

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**TÍTULO: DESENVOLVIMENTO GAMETOFÍTICO E ESTUDO DE
DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ NO CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS
DE *Dicksonia sellowiana* (PRESL) HOOK. (PTERIDÓFITA-
DICKSONIACEAE)**

Mestranda: Cláudia Cristina Leite Fiori Suzuki

Orientadora: Prof.^a Dra Áurea Maria Randi

Co-orientadoras: Prof.^a Dra Marisa Santos e

Prof.^a Dra Maria Teresinha Silveira Paulilo

Fevereiro de 2003

**TÍTULO: DESENVOLVIMENTO GAMETOFÍTICO E ESTUDO DE
DIFERENTES NÍVEIS DE LUZ NO CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS
DE *Dicksonia sellowiana* (PRESL) HOOK. (PTERIDÓFITA-
DICKSONIACEAE)**

CLÁUDIA CRISTINA LEITE FIORI SUZUKI

Dissertação de mestrado apresentada como requisito parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina.

FLORIANÓPOLIS

2003

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente a Deus pela oportunidade e condições para realizar este curso de mestrado. Muito obrigada.

Agradeço sinceramente, minha orientadora, Prof.^a Dra. Áurea Maria Randi, por toda dedicação, colaboração, serenidade e amizade. Muito obrigada.

Agradeço a co-orientadora Prof.^a Dra Marisa Santos pelo incansável empenho, colaboração e amizade, fundamentais para a realização desse projeto. Muito obrigada.

Agradeço a co-orientadora Prof.^a Dra Maria Teresinha Silveira Paulilo por sua abnegada colaboração. Muito obrigada.

Agradeço a Prof.^a Dra Clarice Louguércio-Leite, coordenadora da Pós Graduação em Biologia Vegetal, pelo seu empenho em proporcionar as melhores condições possíveis aos mestrandos. Muito obrigada.

Agradeço a colaboração do professor Dr. Paulo Emílio Lovatto -CCA- UFSC. Muito obrigada.

Agradeço a todos os professores e funcionários do Departamento de Botânica que de alguma forma colaboraram com esse projeto em especial a Silvana Olse e a Vera. Muito obrigada.

Agradeço a todos os colegas do mestrado pela colaboração e amizade, salientando a abnegada colaboração da colega Rosane. Muito obrigada.

Agradeço, especialmente, a amiga-irmã Márcia Patrícia pela profunda dedicação colaboração e amizade que perdurará para sempre. Muito obrigada.

Agradeço ao meu cunhado, Júlio, pelo auxílio nas análises estatísticas. Muito obrigada.

Com muito amor, agradeço a minha maravilhosa família, Sergio e Amanda, por todo amor, compreensão e dedicação. Muito obrigada.

Agradeço aos meus pais pela vida e amor.

Agradeço a todos os meus familiares e a todos que incentivaram esse projeto. Muito obrigada.

Agradeço ao apoio financeiro da CAPES. Muito obrigada.

*Um dia não precisaremos de leis ou governantes,
Poís todo Homem sabe diferenciar o certo e o errado.*

*Um dia não existirão religiões para religar o
Homem a Deus,
Poís todos os Homens sabem sua natureza Divina.*

*Um dia todos cuidaremos uns dos outros,
Poís todos somos irmãos.*

*Um dia o Homem conviverá em progresso
e harmonia com a natureza,
Poís tudo é manifestação da VIDA.*

*Um dia o Homem saberá fazer o certo,
E fará eternamente.*

RESUMO

Dicksonia sellowiana (Presl.) Hook (Dicksoniaceae), popularmente conhecida como xaxim, é uma importante espécie de pteridófito arbórea que pode ser encontrada na Floresta Ombrófila Densa e que há anos vem sendo explorada para fins comerciais. A exploração aliada a seu desenvolvimento lento tem sido um agravante para esta espécie colocando-a entre as espécies ameaçadas de extinção. Há na literatura científica muito pouco a respeito da fisiologia dessa espécie, bem como, de seu crescimento inicial e cultivo. Tornou-se, então, relevante o estudo desta espécie visando métodos que contribuam para otimizar sua propagação e conservação. Portanto, este trabalho teve por objetivo verificar a viabilidade de esporos armazenados há mais de três anos, estudar a morfo-anatomia dos gametófitos durante seu desenvolvimento, verificar o substrato que proporciona mais rápido desenvolvimento da fase inicial da espécie e verificar o efeito de diferentes níveis de luz no crescimento de plântulas de *D. sellowiana*. Esporos armazenados há 1130 dias em frascos de vidro a $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ e esterilizados em solução de hipoclorito de sódio comercial a 20% por 30 minutos, apresentaram 27% de germinação no 16º dia de cultivo. Esporos armazenados nas mesmas condições, há 1160 dias e esterilizados em solução de hipoclorito de sódio comercial a 5% por 30 minutos, apresentaram uma média de 78,5% de germinação. A germinação dos esporos iniciou-se no segundo dia de cultivo. Aos 15 dias os gametófitos apresentaram-se na forma filamentosa, com uma célula rizoidal e 3 a 7 células protonemais. Aos 30 dias os gametófitos apresentaram-se como um protalo laminar espatulado. Aos 45 dias os gametófitos começavam a se tornar cordiformes. Aos 90 dias os gametófitos possuíam a forma cordata e alguns já eram arquegoniados. Após 84 dias de cultivo, iniciou-se a formação de esporófitos. Até 259 dias de cultivo, 84,67% dos gametófitos formaram esporófitos. O substrato com pH baixo (5,2), altos teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e ausência de alumínio trocável, proporcionou um desenvolvimento gametofítico e esporofítico inicial mais rápido. A intensidade luminosa de 10% da luz solar proporcionou um aumento significativo da altura da fronde maior, do número de frondes, das massas fresca e seca da parte aérea, da taxa de crescimento relativo em altura e da taxa de crescimento relativo em relação às intensidades de 3% e 30% da luz solar. Os teores de clorofila foram significativamente maiores a 3% da luz solar. As plantas submetidas às intensidades de 50%, 75% e 100% da luz solar não sobreviveram.

Palavras-chave: *Dicksonia sellowiana*, gametófito, esporófito, luz, esterilização, germinação, solos .

ABSTRACT

Dicksonia sellowiana (Presl.) Hook (Dicksoniaceae), popularly known as fiber plant, is an important species of arboreal pteridophyte that can be found at the rainforest and that for years has been explored for commercial ends. The exploration allied to its slow development has been an added difficulty for this species putting it among the threatened species of extinction. Little information exists in the world literature on the physiology of that species, as well as, its initial growth and cultivation. It is then, relevant to study this species seeking methods that contribute to optimize its propagation and conservation. Therefore, this work had the objective of verifying the viability of stored spores for more than three years, of studying the morpho-anatomy of the gametophytes during its development, verifying the substratum that provides faster development of the initial phase of the species and the effect of different light levels in the growth of plantlets of *D. sellowiana*. Spores stored over a period of 1130 days in glass flasks at $7\pm 1^\circ\text{C}$ and surface sterilized with a 20% (v/v) solution of commercial bleach (2,0-2,5% of active chlorine) for 30 minutes, presented 27% of germination after 16 days of cultivation. Spores stored in the same conditions, over a period of 1160 days and surface sterilized with a 5% (v/v) solution of commercial bleach (2,0-2,5% of active chlorine) for 30 minutes, presented an average of 78,5% of germination. The spores began to germinate after the second day of cultivation. After 15 days the gametophytes presented the filamentous form, with a rhizoidal cell and 3 to 7 prothallial cells. After 30 days the gametophytes were laminate-spatulate prothallus. After 45 days the gametophytes turned to the cordiform aspect. After 90 days the gametophytes were cordiform and some of them presented already archegonium. After 84 days of cultivation, the formation of sporophytes started. After 259 days of cultivation, 84,67% of the gametophytes formed sporophytes. The substratum with low pH (5,2), high levels of nitrogen, phosphorus, potassium and calcium and absence of exchangeable aluminum, provided a faster gametophytic and sporophytic initial development. The light intensity of 10% of total irradiance provided a significant increase of the height of the larger frond, the number of fronds, the fresh and dry weight of the aerial part, the rate of relative growth in height and the rate of relative growth in relation to the intensities of 3% and 30% of total irradiance. The chlorophyll levels were significantly larger in 3% of total irradiance. The plants grown in the intensities of 50%, 75% and 100% of total irradiance did not survive.

Key-words: *Dicksonia sellowiana*, gametophyte, sporophyte, light, sterilization, germination, soils.

SUMÁRIO

RESUMO.....	IV
ABSTRACT.....	V
SUMÁRIO.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	XI
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivos gerais.....	13
2.1. Objetivos específicos.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Métodos para germinação dos esporos e desenvolvimento dos gametófitos.....	14
3.2. Determinação da viabilidade de esporos.....	16
3.3. Estudo morfo-anatômico dos gametófitos e esporófitos.....	17
3.4. Estudo do efeito de diferentes níveis de luz no desenvolvimento de esporófitos jovens (plântulas).....	19
3.5. Análise Estatística.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1. Viabilidade de Esporos Armazenados Durante Três Anos.....	23
4.2. Desenvolvimento Gametofítico.....	27
4.3. Efeito de Diferentes Substratos no Desenvolvimento Inicial de <i>Dicksonia sellowiana</i>	36
4.4. Efeito de Diferentes Níveis de Luz no desenvolvimento de Plântulas de <i>Dicksonia sellowiana</i>.....	42
5. CONCLUSÕES.....	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1: Ciclo de vida de uma pteridófita homosporada.....	1
Fig. 2: Curva de germinação de esporos de <i>D. sellowiana</i> (Presl.)Hook armazenados por 1130 dias sob refrigeração a $7\pm 1^{\circ}\text{C}$, esterilizados em solução de hipoclorito de sódio a 20%.....	23
Fig. 3: Curva de germinação de esporos de <i>D. sellowiana</i> armazenados por 1160 dias sob refrigeração de $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ esterilizados com hipoclorito de sódio a 5%.....	24
Fig. 4: Vista geral de diversos esporos de <i>Dicksonia sellowiana</i>	32
Fig. 5: Detalhe evidenciando a superfície granulada de um esporo de <i>Dicksonia sellowiana</i>	32
Fig. 6: Esporo de <i>Dicksonia sellowiana</i> iniciando a germinação.....	33
Fig. 7: Esporo de <i>Dicksonia sellowiana</i> iniciando a germinação.....	33
Fig. 8: Esporo de <i>Dicksonia sellowiana</i> germinado.....	33
Fig. 9: Gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> em fase filamentosa, 15 dias após a semeadura.....	33
Fig. 10: Gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> em fase filamentosa, 15 dias após a semeadura.....	33
Fig. 11: Gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> , 15 dias após a semeadura, em fase filamentosa iniciando crescimento lateral.....	33
Fig. 12: Detalhe do ápice de um gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com 15 dias após semeadura.....	34
Fig. 13: Protalo laminar espatulado de um gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com 30 dias.....	34
Fig. 14: Fase cordata de um gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com 45 dias.....	34
Fig. 15: Aspecto geral de um gametófito cordiforme de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com 75 dias.....	34
Fig. 16: Detalhe da região meristemática de um gametófito cordiforme de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com 75 dias.....	34

Fig. 17: Arquegônios de um gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com 90 dias, próximos à região meristemática.....	34
Fig. 18: Aspecto geral da face abaxial do gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i> , seta indica região onde ocorrem os arquegônios.....	35
Fig. 19: Detalhe de arquegônios próximos à região da reentrância apical do gametófito de <i>Dicksonia sellowiana</i>	35
Fig. 20: Arquegônios de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com a presença de poro no centro das células apicais.....	35
Fig. 21: Arquegônios de <i>Dicksonia sellowiana</i> , com a presença de poro no centro das células apicais.....	35
Fig. 22: (A,B). Gametófitos filamentosos anômalos de <i>D. sellowiana</i> após 217 dias de cultivo em substrato de coxim.....	37
Fig. 23: Gametófitos e plântulas de <i>D. sellowiana</i> , com 200 dias de cultivo em sala de cultivo.....	38
Fig. 24: Comprimento da lâmina da maior fronde de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.....	45
Fig. 25: Número de frondes de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais	45
Fig. 26: Teor de massa fresca de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais	46
Fig. 27: Teor de massa seca de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais	46
Fig.28: Taxa de Crescimento Relativo de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.....	47
Fig. 29. Taxa de Crescimento Relativo em Altura de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.....	47

Fig. 30. Razão entre massa fresca e massa seca de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.....	48
Fig. 31. Teores de clorofila a de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.	48
Fig. 32. Teores de clorofila b de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.	49
Fig. 33. Teores de clorofila total de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.	49
Fig. 34. Razão entre clorofila a e clorofila b de esporófitos de <i>D. sellowiana</i> crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais.....	50

LISTA DE TABELAS

Tab. 1: Tempo de germinação, período de aparecimento de gametófito maduro, forma de gametófitos, período de surgimento de esporófitos de algumas espécies de pteridófitas.....	8
Tab.2: Composição química do Meio de DYER.....	15
Tab.3: Composição química do Glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M – pH 7,2.....	18
Tab. 4: Resultado dos laudos de análise de solo dos substratos utilizados para o desenvolvimento de gametófitos e esporófitos jovens de <i>Dicksonia sellowiana</i>	36

1. INTRODUÇÃO

As pteridófitas constituem um importante grupo de organismos na megadiversa flora brasileira, com cerca de 1.150 espécies de um total estimado de 9.000 a 11.500 espécies no mundo. Estima-se que 700 espécies estejam atualmente ameaçadas de extinção (WALTER & GILLET 1998 *apud* WINDISCH 2002).

A diversidade das samambaias é maior nos trópicos, onde aproximadamente 3/4 das espécies são encontradas. Cerca de 380 espécies são encontradas nos Estados Unidos e Canadá, enquanto cerca de 1000 espécies são encontradas no pequeno país tropical de Costa Rica, na América Central. Aproximadamente 1/3 das samambaias tropicais ocorrem sobre troncos ou ramos de árvores como epífitas (RAVEN *et al.* 2001)

TRYON (1970) afirma que a maioria das espécies de pteridófitas possui semelhante capacidade de dispersão pelo ar e distâncias de 500 milhas (800Km) não são impedimentos significativos. Esta capacidade de dispersão dos esporos a longa distância, a princípio, possibilitaria às pteridófitas arborescentes ocuparem uma ampla área geográfica, diminuindo a influência de fatores históricos ou barreiras geográficas na determinação da distribuição geral das espécies. Desta forma, o fator principal na distribuição seria a fidelidade ao habitat (TRYON 1972).

A maior diversidade de espécies de pteridófitas é encontrada nas regiões montanhosas dos trópicos, as quais têm alta diversidade de habitats, expressa por um mosaico de ambientes. Contrastando com as regiões montanhosas da América Tropical, com alta diversidade de espécies, a Bacia Amazônica, apesar de sua grande extensão, tem relativamente pequena flora pteridofítica. A Bacia Amazônica tem topografia baixa, relativamente uniforme e pouca diferenciação de ambientes, além disto, terras anualmente inundadas e altas temperaturas são fatores que podem limitar o número de espécies nestes ambientes (TRYON 1985; FERNANDES 1997).

Inúmeras espécies de pteridófitas são utilizadas há muito tempo para diversas finalidades. Para o povo Maori, as pteridófitas possuem um significado espiritual e cosmológico, pois simbolizam nova vida e reencarnação (BALICK & COX 1996). Conforme os autores, eles entalham em urnas funerárias de madeira, espirais de folhas jovens de uma espécie do gênero *Cyathea*.

Populações nativas em nosso território já utilizavam samambaias numa vasta gama de aplicações, variando desde a preparação do local de parto (numa cama de frondes) até a decoração de túmulos. Frondes de *Schizaea pacificans* Mart. eram trocadas após guerras tribais como um símbolo de paz em algumas áreas da Amazônia, enquanto que uma série de outras espécies apresenta propriedades medicinais ou místicas. SANTOS (1973) relatou o uso de tronco de xaxim, pelo povo Xokleng no sul do Brasil, para produzir uma bebida fermentada que era utilizada em ocasiões especiais. BARROS & ANDRADE (1977) *apud* WINDISCH (2002) registraram o uso de 60 espécies nativas para fins medicinais e PIO CORRÊA (1931), cita o emprego de folhas de xaxim, em cirurgias, como hemostático. Cáudices de *Dicksonia sellowiana* (Pestl.) Hook. ainda são utilizados por certos grupamentos no sul do País, na construção de moradias com excelente isolamento térmico. No sul do Brasil, muitas pessoas obtêm seu sustento com a extração de frondes de *Rumohra adiantiformis* (Forsk) Ching para comercialização para a composição de arranjos florais (WINDISCH 2002).

Algumas outras espécies também são utilizadas no mercado interno, tal como *Sphaeropteris gardneri* (Hook) Tryon, *Cyathea atrovirens* (Langsd & Fisch.) Domin. (FERNANDES 1997). Em algumas regiões no Sul do País, plantas de *Alsophila setosa* Kaulf, são retiradas da natureza para decoração de igrejas em casamentos. Material de espécies dos gêneros *Adiantum*, *Asplenium*, *Blechnum*, *Selaginella*, *Marsilea*, *Adiantopsis* e *Lycopodium* é extraído para comercialização em algumas localidades (WINDISCH 2002).

Segundo RAVEN *et al.* (2001), báculos de *Matteuccia struthiopteris* (L) Todaro, conhecida como samambaia avestruz, são comestíveis e comercializados em países como Estados Unidos e Canadá. BERGERON & LAPOINTE (2000) verificaram que no final da década de 90 do século passado, no Canadá, foram comercializados 124 toneladas/ano

de báculos congelados ou frescos de samambaia avestruz e afirmou que o mercado, neste país, está em franco desenvolvimento.

Em todo o Brasil, os troncos de *Dicksonia sellowiana* são comercializados em forma de vasos ou de solo vegetal, bastante utilizados no cultivo das mais diversas espécies de plantas ornamentais. Entretanto, esta utilização é efetuada através da extração indiscriminada de seus troncos (SANTOS *et al.* 2001). O mesmo autor diz que processo de produção do xaxim inicia-se pela extração da planta, no ecossistema florestal, a qual é transportada aos locais de manufatura de vasos, estacas, placas e pó.

