele sugere que temperaturas amenas são necessárias para induzir a germinação por alterar a permeabilidade das membranas celulares. Chen *et al.* (1979) observaram que tratamentos de 40 °C durante 8 horas ou mais reduziram a sensibilidade à luz para esporos de *Onoclea sensibilis* L., o que foi revertido pela inoculação no escuro a 25 °C. Raghavan (1989) explica que altas temperaturas inibem as respostas mediadas pelo fitocromo. Haupt (1990, 1991, 1992) observou que a germinação de esporos de *Dryopteris filix-mas* L. e *Dryopteris paleacea* (Sw) C. Chr. (Dryopteridaceae) mediada pelo fitocromo, é inibida pelo aumento da temperatura de 22 para 27 ou 32 °C. As temperaturas elevadas parecem inibir os processos de síntese de proteínas mediados pelo fitocromo, que são necessários à germinação.

Neste trabalho, a temperatura de 25 °C mostrou-se mais eficiente em promover a germinação de *G. pectinata*, enquanto que a de 30 °C inibiu a germinação de esporos.

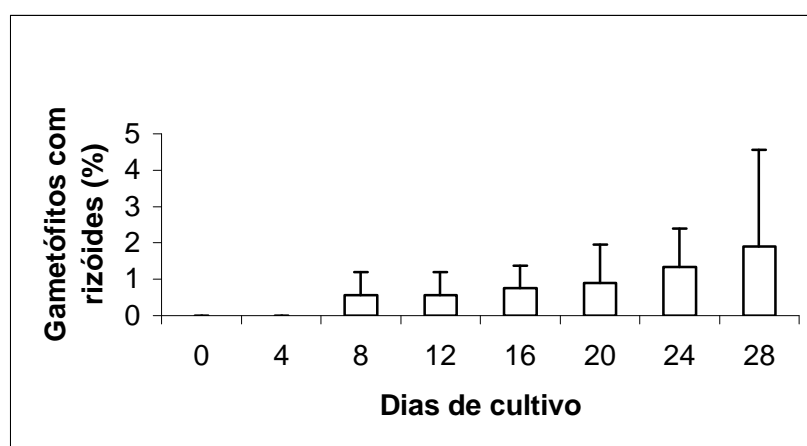
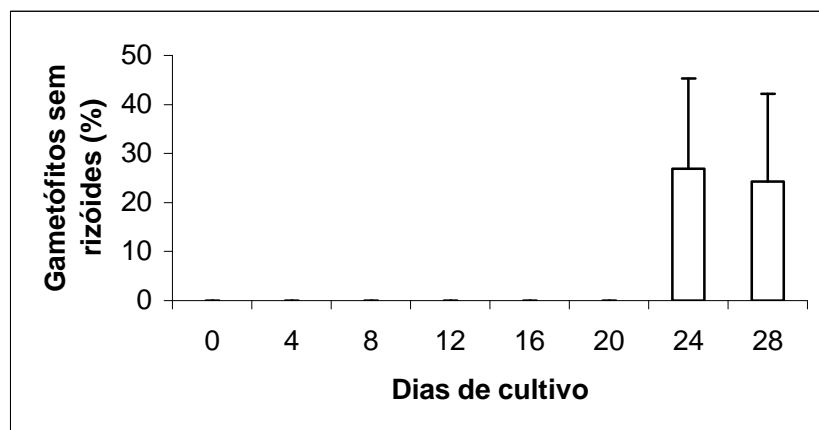
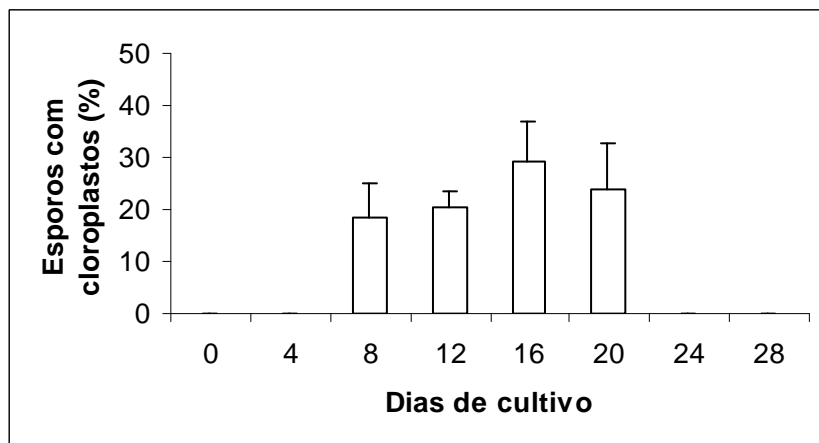


Figura 13 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 04/07/2004 e armazenados durante 82 dias sob refrigeração. Os esporos foram inoculados em meio mineral solidificado com Agar e mantidos em sala de cultivo a 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas. Barras indicam desvio padrão.

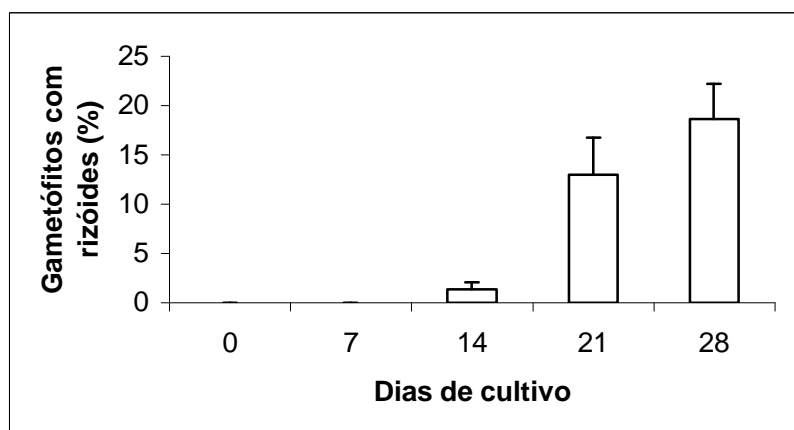
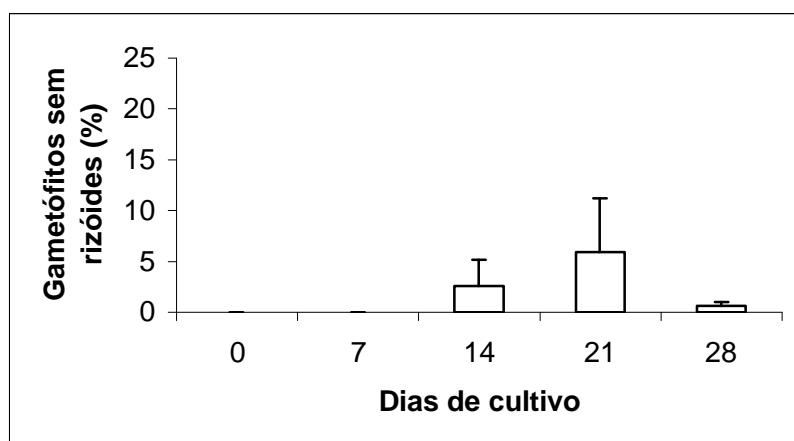
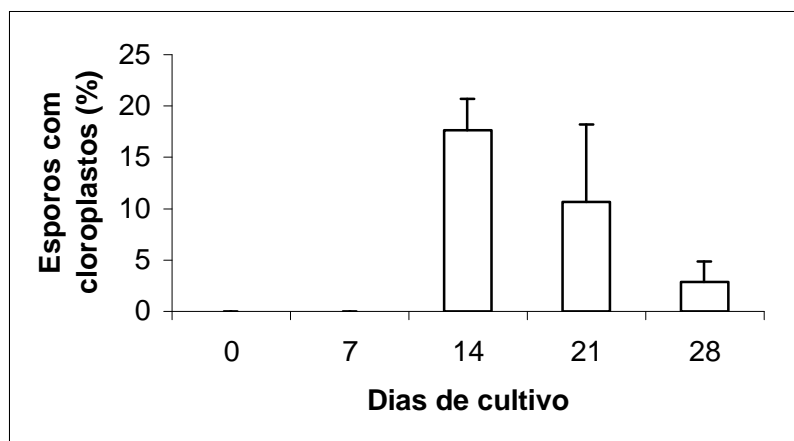


Figura 14 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração. Os esporos foram inoculados em meio mineral de Dyer e mantidos em sala de cultivo a 25 ± 2 °C, irradiância de $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas. Barras indicam desvio padrão.

