



ELIANA AKIE SIMABUKURO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

MORFOLOGIA E GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE
PTERIDÓFITAS DA MATA CILIAR DA RESERVA BIOLÓGICA
DE MOJI-GUAÇU, SP.

*Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pela candidate Eliana
A. Simabukuro e aprovada pelo conselho
julgador.*

06/03/91

Freire

CAMPINAS

1991

Si41m

13593/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

ELIANA AKIE SIMABUKURO

MORFOLOGIA E GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE
PTERIDÓFITAS DA MATA CILIAR DA RESERVA BIOLÓGICA
DE MOJI-GUAÇU, SP.

TESE APRESENTADA AO INSTITUTO
DE BIOLOGIA DA UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE CAMPINAS PARA OB-
TENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS NA ÁREA DE
BIOLOGIA VEGETAL.

ORIENTADOR: DR. GIL MARTINS FELIPPE

CAMPINAS

1991

bc/7403350

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao meu irmão, Olavo,
e aos meus pais, Yesun e Yocico,
pelo amor, compreensão e incentivo,

DEDICO.

Tudo vale a pena,

quando a alma não é pequena.

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. Gil Martins Felipe, pela orientação, incentivo e amizade.
- Ao Dr. Luciano Maurício Esteves, pela orientação nos estudos palinológicos e pelas valiosas sugestões.
- Ao Dr. Paulo Windish, pela preciosa colaboração na identificação do material coletado.
- Ao Instituto de Botânica de São Paulo, na pessoa da diretora Dra. Marilza Cordeiro Marino e à Seção de Dicotiledôneas, na pessoa da chefe Dra. Hiroko Makino Watanabe, pelo estágio proporcionado.
- À Reserva Biológica de Moji-Guaçu e ao Instituto Florestal de Moji-Guaçu pela autorização das coletas feitas.
- À Jandira Ofélia Sebalho, pelo processamento fotográfico, com extrema dedicação.
- À Elzira Elisabeth Saviani e Kesler S.O. Bastos, pela amizade e auxílio na impressão da tese.

- Aos colegas Simone Montedioca, Silvia M.A. de Godoy, Regina Miyuki Sasaki e Felício Arasaki, pela amizade, incentivo e valiosas sugestões.
- À CAPES, pelo auxílio financeiro através da bolsa de mestrado.
- À todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

pág.

I	- INTRODUÇÃO.....	01
II	- MATERIAIS E MÉTODOS.....	09
	1 - Germinação.....	14
	2 - Morfologia	17
	3 - Carboidratos, lipídios e proteínas em esporos e gametófitos de <u>Cyathea delgadii</u> Sternb.....	23
III	- RESULTADOS.....	29
	1 - Morfologia	
	<u>Asplenium serra</u> Langsd. & Fisch.....	29
	<u>Blechnum brasiliense</u> Desv.....	33
	<u>Blechnum glandulosum</u> Link.....	35
	<u>Campyloneurum phyllitidis</u> Presl.....	38
	<u>Cyathea delgadii</u> Sternb.....	40
	<u>Polypodium ptilodum</u> Kunze var. <u>robustum</u> (Fée) A.M.Evans.....	42
	<u>Polypodium triseriales</u> Sw.....	45
	<u>Thelypteris chrisoides</u> (Fée) Morton.....	47
	<u>Thelypteris</u> sp.....	50
	2 - Germinação	
	<u>Asplenium serra</u> Langsd. & Fisch.....	52
	<u>Blechnum brasiliense</u> Desv.....	52
	<u>Blechnum glandulosum</u> Link.....	52
	<u>Campyloneurum phyllitidis</u> Presl.....	52

	pág.
<u>Cyathea delgadii</u> Sternb.....	58
<u>Polypodium ptilodum</u> Kunze var. <u>robustum</u> (Fée)	
A.M.Evanms.....	58
<u>Polypodium triseriales</u> Sw.....	58
<u>Thelypteris chrisoides</u> (Fée) Morton.....	58
<u>Thelypteris</u> sp.....	58
3 - Germinação e conteúdo de carboidratos, lipídios e proteínas de esporos de <u>Cyathea delgadii</u> Sternb....	65
IV - DISCUSSAO.....	80
V - RESUMO.....	94
VI - LITERATURA CITADA.....	96

ÍNDICE DE FIGURAS

pág.

Figura 1	- Esporos triletes.....	21
Figura 2	- Esporos monoletes.....	22
Figuras 3 a 7	- Esporos de <u>Asplenium serra</u> Langsd. & Fisch.	31
Figuras 8 a 11	- Esporos de <u>Blechnum brasiliense</u> Desv.....	31
Figuras 12 a 13	- Esporos de <u>Blechnum glandulosum</u> Link.....	36
Figuras 14 a 15	- Esporos de <u>Campyloneurum phyllitidis</u> Presl.	36
Figuras 16 a 19	- Esporos de <u>Cyathea delgadii</u> Sternb.....	36
Figuras 20 a 23	- Esporos de <u>Polypodium ptilodum</u> var. Kunze <u>robustum</u> (Fée) A.M.Evans.....	43
Figuras 24 a 26	- Esporos de <u>Polypodium triseriales</u> Sw.....	43
Figuras 27 a 31	- Esporos de <u>Thelypteris chrisoides</u> (Fée) Morton.....	48
Figuras 32 a 35	- Esporos de <u>Thelypteris</u> sp.....	48
Figura 36	- Germinação de esporos de <u>Asplenium serra</u> Langsd. & Fisch.....	54
Figura 37	- Germinação de esporos de <u>Blechnum</u> <u>brasiliense</u> Desv.....	55
Figura 38	- Germinação de esporos de <u>Blechnum</u> <u>glandulosum</u> Link.....	56
Figura 39	- Germinação de esporos de <u>Campyloneurum</u> <u>phyllitidis</u> Presl.....	57
Figura 40	- Germinação de esporos de <u>Cyathea delgadii</u> Sternb.....	59

Figura 41	- Germinação de esporos de <u>Polypodium</u> <u>ptilodum</u> Kunze var. <u>robustum</u> (Fée) A.M. Evans	60
Figura 42	- Germinação de esporos de <u>Polypodium</u> <u>triseriales</u> Sw.....	61
Figura 43	- Germinação de esporos de <u>Thelypteris</u> <u>chrisoides</u> (Fée) Morton.....	62
Figura 44	- Germinação de esporos de <u>Thelypteris</u> sp....	63
Figura 45	- Curvas de germinação de esporos de <u>Cyathea</u> <u>delgadii</u> coletados no mês de maio e armaze- nados por 46, 54, 58, 73 e 125 dias, sob luz contínua e temperatura de 25°C.....	66
Figura 46	- Curvas de germinação de esporos de <u>Cyathea</u> <u>delgadii</u> , em luz e escuro contínuos e tem- peratura constante de 25°C, armazenados por 148, 177, 231, 272 dias (coletas feitas em maio, abril, janeiro e dezembro, respecti- vamente).....	68
Figura 47	- Conteúdo de açúcares solúveis totais e amido em esporos secos (dia 0) de <u>Cyathea delgadii</u> , durante embebição e germinação, sob luz cons- tante e após 10 dias em escuro.....	75
Figura 48	- Conteúdo de lipídios em esporos secos (dia 0), de <u>Cyathea delgadii</u> , durante embebição e ger- minação, sob luz constante e após 10 dias em escuro.....	78

Figura 49

- Conteúdo de proteínas solúveis em esporos secos (dia 0) de Cyathea delgadii, durante embebição e germinação, sob luz constante após 10 dias em escuro..... 79

ÍNDICE DE TABELAS

pág.

Tabela 1 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Asplenium serra</u> Langsd. & Fisch.....	32
Tabela 2 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Blechnum</u> <u>brasiliense</u> Desv.....	34
Tabela 3 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Blechnum</u> <u>brasiliense</u> Desv.....	34
Tabela 4 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Blechnum</u> <u>glandulosum</u> Link.....	37
Tabela 5 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Blechnum</u> <u>glandulosum</u> Link.....	37
Tabela 6 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Campyloneurum</u> <u>phyllitidis</u> Presl.....	39
Tabela 7 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Campyloneurum phyllitidis</u> Presl.....	39
Tabela 8 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Cyathea delgadii</u> Sternb.....	41
Tabela 9 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Cyathea</u> <u>delgadii</u> Sternb.....	41
Tabela 10 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Polypodium ptilodum</u> Kunze var. <u>robustum</u> (Fée) A.M. Evans.....	44
Tabela 11 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Polypodium</u> <u>ptilodum</u> Kunze var. <u>robustum</u> (Fée) A.M.Evans.....	44

pág.

Tabela 12 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Polypodium</u> <u>triseriales</u> Sw.....	46
Tabela 13 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Polypodium</u> <u>triseriales</u> Sw.....	46
Tabela 14 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Thelypteris</u> <u>chrisoides</u> (Fée) Morton.....	49
Tabela 15 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Thelypteris</u> <u>chrisoides</u> (Fée) Morton.....	49
Tabela 16 - Medidas dos esporos (μm) de <u>Thelypteris</u> sp.....	51
Tabela 17 - Medidas da parede de esporos (μm) de <u>Thelypteris</u> sp.....	51
Tabela 18 - Velocidade de germinação para as nove espécies de pteridófitas estudadas.....	53
Tabela 19 - Velocidade de germinação para esporos de <u>Cyathea</u> <u>delgadii</u> coletados no mês de maio e armazenados por 46, 54, 58, 73 e 125 dias.....	67
Tabela 20 - Velocidade de germinação para esporos de <u>Cyathea</u> <u>delgadii</u> armazenados por 148, 177, 231 e 272 dias em escuro e 4°C.....	69
Tabela 21 - Conteúdo de açúcares solúveis totais e amido em esporos secos de <u>Cyathea delgadii</u> armazenados em escuro e 4°C.....	71
Tabela 22 - Conteúdo de lipídios totais em esporos secos de <u>Cyathea delgadii</u> armazenados em escuro e 4°C.....	72

pág.