De acordo com SANTOS (2002), atualmente no Paraná existem 15 unidades industriais produzindo mensalmente cerca de 1,1 milhão de vasos provenientes da extração de aproximadamente 140 mil plantas de xaxim. O canal de comercialização do xaxim é bem simples, a partir do extrator a matéria prima se dirige à indústria, em seguida passa pelo comércio atacadista e finaliza no comércio varejista representado principalmente por floricultoras, aviários e supermercados. SANTOS *et al.* (2001) dizem haver atualmente no Paraná, um total de 69 estabelecimentos ligados diretamente à atividade exploratória do xaxim, que manufaturam mensalmente 53.400 metros lineares do vegetal e empregando de 390 a 580 pessoas. A extração e a exploração econômica do xaxim pela indústria artesanal e pelo comércio atacadista e varejista, têm mantido uma curva de crescimento constante. A demanda pelos produtos obtidos a partir desta espécie tem crescido com o aumento populacional dos centros urbanos do Paraná e dos estados vizinhos. Sua popularidade no estado do Paraná está em alta, influenciada por medidas legais tomadas pelos estados vizinhos que proíbem ou pelo menos restringem sua extração e comercialização. O Paraná tem atendido boa parte da demanda de estados que não produzem xaxim e daqueles que já proibiram sua extração e comercialização, como é o caso de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (SANTOS 2002). Para o Estado de Santa Catarina não foram encontrados dados na literatura sobre extração do xaxim.

De 1990 a 1995, o Brasil foi o maior exportador mundial de *Dicksonia sellowiana*, com remessas prosseguindo até 1997, ano em que 104 companhias estavam registradas como extratoras ou comerciantes de produtos de “xaxim” (IBAMA 1997)

Muitas espécies, dentre elas a *Dicksonia sellowiana*, estão ameaçadas de extinção. Segundo WINDSCH (2002), no Brasil apenas estão sendo iniciados os estudos

sobre espécies de pteridófitas raras e ameaçadas de extinção. O mesmo autor citou WINDISCH & FERNANDES (1998), discutindo a ocorrência de *Culcita conifolia* (Hooker) Maxon na região Sudeste; BAPTISTA & LONGHI-WAGNER (1998), com quatro espécies ameaçadas e uma provavelmente extinta (*Pillularia americana* A.Br.) no Estado do Rio Grande do Sul; SALINO (2000), citando 31 espécies ameaçadas em Minas Gerais, além das três espécies já listadas para aquele Estado BARROS & WINDISCH (2001), sobre espécies raras no Estado de Pernambuco; e SYLVESTRE & WINDISCH (2001), sobre espécies ameaçadas ou provavelmente extintas em Aspleniaceae, sendo uma delas ainda nova para a Ciência, conhecida apenas por amostra coletada há mais de meio século.

De acordo com RAVEN *et al.* (2001), maioria das espécies de pteridófitas pertence à ordem Filicales que é homosporada e caracteriza-se por possuir alternância de gerações, uma gametofítica e outra esporofítica (Fig. 1).

As samambaias homosporadas têm esporos que são produzidos nos esporângios por meiose e depois são dispersos. Os gametófitos são verdes e com nutrição independente na maioria das espécies. Muitos possuem somente uma camada de células de espessura e são aproximadamente cordiformes com uma reentrância apical, outros são mais espessos e podem ser mais irregulares na forma. Da superfície inferior do gametófito, filamentos celulares especializados, conhecidos como rizóides, estendem-se para baixo em direção ao substrato. A superfície inferior do gametófito origina arquegônios em forma de garrafa, cuja base mais alargada acha-se submersa no tecido do gametófito. Os colos dos arquegônios são compostos por várias fileiras de células. Os anterídios são também originados na superfície inferior do gametófito e têm uma camada protetora estéril. Numerosos anterozóides espiralados e multiflagelados são produzidos dentro dos anterídios. Quando os anterozóides estão maduros e há suprimento adequado de água, os anterídios rompem-se liberando os anterozóides, que nadam até o colo do arquegônio. Na base do arquegônio, a oosfera é fecundada e o zigoto resultante começa a dividir-se imediatamente. O embrião jovem cresce e diferencia-se diretamente em um esporófito adulto, obtendo sua nutrição a partir do gametófito por um tempo, mas logo adquire um nível de fotossíntese suficiente para manter a si próprio. Após o esporófito enraizar-se no solo, o gametófito desintegra-se (RAVEN *et al.* 2001).

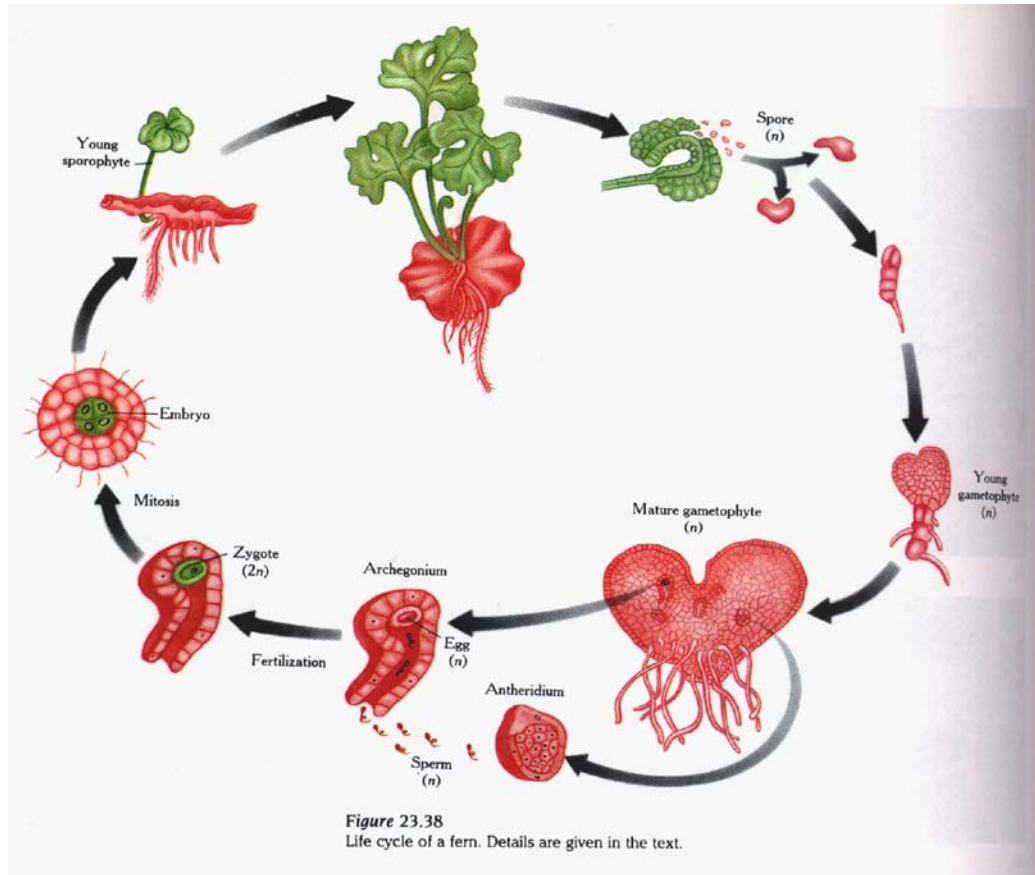


Fig. 1: Ciclo de vida de uma pteridófito homosporada. Fonte: MAUSETH, 1981

Conforme DYER (1979), os esporos de samambaias podem conter como principal componente de reserva lipídios ou compostos protéicos. Em esporos com alta quantidade de lipídios, a coloração é amarela e a quantidade de água é baixa apresentando índices inferiores a 5% da massa fresca total, enquanto esporos que têm compostos protéicos como reserva apresentam coloração verde e uma quantidade de água que pode chegar até 50% da massa fresca total dos esporos. São exemplos de espécies que apresentam esporos amarelos, *Cyathea delgadii* Sternb. e *Dicksonia sellowiana*, e de esporos verdes *Matteuccia striuthiopteris*. O mesmo autor relaciona a quantidade do composto de reserva à viabilidade dos esporos: esporos amarelos são viáveis por um período de tempo maior que os esporos verdes.

Os esporos podem germinar diretamente em contato com a água, no escuro completo, em resposta a determinado tratamento luminoso ou por ação de hormônios de crescimento; as substâncias orgânicas necessárias à germinação provêm do metabolismo das reservas do próprio esporo (RAGHAVAN 1989).

Os lipídios constituem cerca de 43% do peso total de esporos de *Cyathea delgadii* e uma queda brusca de lipídios ocorre entre os dias 0 e 7 após a embebição, terminando a fase de germinação ao redor do dia 7 (RANDI & FELIPPE 1988a). RANDI & FELIPPE (1988b) mostraram que não houve diminuição da porcentagem de germinação de *C. delgadii* em esporos armazenados por período de 67 a 190 dias. Esporos de *Dicksonia sellowiana* apresentaram cerca de 82% de germinação após 731 dias de armazenamento sob refrigeração a aproximadamente 10°C (FILIPPINI *et al.* 1999).

RANDI (1996) cita que a máxima germinação de esporos de *Acrosticum danaefolium* Langsd & Fisch ocorre após 9 dias de embebição à 25°C e que os esporos mantiveram sua viabilidade por aproximadamente 3 anos estocados em frascos de vidro a 3°C. Os lipídios constituem cerca de 50% do peso seco dos esporos.

Trabalhos sobre viabilidade de esporos estão sendo feitos com a finalidade de promover bancos de esporos de pteridófitas utilizando técnicas que permitam a armazenagem por amplo espaço de tempo através da criopreservação em nitrogênio líquido. Desde 1999, a UNISINOS – Universidade do Vale do Rio dos Sinos em São Leopoldo no estado do Rio Grande do Sul, possui um programa de coleta de esporos das

espécies ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul. Esporos coletados são utilizados para constituir um banco de germoplasma de pteridófitas através da criopreservação (WINDISCH 2002).

Esporos criopreservados de *Cyathea spinulosa* Wall. Ex Hook. sobreviveram ao armazenamento em nitrogênio líquido à temperatura de -196°C. A máxima germinação dos esporos foi de 93,5% após degelo lento à 30°C em meio modificado de Knudson, sem sacarose. O cultivo em meio de Murashige e Skoog adicionado de sacarose e métodos de degelo rápido resultaram em baixas porcentagens de germinação dos esporos (AGRAWAL *et al.* 1993).

Esporos esterilizados de *D. sellowiana* foram criopreservados em nitrogênio líquido durante 15 minutos, 15 dias, 30 dias e 90 dias. Em todos os tratamentos a porcentagem de germinação foi mais alta nos esporos criopreservados em comparação com o controle (esporos frescos). Não houve diferença de germinação em esporos descongelados rapidamente ou lentamente. A criopreservação parece ter promovido a germinação de alguns esporos dormentes e o pré-tratamento com crioprotetor DMSO (dimetil sulfoxido), inibiu a germinação de esporos criopreservados (ROGGE *et al.* 2000). Para a espécie *Rumohra adiantiformis* (Forst.) Ching, a criopreservação dos esporos mostrou-se ser um método viável de armazenamento de esporos quando estes não são esterilizados ou crioprotetidos, acelerando os processos germinativos quando comparados com o controle (BRUM 2001).

Vários autores registraram dados como o tempo de germinação dos esporos, do gametófito, do esporófito e também sobre a morfologia dos gametófitos, para diversas espécies de pteridófitas (Tab. 1).

AUTORES	ESPÉCIES	FAMÍLIA	TEMPO DE GERMINAÇÃO (dias)	APARECIMENTO DE GAMETÓFITO MADURO (dias)	FORMA DOS GAMETÓFITOS	APARECIMENTO DOS ESPORÓFITOS (meses)
PÉREZ- GARCIA <i>et al.</i> (1994)	Metaxya rostrata	Metaxyaceae	30- 32	112	Espatulados ou cordiformes	Não houve formação de esporófitos após 8 meses
PÉREZ- GARCIA <i>et al.</i> (1995)	<i>Lophosoria quadripinnata</i>	Lophosoriaceae	8- 10	270- 280	Espatulados a cordiformes	Após 36
JARAMILLO <i>et al.</i> (1996)	<i>Niphydium crassifolium</i>	Polypodiaceae	Após 10	70	Cordiformes	3
PÉREZ- GARCIA <i>et al.</i> (1997)	<i>Thyrsopteris elegans</i>	Thyrsopteridaceae	20- 25	100- 120	Cordiformes- espatulados alargados	6,7
RAMÍREZ <i>et al.</i> (1998)	<i>Micrograma nitida</i>	Polypodiaceae	6- 10	Após 80	Cordiformes- alargados com margens onduladas	8
PÉREZ- GARCIA <i>et al.</i> (1998)	<i>Phlebodium araneosum</i> , <i>P. pseudoaureum</i> e <i>P. decumanum</i>	Polypodiaceae	7- 15	60- 120	Cordiformes- espatulados ou cordiformes- reniformes	5- 13, 3
PÉREZ- GARCIA <i>et al.</i> (1999)	<i>Lygodium heterodoxum</i>	Schizaeaceae	6- 8	36-80	a) Anteridiados: cordiformes- espatulados b) Arquegoniados: cordiformes- reniformes	Após 2,8
MENDONZA <i>et al.</i> (1999)	<i>Didymochlaena truncatula</i>	Dryopteridaceae	5- 8	45- 50	Cordiformes- espatulados a reniformes	3,4

Tabela 1. Tempo de germinação, período de aparecimento de gametófito maduro, forma de gametófitos, período de surgimento de esporófitos de algumas espécies de pteridófitas. UFSC,2002.

Em relação aos requerimentos necessários ao estabelecimento de gametófitos e esporófitos, as pteridófitas podem apresentar exigências edafoclimáticas diferentes para cada fase do ciclo de vida.

Segundo SIMABUKURO (2002) a fase gametofítica apresenta alta plasticidade morfológica frente a variações da intensidade e quantidade de luz, nutrição mineral, níveis hormonais, entre outros. No campo, gametófitos de várias espécies de *Cheilanthis*, da Austrália, possuem a capacidade de suportar severas deficiências hídricas (QUIRK & CHAMBERS 1981). Algumas espécies do Japão apresentam gametófitos mais tolerantes ao congelamento e ao dessecamento do que seus esporófitos (SATO & SAKAI 1979). Gametófitos de *Vittaria lineata* (L.) Smith e *V. graminifolia* Kaulf. sobrevivem em áreas onde os respectivos esporófitos não se desenvolvem (SATO & SAKAI 1981). Esporófitos de *Trichomanes speciosum* Willd. têm seu desenvolvimento restrito à extremidade atlântica da Europa, enquanto seus gametófitos ocorrem centenas de quilômetros além da linha de ocorrência do seu esporófito (MAKGOMOL & SHEFFIELD 2001). Segundo JOHNSON *et al.* (2000), esta desigualdade na distribuição de *T. speciosum* reflete a diferença na tolerância ecológica mostrada pelas respectivas gerações, sendo que o gametófito é capaz de resistir à seca, baixas temperaturas e condições de pouca luz, sugerindo que a habilidade de se desenvolverem em ambientes adversos deve-se a sua baixa taxa metabólica.

RANAL (1995), estudando a natureza dos substratos no estabelecimento de pteridófitas em Mata Mesófila Semidecídua do Estado de São Paulo, relatou que a distribuição das espécies de pteridófitas terrícolas deve estar relacionada com o teor de nutrientes do solo e pH. Espécimes de *Adiantopsis radiata* (L.) Fée, *Pteris denticulata* Sw. e *Polypodium latipes* Langsd. e Fisch. foram encontradas em substrato com pH entre 4,0 e 4,5 e baixos teores de cálcio. A autora sugere que além da composição mineral do solo como um dos determinantes mais importantes para a ocorrência de pteridófitas, a quantidade de luz disponível na mata também o é. LEE *et al.* (1997) também observa que a luz é um dos fatores físicos mais importantes no controle do desenvolvimento de espécies arbóreas em florestas tropicais. A luz, em tais florestas, é frequentemente um fator limitante (DENSLOW *et al.*, 1990) devido à atenuação da radiação solar total através dos vários extratos da cobertura vegetal. Entretanto, em

clareiras provocadas pela queda de árvores, a radiação ao nível do chão da floresta pode ser similar à radiação solar total (LEE *et al.* 1997), fato que pode provocar uma diminuição da eficiência fotossintética em plântulas devido ao mecanismo da fotoinibição (KITAO *et al.* 2000).

Quando as plantas experimentam uma mudança nas condições de luz, a maioria delas, é capaz de, em maior ou menor grau, aclimatar-se à mudança ocorrida (KITAJIMA 1996), de maneira a maximizar o ganho total de carbono (OSUNKOYA *et al.* 1994). Comumente as plantas costumam aumentar a biomassa, a taxa de crescimento e o número de folhas com o aumento da intensidade de luz (POPMA & BONGERS 1991).

A luz é necessária para a indução de germinação da maioria das espécies de pteridófitas como já demonstrou MOHR em 1956. MILLER (1968) constatou que dentre 88 espécies estudadas, apenas 7 possuíam esporos que germinavam em número considerável na escuridão completa, quando recebiam umidade, oxigênio e temperaturas favoráveis.

Os esporos de *Dicksonia sellowiana* se mostram fotoblásticos positivos para germinar e o desenvolvimento inicial dos indivíduos é mais efetivo com menores níveis de luminosidade em experimentos *in vitro* (ROGGE 1999). A autora observou um aumento inicial na germinação e nos teores de clorofila dos gametófitos submetidos às menores quantidades de luz (5% e 20%), enquanto os tratamentos com maiores quantidades de luz (36% e 50%) apresentaram um retardamento inicial na germinação e uma redução no crescimento e desenvolvimento dos gametófitos.