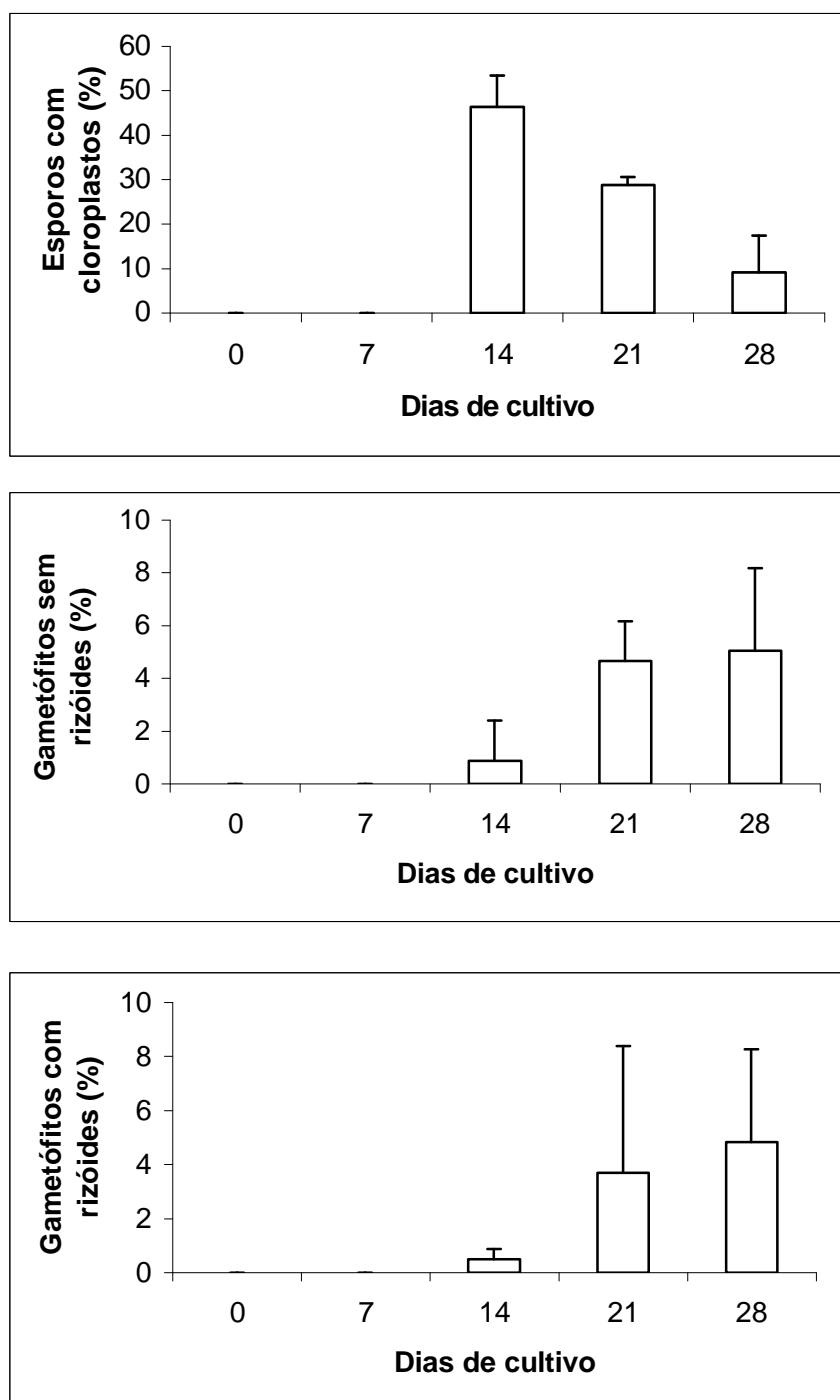


Figura 15 - Padrões de gametófitos produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração. Os esporos foram inoculados em meio mineral de Dyer e mantidos em câmara de germinação a 30 ± 2 °C, irradiância de $19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas. Barras indicam desvio padrão.

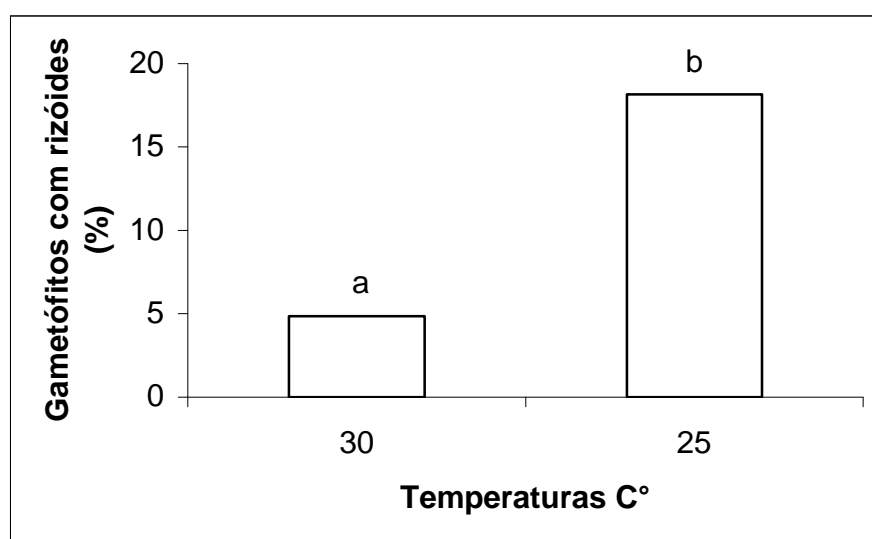


Figura 16 – Gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata*, coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração. Os esporos foram inoculados em meio mineral de Dyer e mantidos em câmara de germinação a 30 °C ($19\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e em sala de cultivo a 25 °C ($30\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Letras diferentes diferem entre si de acordo com o teste “*t*” de Student ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4 – Gametófitos com rizóides produzidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching, da coleta realizada em 06/11/2004.

Tratamento		Gametófitos com rizóide (%)	
Temperatura	Irradiância	Médias ± desvio padrão	s^2
25 C° (sala de cultivo)	$30\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$18,16 \pm 3,54a$	7,56
30 C°(câmara de germinação)	$19\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$4,83 \pm 3,43b$	21,73
* D_{max}			0,151
* F			2,873

Médias ± desvio padrão seguidas por letras distintas diferem entre si de acordo com o teste “*t*” de Student ao nível de 5% de probabilidade. * Após transformação angular.

4.4. EFEITO DE DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ NA GERMINAÇÃO DE *GLEICHENELLA PECTINATA*

A figura 17 mostra os resultados do efeito de níveis de luz na germinação de *G. pectinata*. Esporos coletados em outubro de 2004 foram submetidos a 62, 42, 22 e 5% de luz solar. Os testes tiveram início em 04 de novembro de 2004. Os testes de germinação realizados anteriormente, mostraram que somente os gametófitos que desenvolvem rizóides são capazes de continuar o seu desenvolvimento e se transformar em gametófitos cordiformes. Os demais padrões de gametófitos observados não continuam a se desenvolver. Por esse motivo, os próximos resultados foram baseados somente na porcentagem de gametófitos com rizóides produzidos a partir de esporos submetidos a diferentes níveis de luz. Após 28 dias de cultivo sob 62% de luz foram observados $2,25 \pm 0,70\%$ de gametófitos com rizóides (Fig. 17A). Após 12 dias de cultivo sob 42% de luz foram observados $3,0 \pm 0,92\%$ de gametófitos com rizóides (Fig. 17B). Após 16 dias de cultivo sob 22% de luz foram observados $2,31 \pm 1,27\%$ de gametófitos com rizóides (Fig. 17C). Após 12 dias de cultivo sob 5% de luz foram observados $3,62 \pm 1,40\%$ de gametófitos com rizóides (Fig. 17D).

A figura 18 mostra irradiâncias medidas as 14h horas, durante o mês de novembro de 2004. No decorrer do experimento, os dias permaneceram nublados e chuvosos, caracterizando-se pelas baixas irradiâncias com exceção das obtidas nos dias 20 e 24, que apresentaram períodos de maior insolação. As irradiâncias, ao longo do período de teste, variaram de 139 a 612 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na caixa que permitiu a passagem de 62% de luz solar. Na caixa que permitiu a passagem de 42% de luz, as irradiâncias variaram de 50 a 422 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A 22% de luz, as irradiâncias variaram de 74 a 272 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e a 5% variaram de 20 a 86 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

A tabela 5 mostra temperaturas medidas as 14h horas, no mês de novembro de 2004, dentro das caixas de sombrite utilizadas para a obtenção dos diferentes níveis de luz. A 62% de luz a menor temperatura mínima foi de 11 °C e a maior foi de 16 °C; a menor temperatura máxima foi de 29 °C e a maior de 34 °C. A 42% de luz as temperaturas mínimas variaram de 11,5 a 24 °C e as máximas entre 29 a 34 °C. A 22% de luz, as temperaturas mínimas variaram de 11,5 a 24 °C e as máximas entre 30 a 34 °C. A 5% de luz, as temperaturas mínimas variaram de 15,5 a 20 °C e as máximas de 28,5 a 40 °C.

A figura 19 mostra as porcentagens finais de gametófitos com rizóides produzidos sob diferentes níveis de luz, no mês de novembro de 2004, a partir de esporos coletados em outubro de 2004 e armazenados durante 29 dias sob refrigeração. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, provavelmente devido à reduzida produção de gametófitos com rizóides em todos os tratamentos (Fig. 19 e tabela 6). Entretanto, o tratamento de 5% de luz mostrou ligeira tendência biológica a apresentar maior porcentagem de germinação com desenvolvimento de gametófitos com rizóides.