- Tabela 23 - Conteúdo de proteínas solúveis totais em esporos de Cyathea delgadii armazenados em escuro e 4°C . 73
- Tabela 24 - Conteúdo de fenóis de esporos secos de Cyathea delgadii extraídos em etanol, éter dietílico e hidróxido de sódio..... 74
- Tabela 25 - Conteúdo de açúcares solúveis totais, amido, lipídios totais e proteínas solúveis totais (ug . mg⁻¹ de esporos) em esporos de Cyathea delgadii secos e após dez dias em luz e escuro... 77

I - INTRODUÇÃO

As matas ciliares, florestas latifoliadas higrófilas ("sensu stricto"), ocorrem em áreas restritas, ao longo dos cursos de água, em locais de solos úmidos ou até mesmo encharcados, sujeitos a inundações periódicas (LEITAO FILHO, 1982). A largura da faixa ciliar e a fisionomia da vegetação estão relacionadas com fatores hídricos do solo e a sua natureza, como também com as características do traçado do curso de água somadas ao grau de declividade das margens (SALVADOR, 1987). No interior do Estado de São Paulo, a mata ciliar deve apresentar ecótonos com a mata de planalto e com os cerrados (KOTCHETKOFF-HENRIQUES, 1989). A diversidade não é tão alta, quando comparada com aquelas encontradas nas matas de planalto e atlântica (LEITAO FILHO, 1982).

Kageyama *et al.* (1986, *in* SALVADOR, 1987) destacam a função protetora das matas ciliares aos mananciais hídricos, quanto à possível ação de agentes contaminantes da qualidade da água (adubos, defensivos agrícolas, sedimentos e outros). Além disto, elas contribuem para a regularização dos regimes hídricos através dos lençóis freáticos, a estabilidade dos solos marginais evitando os processos erosivos e de assoreamento, o desenvolvimento e o sustento dos organismos aquáticos e da fauna silvestre ribeirinha.

No Estado de São Paulo, estudos florísticos e fitossociológicos em mata ciliar vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos, destacando-se os trabalhos de CAMARGO *et al.* (1971), GIBBS & LEITAO FILHO (1978), BERTONI (1984) e KOTCHETKOFF-HENRIQUES

(1989).

Ainda são poucos os trabalhos de levantamento das espécies de pteridófitas presentes em mata ciliar. No Estado de São Paulo, PEREIRA-NORONHA (1989) encontrou dezessete espécies na Mata da Figueira (rio Moju-Guaçu, Reserva do Instituto Florestal de Moji-Guaçu, Martinho Prado) e dez espécies na mata ciliar do Ribeirão Passa Cinco (afluente do rio Corumbataí, Ipeúna).

A Reserva Biológica de Moji-Guaçu (SP) apresenta uma área de 4.609.450 m² coberta com a vegetação que varia de cerrado para cerradão e mata (DE VUONO et al., 1982). A mata ciliar está limitada à faixa que acompanha o curso dos riachos que desaguam no rio Moji-Guaçu. Na mata da Figueira, próxima à reserva e margeando o rio Moji-Guaçu, GIBBS & LEITAO FILHO (1978) observaram 59 espécies arbóreas. PEREIRA-NORONHA (1989) apresentou para essa mata as seguintes espécies de pteridófitas: Adiantum petiolatum Desv., Adiantopsis radiata (L.) Fée, Anemia phyllitidis (L.) Sw., Asplenium sp. (Pereira-Noronha, 244), Cheilanthes concolor (Langsd. & Fisch.) Kuhn, Dryopteris dentata (Forssk.) C. Chr., Dryopteris serrata (Cav.) C. Chr., Polypodium latipes Langsd. & Fisch., Polypodium lindbergii Mett., Polypodium pleopeltifolium Raddi, Polypodium polypodioides (L.) Watt., Polypodium squamulosum Kaulf., Polypodium vacciifolium Langsd. & Fisch., Pteris denticulata Sw., Pteris propinqua Ag., Sellaginella sp. (Pereira-Noronha, 261) e Tectaria incisa Cav.

Em vários países o estudo da morfologia dos esporos de pteridófitas tem sido bem difundido. Vários gêneros como

Asplenium, Blechnum (NAYAR & DEVI, 1964a), Cheilathes (KNOBLOCK et al., 1970; NAYAR & KNOBLOCK, 1971), Notholaena (NAYAR & KNOBLOCK, 1971), Lophosoria, Metaxya, Sphaeropteris, Alsophila, Nephelea (GASTONY & TRYON, 1976) e Trichipteris (GASTONY, 1979) encontram-se detalhadamente descritos. No Brasil, no entanto, poucas espécies foram estudadas, entre elas Trichipteris corcovadensis (ESTEVES et al., 1985), Adiantum serratodentatum, Dorvopteris concolor, Anemia flexuosa, Anemia raddiana, Polypodium hirsutissimum, Polypodium latipes, Polypodium pleopeltifolium, Polypodium polypodioides e Polypodium squamulosum (ESTEVES, 1989).

A parede dos esporos é formada por intina, exina ou esclerina e perina ou perisporo. A exina é formada pela nexina (camada interna) e pela sexina (camada externa), parte esculpturada da exina. A perina ou perisporo é uma camada que pode estar presente ou não envolvendo a exina. Segundo Bower (1923 in KNOBLOCK et al., 1970) trata-se de material depositado por um tapete plasmodial que envolve cada esporo logo após a divisão da célula-mãe de esporo. Em algumas samambaias mais primitivas o material é absorvido, enquanto que em certas espécies mais evoluídas, o depósito pode permanecer. Não há abertura verdadeira, mas cicatrizes na face proximal resultantes da união dos esporos na tétrade, durante o processo de meiose. Os termos monolete e trilete são usados para esporos que apresentam uma cicatriz e três cicatrizes radiais, unidas no pólo proximal, respectivamente (ERDTMAN, 1971). A importância da morfologia dos esporos tem sido reconhe-

cida para estudos de taxonomia (PAL & PAL, 1970).

Embora o primeiro trabalho mostrando o ciclo de vida completo das pteridófitas tenha sido publicado por Kaulfuss em 1827 (in ESTEVES, 1984), o conceito de germinação de esporos, até há pouco tempo, não era bem definido. Alguns autores como Piebiykowska em 1962, Weinberg & Woller em 1969 (in RAGHAVAN, 1980) associaram a quebra da exina com a germinação. No entanto, Sugai & Furuya (1967) e Lloyd & Klekowski (1970 in RAGHAVAN, 1980), RAGHAVAN (1970 E 1973), TOWILL & IKUMA (1973) e SMITH & ROBSON (1975) usaram o termo protrusão inclusa do rizóide. MOHR et al. (1964) separaram a germinação de esporos em dois estádios envolvendo, respectivamente, quebra de exina e protrusão do rizóide. O problema de conceituação acentua-se em esporos que requerem luz para germinar, mas durante o período de pré-indução (escuro) apresentam exina rompida sem de fato terem germinado.

A germinação de esporos de pteridófitas é dividida em três estádios: pré-indução, indução e pós-indução. A pré-indução pode ocorrer no escuro e inicia-se com a exposição do esporo à água, condições aeróbicas e temperaturas adequadas. Esta fase pode durar de 3 a 36 horas sendo responsável pelo estabelecimento e manutenção da sensibilidade à luz. A indução é o período em que os esporos necessitam de luz para desencadear o processo de germinação. Foi demonstrado com Onoclea sensibilis que a indução não requer oxigênio e é independente da temperatura. Já a pós-indução, a fase terminal, não requer luz, mas necessita de oxigênio e temperaturas adequadas, exigências estas que diferem da fase de

pré-indução. É nesta fase que ocorre grande síntese de proteínas e ácidos nucléicos (TOWILL & IKUMA 1975a; CHEN & IKUMA, 1979).

As proteínas sintetizadas durante a pré-indução no escuro são responsáveis pela manutenção da fotossensibilidade. Várias espécies de pteridófitas só germinam na presença de luz. Das 88 espécies estudadas por MILLER (1968), apenas 7 espécies germinaram no escuro. No estudo de pteridófitas de cerrado ESTEVES & FELIPPE (1985) encontraram germinação no escuro em Polypodium pleopeltifolium e Polypodium polipodioides sempre inferior à ocorrida em luz. WITTIER (1973) observou Bothrychium dissectum germinando somente no escuro. Onoclea sensibilis é fotoblástica positiva, mas perde sua sensibilidade à luz após estocagem de 2 meses (MILLER, 1968).

Os comprimentos de onda do espectro visível que promovem maior taxa de germinação encontram-se, na maioria das espécies, na faixa da luz vermelha. A indução por luz vermelha pode ser revertida pelo vermelho-extremo (sistema fitocromo), como é observado em Pteris vittata (SUGAI & FURUYA, 1967), Asplenium nidus (RAGHAVAN, 1971), Cheilanthes farinosa (RAGHAVAN, 1973), Lygodium japonicum (SUGAI et al., 1977), Thelypteris kunthii (HUCKABY & RAGHAVAN, 1981) e Cyathea delgadii (MARCONDES-FERREIRA & FELIPPE, 1984; RANDI & FELIPPE, 1988a), ou não sofrer alteração como em Onoclea sensibilis (TOWILL & IKUMA, 1973).

Tem sido observado que esporos não clorofilados e clorofilados apresentam diferenças em conteúdo de água, velocidade de germinação e viabilidade. Os esporos de espécies como Blechnum

spicant (L.) Roth, Dryopteris pseudo-mas (Woll.) Holub e Poujar (= D. borreri Newm.), Isoetes echinospora Dur, Lycopodium annotinum (L.), Polypodium vulgare (L.) e Selaginella selaginoides (L.) Link. são clorofilados, de baixo conteúdo de água (valores inferiores a 5%) e permanecem viáveis por longos períodos. Por outro lado, esporos de espécies clorofiladas como Equisetum e Matteuccia apresentam alto conteúdo de água, são viáveis por curto período mas germinam rapidamente sobre condições ideais (CRAN, 1979).