Em um fragmento de floresta mesófila de montanha, no México, as três espécies de pteridófitas arbóreas mais comuns (*Alsophila firma* (Baker) D.S.Conant, *Lophosoria quadripinata* (Gmelin.) C. Chr. e *Sphaeropteris horrida* (Liebm.) R. Tryon) foram selecionadas por BERNABE *et al.*(1999), para estudos *in vivo* e *in vitro*. O objetivo desse trabalho foi determinar as porcentagens de germinação de esporos e porcentagem de gametófitos que produzem esporófitos e de comparar o estabelecimento dos esporófitos no interior e na borda da floresta. A porcentagem de germinação de esporos variou entre 16 e 86% e o número de gametófitos que produziu esporófitos foi superior a 50%. A sobrevivência foi maior na borda do que no interior do bosque para *Lophosoria*, mas foi similar para os indivíduos de *Alsophila* e *Sphaeropteris*. A taxa de

crescimento relativo foi maior na borda do que no interior do bosque para os esporófitos das três espécies estudadas. Os resultados sugeriram que a borda é um habitat apropriado para o estabelecimento de *Alsophila* e *Lophosoria*, mas *Sphaeropteris* é, aparentemente, uma espécie de interior de bosque.

A espécie de xaxim, *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hooker, estudada no presente trabalho pertence à divisão Pteridophyta e família Dicksoniaceae (TRYON & TRYON 1982). Dicksoniaceae é uma família formada por cinco gêneros e cerca de trinta e sete espécies neo e paleotropicalis. O gênero *Dicksonia* é formado por cerca de vinte espécies e distribui-se pelos neo e paleotrópicos e ao sul até os subtrópicos, na Malásia, Austrália, México, América Central, América do Sul, Ilhas Juan Fernandez e Ilha Santa Helena, no Oceano Atlântico (HOLTTUM 1963; TRYON & TRYON 1982).

D. sellowiana tem ampla distribuição, ocorrendo desde o sul do México, na América Central e na América do Sul, desde a Venezuela até Colômbia, sul da Bolívia, Paraguai, Uruguai e Brasil. No Brasil ocorre nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Cresce em altitudes que variam de 60m, no Estado do Rio Grande do Sul, até 2200m na Serra do Itatiaia, Estado do Rio de Janeiro (TRYON & TRYON 1982). Ocorre preferencialmente no interior sombrio e úmido das matas, mas é encontrada também em lugares abertos e ensolarados como na matinha nebulosa no alto dos aparados riograndenses e catarinenses ou na borda de matas em beiras de estrada FERNANDES (1997). No Estado de Santa Catarina, KLEIN (1978) relata a espécie associada à Araucária na submata baixa e pouco densa da Floresta dos Faxinais, onde predominam Mirtáceas e Aquifoliáceas entremeadas por taquarais e carazais, estando presente na Serra do Tabuleiro e no extremo Noroeste Catarinense. Nesta formação florestal, *Dicksonia sellowiana* e a Cianteácea, *Nephelea setosa*, fazem parte do estrato arbustivo, por vezes se tornando muito abundantes, sobretudo no início das encostas, e não raro, caracterizando visivelmente o estrato arbustivo dos faxinais, sobretudo ao longo das ramificações da Serra Geral e em altitudes compreendidas entre 500 e 900m (KLEIN 1980).

Em material examinado e coletado por FERNANDES (1997) nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, a espécie apresentou variação morfológica pequena e contínua. A autora observou que indivíduos de maior porte cujos caules possuem maior diâmetro e maior desenvolvimento da bainha de raízes adventícias, predominam ao sul da área

estudada, nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, possivelmente existindo a influência de algum fator climático nesse caso.

Considerando-se que já existem em nossa flora diversas espécies de samambaias ameaçadas de extinção, torna-se premente conhecer um pouco mais da fisiologia dessas plantas e gerar subsídios e métodos que possam ser utilizados em sua conservação e manejo.

Neste trabalho procurou-se conhecer um pouco a respeito do crescimento gametofítico. Procurou-se também explorar um pouco sobre a qualidade de solos propícios para o cultivo dessa espécie e a quantidade de radiação preferida para otimizar o seu crescimento inicial.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Este trabalho teve por objetivos estudar o desenvolvimento morfo-anatômico dos gametófitos e verificar o efeito de diferentes níveis de luz no crescimento de esporófitos jovens (plântulas) de *Dicksonia sellowiana* (Presl.)Hook.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar morfo-anatomicamente o desenvolvimento gametofítico de *D. sellowiana* através da observação microscópica de material fixado quinzenalmente.
- Determinar o período de transição da fase gametofítica para a fase esporofítica.
- Determinar, com base no tempo de surgimento do esporófito, o substrato que proporciona um mais rápido desenvolvimento gametofítico e esporofítico jovem de *D. sellowiana*.
- Determinar a viabilidade de esporos de *D. sellowiana* coletados em 30/08/99, através da porcentagem de germinação.
- Analisar o efeito de diferentes níveis de luz no crescimento de esporófitos jovens de *D. sellowiana* através dos parâmetros: altura da primeira fronde, massa fresca e seca da parte aérea, níveis de clorofila e números de frondes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Metodologia para germinação dos esporos e desenvolvimento dos gametófitos de *Dicksonia sellowiana*

Os esporos de *Dicksonia sellowiana* foram coletados em 30/08/99, de 25 indivíduos, num fragmento florestal de cerca de quatro hectares próximo ao Parque Nacional de São Joaquim, no município de Urupema, entre as coordenadas 27°57'25 "S e 49°53'33" W, e armazenados em frascos de vidro sob refrigeração a $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ (RANDI 1987).

Os esporos (960mg) de três indivíduos foram misturados e pesados em balança analítica, marca Gehaka, modelo BG 200, e esterilizados em solução de hipoclorito de sódio a 20% durante 30 minutos com 1 μl de detergente comercial. Posteriormente, foram lavados em água destilada autoclavada e filtrados a vácuo sobre papel de filtro (RANDI & CROZIER 1991). Esse procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar, marca Veco, onde o material permaneceu até secar completamente. Os esporos esterilizados foram semeados em 32 erlenmeyers contendo 20ml de solução nutritiva de MOHR modificada por DYER (1970) (Tab. 2) acrescida de 0,01% de Benomyl (anti-fúngico) marca Benlate[®]. A solução nutritiva foi previamente esterilizada em autoclave, marca Phoenix modelo AV50, por 20 minutos a 120°C. Cada erlenmeyer recebeu aproximadamente 30mg de esporos. Os erlenmeyers foram tampados com filme de polipropileno marca Assafácil[®], fixos por elástico e transferidos para câmara de germinação, marca Policontrol modelo TC500, à temperatura de 25°C e luz branca contínua cuja densidade de fluxo de fótons foi de aproximadamente 30 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. O experimento teve início no dia 07/02/02 e o material foi mantido nessas condições durante 30 dias. Esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFSC.

Tab. 2 – Composição química do Meio de DYER

	Ingredientes
	Quantidade
Sulfato de Magnésio.....	510mg/l
Nitrato de Potássio.....	120mg/l
Nitrato de Cálcio.....	1440mg/l
Fosfato de Potássio bibásico.....	250mg/l
Solução de FeSO ₄ .7H ₂ O e NaEDTA.....	1ml
Água destilada até completar 1 litro.	
<u>Preparação:</u> misturam-se todos os ingredientes.	
Solução de FeSO₄.7H₂O e NaEDTA:	
<ul style="list-style-type: none">- 33,2g de NaEDTA- 3,65g de hidróxido de sódio- 25g de sulfato de ferro- Água destilada até completar 1 litro	
Preparação: Misturam-se todos os	
ingredientes	

Após o primeiro mês em meio de cultivo, no dia 07/03/02, os gametófitos foram transferidos para 4 tipos diferentes de substratos: terra preparada de floricultura rica em nutrientes e pH alto; pó de casca de coco, “coxim”, utilizado atualmente como possível substituto do pó de xaxim em jardinagem; terra roxa estruturada, coletada no bairro de

Itacorubi em Florianópolis-SC, onde existe grande proliferação de pteridófitas e terra roxa estruturada misturada com composto orgânico produzido pelo CCA-UFSC na proporção 3:1 (volume:volume.). Foram realizadas quatro repetições de cada tratamento, utilizando-se como recipientes bandejas de polietileno transparente com tampa, do tipo utilizado em docerias. Com exceção do composto orgânico e do coxim, os demais substratos foram esterilizados em recipiente refratário durante dez minutos em forno de microondas em potência alta, com espessura de solo de 1cm, revolvendo-os na metade do tempo.

As bandejas permaneceram em sala de crescimento em regime de 16h de luz e intensidade luminosa de aproximadamente $30 \mu\text{mol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$ à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Foram feitas análises físico-químicas dos solos para caracterizá-los e foram calculadas as porcentagens de saturação de alumínio, conforme MALAVOLTA (1980), para cada substrato.

A partir do surgimento dos primeiros esporófitos em 02/05/02, no substrato de terra roxa acrescida de composto orgânico, procedeu-se a repicagem aleatória de 300 gametófitos para seis bandejas transparentes de polietileno. Foram transplantados 50 gametófitos por bandeja. Utilizou-se o mesmo tipo de substrato: terra roxa estruturada misturada com composto orgânico. A repicagem foi feita para a verificação do período de surgimento dos esporófitos, porcentagem de gametófitos que se transformaram em esporófitos e obtenção de plântulas (esporófitos jovens) que foram utilizadas para análise do efeito de diferentes níveis de luz em esporófitos jovens de *D. sellowiana*. O material foi mantido nas mesmas condições ambientais utilizadas anteriormente à repicagem.

Em 12/08/02 esporófitos foram transferidos, individualmente, para mini-vasos de violeta contendo o substrato terra roxa estruturada misturada com composto orgânico. Esses vasos foram acondicionados em bandejas cobertas por filme de

polietileno para evitar dessecação. As bandejas foram mantidas em sala de crescimento nas mesmas condições ambientais anteriormente mencionadas.

3.2. Metodologia para determinação da viabilidade de esporos de *Dicksonia sellowiana*

Esporos de *Dicksonia sellowiana* armazenados em frascos de vidro sob refrigeração a $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 1130 e 1160 dias foram inicialmente esterilizados em soluções de hipoclorito de sódio a 20% durante 30 minutos. Como a porcentagem de germinação mostrou-se muito baixa, posteriormente os esporos foram esterilizados em solução de hipoclorito de sódio comercial a 5 % durante 30 minutos. A metodologia de germinação dos esporos foi a mesma explicada no item 3.1. Foram utilizados dois erlenmeyers com meio nutritivo para a semeadura dos esporos, sendo avaliadas duas lâminas por frasco e contados 100 esporos por lâmina a cada avaliação. Para cada lâmina foram verificadas, a cada avaliação em microscópio binocular e aumento de 400 vezes: porcentagem de esporos inviáveis, porcentagem de esporos viáveis e porcentagem de esporos germinados. Foram considerados esporos germinados os que apresentaram protrusão do rizóide; viáveis os que apresentaram coloração amarela e inviáveis os que se mostraram translúcidos. Os cálculos de porcentagem de germinação foram feitos tendo como base somente os esporos viáveis, desconsiderando os inviáveis. As avaliações foram feitas de dois em dois dias até o 20º dia.

3.3. Metodologia para estudo morfo-anatômico dos gametófitos e esporófitos de *Dicksonia sellowiana*

Amostras de gametófitos foram coletadas e fixadas, quinzenalmente, após a semeadura dos esporos, até o início da fase de fecundação do gametófito, para a caracterização do desenvolvimento morfo-anatômico. A fixação foi realizada para promover a melhor preservação das estruturas que foram posteriormente estudadas e documentadas em microscopia óptica e eletrônica de varredura. A fixação das amostras de gametófitos foi feita em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em

pH 7,2 (Tab. 3) e foram conservadas em etanol 70° GL, em tubos de polietileno tipo “ependorf”.

Alíquotas de amostras fixadas e mantidas em álcool 70°GL foram retiradas com auxílio de pipetas Pasteur, transferidas para lâminas, cobertas por lamínulas e fotomicrografadas em microscópio óptico com câmera acoplada, marca LEIKA modelo MPS30, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC.

Parte das amostras fixadas, desidratadas e mantidas em etanol 70° GL, seguiram o processo de total desidratação em série etílica (etanol 80° GL, 90° GL, 96° GL e três vezes em 100° GL). Posteriormente foi utilizado HMDS (hexametildesilane) para secagem sem provocar colapso de estruturas, como meio substitutivo de ponto crítico de CO₂ (BOZZOLA & RUSSEL 1991). As amostras secas foram colocadas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20nm de ouro, em metalizador Baltec, modelo CED 030. A documentação foi realizada em Microscópio Eletrônico de Varredura, marca Phillips modelo XL30, pertencente ao Laboratório de Materiais do Centro Tecnológico da UFSC.

Tab. 3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE GLUTARALDEÍDO 2,5%

Glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M – pH 7,2 (BOZZOLA & RUSSEL 1991)

Ingredientes:

glutaraldeído 25% – 5 ml

tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2..... – 45 ml

Solução A – 2,76 g de Fosfato de sódio monobásico monoidratado

-completar com água destilada até 100 ml

Solução B – 5,37 g de Fosfato de sódio dibásico heptaidratado

-completar com água destilada até 100 ml

Preparação: Para preparar tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 devem ser misturadas as soluções A e B: A – 28 ml e B – 72 ml (volume final – 100 ml). Depois adicionar os 5 ml de glutaraldeído em 45 ml da solução final de tampão fosfato. Manter em geladeira.

Procedimento de uso: O material deve permanecer na solução de fixação por 2 a 3 horas. Posteriormente lavar por 3 vezes em tampão fosfato e desidratar em etanol: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70° GL – ½ hora em cada. Pode ser conservado em etanol 70° GL.

3.4. Metodologia para a verificação do efeito de diferentes níveis de luz no desenvolvimento de esporófitos jovens (plântulas) de *Dicksonia sellowiana*.

a. Condições de crescimento e número de coletas:

Os esporófitos transplantados para mini-vasos, como especificado no item 3.1, com aproximadamente 1,5 a 2,0cm de altura da primeira fronde foram utilizados para este estudo. As plântulas passaram por um período de aclimação das condições artificiais de laboratório para condições naturais por um período de três semanas. No período de aclimação, foi retirado o filme de polietileno que cobria as bandejas contendo os vasos e estas foram transferidas para bancadas do Laboratório de Fisiologia Vegetal, a fim de que não recebessem luz natural direta. Gradualmente, as bandejas foram colocadas sob a copa de árvores durante duas horas por dia sem receber luz solar incidente.

Foram utilizados seis lotes de 18 vasos acondicionados em 6 bandejas plásticas de polietileno. Além de regar as plântulas diariamente adicionava-se uma lâmina de água na bandeja para evitar o dessecamento do solo. Cinco lotes foram colocados sob caixas de 50cm³ confeccionadas com cobertura de tela sombrite com diferentes reduções da passagem de luz, cobertas na sua parte superior com filme de polietileno transparente. As caixas permitiam a passagem de 75%, 50%, 30%, 10% e 3% da luz solar incidente. Um lote foi colocado a céu aberto com incidência de luz solar plena. As medidas de redução da passagem de luz foram determinadas através de quantômetro LICOR 250. Tomando-se a densidade de fluxo de fótons a pleno sol e sob as telas de sombrite, calculou-se a porcentagem de luz dentro de cada caixa. A densidade de fluxo de fótons a pleno sol e em cada nível de luz foi medida ao meio dia, num dia claro, com valor máximo de 1200 $\mu\text{mol de fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. As caixas foram mantidas a céu aberto

evitando qualquer outro tipo de sombreamento, em local pertencente ao Departamento de Botânica da UFSC.

No dia da implantação do experimento (tempo um - T₁) foram tomadas as medidas (comprimento da lâmina foliar da maior fronde, massa fresca e seca da parte aérea e número de frondes) de nove plântulas. Após 42 dias (tempo dois- T₂), foram coletadas aleatoriamente nove plântulas por tratamento e analisados: comprimento da lâmina foliar da maior fronde, massa fresca e seca da parte aérea e número de frondes. Os níveis de clorofila foram mensurados somente no tempo dois utilizando-se as nove plântulas restantes por tratamento de níveis de luz.

b. Extração e determinação do teor de clorofila:

A extração e determinação do teor de clorofila foi feita segundo ARNON (1949). Foram utilizadas três amostras de 50 mg de lâmina foliar por tratamento após 42 dias de cultivo sob os diferentes níveis de luz. As amostras foram maceradas em acetona 80% com auxílio de um cadinho e pistilo. O extrato obtido foi centrifugado e alíquotas do sobrenadante foram utilizadas para a dosagem do teor de clorofila, verificando-se a absorvância de alíquotas das soluções cetônicas a 663nm e 645nm em espectrofotômetro GBC UV/VIS916 do Departamento de Ecologia e Zoologia da UFSC. Tendo-se as medidas de absorvância o cálculo seguiu as equações:

Para clorofila a:

$$Cl_a = \{ [12,7x (A_{663})] - [2,69x (A_{645})] \} \times Vol(ml)/1000 \times peso\ tecido(mg)$$

Para clorofila b:

$$Cl_b = \{ [22,9x (A_{645})] - [4,68x (A_{663})] \} \times Vol(ml)/1000 \times peso\ tecido(mg)$$

Para clorofila total:

$$Cl\ total = Cl_a + Cl_b$$

Onde: A = absorvância, Cl_a = clorofila a e Cl_b = clorofila b.

c. Número de frondes:

Fez-se a contagem visual do número de frondes por plântula.

d. Altura da fronde maior:

Determinou-se o comprimento da lâmina da fronde maior com o auxílio de régua milimetrada, medindo-se do nó da primeira pina até o final da última pina.

e. Massa fresca:

Para a obtenção da massa fresca, a parte aérea das plântulas foi coletada e pesada separadamente em balança analítica, marca Gehaka, modelo BG200.

f. Massa seca:

Para a obtenção da massa seca, as mesmas amostras utilizadas para a medição da massa fresca foram colocadas em forno de microondas por três minutos, em potência alta. Após, a parte aérea foi pesada, separadamente, em balança analítica, marca Gehaka, modelo BG200.

g. Análise de crescimento:

Através das medidas de altura e peso seco foram calculadas:

- Taxa de Crescimento Relativo em Altura (TCRL): $L_2 - L_1 / T_2 - T_1$, onde: L é o logarítimo da altura da fronde no tempo dois (T_2) e L_1 é o logarítimo da altura da fronde no tempo um (T_1) (BERNABE *et al.* 1999).

- Taxa de Crescimento Relativo (TCR): $(\ln M_2 - \ln M_1) / (T_2 - T_1)$

Onde: M representa a massa seca, T representa o tempo (1 = inicial e 2 = final).