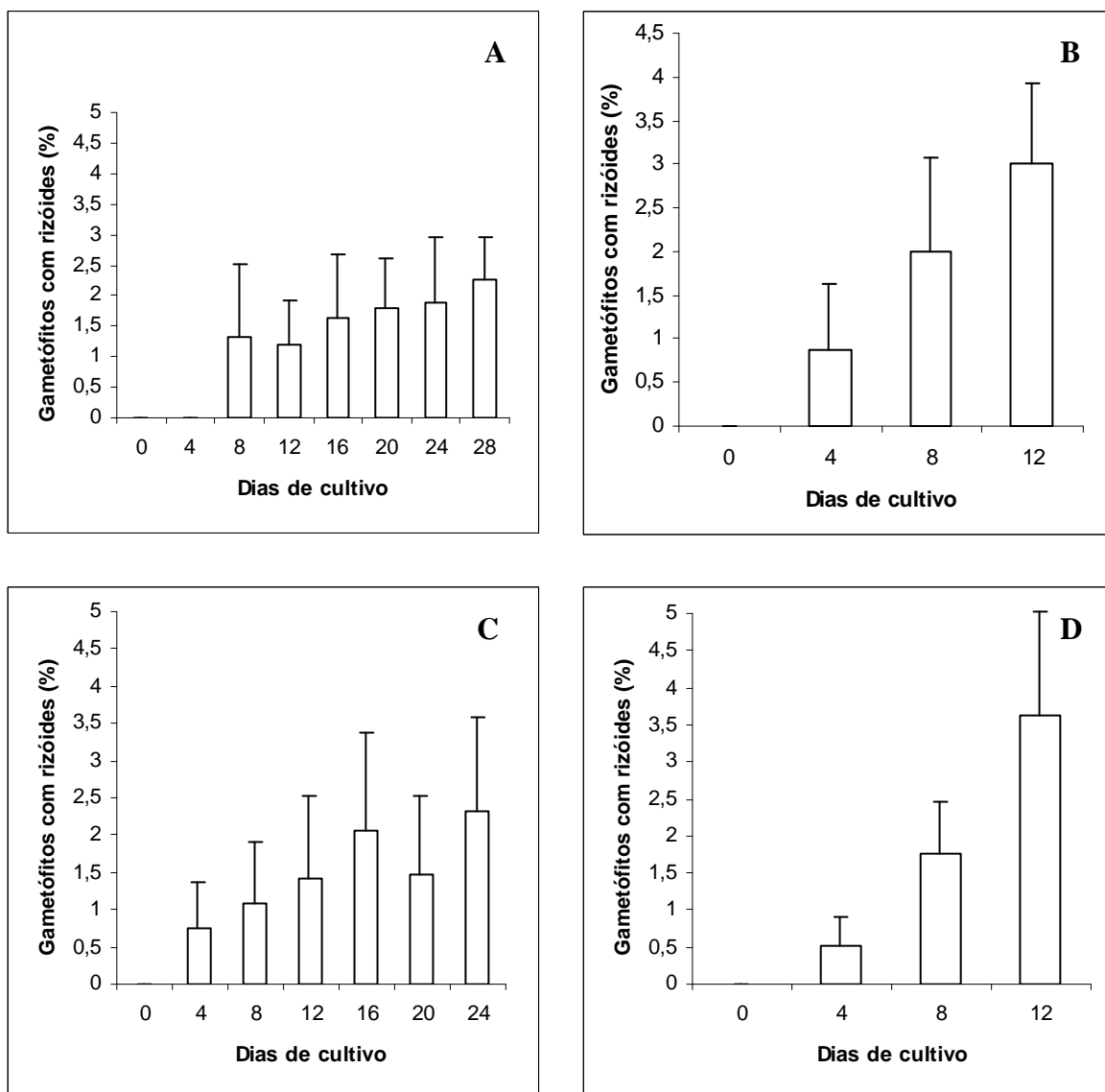


Figura 17 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de novembro, a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/10/2004 e armazenados durante 29 dias sob refrigeração. A- 62% de luz, B- 42% de luz, C- 22% de luz, D- 5% de luz.

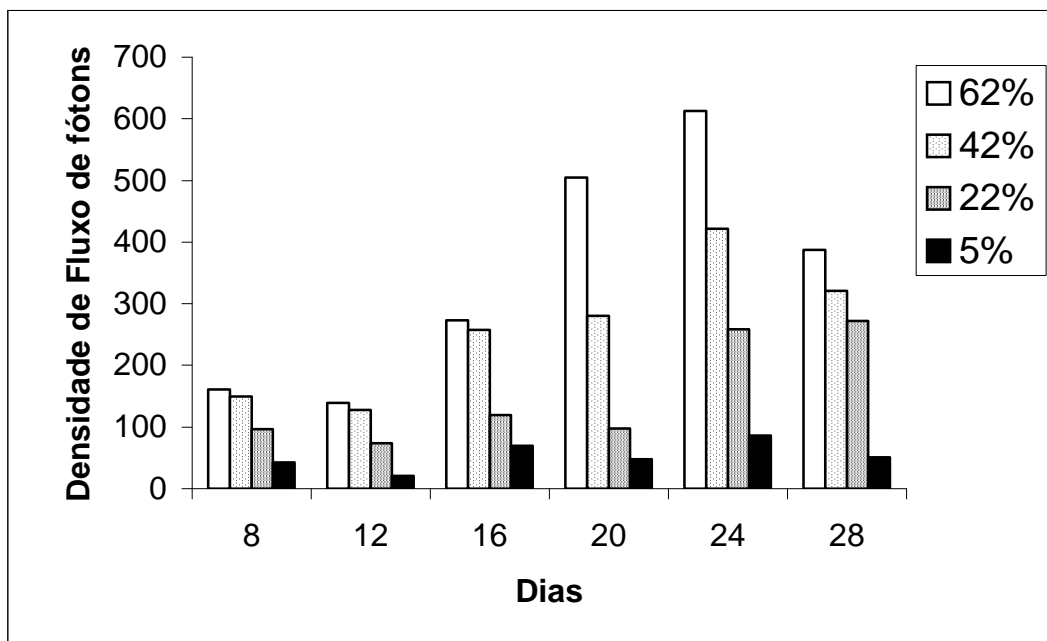


Figura 18 - Densidades de fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtidas as 14h no mês de novembro de 2004, durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de *Gleichenella pectinata*, dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite” .

Tabela 5 - Temperaturas mínimas e máximas obtidas no mês de novembro de 2004 as 14 h durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de *Gleichenella pectinata*, dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite” .

Dias	Níveis de luz (%)							
	62		42		22		5	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
8	16	34	24	34	24	34	20	30
12	11,5	31,5	11,5	31	11,5	31,5	17	31,5
16	15	29	16	29	15	30	16	28,5
20	15	30	14,5	29	15	30	16	35
24	11,5	31,5	12	31	12	32	15,5	40
28	11	29	11,5	31	11,5	31,5	20	36

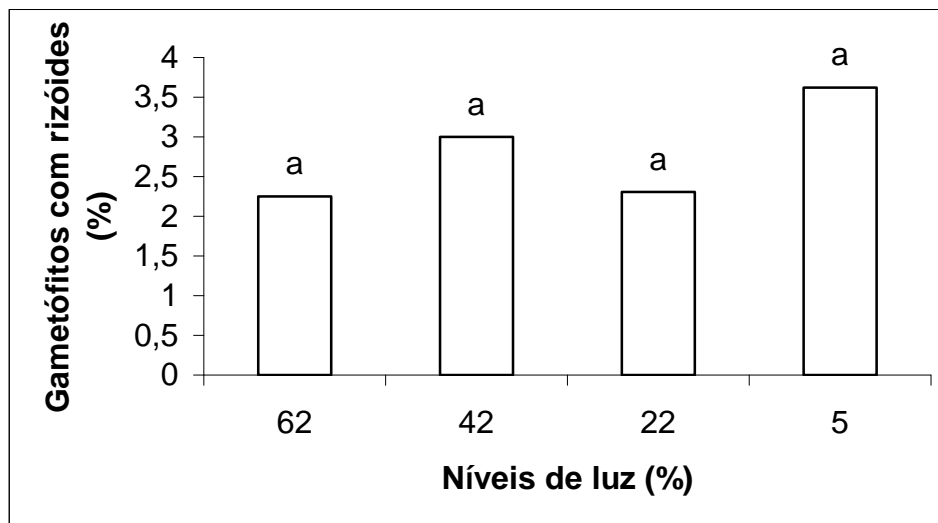


Figura 19 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de novembro de 2004 a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/10/2004 e armazenados durante 29 dias sob refrigeração. Letras iguais não diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 6 - Dias para atingir a máxima germinação e porcentagem final de gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/10/2004 e armazenados sob refrigeração durante 29 dias.

	Níveis de luz (%)			
	62	42	22	5
Dias para atingir a porcentagem máxima germinação	28	12	16	12
	Médias \pm desvio padrão			
Gametófitos com rizóides (%)	2,25 \pm 0,70a	3,0 \pm 0,92a	2,31 \pm 1,27a	3,62 \pm 1,40a
* s^2	6,10	2,32	10,83	15,040
* X^2				6,228
* D_{max}				0,068

Médias \pm desvio padrão com letras iguais não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% probabilidade de acordo com o teste de Tukey. * Após transformação angular

A figura 20 mostra os resultados do efeito de níveis de luz na germinação de *G. pectinata*. Esporos coletados em novembro de 2004 foram também submetidos a 62, 42, 22, e 5% de luz. Os testes tiveram início em 03 de outubro de 2005. Sob 62% de luz, foram observados $0,54 \pm 0,71\%$ de gametófitos com rizóides, após 28 dias de cultivo (Fig. 20A). Sob 42% de luz, foram observados $6,16 \pm 2,31\%$ de gametófitos com rizóides, após 28 dias de cultivo (Fig. 20B). Após 28 dias de cultivo sob 22% de luz foram observados $8,83 \pm 2,3\%$ de gametófitos com rizóides (Fig. 20C). Após 28 dias de cultivo sob 5% de luz, foram observados $11,33 \pm 2,25\%$ de gametófitos com rizóides (Fig. 20D).