Para DeMAGGIO & STETLER (1980) não há evidências para uma simples correlação entre presença de clorofila e conteúdo de reservas pois esporos de Osmunda regalis são clorofilados e têm pouco lipídios enquanto que os esporos de Polypodium vulgare também são clorofilados e têm bastante lipídios. No entanto, CRAN (1979) afirma que os esporos com pouco conteúdo de água apresentam lipídios como material de reserva predominante. O conteúdo lipídico é muito variado, podendo ser inferior a 50% do peso como é o caso de Dryopteris pseudo-mas (20%), Onoclea e Matteuccia (27%), Dryopteris (40%), Pteris vittata (42%) e Cyathea delgadii com 43% (CRAN, 1979; DeMAGGIO & STETLER, 1985; GEMMRICH, 1980; RANDI & FELIPPE, 1988c); superior como em Anemia phyllitidis (56%) (GEMMRICH, 1977) ou próximo de 50% como em Polypodium latipes e Thelypteris dentata (SEILHEIMER, 1978; ESTEVES, 1989).

Para a completa degradação do lipídio, Anemia phyllitidis necessita de estímulo permanente por luz ou por giberelina (GEMMRICH, 1982). Teste com luz vermelha e GA₃ mostraram

que ambos atuam na ativação da lipase e isocitrato-liase, mas a luz vermelha promove uma maior degradação. GA₃ aplicado no escuro não atua promovendo degradação de lipídios.

As proteínas são importante material de reserva em esporos de algumas espécies de pteridófitas com em Matteuccia struthiopteris (TEMPLEMANT et al., 1987), Onoclea sensibilis (TOWILL & IKUMA, 1975b) e Dryopteris (DeMAGGIO & STETLER, 1985), apresentando 20, 23 e 5% de proteína respectivamente.

Foi observado em Pteris aquilinum um aumento, pequeno e lento, de RNA durante as três horas iniciais de embebição. Através de inibidores de síntese protéica e de RNA, foi observado que os esporos necessitaram de síntese protéica contínua para o crescimento do rizóide. Haveria mensageiros pré-formados os quais contém um programa de informações necessárias para codificar as primeiras proteínas (RAGHAVAN, 1977).

COHEN & DeMAGGIO (1986) observaram proteínas solúveis em Matteuccia struthiopteris decrescendo durante o período de embebição e acompanhado por um aumento do nível de aminoácidos livres.

Embora lipídios e proteínas sejam os produtos de reserva mais comuns em esporos, há uma presença múltipla de substâncias estocadas, como em sementes de plantas superiores. Em Onoclea, observou-se que sacarose é utilizada durante a germinação, enquanto lipídios são utilizados durante o desenvolvimento inicial do gametófito (TOWILL, 1985). Um aumento do amido ocorre paralelamente à degradação de sacarose (TOWILL, 1980).

OBJETIVOS

Poucos são os trabalhos sobre morfologia e germinação de esporos de pteridófitas no Brasil. Este trabalho tem como objetivos o estudo morfopalinológico e a germinação dos esporos de algumas espécies presentes em mata ciliar. Do levantamento prévio sobre as espécies de pteridófitas realizado, foram escolhidas as nove espécies mais representativas e com grande número de esporos.

Uma das espécies que ocorre na mata ciliar da Reserva Biológica da Fazenda Campininha é a Cyathea delgadii. Estudos fisiológicos sobre o papel da luz e temperatura já foram feitos nesta espécie (MARCONDES-FERREIRA, 1983; MARCONDES-FERREIRA & FELIPPE, 1984; RANDI, 1987; RANDI & FELIPPE, 1988a,b,c). Um outro objetivo deste trabalho é determinar o conteúdo de carboidratos, lipídios e proteínas de esporos para tentar mostrar qual desses grupos funciona como material de reserva durante a germinação.

II- MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas pteridófitas na mata ciliar da Reserva Florestal de Moji-Guaçu (22°18'S e 47°11'W), localizada na vila de Martinho Prado, Moji-Guaçu (SP) (EITEN, 1963). A reserva é subdividida em duas glebas designadas área A, composta de setores destinados a pesquisa e estudo e, área B, setor intocável (DE VUONO *et al.*, 1982). Desta forma, as coletas foram realizadas exclusivamente na mata ciliar que se encontra presente na área A ao longo dos córregos do Cortado e da Mariana.

Os materiais coletados foram identificados pelo Dr. Paulo Windish e estão incorporados ao herbário do Departamento de Botânica - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UEC).

No levantamento da espécies de pteridófitas, foram observadas as seguintes espécies:

- Aspleniaceae

- Asplenium serra Langsd. & Fisch: E.A.SIMABUKURO 13*, UEC 52146; E.A.SIMABUKURO 35, UEC 52145.

- Blechnaceae

- Blechnum brasiliense Desv.: E.A.SIMABUKURO 4, UEC 52143; E.A.SIMABUKURO 9*, UEC 52147; E.A.SIMABUKURO 30, UEC 52144.

- Blechnum glandulosum Link: E.A.SIMABUKURO 12*, UEC 52148.
- Blechnum raddianum Ros.: E.A.SIMABUKURO 86.
- Blechnum serrulatum: E.A.SIMABUKURO 6, UEC 52142.
- Salpichaena volubilis (Kaulf.) Hooker (= Blechnum volubele Kaulf.): E.A.SIMABUKURO 15, UEC 52132; E.A.SIMABUKURO 50, UEC 52134.

- Cyatheaceae
 - Cyathea delgadii Sternb.: E.A.SIMABUKURO 7*, UEC 52126; E.A.SIMABUKURO 32, UEC 52211, E.A.SIMABUKURO 54*, E.A.SIMABUKURO 55, E.A.SIMABUKURO 56, E.A.SIMABUKURO 57, E.A.SIMABUKURO 58, E.A.SIMABUKURO 59.

 - Trichipteris phalerata (Mart.) Barr. (= Cyathea phalerata (Mart.)): E.A.SIMABUKURO 53, UEC 52129.

- Dennstaedtiaceae
 - Lindsae lancea (L.) Beddome: E.A.SIMABUKURO 14, UEC 52150; A.KLEIN 11; A.KLEIN 46, UEC 37095.

 - Lindsae quadrangularis Raddi: E.A.SIMABUKURO 8, UEC 52136; E.A.SIMABUKURO 11, UEC 52138.

 - Pteridium aquilinum (L.) Kuhn var. arachnoideum (Kaulf.) Brade: L.M.ESTEVES 68, UEC 36923.

- Dryopteridaceae

- Cyclodium meniscioides var. meniscioides Presl: E.A.SIMABUKURO 5, UEC 52152; E.A.SIMABUKURO 19, UEC 52139; E.A.SIMABUKURO 33, UEC 52149.

- Gleicheniaceae

- Dicranopteris flexuosa (Schrad.) Underw. (= Gleichenia flexuosa (Fée): L.M.ESTEVES 67, UEC 36928; E.A.SIMABUKURO 87.

- Hymenophyllaceae

- Trichomanes cristatum Kaulf.: A.KLEIN 38, UEC 37104; L.M.ESTEVES 65, UEC 36943.
- Trichomanes emarginatum Pr.: L.M.ESTEVES 72, UEC 36938.

- Lycopodiaceae

- Lycopodiella cernua (L.) Picchi-Ser.: A.KLEIN 38, UEC 37104; L.M.ESTEVES 65, UEC 36943.

- Osmundaceae

- Osmunda cinnamomea L.: A.KLEIN 42, UEC 37093.
- Osmunda regalis R.: A.KLEIN 44, UEC 37092.

- Polypodiaceae

- Campyloneurum phyllitidis (L.) Presl: E.A.SIMABUKURO 2*, UEC 52141; E.A.SIMABUKURO 51, UEC 52140.

- Polypodium fraxinifolium Jacq.: A.KLEIN 9; L.M.ESTEVES 71, UEC 37108.
- Polypodium polipodioides (L.) Watt.: E.A.SIMABUKURO 76.
- Polypodium pleopeltifolium Raddi: L.M.ESTEVES 105, UEC 37141.
- Polypodium pleopeltis angusta Willd.: E.A.SIMABUKURO 77.
- Polypodium ptilodum Kunze var. robustum (Fée) A.M.Evans (= Polypodium robustum (Fée)): E.A.SIMABUKURO 18*, UEC 52135.
- Polypodium squamulosum Kaulf.: L.M.ESTEVES 100, UEC 37135.
- Polypodium triseriales Sw.: E.A.SIMABUKURO 1*, UEC 52133; E.A.SIMABUKURO 17, UEC 52151; E.A.SIMABUKURO 34, UEC 52137.

- Pteridaceae
 - Pityrogramma calomelanos (L.) Link: L.M.ESTEVES 64, UEC 36942.

- Thelypteridaceae
 - Thelypteris chrisoides (Fée) Morton: E.A.SIMABUKURO 3*, UEC 52128; E.A.SIMABUKURO 10, UEC 52130; E.A.SIMABUKURO 16, UEC 52127; E.A.SIMABUKURO 31, UEC 52131.
 - Thelypteris salzmanni (Fée) Morton: A.KLEIN 39, UEC 37101.

- Thelypteris serrata (Cav.) Alston: A.KLEIN 30, UEC 36922; A.KLEIN 27, UEC 36930.
- Thelypteris totta (Thunb.) Schelpe: L.M.ESTEVES 63.
- Thelypteris sp: E.A.SIMABUKURO 36*.