3.5. Análise Estatística

As médias entre tratamentos foram comparadas por análise de variância seguida de teste de TUKEY para três ou mais tratamentos, através do programa computacional SAEG, 1998.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Viabilidade De Esporos de *Dicksonia sellowiana* Armazenados por três anos:

A viabilidade de esporos de *Dicksonia sellowiana* armazenados em frascos de vidro sob refrigeração a $7\pm 1^\circ\text{C}$, por três anos foi analisada neste trabalho. Esporos foram esterilizados em soluções de hipoclorito de sódio a 5% e 20% durante 30 minutos. Os resultados mostram que a germinação atingiu apenas 27%, após 18 dias de cultivo, quando esterilizados em solução de hipoclorito de sódio a 20%. Não houve contaminação do material (Fig.2)

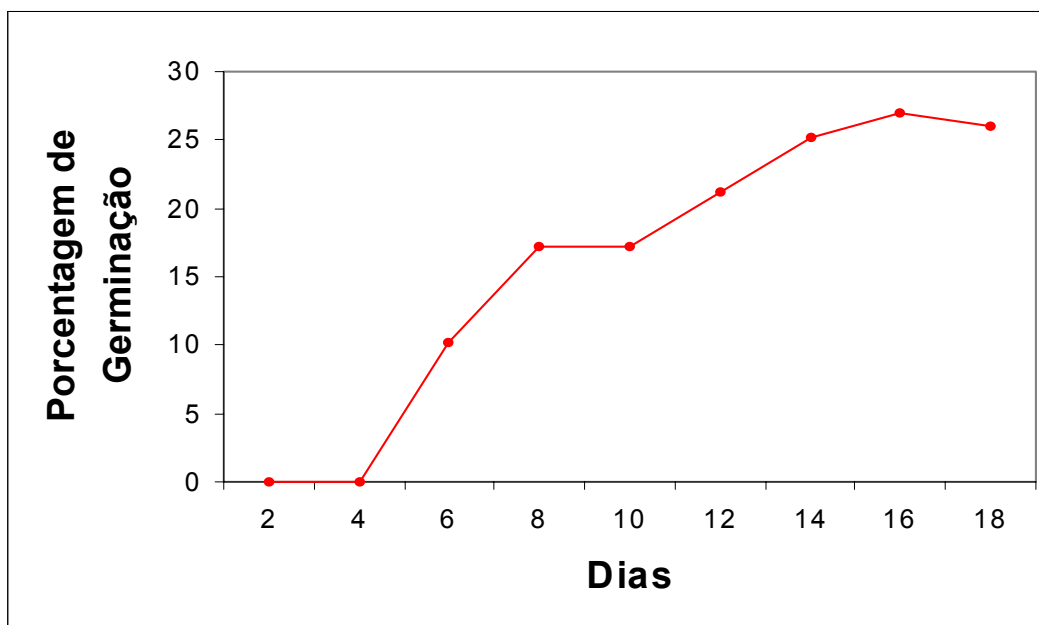


Fig. 2. Curva de germinação de esporos de *D. sellowiana* armazenados por 1130 dias sob refrigeração a $7\pm 1^\circ\text{C}$, esterilizados em solução de hipoclorito de sódio a 20%. UFSC, 2002.

Já, quando os esporos foram esterilizados em solução de hipoclorito de sódio a 5% a germinação atingiu 78,5% após 16 dias de cultivo, e também não houve contaminação (Fig. 3).

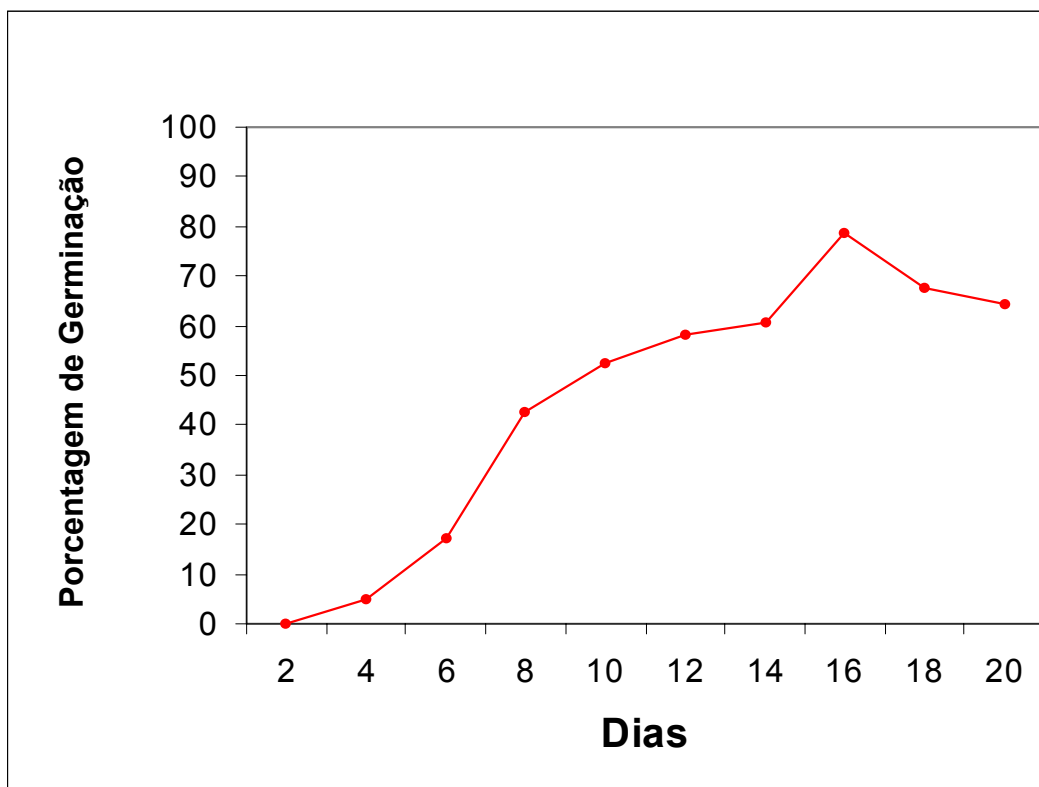


Fig. 3. Porcentagem de germinação de esporos de *D. sellowiana* armazenados por 1160 dias sob refrigeração de $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ esterilizados com hipoclorito de sódio a 5%. UFSC, 2002.

A germinação do mesmo lote de esporos utilizados neste trabalho, porém recém-coletados atingiu 89%, após 16 dias de cultivo e esterilização em solução de hipoclorito de sódio a 20 % durante 30 minutos (GOMES 2001), sendo as condições ambientais de germinação iguais às utilizadas no presente trabalho. Portanto, parece ter havido uma ligeira redução de viabilidade em esporos de *D. sellowiana* armazenados durante 1160 dias. FILIPPINI *et al.* (1999) analisaram a germinação de esporos de *D. sellowiana* armazenados durante 731 dias e 15 dias e obtiveram 81,75% e 88,25% respectivamente, valores que não diferiram estatisticamente entre si. Portanto, esporos de *D. sellowiana* mostraram-se ainda viáveis após três anos de armazenamento. Esporos de *Cyathea delgadii* Sternb. mantidos sob refrigeração a $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ não mostraram decréscimo da germinação entre 67 e 190 dias de armazenamento (RANDI & FELIPPE 1988b). Porém, esporos de *Acrostichum danaeifolium* Langsd & Fisch, armazenados durante aproximadamente dois anos sob refrigeração a $3\pm 1^{\circ}\text{C}$, apresentaram cerca de 50% de decréscimo na porcentagem de germinação em comparação a esporos frescos (RANDI 1996). As espécies acima citadas possuem esporos com coloração amarela, pois

apresentam lipídios como principal fonte de reserva. Segundo DYER (1979), os esporos amarelos apresentam um baixo teor de água (menos que 5%) e, portanto são viáveis por um longo tempo. O grande período de viabilidade dos esporos sugere a formação de banco de esporos.

Observou-se que a concentração da esterilização química influenciou a porcentagem de germinação dos esporos de *D. sellowiana*. Segundo FOSSARD (1976), a meta da esterilização de superfície é remover os microorganismos com um mínimo de dano para as plantas a serem cultivadas. Entretanto, o autor diz que a realização desta meta é empírica e o trabalhador tem que ser flexível em relação a esse problema. SWEET & BOLTON (1979) testaram vários métodos de esterilização e afirmaram que concentrações mais altas de substâncias químicas ou períodos mais longos de desinfecção reduzem a porcentagem de germinação e prolongam o tempo médio de germinação. CAMLOH (1993) informou que a melhor germinação de esporos de *Platyserium bifurcatum* (Cav.) C. Chr ocorreu em esporos não esterilizados. Porém, após 10 dias de cultura houve contaminação.

BORELLI *et al.* (1990), com o objetivo de desenvolver um método adequado de propagação de espécies de pteridófitas, comparou a eficiência de vários tipos de esterilização e obteve 50% de contaminação de esporos de *D. sellowiana* em 2% de hipoclorito de cálcio.

ROGGE (1999) testou diferentes períodos de imersão de esporos frescos de *D. sellowiana* em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, com a finalidade de obter culturas de gametófitos livres de microorganismos contaminantes em meio contendo sacarose. As concentrações testadas variaram de 20 a 60% de hipoclorito de sódio comercial e a duração variou de 20 a 60 minutos. Segundo a autora o melhor método de esterilização foi a imersão dos esporos em hipoclorito de sódio a 35% (v/v) durante 60 minutos, uma vez que períodos menores e concentrações menores não foram eficientes em evitar a contaminação das culturas em meios enriquecidos com sacarose.

Portanto, observou-se neste trabalho que a esterilização em solução de hipoclorito de sódio a 20 % mostrou-se muito agressiva para esporos armazenados durante aproximadamente 3 anos, fato não observado para esporos recém coletados que suportaram métodos mais rigorosos de desinfecção. Possivelmente, esse método de esterilização tenha provocado a morte de esporos de *D. sellowiana*. Esporos mais velhos,

embora ainda exibindo alta viabilidade, mostraram maior sensibilidade ao hipoclorito de sódio do que esporos recém coletados.

4.2. Desenvolvimento Gametofítico de *Dicksonia sellowiana*

Os esporos de *Dicksonia sellowiana* (Figs. 4 e 5) são tetraédricos, triletes, achatados nas laterais e com superfície densamente granulada. Essas características são referidas por SEHNEM (1978) e TRYON & TRYON (1982). A coloração dos esporos é amarela. Conforme DYER (1979), a coloração amarela em esporos indica que estes possuem lipídios, como principal material de reserva, e são aclorofilados, mas possuem proplastídeos que darão origem a cloroplastos no início do metabolismo de germinação.

A germinação inicia-se após o segundo dia de embebição dos esporos no meio de cultura. Os esporos vão alterando a coloração amarela até esverdeada, quando ocorre a primeira divisão celular dando origem a uma célula protalial clorofilada e a primeira célula rizoidal unicelular, hialina e sem cloroplastos a partir da cicatriz trirradiada (Figs. 6, 7, 8).

Entre as pteridófitas o padrão de germinação pode apresentar-se de diferentes tipos. Segundo PÉREZ-GARCIA *et al.* (1995), o padrão de germinação de *Lophosoria quadripinata* (J. F. Gmel.) C. Chr. é do tipo *Cyathea*, concordando com STOCKEY (1930). O mesmo padrão é citado para *Dicksonia antarctica*, por HUCKABY & RAGHAVAN (1981). Porém, para *D. sellowiana*, bem como para *Cyathea australis* (R. Br.) Domin., esses autores descrevem o padrão de germinação como sendo do tipo *Vittaria*, no qual a primeira célula do esporo dá lugar a duas células desiguais: uma pequena célula hialina que imediatamente se alarga e se diferencia na primeira célula rizoidal e outra maior, a primeira célula protálica contendo cloroplastos.

Após 15 dias da sementeira, os gametófitos de *D. sellowiana* encontram-se filamentosos (Figs. 9, 10). A fase filamentosa caracteriza-se por possuir uma célula rizoidal e 3-7 células protonemais. A célula rizoidal é alongada, aclorofilada e de coloração parda. As células protonemais, originadas por divisões da célula protálica inicial, formam um filamento unisseriado, de coloração verde devido a presença de muitos cloroplastos. Não há formação de tricomas nas células protonemais. O envoltório ou casca do esporo permanece unido ao gametófito.

Na literatura não foi encontrada nenhuma referência ao desenvolvimento gametofítico em *D. sellowiana*. A espécie *Thyrsopteris elegans* inicia a fase filamentosa entre 25 e 30 dias após a sementeira, apresentando alguns rizóides com cloroplastos escassos e 3 a 6 células protálicas em forma de filamento (PÉREZ-GARCIA *et al.* 1996-1997). O desenvolvimento filamentoso de *Arachniodes denticulata* (Sw.) Ching dá origem a um único rizóide e a um filamento protálico de 2-4 células, cuja célula terminal apresenta um tricoma em seu ápice (MENDOZA *et al.* 1999b). Em *Llavea cordifolia* (Pteridaceae) Lag. o filamento gametofítico unisseriado é curto, composto-se de 1- 4 células protálicas e duas células rizoidais, aproximadamente 12 dias após a sementeira. As células protálicas mostram abundantes cloroplastos e o envoltório do esporo permanece unido à célula basal (JARAMILLO *et al.* 2000).

Na figura 11 observa-se o resultado das primeiras divisões celulares laterais do filamento vegetativo para formar a lâmina do protalo, aos 15 dias. Nota-se que o gametófito possui ainda, somente um rizóide. Embora o estudo do padrão de divisão celular na formação do protalo laminar não tenha sido realizado no presente trabalho, dados da literatura mostram um padrão comum à maioria das espécies. Por exemplo, em *L. cordifolia*, conforme JARAMILLO *et al.* (2000), as células do protalo filamentoso dividem-se lateralmente iniciando a formação da lâmina protálica. Quando a região apical do gametófito apresenta aproximadamente quatro células, a célula apical diferencia-se em célula obcônica ou meristemática, entre 30 a 35 dias após a sementeira. Essa célula meristemática dá origem a uma zona meristemática apical pluricelular de posição central que origina gametófitos espatulados. No ápice do gametófito de *D. sellowiana* (Fig. 12), aos 15 dias de desenvolvimento, observa-se o resultado de divisões laterais formando a lâmina do protalo espatulado, sugerindo que a célula apical pode ser a célula meristemática que dará origem ao meristema apical central.

Aos 30 dias após a sementeira os gametófitos de *D. sellowiana* apresentam-se como um protalo laminar espatulado (Fig. 13). A lâmina do protalo é formada por sucessivas divisões celulares que possibilitam a expansão, mas mantém-se uniestratificada em toda a fase gametofítica, contendo grande número de cloroplastos. Os rizóides são hialinos, longos, não clorofilados, de coloração pardo-clara, localizados na superfície ventral do gametófito. Nota-se ainda a presença do envoltório do esporo.

Existe uma disparidade muito grande quanto ao início e a duração da fase gametofítica. Aos 30 dias após a semeadura pode-se encontrar esporos recém germinados, gametófitos na fase filamentosa e gametófitos iniciando a fase laminar.

Aos 45 dias o gametófito adquire a forma cordata, com as expansões laterais distintas na lâmina do protalo, na qual também evidencia-se o meristema apical central (Fig. 14). Não há a formação de tricomas no protalo, as células protaliais são assimétricas e há a presença de vários rizóides.

Em outra espécie de pteridófita, *Lophosoria quadripinnata* (J. F. Gmel) C. Chr., de acordo com PÉREZ-GARCIA *et al.* (1995), o desenvolvimento protálico laminar começa aos 21 dias após a semeadura, iniciando com a divisão da célula terminal do filamento, seguida por outra em sentido oblíquo, originando a célula meristemática que forma o meristema pluricelular na reentrância do gametófito. Os autores referem que por volta dos 36 dias já há gametófitos cordatos. Em gametófitos de *Lygodium heterodoxum* Kunze e *Lygodium venustum* Sw., em trabalho de MENDOZA *et al.* (1999c), a fase laminar inicia-se entre os 18 e 21 dias após a semeadura dos esporos. Os protalos apresentam a forma espatulada com uma zona meristemática central. As abas do protalo são de tamanho ligeiramente diferente. Os rizóides são basais, longos, hialinos e sem a presença de cloroplastos.

RAMIREZ & PÉREZ-GARCIA (1998), trabalhando com a espécie *Microgramma nitida*, relatam o início da fase laminar aos 20 dias após a semeadura, com formação de um gametófito espatulado 30 dias depois da germinação, e aos 60 dias de semeadura, o gametófito apresenta a forma cordata, com a presença de tricomas superficiais unicelulares e translúcidos. Nessa fase do desenvolvimento laminar, os rizóides, localizados na face abaxial do gametófito, são abundantes, transparentes, compridos, de coloração pardo-clara e o envoltório do esporo já se soltou do gametófito.

Em *Blechnum cycadifolium* (Colla) Sturm, PÉREZ-GARCIA *et al.* (1996) constata a formação do protalo laminar espatulado aos 53 dias após a germinação e após 75 a 85 dias, o gametófito torna-se cordiforme apresentando escassos tricomas unicelulares marginais, papilados e secretores; seus rizóides são pouco numerosos. No mesmo trabalho, os autores relatam que a fase laminar gametofítica de *Blechnum chilense* (Kaulf.) Mett. inicia-se após 45 a 50 dias e ocorre a formação de gametófito cordiforme-reniforme.

O gametófito de *D. sellowiana* mostra-se cordiforme (Fig. 14), aos 75 dias de desenvolvimento. Apresenta uma única camada de células altamente clorofiladas na lâmina protalial e uma reentrância apical onde se localiza o meristema pluricelular apical (Fig. 16). A região meristemática caracteriza-se por um agrupamento denso de células de tamanho reduzido, em relação as demais células protaliais. As abas do protalo são de tamanho ligeiramente diferentes, como observado por MENDOZA *et al.* (1999b). Os rizóides são abundantes, basais, longos, de coloração parda e hialinos. Nessa fase do desenvolvimento não há mais a presença do envoltório do esporo unido ao gametófito.

Aos 90 dias de desenvolvimento, em *D. sellowiana*, encontram-se gametófitos arquegoniados (Fig.17). Os arquegônios formam-se na face abaxial do gametófito, próximos à reentrância apical (Figs. 18, 19). Vistos em microscopia eletrônica de varredura, constata-se que os arquegônios são multicelulares, com quatro colunas de células (Fig. 20). No centro das células apicais dos arquegônios observa-se, com frequência, um poro (Figs. 20, 21), que provavelmente corresponde a estrutura que possibilita a entrada dos anterozóides.