A figura 21 mostra as irradiâncias medidas dentro das armações de madeira revestidas com tela sombrite, durante o mês de outubro de 2005. Durante o experimento, os dias geralmente foram nublados e chuvosos sendo que as maiores irradiâncias foram medidas nos dias 19 e 22 de outubro, que apresentaram períodos de maior insolação. As irradiâncias variaram de 107 a $553 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na caixa que permitiu a passagem de 62% de luz solar. Na caixa que permitiu a passagem de 42% de luz, as irradiâncias variaram de 88 a $392 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A 22% de luz, as irradiâncias variaram de 46 a $199 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e a 5% variaram de 15 a $77 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

A tabela 7 apresenta temperaturas medidas as 14h, no mês de outubro de 2005, dentro das caixas de sombrite utilizadas para a obtenção de diferentes níveis de luz. A 62% de luz as temperaturas mínimas variaram de 13,5 a 17,5 °C; as temperaturas máximas oscilaram entre 30 a 35 °C. A 42% de luz as temperaturas mínimas variaram de 12 a 17 °C e as temperaturas máximas entre 23 a 39 °C. A 22% de luz, as temperaturas mínimas variaram de 12 a 19 °C e as máximas entre 30 a 40 °C. A 5% de luz, as temperaturas mínimas variaram de 15 a 18 °C e as máximas de 29,5 a 40 °C.

A figura 22 mostra as porcentagens finais de gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos sob diferentes níveis de luz, no mês de outubro de 2005. As

porcentagens de gametófitos com rizóides aumentaram em função da redução dos níveis de luz (Fig. 22 e tabela 8). As maiores porcentagens de germinação foram observadas a 5 e 22 % de luz. A porcentagem de germinação a 42% de luz foi estatisticamente semelhante a 22%, porém foi menor do que a 5% de luz. A menor porcentagem de gametófitos com rizóides foi observada a 62% de luz, sendo que foi estatisticamente diferente das demais.

Resultados semelhantes foram encontrados por Brum & Randi (2002) para *Rumohra adiantiformis* que observaram os menores tempos médios de germinação e as maiores porcentagens de germinação sob 9 e 17% de irradiância nos meses de abril e agosto. Filippini *et al* (1999) e Renner & Randi (2004) trabalhando com *Dicksonia sellowiana* observaram os as maiores porcentagens de germinação sob 5 e 20% de luz.

As maiores porcentagens de germinação de *Cyathea delgadii* Sternb. e *Blechnum brasiliense* Desv. foram observadas também sob 5 e 22% de luz solar entre os meses de abril e junho de 2003 (Hiendlmayer 2004). Para *Cheilanthes feei* Moore, a maior porcentagem de germinação foi obtida sob regime de luz contínua a $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mas esta espécie pode germinar sob diversas condições incluindo escuro contínuo (Nondorf *et al.* 2003).

Com relação às temperaturas medidas dentro das caixas de sombrite durante a realização destes testes, observaram-se grandes flutuações de temperaturas mínimas e máximas. Nos dias com maior presença de ventos, houve uma tendência de menores temperaturas nas caixas de maior nível de luz, uma vez que a tela sombrite nestas caixas apresenta maiores orifícios e maior ventilação. As armações que recebem menores níveis de luz mantiveram temperaturas mais altas, chegando a atingir 40 °C, pois a tela sombrite apresenta menores orifícios e menor ventilação. No entanto, as maiores porcentagens de gametófitos com rizóides foram encontradas sob 5 e 22% de luz e as menores sob 62 e 42% de luz, mostrando que as altas temperaturas obtidas a 5 e 22% de luz nos dias mais quentes do período de teste, não inibiram a germinação de *G. pectinata* e nem o desenvolvimento

gametofítico. Apesar de a literatura mostrar que as temperaturas constantes ótimas para a germinação de diversas espécies de pteridófitas estejam compreendidas entre 18 e 25°C (Pérez-García & Ribas 1982, Brum & Randi 2002) e a germinação de *Gleichenella pectinata* ter sido menor a 30°C constante, alternâncias diárias de temperaturas no campo associadas a baixos níveis de luz, parecem ser benéficas para a germinação desta espécie. Resultados semelhantes foram também encontrados por Hiendlmayer (2004) para *Blechnum brasiliense* e *Cyathea delgadii*.

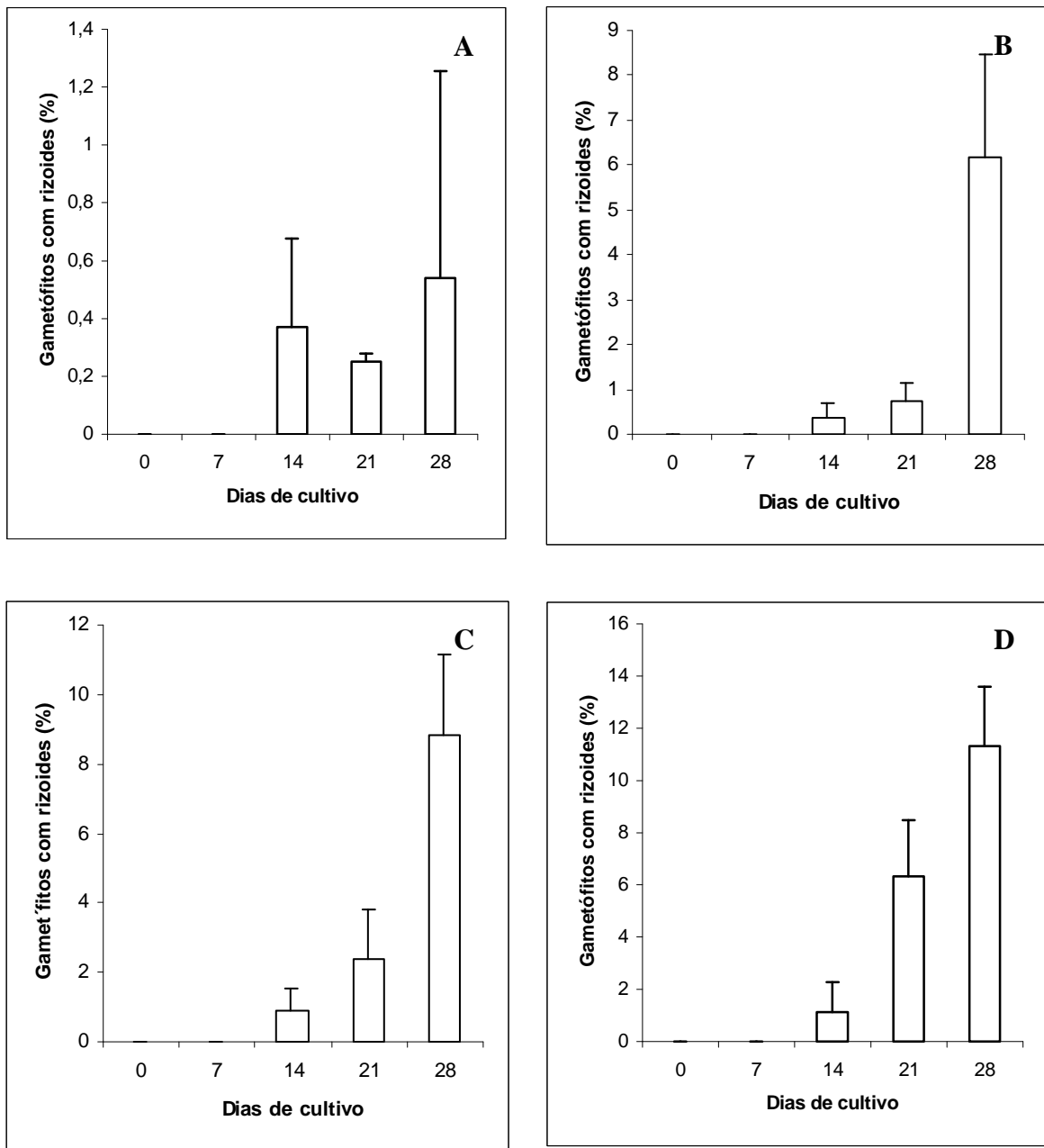


Figura 20 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de outubro de 2005, a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004 e armazenados durante 331 dias sob refrigeração. A- 62% de luz, B- 42% de luz, C- 22% de luz, D 5% de luz.