Em virtude do grande número de espécies encontradas, foram escolhidas para o estudo da germinação e morfologia dos esporos apenas as espécies mais representativas e com maior número de esporos. São elas:

- Asplenium serra Langsd. & Fisch
- Blechnum brasiliense Desv.
- Blechnum glandulosum Link
- Campyloneurum phyllitidis Presl
- Cyathea delgadii Sternb.
- Polypodium ptilodum Kunze var. robustum (Fée) A.M. Evans
- Polypodium triseriales Sw.
- Thelypteris chrisoides (Fée) Morton
- Thelypteris sp

Observação: o estudo morfopalinológico foi realizado apenas nos exemplares marcados com *.

1- Germinação dos esporos

As folhas férteis dos esporófitos foram coletadas e postas para secar sobre uma folha de papel à temperatura ambiente. Com este procedimento, os esporângios abriram e o material solto foi coletado. Para separar os esporos dos resíduos (tecidos da folha e da parede dos esporângios), o material foi peneirado em uma folha de lenço de papel (RANDI, 1987). Os esporos foram armazenados em vidros hermeticamente fechados, envoltos em papel alumínio e mantidos em geladeira a 4°C (ESTEVES, 1984).

Os esporos foram esterilizados segundo o método de DYER (1979) modificado, momentos antes da montagem dos experimentos. O material permaneceu 2 minutos em hipoclorito de cálcio (0,5%) e em seguida foi centrifugado por 10 minutos a 1000rpm (19,0 g). O sobrenadante foi retirado cuidadosamente com auxílio de uma pipeta Pasteur e descartado. Em seguida, os esporos foram lavados duas vezes com água (destilada e autoclavada), ressuspensos e filtrados a vácuo em papel de filtro, deixando-se passar ar até os esporos secarem por completo (ESTEVES, 1984).

Os experimentos foram montados em meio de cultura líquido de Mohr (1956) modificado por Dyer (in DYER, 1979):

MgSO ₄ . 7 H ₂ O	510 mg/l
KNO ₃	120 mg/l
Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	1440 mg/l
KH ₂ PO ₄	250 mg/l
FeSO ₄ . 7 H ₂ O + Na ₂ EDTA	1 ml/l

A solução de ferro foi acrescida ao meio de cultura somente no momento do ensaio. Esta solução foi preparada com 33,2g de Na_2EDTA , 3,65g de NaOH e 25g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ para um litro de água destilada.

O material utilizado no preparo do meio de cultura foi autoclavado por 20 minutos a 120°C e manipulado em câmara asséptica. Após a autoclavagem, foram adicionadas 100 unidades de nistatina para cada ml de meio de cultura.

Os esporos (cerca de 15mg) foram semeados em erlenmeyer de 125 ml contendo 25 ml de meio de cultura. Os frascos permaneceram em câmara de crescimento à temperatura constante de 25°C .

As contagens foram feitas utilizando-se microscópio binocular ZEISS, em aumento de 100 vezes. Os esporos foram removidos do meio de cultura utilizando-se o lado superior da pipeta Pasteur, colocada em contato com a superfície da solução, onde flutuavam. O conteúdo retido na pipeta Pasteur foi soprado sobre uma lâmina de vidro e recoberto por lamínula. Foram considerados germinados os esporos que apresentaram protrusão do rizóide.

Foram determinadas as curvas de germinação, sob tratamento de luz e escuro constante. Em luz, foram utilizadas duas lâmpadas fluorescentes brancas (240 uW.cm^2 na altura dos frascos) e o escuro foi simulado com o envolvimento dos erlenmeyers em dois sacos de plástico preto. A temperatura foi sempre 25°C .

As contagens de germinação foram feitas diariamente através de dois métodos. Método A: para as espécies em que um número grande de esporos foi coletado, foram montados três erlenme-

yers para cada dia (descartando o material diariamente). De cada erlenmeyer foram montadas duas lâminas onde foram contados 100 esporos e observado o número de germinados. Método B: com as espécies em que se obteve número reduzido de esporos, foram montados três erlenmeyers. A cada dia foi retirado material para a montagem de duas lâminas por erlenmeyer (em câmara asséptica). Em cada lâmina, foram contados todos os esporos presentes e a seguir os esporos germinados. Com estes dados é possível determinar a porcentagem de esporos germinados por lâmina. Foram considerados esporos germinados aqueles que apresentaram protrusão de rizóide.

Para testar a validade dos dois métodos, foi feito um teste com esporos de Cyathea delgadii. Os esporos foram contados pelos dois métodos no sétimo dia após o início do experimento (esporos permaneceram em luz fluorescente branca constante). Os resultados foram $A = 68,42 \pm 6,06\%$ e $B = 67,44 \pm 8,09\%$ de germinação. O teste de comparação de médias indicou que os resultados obtidos pelos métodos A e B são estatisticamente iguais.

Os experimentos de germinação foram encerrados após a estabilização da curva. Foi considerada curva estabilizada aquela que apresentou três valores estatisticamente iguais. Aplicou-se, nesta fase, análise de variância pelo teste $F_{0,1\%}$ (DMS 5%, pelo método de Tukey) (SNEDECOR, 1962). Os valores obtidos em porcentagem foram transformados em valor angular (arco seno $\sqrt{\%}$).

Foi feita a análise de regressão (com dados em porcentagem), da fase log da curva de germinação, obtendo-se a inclinação da reta (b), que foi considerada como velocidade de germina-

ção.

2- Morfologia de esporos

Os termos utilizados para a descrição da morfologia dos esporos são de BARTH & MELHEM (1988).

Os esporos utilizados no estudo de morfologia foram coletados de plantas herborizadas. Folíolos de partes das folhas férteis foram guardados em envelopes de papel, em temperatura ambiente.

Os esporos liberados foram preparados pelo método de acetólise (ERDTMAN, 1969), a fim de eliminar o material protoplasmático, deixando-os reduzidos à exina transparente. O tempo de acetólise variou conforme as necessidades da espécie em estudo. A técnica de NaOH (hidróxido de sódio) foi empregada em materiais que apresentaram perina fortemente aderida.

A técnica de acetólise consiste na hidrólise ácida do material. Primeiramente os esporos são colocados em 5,0 ml de ácido acético glacial por um período mínimo de 24 horas. Centrifuga-se por 10 minutos a 2000 rpm (482g) e descarta-se o sobrenadante. Em seguida, os esporos são submetidos à mistura de acetólise, que é formada por 9 partes de anidrido acético para 1 parte de ácido sulfúrico. A mistura de acetólise é preparada na hora do uso e levada ao banho maria ($\pm 100^{\circ}\text{C}$) com os esporos, por um período que varia conforme a espécie (em geral dois minutos). Teve-se o cuidado de agitar o material com bastão de vidro

para evitar fervura.

A mistura de acetólise é eliminada por centrifugação (10 minutos a 2000 rpm), descartando-se o sobrenadante. Os esporos são lavados com água destilada, acrescida de três gotas de álcool etílico (centrifugação e decantação). São, a seguir, imersos na mistura de glicerina pura e água destilada (1:1 - v/v) por um período que pode variar de 30 minutos a 24 horas. Após este período, centrifuga-se e descarta-se o sobrenadante; os tubos são emborcados sobre papel de filtro.

As lâminas são montadas com gelatina glicerinada, preparada segundo o método de Kisser (*in* ERDTMAN, 1971). Com um estilete esterilizado, pequenos pedaços de gelatina glicerinada são levados ao fundo dos tubos e os esporos aderem a eles. A gelatina é posta em uma lâmina de microscópio e aquecida em placa aquecedora até a fusão. Retira-se a lâmina da placa aquecedora e somente após a gelatina esfriar, a laminula é depositada. Este cuidado é para evitar deformações nos esporos (MELHEM & MATOS, 1972).

Sobre placa aquecedora, as laminulas são lutadas com parafina (Müller, 1950 *in* ERDTMAN, 1952). A parafina penetra por capilaridade, preenchendo os espaços entre a lâmina e laminula e, contornando a preparação de gelatina glicerinada. As lâminas são retiradas da placa aquecedora e invertidas, de forma que a laminula fique voltada para o papel de filtro. Este processo faz com que os esporos depositem junto à laminula, facilitando a observação ao microscópio. Na limpeza das lâminas, retirou-se o excesso de parafina com gilete e utilizou-se o xilol.

Esporos acetolisados não utilizados imediatamente na preparação de lâminas podem ser estocados adicionando-se 2 ml de glicerina pura no tubo de ensaio.

Para a técnica de NaOH, os esporos passam pelas etapas acima citadas (com exceção da mistura de acetólise). Os esporos são imersos em NaOH (1N) e levados ao banho maria. O processo de retirada da perina é monitorada de tempos em tempos no microscópio óptico. Este período varia de um a alguns minutos, conforme a espécie (GASTONY, 1974).

As medidas foram feitas em um microscópio binocular ZEISS G.F.L., com o auxílio de uma ocular micrométrica de tambor giratório.

As medidas de tamanho foram feitas ao acaso, em 25 esporos acetolisados, distribuídos em pelo menos três lâminas, visando uma uniformidade da amostra (SALGADO-LABOURIAU *et al.*, 1965). Medidas de parede e margem da lesão foram feitas apenas em 10 esporos, por serem medidas de baixa precisão.

Os esporos foram medidos no máximo sete dias após o preparo da lâmina. Este cuidado foi tomado para evitar o inchamento do esporo, como foi observado em grãos de pólen por MELHEM & MATOS (1972).

As medidas foram padronizadas segundo os esquemas apresentados nas figuras 1 e 2.