Não foram encontrados anterídios. Acredita-se que a densa presença de rizóides dificultou a localização e/ou preservação quando nos procedimentos foram eliminados alguns rizóides. Provavelmente, considerando o grau de maturidade dos arquegônios, os anterídios de pteridófitas já deveriam estar formados, pois na literatura é referida a formação destes como anterior. Em *Lygodium heterodoxum* Kunze a formação dos anterídios se dá entre 28-32 dias de germinação e os arquegônios, entre 32-35 dias (MENDOZA *et al.* 1999b).

Os esporófitos, em *D. sellowiana*, começaram a formar-se após 84 dias de cultivo. Aos 259 dias de cultivo, quando foi interrompido o experimento, 84,67% dos gametófitos já haviam formado esporófitos. Os gametófitos que ainda não apresentavam esporófitos aparentavam vigor, o que aponta para a potencialidade para formar esporófitos.

Comparando com dados de literatura, referentes ao surgimento dos esporófitos em *D. sellowiana*, verifica-se diferenças na época de surgimento dos esporófitos. Isso pode ter sido devido ao tipo de substrato utilizado. No presente trabalho foi usada terra roxa estruturada adicionada de composto orgânico, que provavelmente acelerou o

desenvolvimento em toda fase de crescimento inicial em *D. sellowiana*. BORELLI *et al.* (1990), para propagação de *D. sellowiana*, a partir de esporos, usaram pó de xaxim e verificaram o desenvolvimento de esporófitos 180 dias após a germinação. Utilizando esporos frescos, da mesma população e coletados juntamente com os esporos utilizados neste trabalho e em mesmas condições ambientais deste trabalho, GOMES (2001) verificou a presença de esporófitos a partir de 137 dias depois da germinação, utilizando como substrato o pó de xaxim. Aos 224 dias após a germinação, a autora obteve 60% de formação de esporófitos, considerando que potencialmente os gametófitos ainda poderiam vir a formar esporófitos pois permaneciam clorofilados e em bom estado.

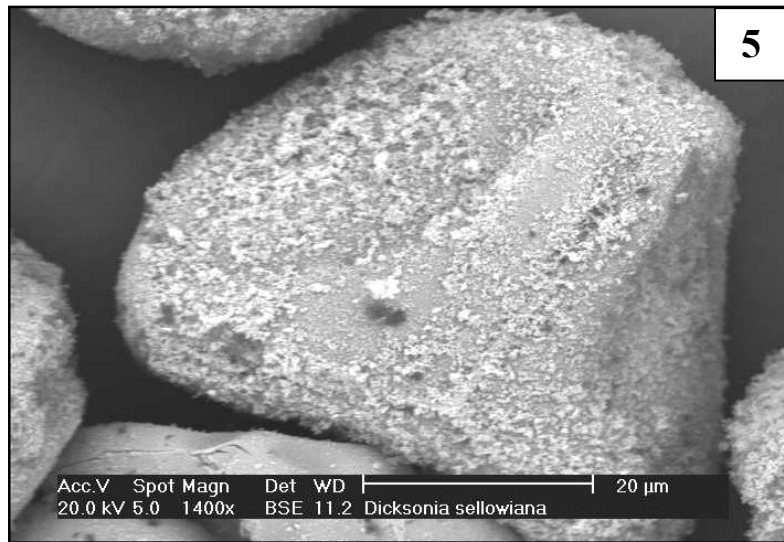
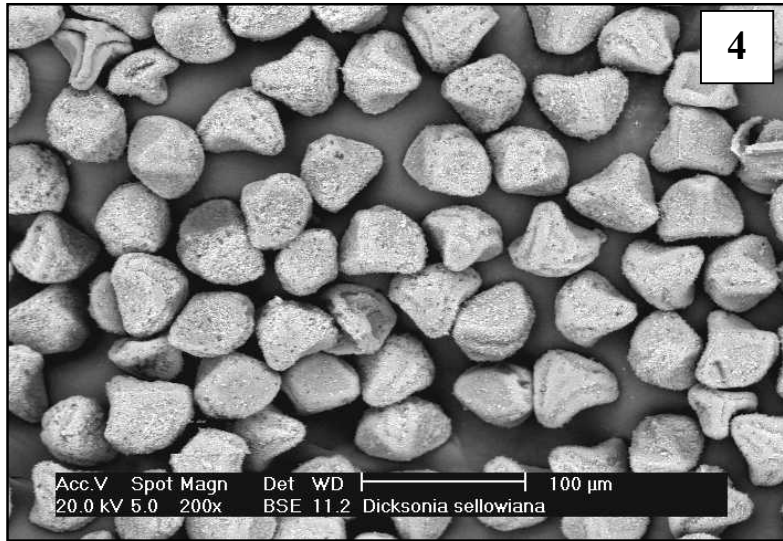


Fig. 4-5. Esporos de *Dicksonia sellowiana* (Presl.)Hook. **Fig. 4.** Vista geral de diversos esporos. **Fig. 5.** Detalhe evidenciando a superfície granulada de um esporo.

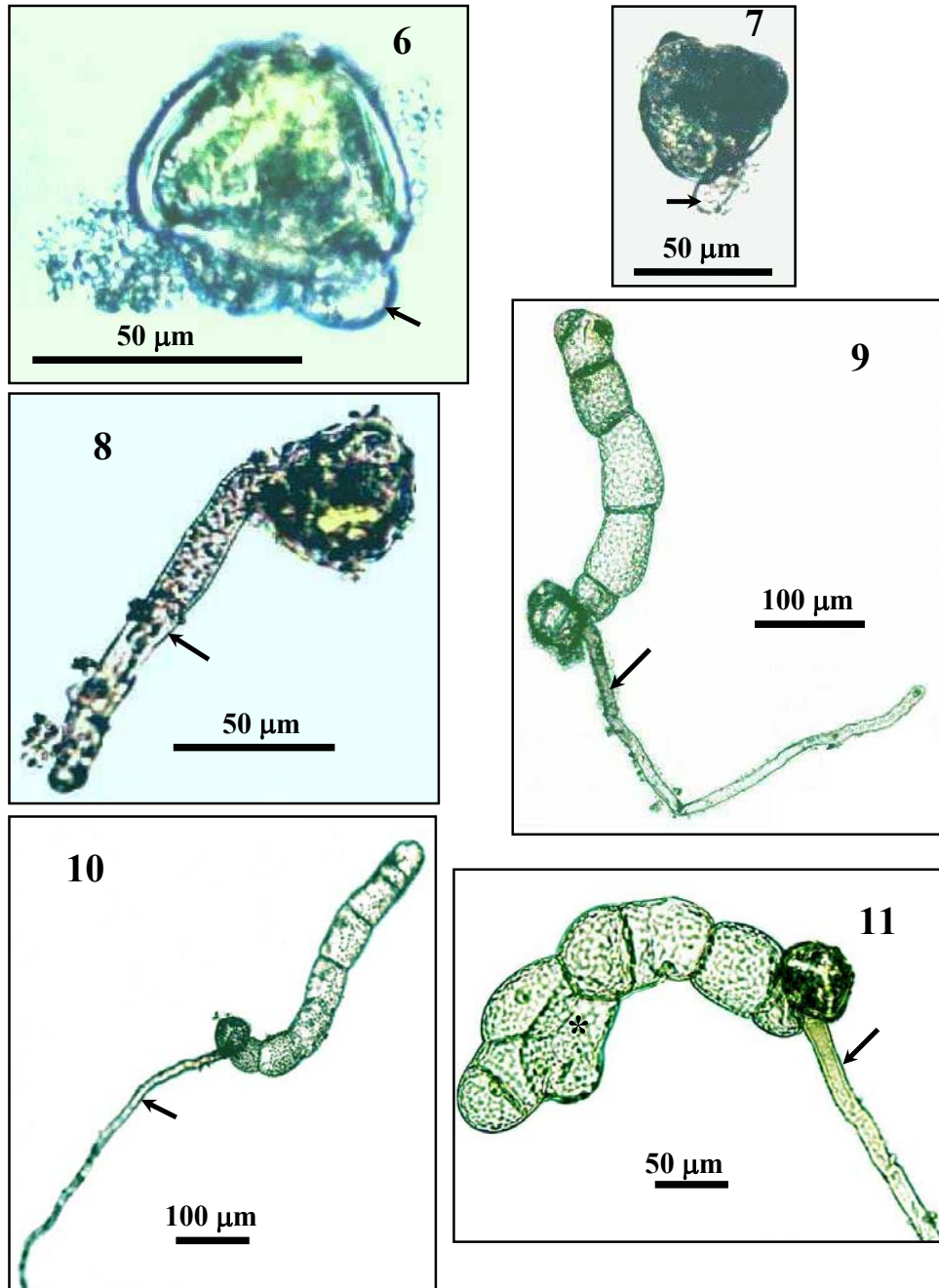


Fig. 6-11. Gametófitos de *Dicksonia sellowiana* (Presl.)Hook em diferentes fases de desenvolvimento. **Fig. 6-7.** Esporo iniciando a germinação. **Fig. 8.** Esporo germinado, note rizóide alongado. **Fig. 9-10.** Gametófitos em fase filamentosa, 15 dias após a sementeira. **Fig. 11.** Gametófito, 15 dias após a sementeira, em fase filamentosa iniciando crescimento lateral (*). Setas indicam rizóides.

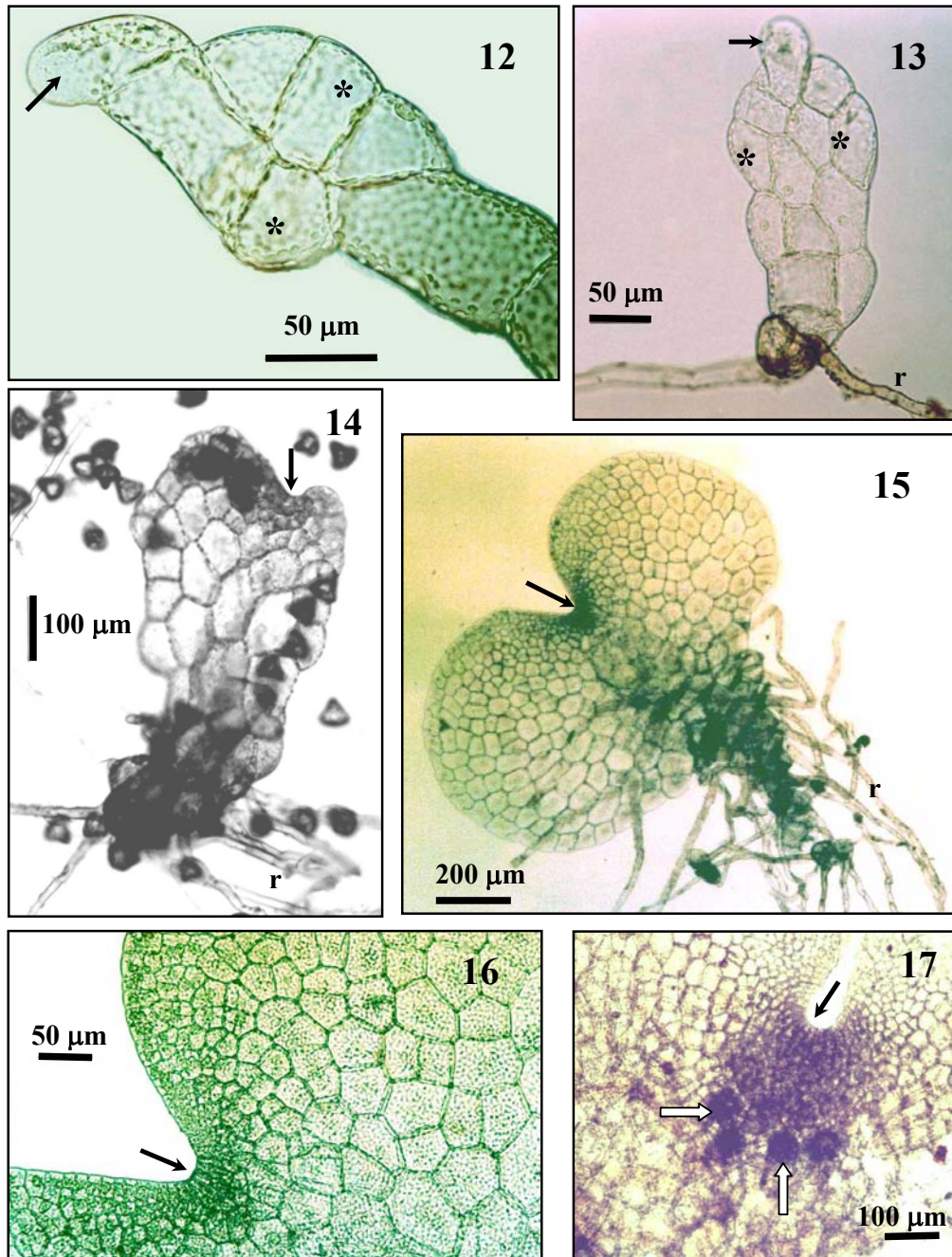


Fig. 12-17. Gametófitos de *Dicksonia sellowiana* (Presl.)Hook em diferentes fases de desenvolvimento. **Fig. 12.** Detalhe do ápice de um gametófito, com 15 dias após semeadura. **Fig. 13.** Protalo laminar espatulado, com 30 dias. **Fig. 14.** Fase cordata, com 45 dias. **Fig. 15-16.** Gametófito cordiforme, com 75 dias (**15.** aspecto geral; **16.** detalhe da região meristemática. **Fig. 17.** Arquegônios (setas brancas) próximos à região meristemática, gametófito com 90 dias. Setas pretas indicam a célula apical (Figs. 12-13) ou região meristemática apical (Figs. 14-17); * indicam expansões laterais; r – rizóides).

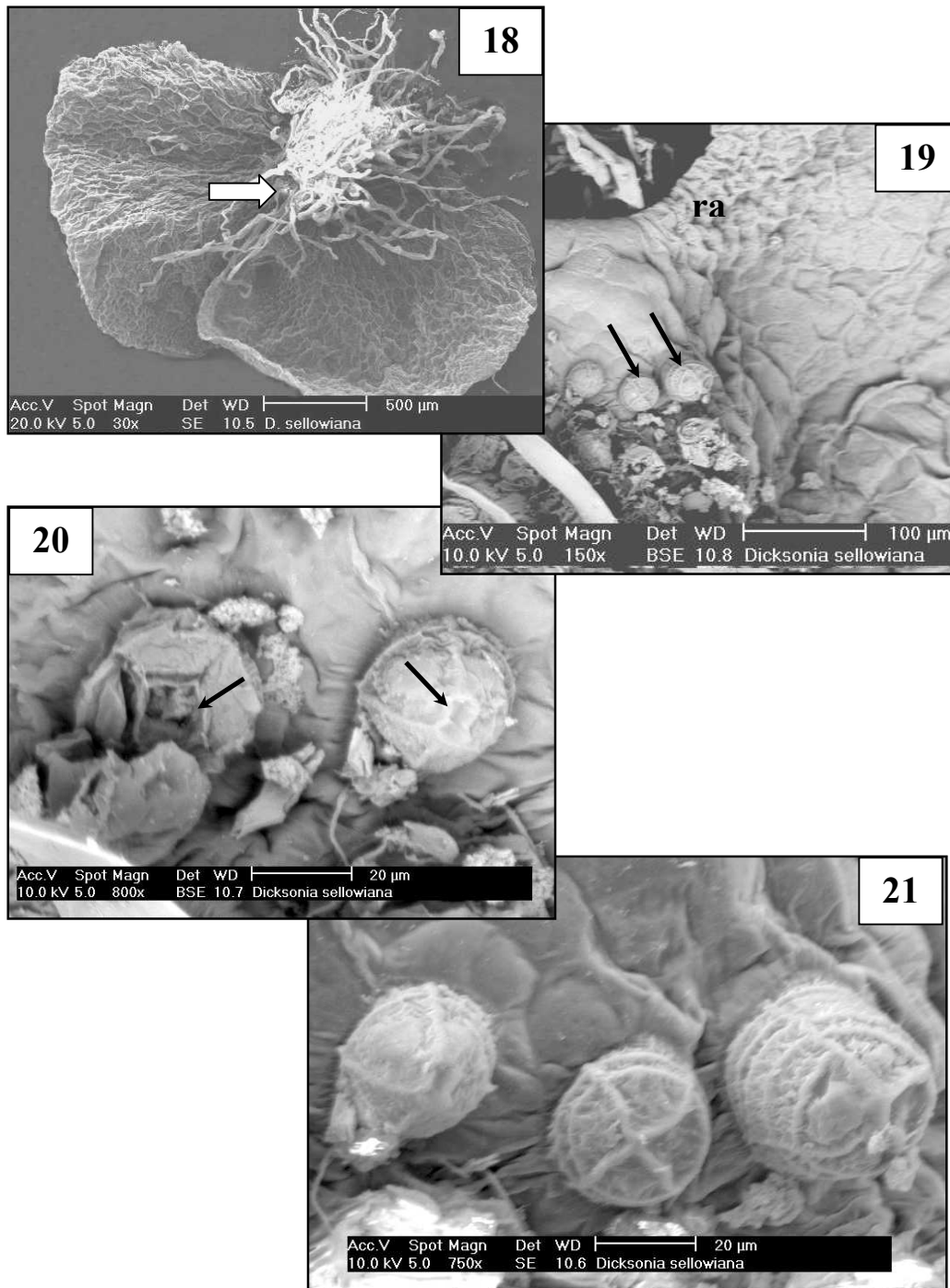


Fig. 18-21. Gametófitos de *Dicksonia sellowiana* (Presl.)Hook. **Fig. 18.** Aspecto geral da face abaxial do gametófito, seta indica região onde ocorrem os arquegônios. **Fig. 19.** Detalhe de arquegônios (setas), próximos à região com a reentrância apical. **Fig. 20-21.** Arquegônios, note a presença de poro (seta) no centro das células apicais.