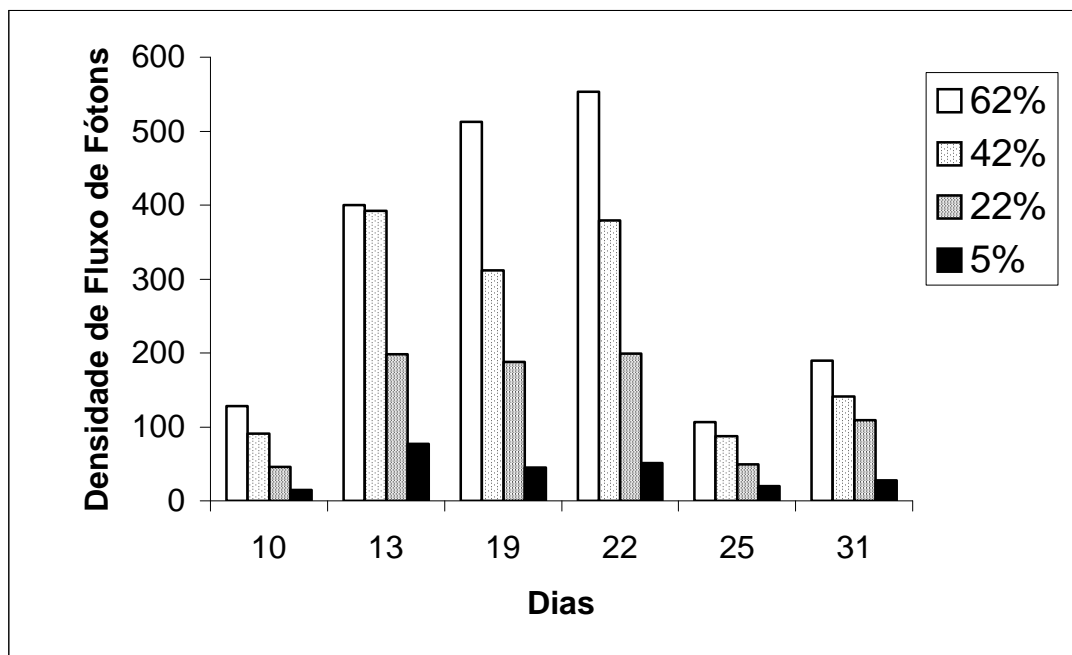


Figura 21 – Densidades de fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) obtidas as 14h no mês de outubro de 2005, durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de *Gleichenella pectinata*, dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite” .

Tabela 7 - Temperaturas mínimas e máximas obtidas no mês de outubro de 2005 as 14h durante o teste de efeito de diferentes níveis de luz na germinação de *Gleichenella pectinata*, dentro das armações de madeira revestidas com tela “sombrite” .

Dias	Níveis de luz (%)							
	62		42		22		5	
	Temperaturas (°C)							
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
10	17,5	30	17	23	19	30	17	30
13	17	35	17	37	17	40	16,5	39
19	15	32	12	33	14	37	17	38
22	19	35	16	39	18	39	18	40
25	13,5	33	12,5	35	12	37	15	36
31	13,5	30	14	31	14	30	16	29,5

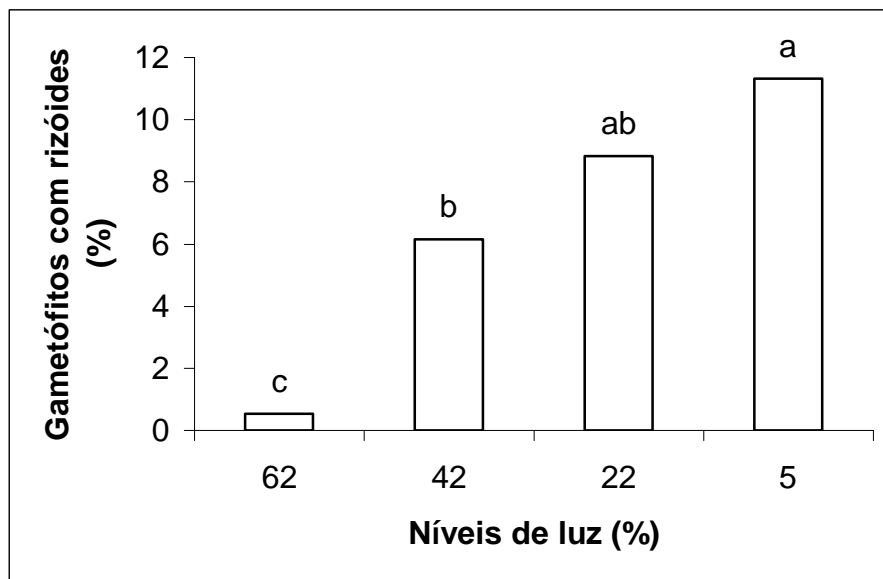


Figura 22 – Gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz no mês de outubro 2005 a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004 e armazenados sob refrigeração durante 331 dias. Letras diferentes diferem entre si, ao nível de 5% de probabilidade de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 8 - Dias para atingir a máxima germinação e porcentagem final de gametófitos com rizóides obtidos sob diferentes níveis de luz a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004 e armazenados sob refrigeração durante 331 dias.

	Níveis de luz (%)			
	62	42	22	5
Dias para atingir a máxima germinação	28	28	28	28
	Média ± desvio padrão			
Gametófitos com rizóides (%)	0,54 ± 0,71c	6,16 ± 2,31b	8,83 ± 2,3ab	11,33 ± 2,25a
* s^2	4,61	8,35	6,00	3,480
* X^2				0,695
* D_{max}				0,103

Médias ± desvio padrão com letras diferentes diferem significativamente entre si, ao nível de 5% probabilidade de acordo com o teste de Tukey. * Após transformação angular.

4.5. EFEITO DE DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTIVO NA GERMINAÇÃO DE *GLEICHENELLA PECTINATA*

A figura 23 e a tabela 9 comparam as porcentagens de gametófitos com rizóides obtidas da germinação de esporos da coleta realizada em novembro de 2004, submetidos a diferentes tratamentos. A maior porcentagem de gametófitos com rizóides foi obtida em sala de cultivo (25 ± 2 °C; fotoperíodo de 16 horas), seguida das obtidas a 5 e 22% de luz natural, que não diferiram entre si, mas que foram estatisticamente inferiores ao primeiro tratamento. Já as menores porcentagens de gametófitos com rizóides foram obtidas a 42 e 62% de luz natural que foram estatisticamente diferentes entre si, e a obtida em câmara de germinação (30 ± 1 °C; fotoperíodo de 16 horas de luz) que não diferiu da porcentagem obtida a 42% de luz natural.

Esses resultados evidenciam que o desenvolvimento de gametófitos com rizóides foi otimizado em sala de cultivo, a 25 °C e fotoperíodo foi de 16 horas. Tais condições devem ter sido adequadas ao metabolismo da germinação e ao desenvolvimento gametofítico. Já, sob luz natural, a maior porcentagem de gametófitos com rizóides ocorreu sob 5 e 22 % de luz, e foi menor do que a obtida em sala de cultivo, devendo-se levar em conta que o fotoperíodo natural é sempre menor do que em sala de cultivo e as temperaturas e irradiâncias são bastante oscilantes, o que certamente afetou o metabolismo de germinação e o desenvolvimento gametofítico.

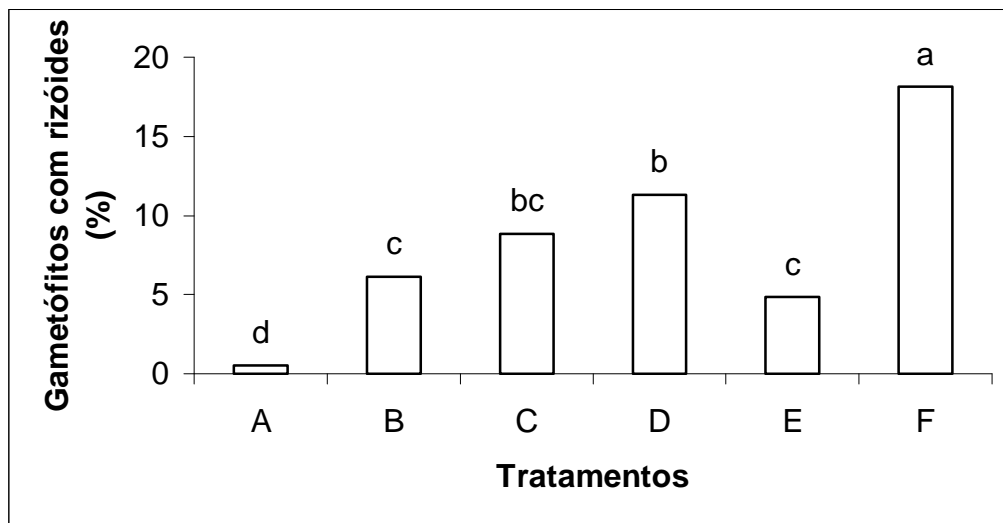


Figura 23 – Gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004, armazenados durante 331 dias e cultivados em diferentes condições experimentais. Legenda: A- 62% de luz, B- 42% de luz, C- 22% de luz, D- 5% de luz, E- Câmara de germinação a 30 °C e F- Sala de cultivo a 25 °C. Letras diferentes diferem entre si, ao nível de 5% probabilidade de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 9 - Dias para atingir a máxima germinação e porcentagem final gametófitos com rizóides obtidos a partir da germinação de esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em 06/11/2004, armazenados durante 331 dias e cultivados em diferentes condições experimentais.