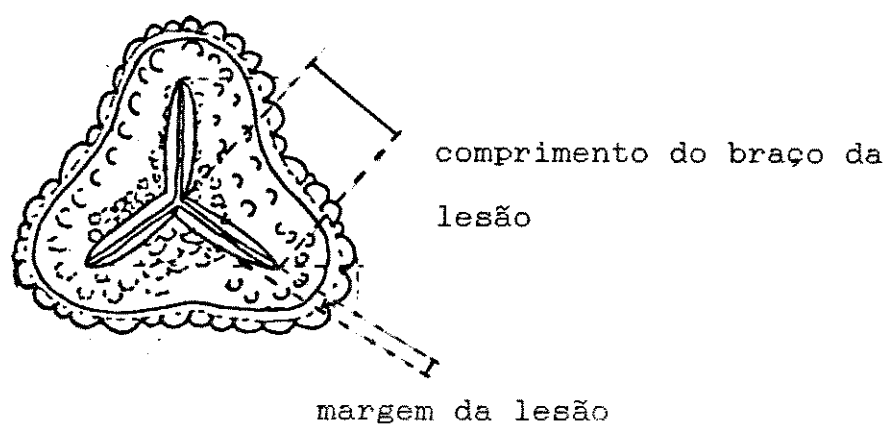
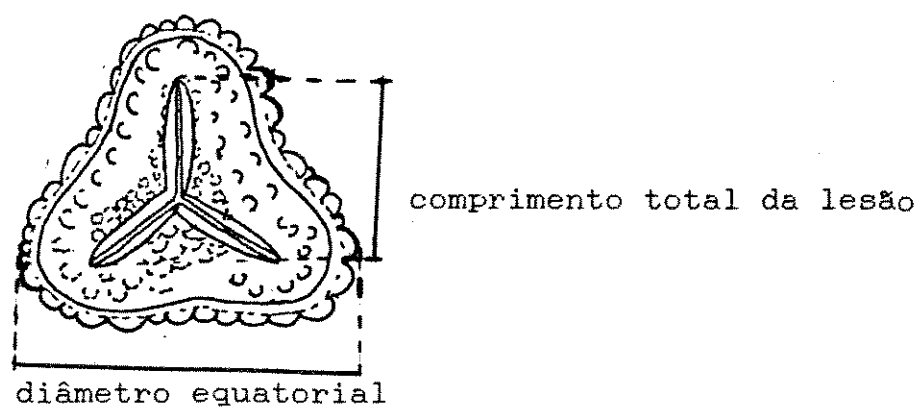
Neste trabalho foram observadas a perina e exina. Em exina, a camada mais externa foi chamada de sexina e a interna de nexina. Na presença de exina estratificada em três camadas, de-

signou-se sexina (camada mais externa), nexina 2 (camada intermediária) e nexina 1 (camada mais interna).

Para obtenção das fotomicrografias foi utilizado fotomicroscópio Olympus Vanox com câmara de exposição automática incorporada. Utilizou-se filme Kodak Panatomic-X, asa 32, branco e preto. A fim de salientar detalhes, foi empregado o filtro verde.

Para as medidas dos esporos, calculou-se a média aritmética ($\bar{x}$), o desvio padrão da média ($s_{\bar{x}}$), desvio padrão da amostra (s), coeficiente de variação (c.v.) e intervalo de confiança a 95% (SNEDECOR, 1962). Os resultados dessa análise estatística são apresentados em tabelas.

Vista polar proximal



Vista equatorial

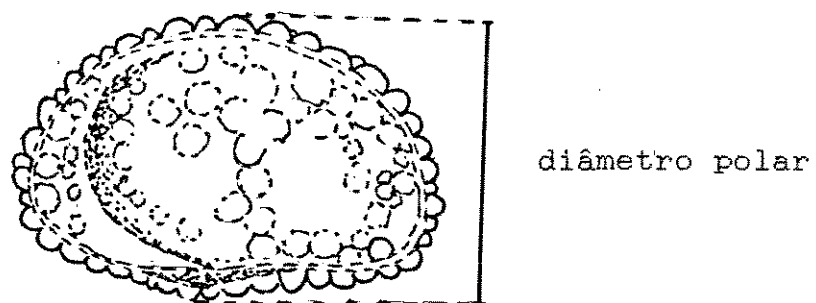
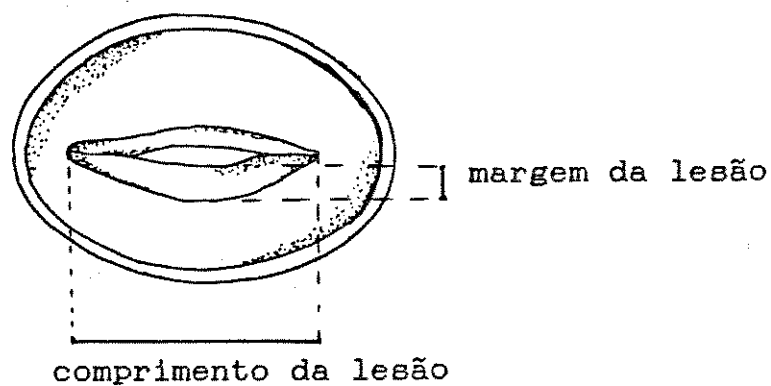
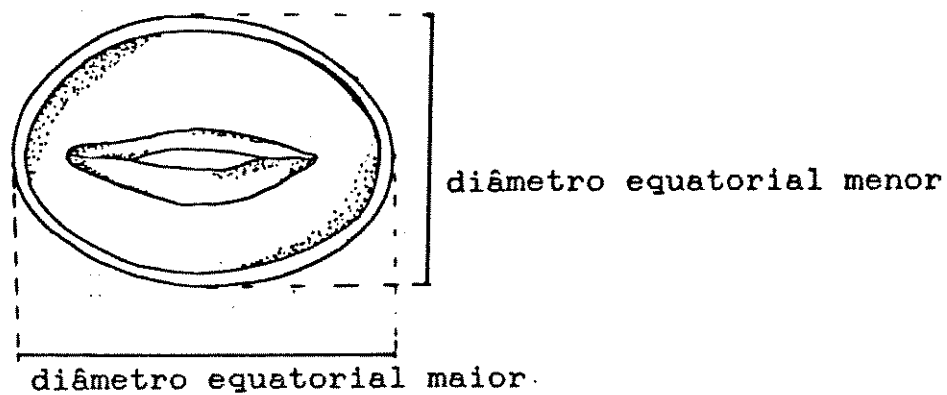


Figura 1 - Esporos triletes

Vista polar proximal



Vista equatorial

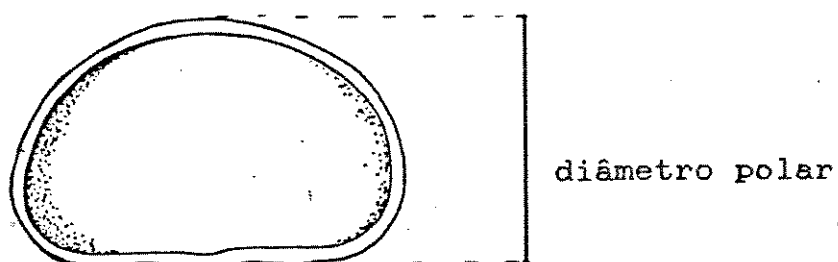


Figura 2 - Esporos monoletes

3- Carboidratos, lipídios e proteínas em esporos e gametófitos de Cyathea delgadii Sternb.

Foi verificada a produção de esporos de uma população de Cyathea delgadii, de 11/89 a 07/90. Foram realizadas dosagens de carboidratos solúveis totais, lipídios e proteínas em: a) esporos secos coletados no meses de dezembro, janeiro, abril e maio e armazenados no escuro e a 4°C; b) esporos ou gametófitos após 3, 6, 12 e 24 horas e intervalos de 24 horas até décimo dia após início da embebição, sob luz branca contínua e 25°C constante e, c) após 10 dias do início da embebição em escuro contínuo e 25°C constante.

Para cada extração, foram utilizadas 3 amostras de 100mg de esporos. Para extração do material embebido, os esporos foram semeados em um erlenmeyer de 250,0 ml contendo 50,0 ml de solução nutritiva e 100 unidades de nistatina por mililitro. O escuro foi simulado com o envolvimento de cada erlenmeyer em dois sacos plásticos pretos. Após o intervalo de embebição desejado, os esporos foram coletados através de filtração a vácuo em papel de filtro sobre funil de Büchner. Para a recuperação completa dos esporos, os erlenmeyers foram lavados várias vezes com água destilada e, quando necessário, com o auxílio de um pincel. O vácuo foi mantido até a secagem completa do papel de filtro, efetuando-se o término da secagem dos esporos em estufa com circulação de ar à temperatura ambiente, durante o período de 24 horas. A remoção dos esporos ou gametófitos do papel de filtro foi feita com

pínel.

A sequência de extrações e dosagens utilizada para açúcares solúveis totais e amido foi a descrita em RANDI (1987), adaptada dos métodos de McCready *et al.* (1950), Bielecki & Turner (1966) e Shannon (1968). As amostras de 100mg de esporos foram maceradas em homogeneizador de vidro com 15,0 ml de éter dietílico, para extrair e eliminar os lipídios. O material foi centrifugado durante 10 minutos a 2000 rpm (76,2 g) e o sobrenadante descartado. Do resíduo, foram extraídos açúcares solúveis com 6,0 ml de MCW (metanol: clorofórmio: água, na proporção de 12:5:3 - v/v) por duas vezes. Os resíduos foram guardados para outras extrações. Do extrato de MCW, 4,0 ml foram colocados em tubos de ensaio e adicionados 1,5 ml de água destilada e 1,0 ml de clorofórmio. Os tubos foram agitados e reservados durante uma noite, período no qual a solução se separa em duas fases: a superior contendo metanol e água (onde estão presentes os açúcares solúveis) e a inferior, formada pelo clorofórmio (contendo lipídios e pigmentos). A fase superior foi reservada para dosagem e a inferior descartada.

Os resíduos guardados foram a seguir extraídos duas vezes com 6,0 ml de etanol 10%. Os extratos foram vertidos após centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm (76,2 g) e guardados para a dosagem de polissacarídeos solúveis em água.