4.3. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento inicial em *Dicksonia sellowiana*

Este trabalho não objetivou a definição do tipo de solo mais adequado ao desenvolvimento gametofítico e esporofítico inicial de *D. sellowiana*. Porém, em função da dificuldade do desenvolvimento inicial da espécie em experimentos preliminares, foram testados alguns substratos com características diferentes. RANAL (1995) afirma que embora existam registros desde a década de 10 do século passado sobre a influência da composição mineral do solo na ocorrência e distribuição de pteridófitas, quase nada se sabe sobre o assunto.

A tabela 04 mostra o resultado da análise de solos feita para os quatro substratos utilizados durante o desenvolvimento deste trabalho.

ANÁLISE DE SOLO

AMOSTRA	Terra roxa + composto	Terra roxa	Solo de floricultura	Pó de casca de coco (Coxim)
PH	5.2 baixo	4.4 muito baixo	6.6 alto	5.2 baixo
Fósforo (ppm)	+50 alto	2.6 baixo	+50 alto	38.3 alto
Potássio (ppm)	450 alto	95 suficiente	340 alto	1204 alto
Mat Orgânica %	0.9 baixo	0.8 baixo	4.3 médio	+10.0 alto
Alumínio (cmolc/l)	-----	2.2	-----	0.3
Cálcio (cmolc/l)	4.8 alto	1.7 baixo	5.4 alto	1.7 baixo
H +Al (cmolc/l)	3.90	8.79	2.48	1.89
Nitrogênio Total %	0.26	0.03	0.12	0.35
Capacidade de troca de cátions (cmolc/l)	12.88 alta	11.32 alta	13.92 alta	9.37 média

Tab. 4: Resultado dos laudos de análise de solo dos substratos utilizados para o desenvolvimento de gametófitos e esporófitos jovens de *Dicksonia sellowiana*. Análise realizada pela CIDASC – SC, laudo n.º 07462.

Em solo de floricultura não houve o desenvolvimento de gametófitos e consequentemente, não houve o desenvolvimento de esporófitos. Esse solo apresentou o mais alto pH. Nas outras amostras de solo o pH é baixo ou muito baixo.

Em substrato de pó de casca de coco (coxim) houve somente o desenvolvimento gametofítico filamentosos. Após 6 meses de cultivo não houve a formação de gametófitos cordiformes que normalmente começam a ser formados a partir do primeiro mês de desenvolvimento e portanto, não houve a formação de esporófitos. Os gametófitos desenvolvidos nesse substrato apresentaram retardamento na fase filamentosa e também um desenvolvimento anômalo, como mostra a figura 22. As células protonemais (protaliais) apresentam grandes vacúolos, são mais alongadas e as células rizoidais são curtas. A disfunção pode ter sido causada pelo altíssimo teor de potássio no substrato, que pode ter sido tóxico para a planta.

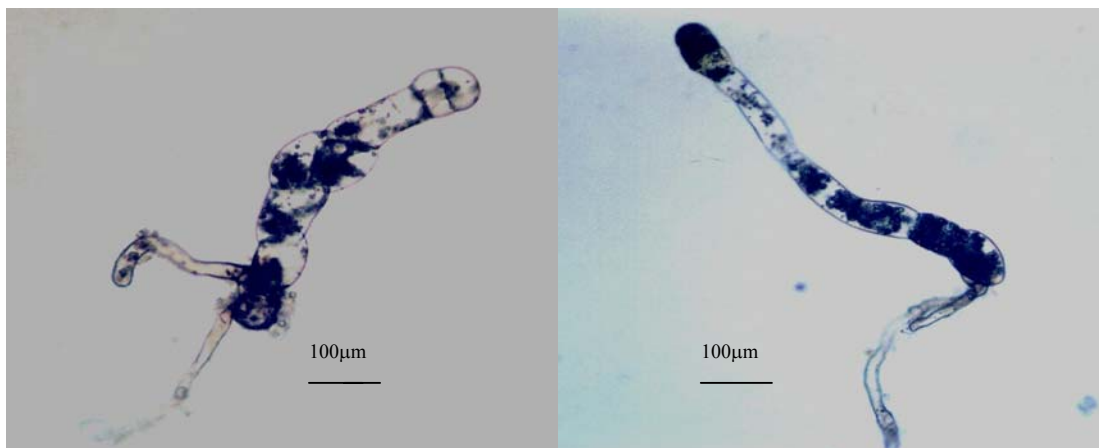


Fig. 22 (A,B). Gametófitos filamentosos anômalos de *D. sellowiana* após 217 dias de cultivo em substrato de coxim, em sala de cultivo, à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de aproximadamente $30\mu\text{moles quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$. UFSC, 2002.

O substrato terra roxa estruturada (solo retirado de mata com grande quantidade de samambaias) proporcionou um desenvolvimento mais lento dos gametófitos e os primeiros esporófitos começaram a surgir após 180 dias de cultivo. Não foi realizado o estudo morfo-anatômico do desenvolvimento gametofítico e esporofítico nesse substrato. Esse solo apresentou um pH muito baixo, um elevado teor de alumínio e de hidrogênio e um baixo teor de cálcio, nitrogênio e fósforo. Neste caso, ocorreu a

formação de esporófitos, porém com desenvolvimento muito mais lento que em substrato terra roxa acrescida de composto orgânico.

O substrato terra roxa estruturada acrescida de composto orgânico foi o que propiciou o mais rápido desenvolvimento gametofítico e esporofítico jovem de *D. sellowiana*. Os gametófitos espatulados foram observados após 30 dias e os esporófitos após 84 dias de cultivo. Na figura 23 observam-se plântulas de xaxim crescendo em vasos com terra roxa acrescida de composto orgânico, gametófitos cordiformes em bandejas contendo terra roxa e manchas de gametófitos filamentosos em bandejas contendo coxim. A análise de solo da terra roxa acrescida de composto orgânico mostrou que esse substrato possui pH baixo e altos teores de fósforo, potássio, cálcio e nitrogênio. Acredita-se que a espécie requeira índices baixos de pH e boa disponibilidade dos demais nutrientes minerais, embora ela também se desenvolva, com mais vagar, em teores altos de hidrogênio e alumínio e baixos teores de cálcio, nitrogênio e fósforo.



Fig. 23. Gametófitos e plântulas de *D. sellowiana*, com 200 dias de cultivo em sala de cultivo, à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de aproximadamente $30\mu\text{moles quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$. À esquerda, vasos com esporófitos desenvolvendo-se em substrato de terra roxa acrescida de composto orgânico. Ao centro, bandejas de gametófitos cordiformes desenvolvendo-se em terra roxa. À direita, gametófitos filamentosos desenvolvendo-se em coxim. UFSC, 2002.

CARLSON (1979) conduziu um estudo comparativo do habitat de dez espécies do gênero *Dryopteris*, incluindo análise de alguns fatores edáficos, dentre eles o pH. O autor reuniu as espécies estudadas 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. Em pH ácido obteve o desenvolvimento de cinco espécies; para pH ácido a neutro, duas espécies, para pH neutro uma espécie e para pH neutro a básico, uma espécie, havendo um maior número de espécies desse gênero que preferem solos com pH acidificado.

GRAVES & MONK (1982) correlacionaram parâmetros edáficos (composição química, física, umidade e pH) com a composição de pteridófitas herbáceas na Georgia, EUA. Dentre as pteridófitas estudadas, os autores verificaram que *Polystichum acrostichoides* (Michx.) Schott é de ocorrência mais restrita a solos fortemente ácidos, diminuindo sua ocorrência em solos com pH alto. *Anthyrium pycnocarpo* (Spreng.) Tidestrom ocorre em solos com pH fracamente ácido, sendo mais abundante em solos com pH acima de 6,6 e mais ricos em nutrientes. *A.thelypteroides* (Michx.) Desv. e *Cystopteris protusa* (Weath.) Blasdell são espécies consideradas pelos autores como generalistas, uma vez que sua distribuição não tem correlação significativa com o pH.

WHITTIER & MOYROUD (1993) estudaram o efeito do baixo pH na germinação e no desenvolvimento dos gametófitos de *Ophioglossum palmatum*. A germinação desses esporos no escuro, comum também a outros membros da família Ophioglossaceae, em um ambiente muito ácido ajuda a explicar o habitat desses gametófitos na natureza (húmus negro e outros tipos de húmus). Foi constatado que o desenvolvimento desses gametófitos em cultura foi melhor em baixo pH. Embora a promoção do desenvolvimento gametofítico em condições muito ácidas seja incomum em samambaias, acredita-se que o baixo pH é um fator importante para o desenvolvimento de gametófitos de *Ophioglossum palmatum*.

RANAL (1995), estudando a natureza dos substratos no estabelecimento de pteridófitas em Mata Mesófila Semidecídua do Estado de São Paulo, relatou que a distribuição das espécies de pteridófitas terrícolas deve estar relacionada com o teor de nutrientes do solo e pH. A espécie *Polypodium latipes* foi encontrada em maior quantidade em áreas com pH mais baixo, maiores teores de alumínio e baixos teores de cálcio. Algumas espécies apresentaram grande tolerância ao pH do substrato, como é o caso de *Micrograma squanulosa*, sendo, portanto, generalistas. Enquanto outras são calcifugas, como é o caso de *Pteris denticulata* e *Adiantopsis radiata* (L.) Fée.

MELLO *et al.* (1989) afirma que a maioria das plantas cultivadas se desenvolve melhor em solos levemente ácidos, porque a disponibilidade dos nutrientes minerais atinge seu máximo nessas condições. Afirma também que variações do pH do solo podem solubilizar substâncias tóxicas e elementos essenciais ou não, em concentrações capazes de torná-los tóxico.

Conforme MALAVOLTA (1980) o principal efeito do pH é indireto. A variação na acidez ou alcalinidade está associada com variações para mais ou para menos na disponibilidade de elementos minerais essenciais ou não. Valores de pH entre 6,0 a 6,5 permitem a máxima disponibilidade de muitos elementos, embora encontrem-se espécies vivendo em solos com pH em torno de 4,0 e 8,0.

Em relação ao presente trabalho observou-se que a espécie estudada não se desenvolveu em solos com pH mais elevado (6,6) como ocorreu com o solo de floricultura destinado a plantas ornamentais. Esse solo, embora tenha uma boa disponibilidade de nutrientes, não foi eficiente para *D. sellowiana*, ou seja, talvez essa espécie seja intolerante a solos com pH mais elevado. O substrato coxim pelo seu altíssimo nível de potássio, provavelmente foi tóxico para o desenvolvimento da espécie. Em solo de mata, com pH muito baixo (4,4), baixa disponibilidade de cálcio, nitrogênio e fósforo e alta concentração de alumínio ocorreu o desenvolvimento gametofítico 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 matéria orgânica. Segundo MALAVOLTA (1980) a saturação de alumínio pode ser tóxica para as plantas. O autor afirma que a média de saturação por alumínio em solos de cerrado é de 60% e que as plantas mais sensíveis não toleram mais que 20% enquanto a maioria das espécies cultivadas começa a sofrer devido à toxidez de alumínio quando o valor é maior que 40%. No substrato de terra roxa a porcentagem calculada de alumínio (MALAVOLTA 1980) foi de 47%. Esse fato sugere que a espécie estudada é tolerante a solos mais pobres e que a alta quantidade disponível de alumínio pode estar sendo tóxica para o desenvolvimento da espécie, porém, não limitante.

D. sellowiana parece preferir solos com pH acidificado, fato comprovado pelo seu bom desenvolvimento em terra roxa estruturada acrescida de composto orgânico, cujo pH é 5,2. Ao mesmo tempo, a adição da matéria orgânica em forma de composto

disponibilizou bons teores de elementos minerais essenciais como cálcio, nitrogênio, fósforo e potássio. O alumínio não esteve presente nesse solo que apresentou condições melhores ao desenvolvimento do gametófito e esporófito jovem de *D. sellowiana*.

4.4. Efeito de diferentes níveis de luz no desenvolvimento de plântulas de *Dicksonia sellowiana*.

Os resultados encontrados para esporófitos jovens (plântulas) de *Dicksonia sellowiana* em relação à variação da quantidade de luz mostraram que as plântulas diferem na sua resposta, dependendo do nível de luz a que foram submetidas.

Para os seguintes parâmetros analisados: altura da fronde maior (Fig. 24), número de frondes (Fig.25), massa fresca da parte aérea (Fig.26), massa seca da parte aérea (Fig.27), taxa de crescimento relativo - TCR (Fig.28.) e taxa de crescimento relativo em altura - TCRL (Fig.29), a intensidade luminosa de 10% da luz solar proporcionou maiores valores do que as intensidades de 3% e 30% da luz solar incidente. As plântulas submetidas à intensidade luminosa de 100% da luz solar morreram em 3 dias e as plântulas submetidas às intensidades de 50% e 75% de luz solar morreram, gradativamente, em até 30 dias.

Observa-se que o aumento da intensidade de luz proporciona um menor desenvolvimento dos esporófitos jovens de *D. sellowiana* (30% da luz solar).

Como as plantas crescidas em intensidades de 3% da luz solar direta apresentaram menor biomassa e menores taxas de crescimento que plantas crescidas a 10% da luz solar, esses resultados indicam que a quantidade de luz presente ao nível do chão de florestas tropicais, entre 0,5% e 4,0% da luz solar direta (CHAZDON & FETCHER 1984, JANUÁRIO *et al.* 1982) apresenta-se limitante para o crescimento inicial de *D. sellowiana*. A presença de fochos temporários de luz (sunflecks), existentes quando a luz solar direta passa através de aberturas no dossel, pode minimizar esta escassez de luz ao nível de plântulas e contribuir para um aumento temporário da taxa fotossintética (VALLADARES *et al.* 1997).

Em trabalho sobre o desenvolvimento da espécie de pteridófito *Adiantum raddianum* cv. Fritz Luth. que segundo JONES (1996), prefere crescer em condições de boa iluminação, mas também pode se desenvolver sob baixa intensidade luminosa, foi mostrado que a espécie apresentou um maior desenvolvimento em massa fresca na faixa entre 39% a 47% de luz, e menor desenvolvimento em níveis de luz superiores e inferiores a esse intervalo, sendo tolerante a todas as intensidades luminosas (YEH & WANG 2000), Estes dados mostram que a espécie tem maior tolerância a altas

irradiâncias e menor tolerância a baixa irradiância que *D. sellowiana*, a qual apresentou melhor desenvolvimento a 10% de luz.

A razão massa fresca/massa seca, a qual reflete o teor de água na planta, foi significativamente maior nas intensidades de 3% e 10% de luz e menor na intensidade de 30% de luz (Fig.30), indicando menor teor de água nas plantas em intensidade mais alta de luz. Diminuição no teor de água com o aumento da intensidade luminosa é comum em plantas, uma vez que altas intensidades de luz aumentam a transpiração (POPMA & BONGERS 1991; NIINEMETS & KULL 1999; DIAS-FILHO 1997). Este fato pode ter sido uma das causas da morte das plântulas a 50%, 75% e 100% da luz solar, as quais podem ter se dessecado nestas altas intensidades de luz.

Uma segunda causa que pode ter levado à morte das plantas quando sob alta intensidade luminosa seria a ocorrência de fotoinibição da fotossíntese, que consiste num declínio da eficiência fotossintética (DEMMING-ADANS & ADANS 1992), levando a uma diminuição do crescimento da planta ou mesmo a sua morte (SONOIKE 1996 & KITAO 2000), quando plântulas absorvem mais fótons de luz do que conseguem utilizar.

Os teores de clorofila a, b e total (Figs.31, 32 e 33) apresentaram-se superiores em plantas crescidas a 3% de luz solar em relação às crescidas a 10% e 30% da luz solar. Entre 10% e 30% da luz solar as diferenças nos teores de clorofila não foram significantes, a exceção do teor de clorofila a que foi menor a 30% de luz solar. O aumento do teor de clorofila total com a diminuição da intensidade de luz é um traço característico da aclimação de muitas espécies ao declínio da quantidade de luz, ajuste este, que leva a maximizar a captura de luz pelas folhas quando são sombreadas (CRITCHLEY 1999). *D. sellowiana* apresentou este ajuste no teor de clorofila total, mostrando potencial para aumentar a captura de luz sob alto sombreamento (3% da luz solar). Estes resultados encontrados para *D. sellowiana* estão de acordo com os encontrados para outra pteridófito, *A. raddianum*, a qual também apresentou um aumento nos teores de clorofila quando crescidas em maiores sombreamentos (YEH & WANG 2000). A razão entre os teores de clorofila a e clorofila b (Fig.34) foram similares nas três intensidades de luz testadas. Esta razão costuma diminuir em resposta à redução do nível de luz (ANDERSON *et al.* 1988; TINOCO-OJANGUREM & PEARCY, 1995). porque, pode haver um aumento na quantidade de Fotossistema II,

mais rico em clorofila b que o Fotossistema I (TINOCO-OJANGUREM & PEARCY, 1995). Entretanto, *D. sellowiana* não mostrou plasticidade em alterar este parâmetro com a variação de irradiância. A falta de plasticidade em adequar a razão dos teores de clorofila a e clorofila b com a variação da irradiância também foi observada em outras espécies arbóreas da Floresta Atlântica como referido por DUZ (2001), para *Cedrela fissilis* Vell., *Cecropia glazioui* Sneth. e *Bathysa australis* (St Hil.) Hook. ex. Sch.