Temperatura (°C)		Níveis de luz (%)				
25	30	62	42	22	5	
Dias para atingir a máxima germinação						
22	22	28	28	28	28	
Gametófitos com rizóides (%)						
Média ± desvio padrão						
18,16 ± 3,54a	4,83 ± 3,43c	0,54 ± 0,71d	6,16 ± 2,31c	8,83 ± 2,3bc	11,33 ± 2,25b	
* s^2	7,56	21,73	4,61	8,35	6,00	3,48
* X^2						4,802
D_{max}						0,073

Médias ± desvio padrão com letras diferentes diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade de acordo com o teste de Tukey. * Após transformação angular.

5. CULTIVO DE RIZOMAS E ENRAIZAMENTO DE ESTACAS FOLIARES

A tabela 10 mostra os resultados obtidos nos testes de cultivo de rizomas em diferentes tratamentos. Houve desenvolvimento de gemas apenas em rizomas cultivados em casa de vegetação com nebulização, em substratos terra roxa e areia e vermiculite, regados com solução nutritiva, no período compreendido entre 13/12/2004 a 02/02/2005 (tratamento E e F). A umidade foi importante para o brotamento de gemas de rizomas, porém o excesso de umidade na casa de cultivo pode ter sido prejudicial ao desenvolvimento das gemas brotadas. No entanto, após 7 semanas de cultivo, as frondes brotadas e os rizomas sofreram processo de necrose e morte.

Tabela 10 - Cultivo de rizomas de *Gleichenella pectinata*, em diferentes tratamentos. A- Substrato terra roxa estruturada, em sala de cultivo a 25 ± 2 °C (29/05 a 21/06/2004); B- Substrato terra roxa estruturada, em sala de cultivo a 25 ± 2 °C (23/06 a 29/07/2004); C- Substrato solo de mata, em sala de cultivo a 25 ± 2 °C (23/06 a 29/07/2004); D- Substrato areia e vermiculite (1:1) em condições naturais do laboratório (07/10 a 15/11/2004); E- Substrato terra roxa estruturada, em casa de vegetação com nebulização e rega com solução de Hoagland & Arnon (13/12/2004 a 02/02/2005); F- Substrato areia e vermiculite (1:1), em casa de vegetação com nebulização e rega com solução de Hoagland & Arnon (13/12/2004 a 02/02/2005).

Brotação de rizomas (%)						
Semanas	A	B	C	D	E	F
I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0
IV	0	0	0	0	16,6	8,3
V	0	0	0	0	16,6	8,3
VI	0	0	0	0	16,6	8,3
VII	0	0	0	0	0	0

As tabelas 11, 12 e 13 mostram resultados dos testes de efeito de AIB na sobrevivência de estacas foliares de *G. pectinata*. Não houve formação de raízes adventícias e nem desenvolvimento das gemas na maioria das estacas. Em poucas, houve um aumento de volume das gemas e pequeno desenrolamento foliar que foi mantido por curto período de tempo, após o qual as estacas necrosaram. Algumas estacas permaneceram vivas durante três semanas quando mantidas no laboratório, em condições naturais. Somente as estacas mantidas em casa de vegetação com sistema de nebulização permaneceram vivas por cinco semanas. Também nesse caso, a nebulização mostrou-se necessária à sobrevivência das estacas por maior tempo, mas pode ter sido excessivamente alta, causando a morte ds estacas, após 5 semanas.

Tabela 11 - Efeito de AIB na sobrevivência de estacas foliares de *Gleichenella pectinata*, em sala de cultivo. Período de teste: 12/07 a 12/08/2004.

Semanas de cultivo	AIB (mg.Kg ⁻¹)					
	0	250	500	1000	1500	2000
	Estacas vivas (%)					
I	100	100	100	100	100	100
II	70,8	75,0	75,0	70,8	70,8	70,8
III	16,6	16,6	33,3	29,16	29,16	29,16
IV	0	0	0	0	0	0

Tabela 12 - Efeito de AIB na sobrevivência de estacas foliares de *Gleichenella pectinata*, em condições de laboratório. Período de teste: 07/10 a 07/11/2004.

Semanas de cultivo	AIB (mg.Kg ⁻¹)					
	0	250	500	1000	1500	2000
	Estacas vivas (%)					
I	100	100	100	100	100	100
II	33,3	41,6	41,6	54,1	41,6	41,6
III	4,16	29,16	12,5	16,6	8,3	12,5
IV	0	0	0	0	0	0

Tabela 13 - Efeito de AIB na sobrevivência de estacas foliares de *Gleichenella pectinata*, na casa de vegetação do Dept. de Botânica - UFSC. Período de teste: 13/12/2004 a 02/02/2005.

Semanas de cultivo	AIB (mg.Kg ⁻¹)					
	0	250	500	1000	1500	2000
	Estacas vivas (%)					
I	100	100	100	100	100	100
II	70,8	66,6	58,33	62,5	75	66,6
III	29,16	37,5	20,83	41,66	45,83	45,83
IV	12,5	12,5	4,16	16,6	12,5	12,5
V	8,3	8,3	4,16	16,6	4,16	4,16
VI	0	0	0	0	0	0

Não há dados na literatura acadêmica sobre o cultivo de rizomas de samambaias para a reprodução vegetativa. As informações são escassas e se restringem as técnicas utilizadas popularmente para a reprodução de samambaias ornamentais. Os sites www.jardimdeflores.com.br e www.globorural.com.br apresentam técnicas domésticas que podem ser empregadas para a reprodução dos gêneros: *Asplenium* (asplênio ninho-de-passarinho), *Adiantum* (avenca), *Davallia* (renda-portuguesa), *Nephrolepis* (paulistinha), *Polypodium* (samambaia-de-metro, do Amazonas, etc.), *Pteris* (samambaia-prata), *Equisetum*

(cavalinha), *Lygodium* (samambaia-trepadeira), *Cyathea* (samambaiacús) e *Dicksonia* (*Dicksonia sellowiana*). As técnicas indicam que os segmentos de rizomas devem ter aproximadamente 10 cm de comprimento e pelo menos duas gemas.

Dados da literatura mostram que pteridófitas respondem aos hormônios vegetais em técnicas de cultivo *in vitro*. Camloha *et al.* (1994), observaram a regeneração de plântulas *in vitro* a partir de explantes de frondes de *Platyserium bifurcatum* (Cav.) C. Chr., em meio MS suplementado com citocinina sintética BAP (benzil-amino purina). Para induzir o enraizamento, os esporófitos jovens foram transferidos para meios suplementados com AIB (ácido indol-butírico), AIA (ácido indol-acético) ou ANA (ácido naftaleno-acético). O melhor enraizamento ocorreu na presença de AIB. As plântulas foram transferidas para o solo com sucesso sendo morfológicamente idênticas à planta doadora.

Kwa *et al.* (1995) publicaram estudos sobre apogamia (esporófitos produzidos na ausência de fecundação) induzida por AIA em gametófitos de *Platyserium coronarium* (Koenig) Desv. cultivados *in vitro*. A percentagem de apogamia, assim como o número total de esporófitos apogâmicos produzidos, foi maior na presença de AIA. Segundo Nakamura & Maeda (1995), gametófitos apospóricos de *Lygodium japonicum* L. foram induzidos diretamente de fragmentos de frondes de esporófitos subcultivados e submetidos à propagação massal. Esse material mostrou-se superior para o isolamento e cultivo de protoplastos do que segmentos de esporófitos. Quando os protoplastos foram cultivados em meio MS ½ suplementado com ANA e BAP, começaram as divisões celulares após cinco dias de cultivo. Após a transferência para meio MS, livre de reguladores de crescimento, os explantes transformaram-se em gametófitos.

Rizomas de esporófitos jovens de *Blechnum spicant* L. e *Pteris ensiformis* L. foram cultivados em meio MS com BAP ou combinado com ANA, respectivamente e deram início a vários centros de proliferação localizados na epiderme e próximos ao parênquima destes

órgãos após um mês em cultura. O sub-cultivo desses rizomas por um mês, em meios contendo reguladores de crescimento, permitiu a organização de centros internos de proliferação e a regeneração de um grande número de esporófitos. A adição de ANA ao meio de cultura promoveu a proliferação de corpos verdes globulares em *B. spicant* e os processos rizogênicos e calogênicos em *P. ensiformis*. Os corpos verdes globulares dos rizomas de *B. spicant* produziram numerosos esporófitos e, do ponto de vista da micropropagação, são um bom sistema para regenerar esporófitos na espécie (Fernández *et al.* 1996a).

Fernández *et al.* (1996b), afirmam que quando os gametófitos de *Dryopteris affinis* sp. *affinis* L. foram cultivados por um mês, em meio MS suplementado com BAP e ANA, houve aumento da proliferação dos esporófitos a partir dos gametófitos. O uso de ANA e BAP associados ao carvão ativado induziu a máxima produção de esporófitos de *Platyserium bifurcatum* (Cav.) C. Chr. originados a partir de cultivo de suspensões celulares (Teng 1997).