O amido foi também extraído dos resíduos guardados, utilizando-se ácido perclórico a 30%. Foram feitas duas extrações com 6,0 ml de ácido perclórico a 30% (PCA 30%).

Os açúcares solúveis totais foram dosados das frações de MCW e etanol 10%, utilizando-se o reagente antrona. Para prepará-lo, foram dissolvidos 200mg de antrona (SIGMA) em 100,0 ml de ácido sulfúrico 95%. Os extratos de MCW foram diluídos em água na proporção de 1:2 e os extratos de etanol foram dosados (puros) em esporos embebidos e diluídos na proporção de 1:2 em esporos secos. Para cada amostra foram feitas três repetições. Para alíquotas de 1,0 ml dos extratos foram adicionados 2,0 ml do reagente. Os tubos de ensaio foram agitados e aquecidos em banho-maria a 100°C, durante 5 minutos. Em seguida, leituras foram feitas em absorbância a 620nm. Os cálculos foram obtidos a partir de valores de uma reta-padrão, onde foram utilizadas concentrações de 10 a 100µg de glicose por mililitro.

A dosagem de amido foi feita nas frações de PCA 30%. Os extratos foram diluídos em água na proporção de 1:2 em esporos secos e em esporos embebidos durante o período de 4 a 10 dias e, na proporção 1:3 em esporos embebidos até o terceiro dia. Assim como em açúcares solúveis, foram utilizados o reagente antrona e a curva-padrão em glicose nas concentrações de 10 a 100µg por mililitro. Foram feitas três repetições por amostra, lidas na absorbância de 620nm. Os valores encontrados foram multiplicados pelo fator 0,9 para a conversão a amido.

Lipídios livres totais foram extraídos e dosados gravimetricamente segundo GEMMICH (1977). Os esporos secos ou embebidos foram macerados em homogeneizador de vidro (7,0 ml), durante 15 minutos, utilizando-se como solvente hexano(MERCK). Ini-

cialmente foram utilizados cerca de 4,0 ml de hexano, sendo o volume completado em tubo de ensaio graduado para 15,0 ml de extrato. Os tubos foram vedados com filme transparente de PVC e centrifugados por 10 minutos a 2000 rpm (76,2 g). O sobrenadante foi vertido em balão de vidro (25-50ml) com bocal esmerilhado, de peso previamente conhecido em balança analítica (com precisão de 5 casas decimais). O solvente foi evaporado em evaporador rotatório a vácuo, em temperatura de 55-60°C. Após a evaporação, os balões permaneceram em estufa com circulação de ar a temperatura ambiente e foram efetuadas pesagens até estabilização. A porcentagem de lipídios foi calculada através da diferença gravimétrica entre balões contendo lipídios e balões limpos.

Para proteínas solúveis foi utilizado o método de BRADFORD (1976). As três amostras de 100mg de esporos foram maceados em homogeneizador de vidro (7,0 ml), durante 15 minutos, utilizando-se como solvente éter dietílico afim de remover lipídios. Em tubos graduados, o volume foi completado para 15,0 ml de extrato e, em seguida, foram vedados com filme transparente de PVC e centrifugados por 10 minutos a 2000 rpm (76,2 g). O sobrenadante foi descartado e o precipitado utilizado na extração de proteínas com hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N. A extração foi feita por três vezes com o volume de 5,0 ml de extratos para esporos secos ou embebidos até o quarto dia e 4,0 ml para esporos embebidos de 5 a 10 dias. Para a precipitação das proteínas, foi utilizado com igual volume de ácido tricloroacético (TCA) (REAGEN) 10%. Centrifugou-se por 10 minutos, a 2000 rpm (76,2 g). O sobre-

nadante foi descartado e as proteínas foram ressuspendidas com 1,0 ml de NaOH 0,1N. Aliquotas de 0,1 ml foram adicionadas a 5,0 ml de reagente. Foram feitas três repetições para cada amostra. Após dois minutos, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 595nm.

Foi utilizado o Coomassie-Brilliant Blue G-250 N B-1131 (SIGMA) como reagente. Foram dissolvidas 100 mg em 50,0 ml de etanol 95%, sendo acrescentados a esta solução, 100,0 ml de ácido ortofosfórico 85%. O volume final de 1 litro foi completado com água destilada.

Os cálculos de proteínas foram feitos a partir de valores de absorbância obtidos na reta-padrão. Nesta foram utilizadas concentrações de 10 a 100µg de proteína (soroalbumina bovina - BSA - FRAÇÃO V - SIGMA), em um volume de 0,1 ml.

Como há o perigo, em tecidos ricos em fenóis, destes interferirem nas dosagens de proteínas pelo método de Bradford (MATTOO *et al.*, 1987) decidiu-se determinar a presença de fenóis nos esporos. Foi realizado um teste através de três tratamentos: a) extração em 15,0ml de etanol 70%; b) extração em 15,0 ml de éter dietílico; c) extração em 15,0 ml de NaOH (0,1N).

Foram utilizados 3 amostras de 100mg de esporos. Em todas as extrações os esporos foram macerados em homogeneizador de vidro (7,0ml) por 15 minutos. As dosagens foram feitas como descrito por MAZZAFERA (1987), adaptação do método de Swain & Hillis (1959). Em uma alíquota de 0,25 ml de extrato, adicionaram-se 3,5 ml de água destilada. Após agitação, foram adicionados

0,25 ml de reagente Folin e Cicaulteu (MERCK). A mistura foi submetida à agitação, juntando após 3 minutos, 0,5 ml de solução aquosa saturada de carbonato de sódio (A.O.A.C., 1975). O volume foi completado a 5,0 ml com água destilada e, após uma hora de repouso, processou-se a leitura em absorbância, a 725nm. A solução aquosa saturada de carbonato de sódio é obtida através de dissolução de 17,5g em 50,0ml de água destilada à temperatura de 70-80°C. A solução deve permanecer em repouso por 24 horas em temperatura ambiente. Caso haja cristalização, a solução deve ser filtrada antes de ser utilizada. Os cálculos foram feitos a partir de valores de absorbância obtidos em reta-padrão. Nesta foram utilizadas concentrações de 0 a 20µg de ácido fênico (ECIBRA) em um volume de 0,25 ml.

Afim de comparar os tratamentos, os dados de carboidratos, lipídios, proteínas e fenóis foram submetidos a análise de variância pelo teste $F_{0,1\%}$ (DMS 5%, pelo método de Tukey) de acordo com SNEDECOR (1962).

III - RESULTADOS

1 - Morfologia

Asplenium serra Langsd. & Fisch. (figuras 3-7)

Esporos médios e monoletes (figuras 3 e 4). As medidas estão na tabela 1. A lesão é cerca da metade do diâmetro equatorial maior. Não foi possível observar a presença da margem da lesão, devido à presença da perina.

Foram observados esporos não acetolisados e acetolisados. Os esporos não acetolisados são mais escuros, marrons. A perina é fortemente aderida, não sendo possível remover por acetólise de 2-5 minutos. Está presente em esporos maduros pois a germinação é observada através do rompimento da perina na região da lesão (em geral, com a protrusão do rizóide). Em pequeno aumento, observam-se expansões da perina formando cristas dispersas por toda a superfície (figuras 4 e 5), sem padrão de escultura, porém, sempre ausente na região da lesão. Em maior aumento observa-se a perina esculturada, com padrão reticulado, onde os lumens são irregulares em formato e tamanho (figuras 6 e 7).

Os esporos, em vista equatorial apresentam um formato reniforme (levemente côncavo-convexo) na maioria das vezes, mas alguns são plano-convexo (figura 3). Em vista polar proximal a

maioria dos esporos são elípticos e apenas alguns são ovados (figura 4).

Por transparência, observa-se uma exina psilada, estratificada em duas camadas: a interna menor (cerca de $1/3$ da externa) e mais escura que a externa.

Figuras 3 a 7 - Esporos de Asplenium serra. Figura 3 - Vista equatorial. Figura 4 - Vista polar proximal. Figura 5 - Detalhe da perina e exina. Figura 6 e 7 - L.O. da perina. Figuras 8 a 11 - Esporos de Blechnum brasiliense. Figura 8 - Vista equatorial. Figura 9 - Vista polar proximal. Figura 10 - Detalhe da perina e exina. Figura 11 - Detalhe da escultura da perina. Todas as barras correspondem a 10 μ m.