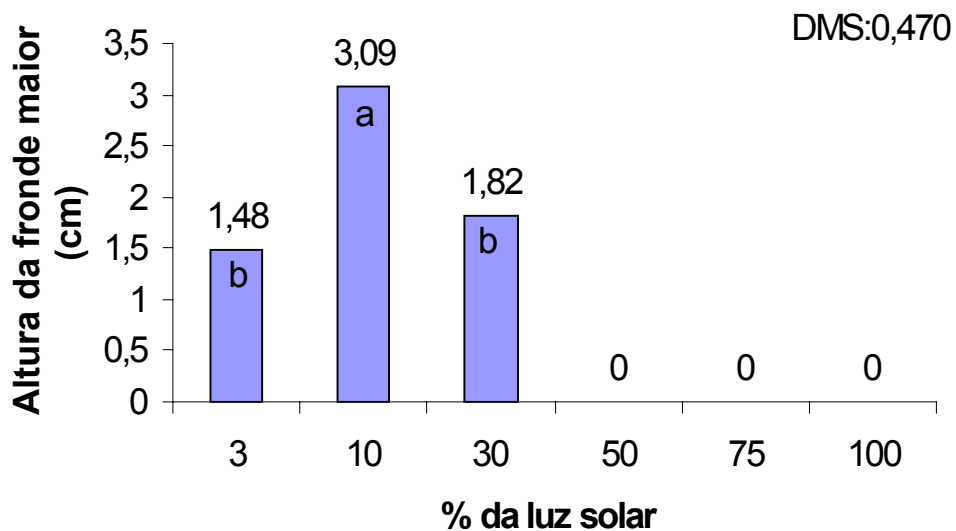


Fig. 24. Altura da fronde maior de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

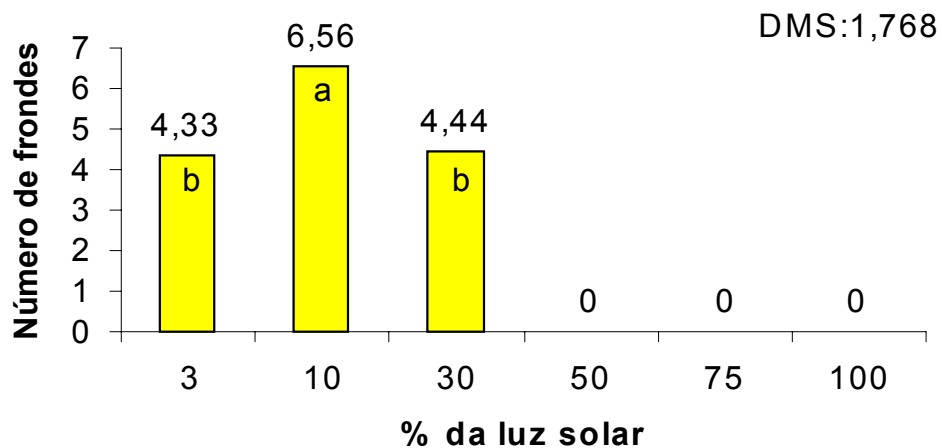


Fig. 25. Número de frondes de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

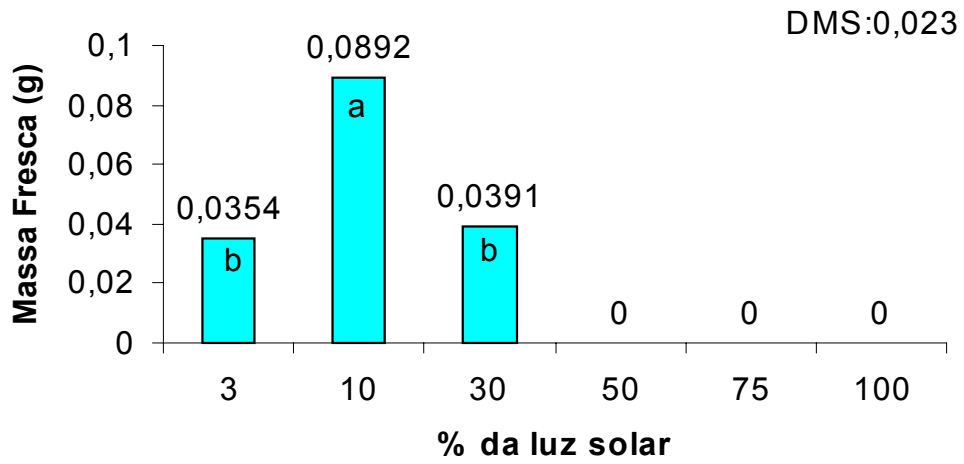


Fig. 26. Teor de massa fresca de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

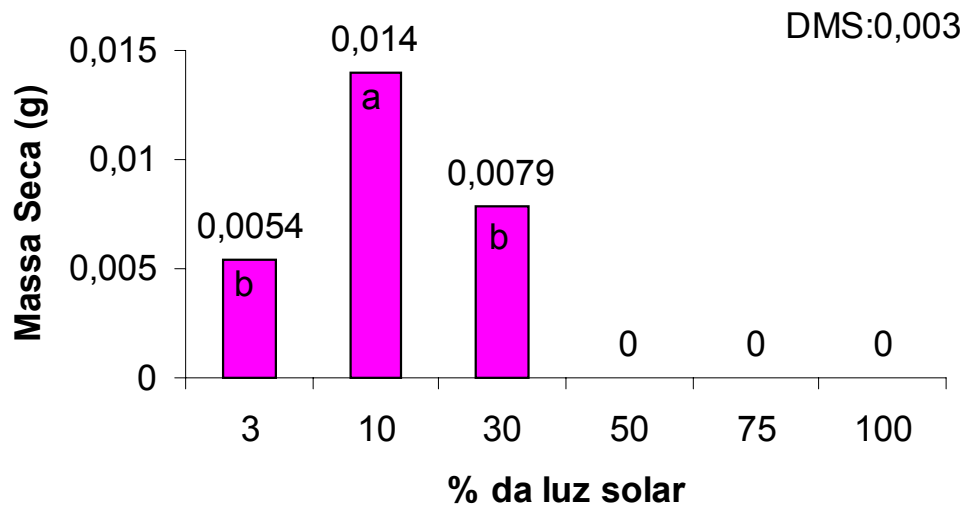


Fig. 27. Teor de massa seca de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

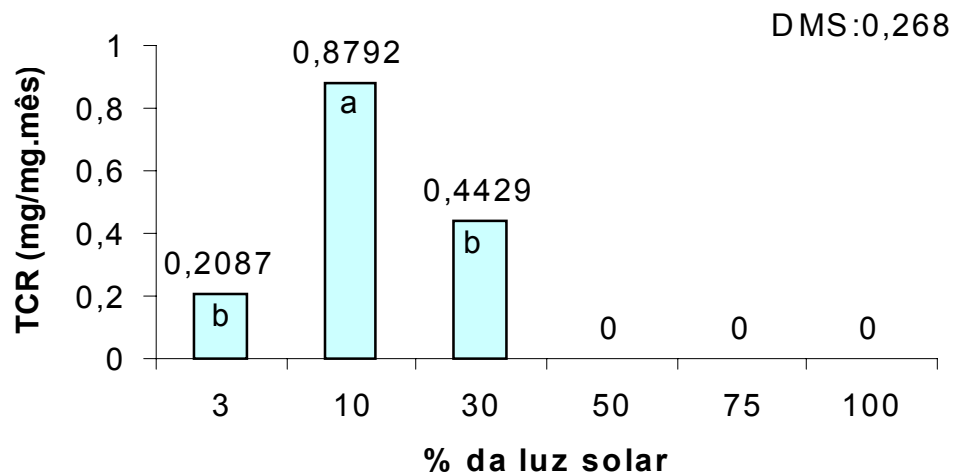


Fig. 28. Taxa de Crescimento Relativo de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

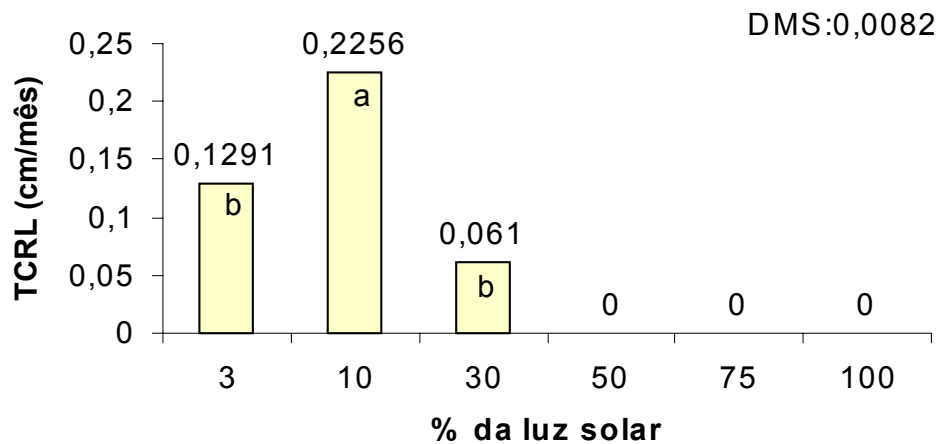


Fig. 29. Taxa de Crescimento Relativo em Altura de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

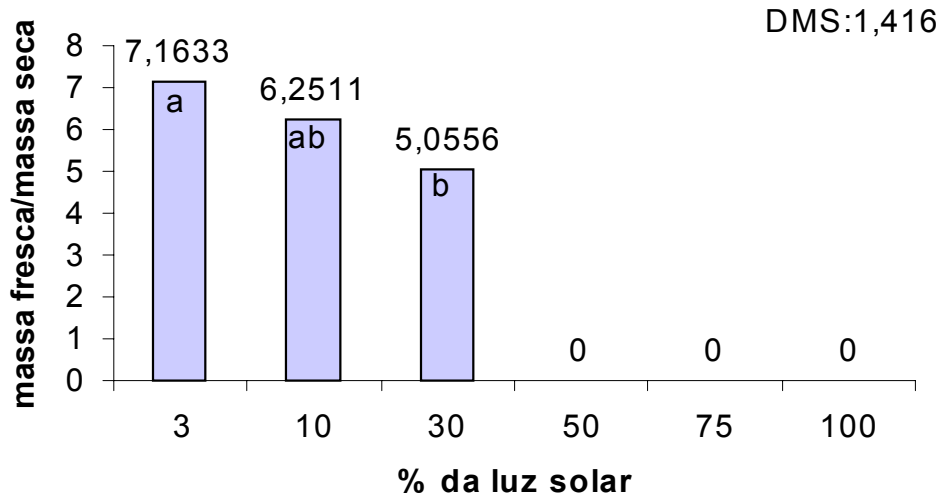


Fig. 30. Razão entre massa fresca e massa seca de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

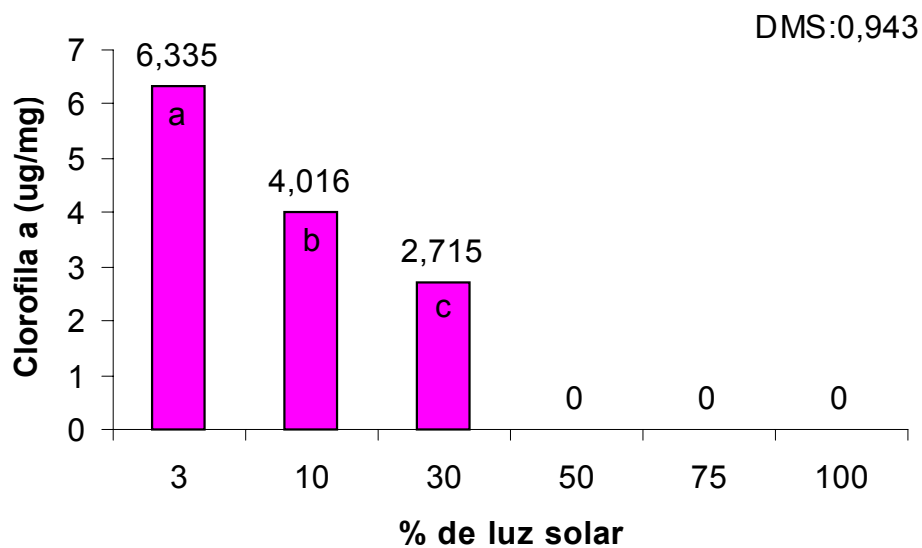


Fig. 31. Teores de clorofila a de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

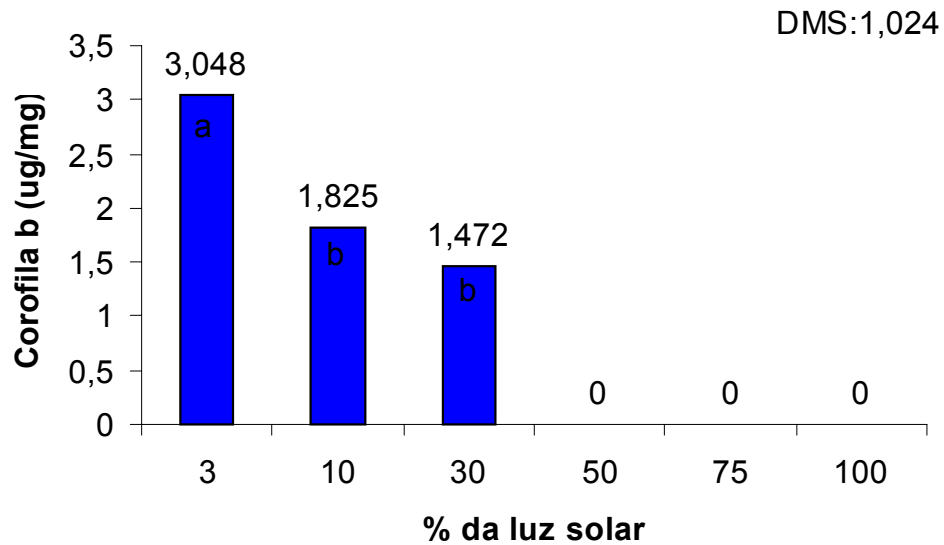


Fig. 32. Teores de clorofila b de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

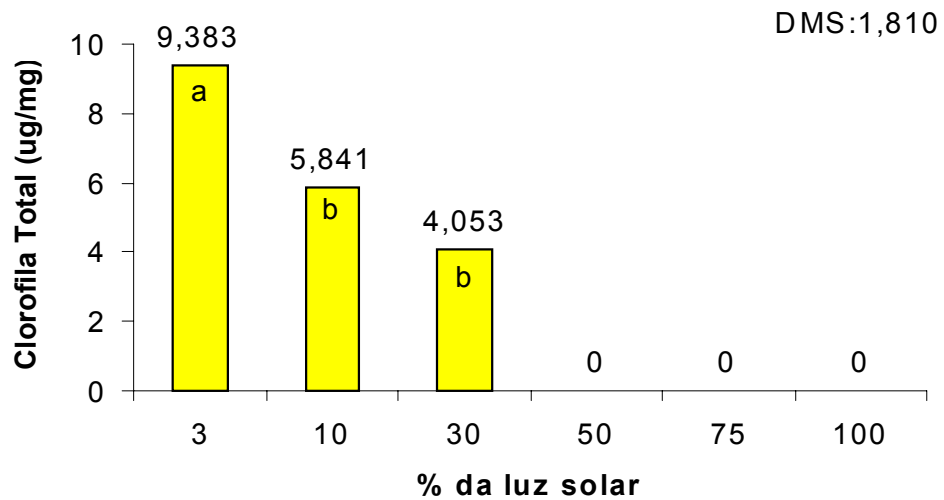


Fig. 33. Teores de clorofila total de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

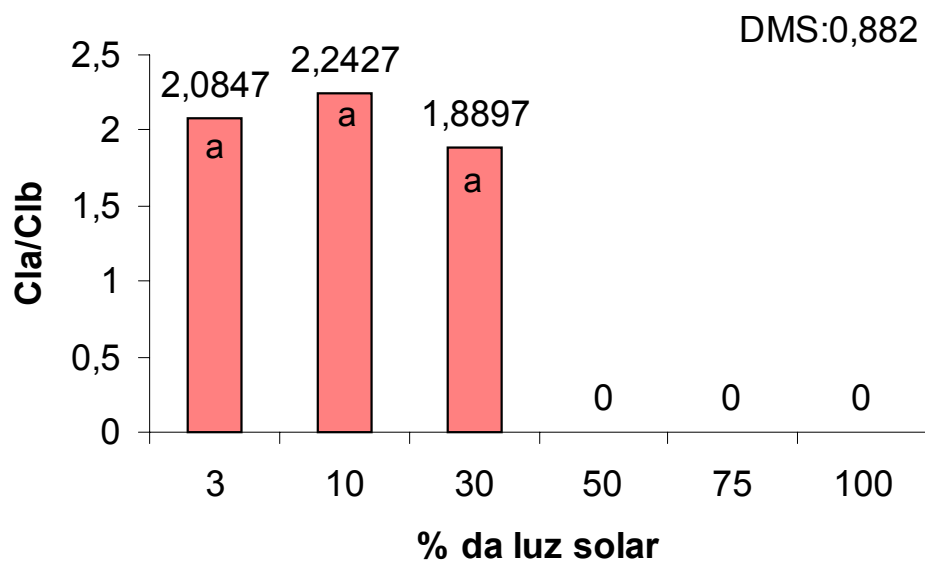


Fig. 34. Razão entre clorofila a e clorofila b de esporófitos de *D. sellowiana* crescidos durante 42 dias em diferentes níveis de luz, em condições ambientais. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. UFSC, 2002.

5. CONCLUSÕES

1. Esporos armazenados há 1130 dias e esterilizados em solução de hipoclorito de sódio comercial a 20% por 30 minutos, apresentaram 27% de germinação. Esporos armazenados nas mesmas condições, há 1160 dias e esterilizados em solução de hipoclorito de sódio comercial a 5% por 30 minutos, apresentaram uma média de 78,5% de germinação.
2. A germinação dos esporos iniciou-se no segundo dia de cultivo. Aos 15 dias os gametófitos apresentaram-se na forma filamentosa, com uma célula rizoidal e 3 a 7 células protaliais. Aos 30 dias os gametófitos apresentaram-se como um protalo laminar espatulado. Aos 45 dias os gametófitos começavam a se tornar cordiformes. Aos 90 dias os gametófitos possuíam a forma cordata e alguns já eram arquegoniados. Após 84 dias de cultivo, iniciou-se a formação de esporófitos. Até 259 dias de cultivo, 84,67% dos gametófitos formaram esporófitos.
3. O substrato com pH baixo (5,2), altos teores de nitrogênio, fósforo, potássio e cálcio e ausência de alumínio trocável, proporcionou um desenvolvimento gametofítico e esporofítico inicial mais rápido.
4. A intensidade luminosa de 10% da luz solar proporcionou um crescimento significativamente maior de esporófitos jovens, em relação às intensidades de 3% e 30% da luz solar.. As plântulas submetidas às intensidades de 50%, 75% e 100% da luz solar não sobreviveram.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, D. C.; PAWAR, S. S. & MASCARENHAS, A. F. 1993. Cryopreservation of spores of *Cyathea spinulosa* Wall. Ex. Hook.f. an endangered tree fern. **J. Plant Physiol.** 142: 124-126

ANDERSON, J. M., CHOW, W. S. & GOODGHILD, D. J. 1988. Thylakoid membrane organization in sun/shade acclimation. **Australian Journal of Plant Physiology** 15:11-26.