Culturas de suspensões celulares foram iniciadas a partir de calos derivados de gametófitos de *Platyserium coronarium* (Koenig) Desv. (Kwa *et al.* 1997). Suspensões celulares foram distribuídas em meio MS semi-sólido contendo cinetina. A presença de ANA no meio promoveu o aumento na formação dos rizóides, mas AIA ou AIB não induziram os rizóides. A produção de rizóides também foi observada quando as células foram cultivadas em meio contendo adição de ANA e cinetina.

Os testes realizados neste trabalho mostraram que a umidade parece ser importante tanto para o brotamento de rizomas quanto para a sobrevivência de estacas foliares de *Gleichenella pectinata*. No entanto, o excesso de umidade parece ter sido prejudicial após algumas semanas de cultivo. Testes complementares associando o cultivo de rizomas e estacas, inicialmente em sistema de nebulização e posteriormente, em condições de menor umidade relativa poderiam ser sugeridos. Outra alternativa seria a aplicação de técnicas de cultivo “*in vitro*” para a obtenção de mudas vegetativamente.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esporos de *Gleichenella pectinata* coletados em diferentes épocas do ano de 2004, mostraram um baixo potencial em formar gametófitos com rizóides, capazes de se desenvolver em gametófitos cordiformes e posteriormente em esporófitos. Rizomas e estacas desta espécie permanceceram vivos por algumas semanas em sistema de nebulização, porém não produziram plantas no decorrer deste trabalho. Tais resultados abrem novas perspectivas para a obtenção de plantas a partir de cultivo “*in vitro*”.

Este trabalho é pioneiro no que se refere ao estudo do potencial germinativo de *Gleichenella pectinata*. A metodologia para a germinação “*in vitro*” utilizada neste trabalho tem sido aplicada rotineiramente, sendo portanto, adequada para esta finalidade.

Novas estratégias para incrementar a germinação de esporos poderão ser aplicadas, como a utilização de diferentes pHs nos meios de cultura, a realização de coletas de esporos em diferentes áreas e épocas do ano, testes envolvendo diferentes densidades de esporos no meio mineral e testes envolvendo diferentes temperaturas.

Estudos sobre possíveis efeitos alelopáticos da espécie sobre seus próprios esporos seriam interessantes para a compreensão das estratégias reprodutivas da espécie em seu “habitat”.

O estudo sobre a germinação de *Gleichenella pectinata*, bem como do desenvolvimento gametofítico e potencial para reprodução vegetativa, são etapas significativas para ampliar o conhecimento da biologia desta espécie, com intuito de produzir plantas a partir dos esporos e vegetativamente, considerando-se que a espécie potencialmente poderá ser empregada como cobertura para proteger o solo contra perdas por erosão, principalmente em taludes e a recuperação de paisagens. Estudos posteriores devem ser realizados pois há ainda muito para se conhecer sobre *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching e as pteridófitas brasileiras.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERNABE, N., WILLIAMS-LINERA G., & M. PALACIOS-RIOS. 1999. Tree ferns in the interior and at the edge of a Mexican cloud forest remnant: Spore germination and sporophyte survival and establishment. **Biotropica** 31:83-88.
- BOZZOLA, J.J. & RUSSEL, L.D. 1991. **Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists**. Boston. Jones and Barlett.
- BRUM, F.R. & RANDI, A. M. 2002. High irradiance and temperature inhibit the germination of spores of the fern *Rumohra adiantiformis* (Forst.) Ching (Dryopteridaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 25:391-396.
- CAMLOH, M. 1993. Spore germination and early gametophyte development of *Platycerium bifurcatum*. **American Fern Journal** 83:79-85.
- CAMLOH, M. 1999. Spore age and sterilization affects germination and early gametophyte development of *Platycerium bifurcatum*. **American Fern Journal** 89:124-132.
- CAMLOHA, M.; GOGALA, N. & RODE, J. 1994. Plant regeneration from leaf explants of the fern *Platycerium bifurcatum* *in vitro*. **Scientia Horticulture** 56:257-266.
- CARLSON, T. J. 1979. The comparative ecology and frequencies of interspecific hybridization of Michigan wood-ferns. **Michigan Botanist** 18:47-56.
- CHEN, C. & IKUMA, H. 1979. Photocontrol of the germination of *Onoclea* spores. **Plant Physiology** 63:704-708.
- CUSATIS, A. C. 2001. Diagnósticos de Taludes Rodoviários Revegetados Naturalmente na Região de Viçosa, MG. **Dissertação de Magister Scientiae**. UFV. Viçosa.
- DYER, A. F. 1979. **The culture of fern gametophytes for experimental investigation**. In: The experimental biology of ferns. London. Academic.
- ESTEVEZ, L. M. & FELIPPE, G. M. 1985. Fotossensibilidade de esporos de pteridófitas dos cerrados. **Revista Brasileira de Botânica** 8:219-22.

- FERNÁNDEZ, H.; BERTRAND, A.M. & TAMÉS, R. S. 1996. Micropropagation and phase change in *Blechnum spicant* and *Pteris ensiformis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 45:93-97.
- FERNÁNDEZ, H.; BERTRAND, A.M. & TAMÉS, R. S. 1996. Influence of tissue culture conditions on apogamy in *Dryopteris affinis* sp *affinis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 44:261-265.
- FILIPPINI, E. C. P., DUZ, S.R. & RANDI, A. M. 1999. Light and storage on the germination of spores of *Dicksonia selowiana* (Presl.) Hook., Dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Botânica** 22:21-26.
- FURUYA, M. 1983. **Photomorphogenesis in ferns**. In Photomorphogenesis (W. Shropshire Jr. & H. Mohr, eds.). Encyclopedia of Plant Physiology .Berlin. Springer
- FURUYA, M.; KANNO, M.; OKOMOTO, H.; FUKUDA, S. & WADA, M. 1997. Control of mitosis by phytochrome and a blue-light receptor in fern spore. **Plant Physiology** 13:677-683.
- GRAVES, J. H. & MONK, C. D. 1982. Herb-soil relationships on a lower north store over marble. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 1094:500-507.
- GEORGE, L. O. & BAZZAR, F. A. 1999a. The ferns understory as an ecological filter: emergence and establishment of canopy-tree seedling. **Ecology** 80:833-845.
- GEORGE, L. O. & BAZZAR, F. A. 1999b. The ferns understory as an ecological filter: growth and survival of canopy-tree seedling. **Ecology** 80:846-856.
- HAUPT, W. 1990. Phytochrome-mediated fern-spore germination: inhibition by elevated temperatures. **Photochemical Photobiology** 52:57-9.
- HAUPT, W. 1991. Phytochrome-controlled fern-spore germination: phase-specific modulation by elevated temperatures. **Photochemical Photobiology** 54: 811-818.
- HAUPT, W. 1992. Phytochrome-mediated fern-spore germination: a temperature-sensitive phase in the transduction chain after action of Pfr. **Journal of Plant Physiology** 140:575-81.

- HEINRICH, W. 1986. **Vegetação e Zonas Climáticas: Tratado de Ecologia Global**. São Paulo. Pedagógica e Universitária LTDA.
- HIENDLMAYER, R. 2004. Estudo da Viabilidade de Esporos e do Crescimento Inicial de Quatro Espécies Nativas de Pteridófitas da Floresta Ombrófila Densa Atlântica. Dissertação de Mestrado. UFSC. Florianópolis.
- HOAGLAND, D. R. AND ARNON, D. I. 1950. The water culture method of growing plants without soil. **Agriculture Experiment Station Circular**. California.
- JARAMILLO R.I., PÉREZ-GARCÍA B.& MENDOZA, A. 1996. Desarrollo del gametófito y del esporófito joven de *Niphidium crassifolium* (Filicales: Polypodiaceae S. Str.). **Revista de Biología Tropical** 44: 485-490.
- JARAMILLO R.I., PÉREZ-GARCÍA B.& RUIZ , A. M. 2003. Morfogénesis de los gametófitos de especies mexicanas de *Pleopeltis* (Polypodiaceae, subfamília Pleopeltoideae). **Revista de Biología Tropical**. 51:321-332.
- KWA, S. H.; WEE, Y.C.; LIM,T.M. & KUMAR, P. P. 1995 a. IAA-induced apogamy in *Platyserium coronarium* (Koenig) Desv. Gametophytes cultured *in vitro*. **Plant Cell Reports** 14:598-602.
- KWA, S. H.; WEE, Y.C.; LIM, T.M. & KUMAR, P. P. 1997. Morphogenetic plasticity of callus reinitiated from cell suspension cultures of the fern *Platyserium coronarium*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 48:37-44.
- LABOURIAU, L.G. 1983. **A germinação das sementes**. Série de Biologia, Monografia 24. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Washington. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos.
- LADWIG. 1998. As Unidades de Conservação Ambiental e o Cadastro Técnico Multifinalitário – Estudo de Caso: UCAD/UFSC (Unidade de Conservação Ambiental Desterro) Dissertação de Mestrado. UFSC. Florianópolis.
- MILLËR, J. H. 1968. Fern gametophytes as experimental material. **Botanical Review** 34:361-440.
- MOHR, H. 1956. Die Abhängigkeit des Protonemapolarität bei Farnen von Licht. **Planta** 47:127-158.