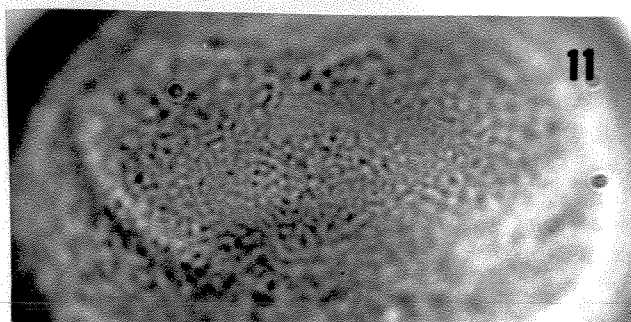
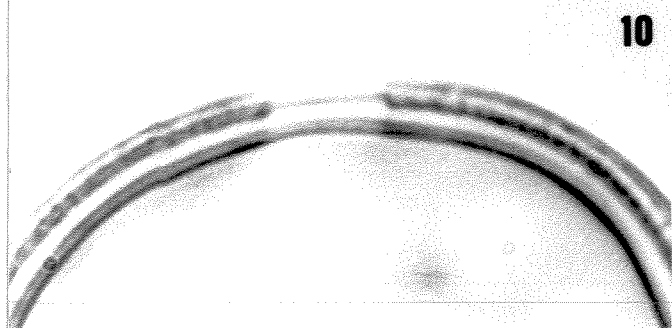
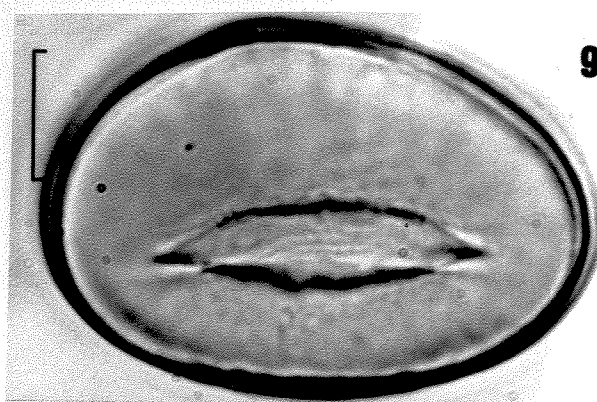
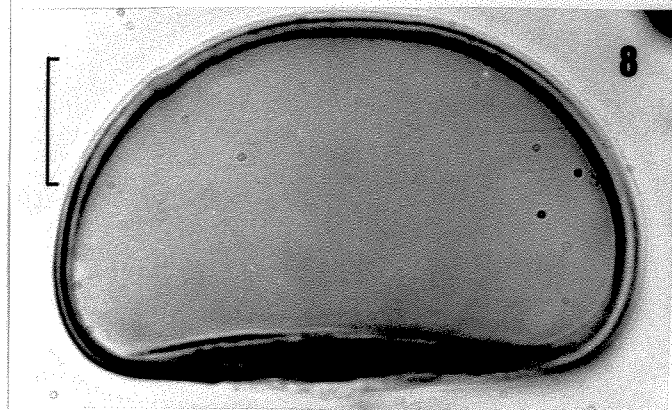
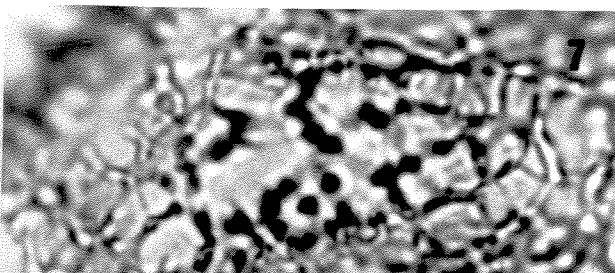
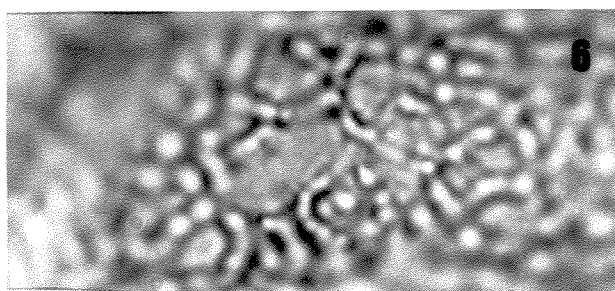
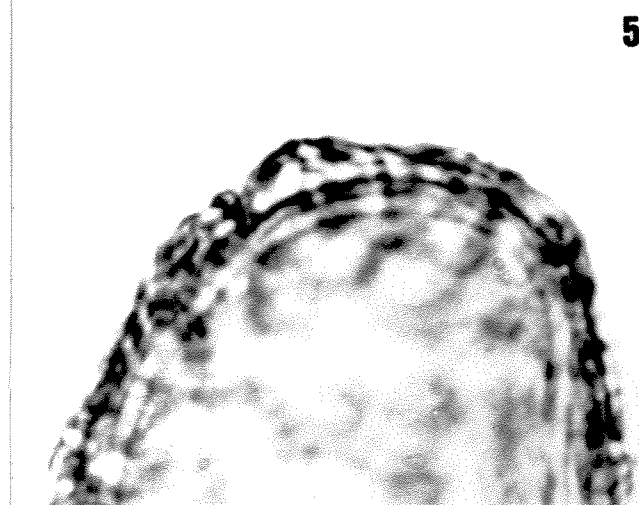
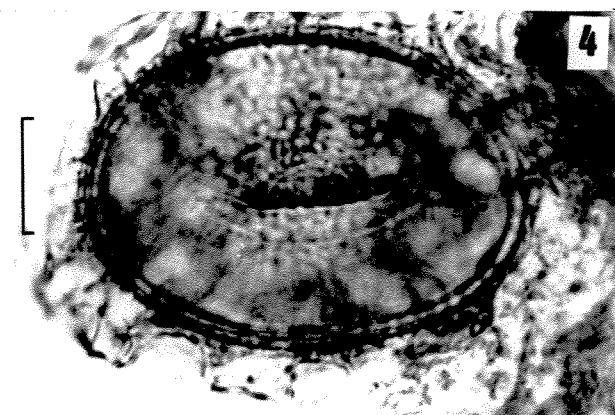


Tabela 1 - Medidas dos esporos (μm) de Asplenium serra Langsd. & Fisch.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	18,5 - 35,3	26,7 $\pm$ 1,6	3,9	14,6
Diâmetro equat. maior	35,8 - 51,7	43,8 $\pm$ 1,4	3,5	8,1
Diâmetro equat. menor	24,6 - 37,4	29,9 $\pm$ 1,0	2,0	8,3
Compr. total. da lesão	---	---	---	---
Largura da margem da lesão	---	---	---	---

Blechnum brasiliense Desv. (figuras 8-11)

Esporos médios e monoletes (figuras 8 e 9). As medidas estão na tabela 2. A lesão é grande (87% do diâmetro equatorial maior), com margem saliente (figura 9).

Foram observados esporos não acetolisados e acetolisados. Devido a presença do conteúdo celular, os esporos frescos são mais claros. A cor da perina e da exina, no entanto, não mudam com a acetólise.

A perina é tênue (figura 10), de cor ocre e fortemente aderida em esporos imaturos (foram testadas acetólises de até 6 minutos e de NaOH até 45 minutos). Em esporos maduros, observa-se uma perina facilmente removida, despregando-se até mesmo em esporos secos. Com um aspecto granular por toda a superfície (figura 11), a perina está ausente apenas na região da lesão.

A exina é psilada e apresenta a sexina maior e mais clara que a nexina (tabela 3).

Em vista equatorial os esporos são plano-convexo (figura 8) e, em vista polar proximal são ovados (figura 9), com alguns esporos elípticos.

Tabela 2 - Medidas dos esporos (μm) de Blechnum brasiliense Desv.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	20,9 - 33,7	28,0 $\pm$ 1,2	3,0	10,7
Diâmetro equat. maior	39,3 - 46,7	43,2 $\pm$ 0,8	1,9	4,5
Diâmetro equat. menor	24,6 - 31,8	28,1 $\pm$ 0,8	2,1	7,5
Compr. total. da lesão	15,1 - 33,4	24,6 $\pm$ 1,5	3,8	15,6

Tabela 3 - Medidas da parede de esporos (μm) de Blechnum brasiliense Desv.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	1,5 - 1,5	1,5 $\pm$ 0,0
Sexina	0,8 - 1,0	0,9 $\pm$ 0,0
Nexina	0,4 - 0,7	0,5 $\pm$ 0,1

Blechnum glandulosum Link. (figuras 12-13)

Esporos médios e monoletes (figuras 12 e 13). As medidas estão na tabela 4. A lesão não apresenta margem.

A exina é psilada, sendo possível observar sexina e nexina (tabela 5). Na maioria dos esporos acetolisados por dois minutos, a perina, que é tênue, está presente em toda superfície, sendo raros os casos de ruptura e despregamento de fragmentos.

Em vista equatorial os esporos são plano-convexo (figura 12) e, em vista polar proximal, ovado (figura 13).

Figuras 12 a 13 - Esporos de Blechnum glandulosum. Figura 12 - Vista equatorial. Figura 13 - Vista polar proximal. Figuras 14 a 15 - Esporos de Campyloneurum phyllitidis. Figura 14 - Vista equatorial. Figura 15 - Vista polar proximal. Figuras 16 a 19 - Esporos de Cyathea delgadii. Figura 16 - Vista equatorial. Figura 17 - Vista polar proximal, tipo a. Figura 18 - Vista polar proximal, tipo b. Figura 19 - Vista polar proximal, tipo c. Todas as barras correspondem a 10 μ m.