ARNON, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyfenoxidase in *Beta vulgaris*. **Plant. Physiol.** 24:1-15.

BALICK, M. J. & COX, P. A. 1996. **Plants, people, and culture: the science of ethnobotany.** 1ª ed. New York: Scientific American Library.

BARROS, I. C. L.; WINDISCH, P. G. 2001. **Fern Flora Worldwide: threats and responses- An International Symposium.** Abstracts. Guildford, UK. Pp. 3-4.

BAPTISTA, L. R. M. & LONGHI-WAGNER. H. M. 1998. Lista preliminar de espécies ameaçadas da Flora do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: **Sociedade Botânica do Brasil.**

BERGERON, M. E. & LAPOINTE L. 2000. Impact of one year crozier removal on long-term frond production in *Matteuccia struthiopteris*. **Canadian Journal of Plant Science.**

BERNABE, N.; WILLIAMS-LINERA, G. & PALACIOS-RIOS, M. 1999. Tree ferns in the interior and at the edge of a Mexican cloud forest remant: Spore germination and sporophyte survival and establishment. **Biotropica.** 31(1):88.

BORELLI, F. P., CASTRO, C. E. F., MATTHES, L. A. F., TOMBOLATO, A. F. C. & NAGAI, V. 1990. Propagação de pteridófitas *in vitro* e *in vivo* através de esporos. **Bragantia** (IAC). 49 (2): 205-219.

BOZZOLA, J.J. & RUSSEL, L.D. 1991. **Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists**. Boston, Jones and Barlett Publ. 542p.

BRUM, F. M. R., RANDI, A. M. 2001. **Efeitos de diferentes níveis de luz, temperaturas e criopreservação na germinação e crescimento inicial de Rumohra adiantiformis (FORST.) Ching (Dryopteridaceae)**. 86 f. Dissertação Mestrado (Biologia Vegetal). Universidade Federal de Santa Catarina.

CAMLOH, M. 1993. Spore germination and early gametophyte development of *Platyserium bifurcatum*. **American Fern Journal**. 83 (3): 79-85.

CARLSON, T. J. 1979. The comparative ecology and frequencies of interspecific hybridization of Michigan wood-ferns. **Mich. Bot.** 18: 47-56.

CHAZDON, R.L. & FETCHER, N. 1984. Photosynthetic light environmental in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. **Journal of Ecology** 72: 553-564.

CRITCHLEY, C. 1999. Molecular adaptation to irradiance: The dual functionality of photosystem II. *In* Concepts in photobiology: Photosynthesis and photomorphogenesis (G. S. Singhal, G. Renger, S. K. Spopory, K-D. Irrgang & Govindjee, eds.) **Norosa Publishing House**, New Delhi, p. 573-587.

DEMMING-ADANS B. & ADAMS W.I. (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. **Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol** 43: 599-626

DENSLOW, J.S.; SCHULTZ, J.C.; VITOUSEK, P.M. & STRAINS, B.R. 1990. Growth responses of tropical shrubs to tree fall gap environments. **Ecology** 71: 165-179.

DIAS-FILHO, M.B. 1997. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. to contrasting light environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 32:789-796

DYER, A F. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. P. 253-305. *In*: A f. Dyer (Ed.). **The experimental biology of ferns**. London. Academic.

DUZ, S. R. 2001. **Respostas de Crescimento de Três Espécies Arbóreas da Floresta Atlântica à Variação na Quantidade de Luz**. Florianópolis. Dissertação de Mestrado (Biologia Vegetal), Universidade Federal de Santa Catarina.

FERNANDES, I. 1997. **Taxonomia e Fitogeografia de Cyatheaceae e Dicksoniaceae nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil**. São Paulo. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo.

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. **Rev. Bras. Bot.**, v.22, n.1, p.21-26.

FOSSARD, R. A. 1976. **Tissue Culture for Plant Propagators**. Armidale (Australia): University of New England.

GOMES, G. S. 2001. **Variabilidade na Germinação de Esporos e Formação de Esporófitos entre e dentro de Populações Naturais de Xaxim (*Dicksonia selowiana* (Pres.) Hooker)**. Florianópolis. Dissertação de Mestrado (Recursos Genéticos Vegetais), Universidade Federal de Santa Catarina.

GRAVES, J. H. & MONK, C. D. 1982. Herb-soil relationships on a lower north store over marble. **Bull. Torrey Bot. Club**. 1094: 500-507.

HOLTUM, R.E. 1963. Cyatheaceae. Fl. Males. Bull.. Ser. II. **Pteridophyta**. 1(2): 65-176.

HUCKABY, C. S. & RAGHAVAN, V. 1981. Spore germination patterns in the ferns, *Cyathea* and *Dicksonia*. **Ann. Bot.** 47:397-403.

IBAMA, 1997. **Relatório. Workshop sobre Conversação e Manejo de *Dicksonia selloviana* (Xaxim)**. Urubici.

- JANUÁRIO, M., VISWANADHAN, Y. & SENNA, R.C. 1982. Radiação solar total dentro de floresta tropical úmida de terra firme (Tucuruí, Pará). **Acta Amazônica** 22:335-340.
- JARAMILLO, I. R., PÉREZ-GARCIA, B. & MENDOZA, A 1996. Desarrollo del gametofito y del esporofito joven de *Niphidium crassifolium* (Filicales: polypodiaceae S STR.) **Revta. Biol. Trop.** 44(2): 485-90.
- JARAMILLO, I. R., PÉREZ-GARCIA, B. & MENDOZA, A 2000. Fase gametofítica del helecho *Llavea cordifolia* (Pteridaceae). **Rev. Biol. Trop.** 48 (1): 19-23.
- JONES, D. L. (1996). Encyclopaedia of ferns. **Timber Press**, Portland, Oregon, USA, 212-222.
- JOHNSON, G. N. , RUMSEY, F. J., HEADLEY, A. D. & SHEFFIELD, E. 2000. Adaptations to extreme low light in the fern *Trichomanes speciosum* Willd. (Hymenophyllaceae). **New Phytologist** 148: 423-431.
- KITAJIMA, K. 1996. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: MULKEY, S. S.; CHAZDON, R. L. & SMITH, A.F. **Tropical Forest Plant Ecophysiology**. New York, Ed. Chapman & Hall. pp 559-595.
- KITAO, M., LEI, T.T., KOIKE, T., TOBITA, H. & MARUYAMA, Y. 2000. Susceptibility to photoinhibition of three deciduous broadleaf tree species with different successional traits raised under various light regimes. **Plant, Cell and Environment** 23:81-89.
- KLEIN, R. M. 1978. Mapa Fitogeográfico do Estado de Santa Catarina. **Flora Ilustrada Catarinense**, 24p.
- KLEIN, R. M. 1980. Ecologia da Flora e Vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia**, n°32, p.280-301.
- LEE, D.W., OBERBAUER, S.F., KRISHNAPILAY, B., MANSOR, M., MOHAMED, H. & YAP, S.K. 1997. Effects of irradiance and spectral quality on seedlings development of two Southeast Asian Hopea species. **Oecologia** 110:1-9.
- MALAVOLTA, E.1980. **Elementos de Nutrição Mineral em Plantas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres LTDA. 251p.
- MAKGOMOL, K. & SHEFFIELD E. 2001. Gametophyte morphology and ultrastructure of the extremely deep shade fern, *Trichomanes speciosum*. **New Phytologist**. 151:243-225
- MAUSETH, J.D. 1981. **Botany: An Introduction to Plant Biology**. U.S.A. International Edition. Saunders College Publishing. Holt, Rinehart and Winston, Inc.

- MELLO, F. A. F.; SOBRINHO, M. O. C. B.; ARZOLLA, S.; SILVEIRA, R. I.; NETTO, A. C. & KIEHL, J. C. 1989. **Fertilidade do Solo**. São Paulo: Editora Nobel. 400p.
- MENDOZA, A, PÉREZ-GARCIA, B., JARAMILLO, I. R. & RICCI, M. 1996-1997. Desarrollo del gametofito de *Pteris berteriana* (Pteridaceae: Pterideae). **Rev. Biol. Trop.** 44 (3)/45 (1): 51-7.
- MENDOZA, A., PÉREZ-GARCIA, B. & RIBA, R. 1999a. Morfología y anatomía del gametofito de *Didymachlaena truncatula* (Dryopteridaceae). **Rev. Biol. Trop.** 4 (1-2): 93-99.
- MENDOZA, A., PÉREZ-GARCIA, B. & RIBA, R. 1999b. Morfogénesis de la fase sexual del helecho *Arachniodes denticulata* (Dryopteridaceae). **Rev. Biol. Trop.** 47 (4): 791-797.
- MENDOZA, A., PÉREZ-GARCIA, B. & RIBA, R. 1999c. Desarrollo protálico de *Lygodium heterodoxum* y *Lygodium venustum* (Schizaeaceae). **Rev. Biol. Trop.** 47 (1-2): 83-92.
- MILLËR, J. H. 1968. Fern gametophytes as experimental material. **Botanical Review** 34: 361-440.
- MOHR, H. 1956. Die Abhängigkeit des Protonemawachstums und der Protonemaparität bei farmen vom licht. **Planta** 47: 127-156.
- NIINEMETS, U. & KULL, O. 1999. Biomass investment in leaf lamina versus lamina support in relation to growth irradiance and leaf size in temperate deciduous trees. **Tree Physiology** 19:349-358.
- OSUNKOYA, O.O. ASH, J.E.; HOPKINS, M.S.; GRAHAM, A.W. 1994. Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance in northern Queensland. **Journal of Ecology** 82: 149-163.
- PÉREZ-GARCIA, B. MENDONZA, A. & RIBA, R. 1994. Desarrollo gametofítico de *Metaxya rostrata* (Filicales: Metaxyaceae). **Rev. Biol. Trop.** 42(3): 455-60.
- PÉREZ-GARCIA, B., OROZCO-SEGOVIA, A. & RIBA, R. 1994. The effects of white fluorescent light, far-red light, darkness and moisture on spore germination of *Lygodium heterodoxum* (Schizaeaceae). **Amer. J. Bot.** 81(11): 1367-9.

- PÉREZ-GARCIA, B., FRAYLE, M. E. & MENDONZA, A. 1995. Desarrollo del gametofito de *Lophosoria quadripinnata* (Filicales: Lophosoriaceae). **Rev. Biol. Trop.** 43(1 - 3): 55-60.
- PÉREZ-GARCIA, B., MENDONZA, A. & RICCI, M. 1996. Morfogénesis de la fase sexual de *Blechnum chilense* & *Blechnum cycadifolium* (Pterophyta: Blechnaceae). **Rev. Biol. Trop.** 44 (2): 491-497.
- PÉREZ-GARCIA, B., RIBA, R. & RICCI, M. 1996-1997. Morfogénesis del gametofito de *Thelypteris rhachiflexuosa* Riba (Thelypteridaceae). **Acta bot. Mex.** 28: 63-9.
- PÉREZ-GARCIA, B., RIBA, R. & MENDONZA, A. 1998. Compared gametophytic development of three species of *Phlebodium* (Polypodiaceae, s. str.). **Rev. Biol. Trop.** 46(4): 1059-1067.
- PIO CORRÊA, M . 1931. **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, v. 2, pp. 209-210.
- POPMA, J. & BONGERS, F. 1991; Acclimation of seedlings of three Mexican tropical rain forest tree species to a change in light availability. **Journal of Tropical Ecology** 7: 85-97.
- QUIRK, H. & CHAMBERS, T. C. 1981. Drough tolerance in *Cheilanthes* with special reference to the gametophyte. **Fern Gaz.** 12: 121-129.
- RAGHAVAN, V. 1989.** Developmental biology of fern gametophytes – **Cambridge Univ. Press, Cambridge. 361pp.**
- RAMÍREZ, M. R. & PÉREZ-GARCÍA, B. 1998. Fase gametofítica del helecho *Microgramma nítida* (Polypodiaceae). **Rev. Biol. Trop.** 46(3): 587-93.

RANAL, M.A. 1995 .Estabelecimento de pteridófitas em mata mesófila semidecídua do Estado de São Paulo. 2. Natureza dos Substratos. **Rev. Brasil. Biol.** 55(4):583-594.

RANDI, A. M. 1996. Photosensitivity, viability and storage in spores of *Acrostichum danaeifolium* Langsd. & Fisch. (Pteridaceae). **Rev. Brasil. Bot.** 19 (1): 105-8.

RANDI, A. M. 1997. **Aspectos morfológicos, bioquímicos e citoquímicos durante a germinação de esporos de *Cyathea delgadii* Sternb.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 192p.

RANDI, A. M. & CROZIER, A. 1991. Gibberellins, indole-3-acetic acid and the germination of spores of the tree fern *Cyathea delgadii* Sternb. **Revta brasil. Bot.** 14:67-72.

RANDI, A. M. & FELIPPE, G.M. 1988a Mobilization of storage reserves during *Cyathea delgadii* spore germination. **Bot. Mag. Tokio** 101; 529-532.

RANDI, A. M. & FELIPPE, G.M. 1988b. Efeito do armazenamento de esporos, da aplicação de DCMU e da pré-embebição em PEG na germinação de *Cyathea delgadii*. **Ciência e Cultura.** 40 (5): 484-489.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. & EICHHORN, S. 2001. **Biologia Vegetal.** 6ª edição. Rio de Janeiro: Ed: Guanabara Koogan S.A. p. 434 a 447.

ROGGE, G. D. 1999. **Germinação, propagação “in vitro” e criopreservação de esporos de *Dicksonia sellowiana* (Presl) Hook.** Dissertação de mestrado (Biologia Vegetal). Universidade Federal de Santa Catarina.

ROGGE, G. D., VIANA, A. M. & RANDI, A. M. 2000. Cryopreservation of spores of *Dicksonia sellowiana*: An endangered tree fern indigenous to South and Central America. **Cryoletters** 21: 223-30.

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas Gerais**. EMBRAPA, 1998.

SANTOS, A. J. dos, 2002. **Análise da Cadeia Produtiva e Comercialização do Xaxim, *Dicksonia sellowiana*, no Estado do Paraná**. Curitiba. Dissertação de Mestrado (Economia e Política Florestal), Universidade Federal do Paraná.

SANTOS, A. J. dos; CHOTGUIS, J. & MIELKE, 2001. E. **Análise da cadeia produtiva do xaxim (*Dicksonia sellowiana*) no Estado do Paraná**. In: I Simpósio Ibero-Americano de Gestão e Economia Florestal. Porto Seguro-BA.

SANTOS, S. C. 1973. **Índios e Brancos no Sul do Brasil. A Dramática Experiência dos Xokleng**. Florianópolis, Edeme, 1ª ed., p. 61-62.

SALINO, A. 2000. Pteridófitas. In: MENDONÇA, M. P. & LINS, L. V. **Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de Extinção da Flora de Minas Gerais. Belo Horizonte**: Fundação Biodiversitas, Fundação Zoo-Botânica. Belo Horizonte. Pp. 7-103.

SATO, T. & SAKAI, A. 1979. Freezing resistance of gametophytes of the temperature fern, *Polystichum retro-paleaceum*. **Can. J. Bot.** 58: 1144-1148.

SATO, T. & SAKAI, A. 1981. Cold tolerance of gametophytes and sporophytes of some cool temperature ferns native to Hokkaido. **Can. J. Bot.** 59: 604-608.

SEHNEM, A. 1978. Ciateaceas. **Flora Ilustrada Catarinense-CIAT**. p.1-114.

SIMABUKURO, E. A. 2002. Onde os Gametófitos das Pteridófitas Crescem? In: ARRAÚJO, E. L.; MOURA, A. N.; SAMPAIO, E. V. S. B.; GESTINARI, L. M. S. & CARNEIRO, J. M. T. (eds). **Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco.

SYLVESTRE, L. S. & WINDISCH, P. G. 2001. Current conservation status of the *Asplenium* species in Brazil. **In: Fern Flora Worldwide: threats and responses. An International Symposium.** Abstracts. Guildford, UK. P. 25.

SWEET, H. C. & BOLTON, W. E. 1979. The surface decontamination of seeds to produce axenic seedlings. **Am. J. Bot.** 66: 692-698.

SONOIKE, K. 1996. Photoinhibition of photosystem I: Its physiological significance in the chilling sensitivity of plants. **Plant Cell Physiology** 37:239-247.

STOKEY, A. G. 1930. Prothallia of Cyatheaceae. **Bot. Gaz.** 90:1-45

TINOCO-OJANGUREN & C. PEARCY, R.W. 1995. A comparison of quality and quantity effects on the growth and steady-state dynamic photosynthetic characteristics of three tropical tree species. **Functional Ecology** 9:222-230.

TRYON, R.M. 1970. Development and evolution of ferns floras of Oceanic Islands. **Biotropica** 2 (2): 76-84.

TRYON, R.M. 1972. Endemic areas and geographic speciation in Tropical American ferns. **Biotropica** 4(3): 121-131.

TRYON, R. & TRYON, A. F. 1982. **Ferns and allied plants with special reference to Tropical America.** New York: Springer-Verlag. pp. 144-149.

TRYON, R.M. 1985. Fern speciation and biogeography. *In: DYER, A. F. & PAGE, C. N. (ed.). Proc. Roy. Soc. Of Edimburg.* P. 353-360.

VALLADARES, F.; ALLE, M.T. & PEARCY, R. 1997. Photosynthetic responses to dynamic light under field conditions in six tropical rainforest shrubs occurring along a light gradient. **Oecologia** 111:505-514.

YEH, D. M. & WANG, H. M. 2000. Effects of irradiance on growth, net photosynthesis and indoor performance of the shade-adapted plant, maidenhair fern. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** 75(3): 293-8.

WHITTIER, D. P. & MOYROUD, R. 1993. The promotion of spore germination and gametophyte development in *Ophioglossum palmatum* by low pH. **American Fern Journal**. 83(2): 41-46

WINDSCH, P. G. 2002. Pteridófitas do Brasil: Diversidade Crescente. In: ARRAÚJO, E. L.; MOURA, A. N.; SAMPAIO, E. V. S. B.; GESTINARI, L. M. S. & CARNEIRO, J. M. T. (eds). **Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco.

WINDISCH, P. G.; FERNANDES, I. 1998. Sobre a ocorrência de *Culcita coniifolia* (Hook.) Maxon (Dicksoniaceae) no Estado de São Paulo e a conservação de pteridófitas. **Bradea** 8 (39): 267-276.