- NAKAMURA, M. & MAEDA, M. 1995. Gametophytes derived from sporophytic tissues in a fern, *Lygodium japonicum* L. 1. Introduction of the gametophytes and their protoplast isolation. **J. Plant Physiology** 145:185-188.
- NAYAR, B.K. & KAUR, S. 1969. Types of Protalial development in homosporous ferns. **Phytomorphology** 19:179-188.
- NONDORF, S.L.; DOOLEY, M.A.; PALMIERI, M. & SWATZELL, L.J. 2003. The effects of pH, temperature, light intensity, light quality, and moisture levels on spore germination in *Cheilanthes feei* of Southeast Missouri. **American Fern Journal** 93:56-69.
- ØSTERGAARD-ANDERSEN, E. & ØLLGARRD, B. 1996. A Note on Some Morphological Terms of the Leaf in the Gleicheniaceae. **American Fern Journal** 86:52-57.
- ØSTERGAARD-ANDERSEN, E. & ØLLGARRD, B. 2001. Gleicheniaceae. *In*: G. Haerling & L. Andersson(eds.). University of Göteborg. **Flora of Ecuador** 66:103-169.
- PÉREZ-GARCIA, B. & RIBA, R. 1982. Germinacion de esporas de Cyatheaceae bajo diversas temperaturas. **Biotropica** 14:281-287.
- PÉREZ-GARCIA, B. MENDONZA, A., RIBA, R. & RICCI, M. 1996-1997. Morfogénesis del gametofito del helecho *Thyrsopteris elegans* (Filicales: Thyrsopteridaceae). **Revista de Biología Tropical** 44:59-65.
- PÉREZ-GARCÍA, B. RIBA, R. MENDOZA, A. 1994. Observaciones del gametofito de *Thelypteris rhachiflexuosa* Riba (Thelypteridaceae). **Acta Botánica Mexicana** 28:63-69.
- PERES, M. T. L. 1997. Estudo de Compostos Ativos (Biológicos e Farmacológicos) de *Cróton urucurana* Baillon. Avaliação do Efeito Alelopático de Estratos de *Gleichenia pectinata* Willd (Pr.) e de seus Aleloquímicos. Tese de Doutorado. UFSC. Florianópolis.
- PERES, M. T. L.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A. 1998. Potencial de Atividade Alelopática de *Gleichenia pectinata* Willd (Pr.). **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira** 33:131-137.

- PÉREZ-GARCIA, A., RIBA, A. MENDONZA & J. IRMA REYES. 1998. Compared gametophytic development of three species of *Phlebodium* (Polypodiaceae, *s.str.*) **Revista de Biologia Tropical** 46:59-67.
- PÉREZ-GARCIA, B. MENDONZA, A., RIBA, R. & GÓMEZ-PIGNATARO, L. 2001. Development of the Sexual Phase of *Pseudocolysis bradeorum* (Polypodiaceae) **American Fern Journal** 91:214-226.
- PRADO, J. 1997. **Estudo da diversidade de espécies de pteridófitas do Estado de São Paulo**. São Paulo. Instituto de Botânica. Seção de Pteridologia.
- PRADO, J. 2004. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Pteridophyta: 8. Gleicheniaceae. **Hoehnea** 31:33-37.
- QUEIROZ, M. H. de. 1994. Approche phytoécologique et dynamique des formations végétales secondaires développées après abandon des activités agricoles, dans le domaine de la Forêt Ombrophile dense de versant (Forêt Atlantique) à Santa Catarina-Brésil. École Nationale du Génie Rural des Eaux et de Forêts. Thèse de Doctorat. Nancy, França.
- QUEIROZ, M. H.; MENDONÇA, E. N.; SILVA, M.; VENTURI, S.; VIEIRA, N. K.; HEINDLMAYER, R.; MAZZOLI, M.; TIEPO, E. N.; ANER, U.; TOMAZI, A.; FILHO, E. F.; ANDREATTA, I. C. T. & BERKENBROCK, I. 2002. Avaliação do grau de implementação das unidades de conservação da Ilha de Santa Catarina. Anais do III congresso Brasileiro de Unidades de Conservação, Fortaleza – CE.
- RAMÍREZ, R. & PÉREZ-GARCÍA, B. 1998. Fase gametofítica del helecho *Microgramma nitida* (Polypodiaceae). **Revista de Biologia Tropical** 46:587-593.
- RAGHAVAN, V. 1989. **Developmental biology of fern gametophytes**. Cambridge. University Press.
- RANAL, M.A. 1999. Effects of temperature on spore germination in some fern species from semideciduous mesophytic forest. **American Fern Journal** 89:149-158.
- RANDI, A. M. 1996. Fotosensitivity, viability and storage reserves in spores of *Acrostichum danaeifolium* Langsd. & Fisch. (Pteridaceae) **Revista Brasileira de Botânica** 19:105-108.

- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. & EICHHORN, S. 2001. *Biologia Vegetal*. 6ª edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro.
- REIS, A.; ZAMBONIN, R. M. & NAKAZONO, E. M. 1999. Recuperação de Áreas de Florestas Degradadas Utilizam a Sucessão e as Interações Plantas-Animais, Caderno nº14. Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. São Paulo.
- RENNER, G.D.R. & RANDI, A.M. 2004. Effect of sucrose and irradiance on germination and early gametophyte growth of the endangered tree fern *Dicksonia sellowiana* Hook (Dicksoniaceae) **Acta Botânica Brasilica** 18:375-390.
- ROGGE, G.D., VIANA, A. M., RANDI, A. M. 2000. Cryopreservation of spores of *Dicksonia sellowiana*. At endangered tree fern indigenous to South and Central America. **Cryoletters** 21:223-230.
- SANTANA, D.G. & RANAL, M. A. 2004. **Análise da germinação. Um enfoque estatístico**. Brasília. Editora Unb.
- SIMABUKURO, E. A. ESTEVES, L. M. & FELIPPE, G. M. 1993. Fotoblastismo de pteridófitas da mata ciliar. **Insula** 22:177-186.
- SIMABUKURO, E.A, DYER, A.F. & FELIPPE, G.M. 1998. The effect of sterilization and storage conditions on the viability of spores of *Cyathea delgadii*. **American Fern Journal** 88:124-132
- SHEFFIELD, E.; DOUGLAS, G. E.; HEARNE, S. J.; HUXHAM, S. & WYNN, J.M. 2001. Enhancement of fern spore germination and gametophyte growth in artificial media. **American Fern Journal** 91:179-186.
- SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. 1969. **Biometry**. San Francisco. Freeman and Company.
- SOARES, G. L. G. & VIEIRA, T. R. 2000. Inibição da germinação e crescimento radicular de alface (cv. "Grand Rapids") por extratos aquosos de cinco espécies de Gleicheniaceae. **Floresta e Ambiente** 7:180-197.
- STATGRAPHICS. 1993. Statistical Graphics System. Statistical graphics corporation portions copyright version 7.

- SUZUKI, C. C. L. F. 2003. Desenvolvimento gametofítico e estudo de diferentes níveis de luz no crescimento de plântulas de *Dicksonia sellowiana* Hook. (Pteridófita-Dicksoniaceae). Dissertação de mestrado. UFSC. Florianópolis.
- SUZUKI, C. C. L. F., PAULILO, M. T. & RANDI, A. M. 2005. Substrate and Irradiance Affect the Early Growth of the Endangered Tropical Tree Fern *Dicksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae). **American Fern Journal** 95:115-125.
- TENG, W. L. 1997. Activated charcoal affects morphogenesis and enhances sporophyte regeneration during leaf cell suspension culture of *Platyserium bifurcatum*. **Plant Cell Reports** 17:77-83.
- TOWILL, L. R. 1978. Temperature and photocontrol of *Onoclea* spore germination. **Plant Physiology** 62:116-119.
- TRYON, M. R. 1970. Development and evolution of ferns floras of Oceanic Islands. **Biotropica** 2:76-84.
- TRYON, M. R. 1972. Endemic areas and geographic speciation in Tropical American ferns. **Biotropica** 4:121-131.
- TRYON, M. R. & TRYON, A. F. 1982. **Fern and allied plants with special reference to Tropical America**. New York. Springer-Verlag.
- TRYON, R. M. 1986. The Biogeography of Species, with Special Reference to Ferns. **The Botanical Review** 52:117-155.
- UCHIDA, K. & FURUYA, M. 1997. Control of the entry into S phase by phytochrome and blue light receptor in the first cell cycle of fern spores. **Plant Cell Physiology** 38:1075-1079.
- WHITTIER, D. P. & MOYROUD, R. 1993. The promotion of spore germination and gametophyte development in *Ophioglossum palmatum* by low pH. **American Fern Journal** 83:41-46.
- WHITTIER, D. P. & BRAGGINS, J. E. 1993. Spore germination in the Psilotaceae. **Canadian Journal of Botany**. 72:688-692.

WINDSCH, P. G. 2002. Pteridófitas do Brasil: Diversidade Decrescente. *In*: Araújo, E. L.; Moura, A. N.; Sampaio, E. V. S. B.; Gestianari, L. M. S. & Carneiro, J. M. T. (eds.). **Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil**. Recife. Editora da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife.

ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis*, 3 ed., **Upper SaddJe River, Prentice Hall**.

www.lssa.com.br/saladeaula/eros/bio_2004/bio_2/2_trim/briofita_pteridofita.htm

www.jardimdeflores.com.br

www.globorural.globo.com.br