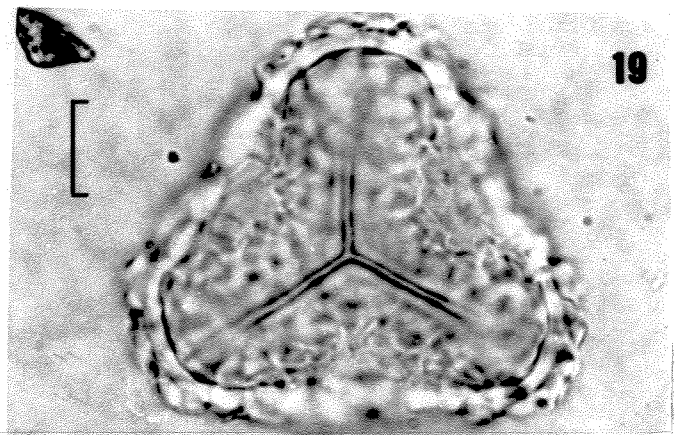
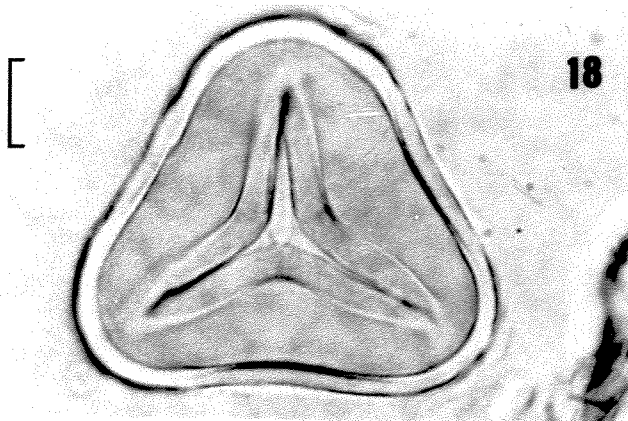
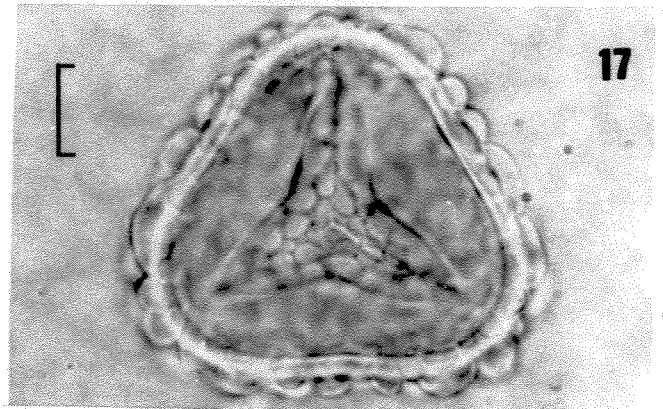
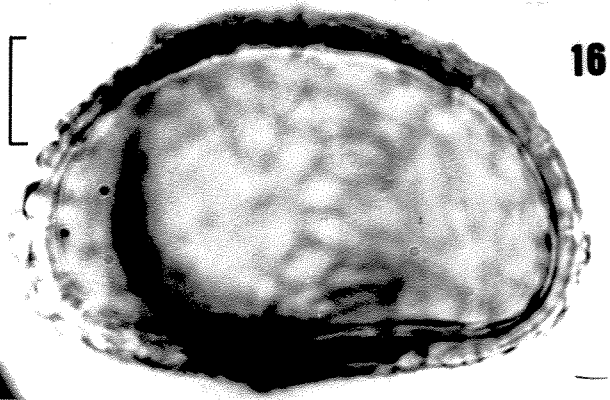
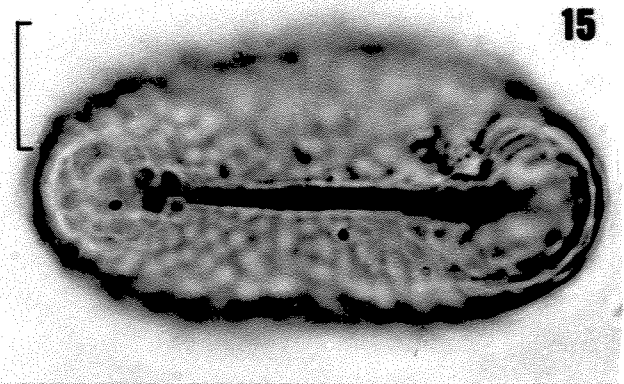
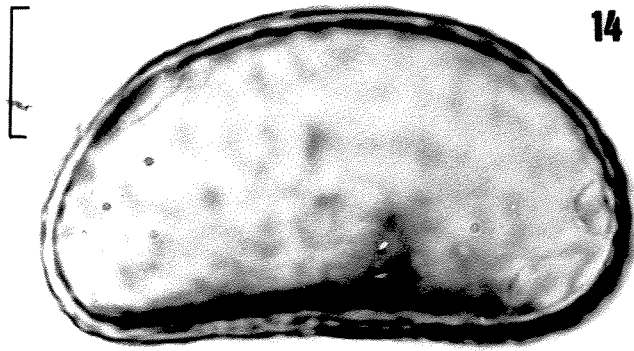


Tabela 4 - Medidas dos esporos (μm) de Blechnum glandulosum Link.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	23,2 - 32,4	27,7 $\pm$ 1,1	2,6	9,4
Diâmetro equat. maior	36,0 - 49,5	40,4 $\pm$ 1,4	3,5	8,6
Diâmetro equat. menor	23,1 - 28,1	25,8 $\pm$ 0,5	1,2	4,8
Compr. total. da lesão	14,6 - 24,2	20,3 $\pm$ 1,0	2,4	11,6

Tabela 5 - Medidas da parede de esporos (μm) de Blechnum glandulosum Link.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	1,7 - 2,5	2,1 $\pm$ 0,1
Sexina	0,7 - 1,1	0,9 $\pm$ 0,1
Nexina	0,9 - 1,6	1,2 $\pm$ 0,1

Campyloneurum phyllitidis Presl. (figuras 14-15)

Esporos médios e monoletes (figura 14 e 15). As medidas estão na tabela 6. A lesão não apresenta margem saliente (figura 15).

Foram testadas acetólises de 1,5-6 minutos e NaOH por 20 minutos.

Observa-se exina formada por sexina escura e verrugosa e nexina (medidas na tabela 7). A perina, que é fina e translúcida, quando presente, recobre toda a superfícies.

Os esporos, em vista equatorial, são plano-convexos (figura 14) e em vista polar proximal, elípticos (figura 15).

Tabela 6 - Medidas dos esporos (μm) de Campyloneurum phyllitidis Presl.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	24,2 - 31,7	25,9 $\pm$ 1,2	2,8	11,0
Diâmetro equat. maior	36,0 - 47,5	43,8 $\pm$ 1,2	3,1	7,1
Diâmetro equat. menor	19,1 - 31,8	26,9 $\pm$ 1,1	2,6	9,7
Compr. total da lesão	22,9 - 32,8	27,8 $\pm$ 1,2	3,0	10,9

Tabela 7 - Medidas da parede de esporos (μm) de Campyloneurum phyllitidis Presl.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	1,2 - 1,5	1,4 $\pm$ 0,1
Nexina	0,6 - 0,7	0,6 $\pm$ 0,0
Sexina	0,7 - 0,9	0,8 $\pm$ 0,1

Cyathea delgadii Sternb. (figuras 16-19)

O material observado apresenta três formas de esporos. Todos são esporos triletes, médios e de âmbito triangular, em vista polar proximal, com os lados retos e ângulos arredondados (figuras 17 a 19). Em vista equatorial, apresentam pólo distal convexo e pólo proximal plano (figura 16). As formas variam em função da margem da lesão e ornamentação: a) verrugosa, lesão com margem saliente (figura 17); b) lisa com margem saliente (figura 18) e c) com verrugas e sem margem saliente (figura 19). Em análise de L.O., as verrugas são organizadas em fileira contornando a lesão. A análise estatística do tamanho das três formas indica que não há diferença significativa. Citaremos aqui apenas as medidas de esporos do tipo a que é predominante (tabela 8).

A perina, tênue e translúcida, está presente apenas em esporos imaturos, não sendo retirada pela acetólise de dois minutos. Esporos frescos e maduros não apresentam perina.

As medidas da parede estão na tabela 9. A exina é estratificada em três camadas. Apenas a camada mais externa (sexina) é ornamentada, com verrugas de diâmetro e altura variados.

Tabela 8 - Medidas dos esporos (μm) de Cyathea delgadii Sternb., tipo a.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	33,0 - 42,7	36,0 $\pm$ 0,9	2,3	6,4
Diâmetro equatorial	42,4 - 53,0	47,7 $\pm$ 1,2	2,9	6,0
Compr. total da lesão	27,9 - 37,3	33,6 $\pm$ 1,2	3,1	9,3
Compr. braço da lesão	12,1 - 21,2	16,6 $\pm$ 1,1	2,6	15,5
Largura da margem da lesão	1,8 - 5,0	3,2 $\pm$ 0,7	0,9	28,6

Tabela 9 - Medidas da parede (μm) de esporos de Cyathea delgadii Sternb., tipo a.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	2,5 - 3,5	3,0 $\pm$ 0,2
Sexina	1,1 - 3,1	1,6 $\pm$ 0,6
Nexina 1	0,9 - 1,8	1,2 $\pm$ 0,2
Nexina 2	0,3 - 0,6	0,5 $\pm$ 0,1

Polypodium ptilodum Kunze var. robustum (Fée) A.M.

Evans (figuras 20-23)

Esporos grandes e monoletes (figuras 20 a 22). As medidas estão na tabela 10. A lesão é cerca da metade do diâmetro equatorial maior. Apresenta uma margem saliente e ornamentada com pequenas verrugas (figura 22).

Foram observados esporos não acetolisados e acetolisados. Em nenhum momento foi observada perina. Em função do conteúdo celular, os esporos não acetolisados apresentaram a cor amarelo limão mais intenso.

A exina apresenta-se estratificada em sexina (ocre) e nexina (amarelo limão), sendo a sexina verrugosa (figura 23). As verrugas reduzem de tamanho em direção à lesão (figura 22). As medidas de altura das verrugas foram feitas no pólo distal (tabela 11).

Em vista equatorial, os esporos apresentam uma região plana (local da lesão) com as extremidades salientes e arredondadas (figura 20) e outra convexa; em alguns casos são reniformes. Em vista polar proximal, a maioria dos esporos apresenta a forma elíptica (figura 21), ocorrendo esporadicamente o formato ovado.

Figuras 20 a 23 - Esporos de Polypodium ptilodum var. robustum. Figura 20 - Vista equatorial. Figura 21 - Vista polar proximal, detalhe do formato elíptico. Figura 22 - Vista polar proximal, mostrando a redução do tamanho das verrugas em direção à lesão. Figura 23 - Corte óptico da exina. Figuras 24 a 26 - Esporos de Polypodium triseriales. Figura 24 - Vista equatorial. Figura 25 - Detalhe da lesão. Figura 26 - Corte óptico da exina. Todas as barras corresponde a 10 μ m.

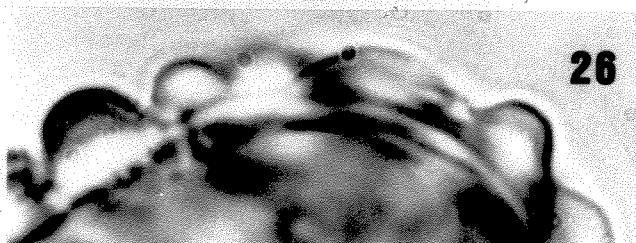
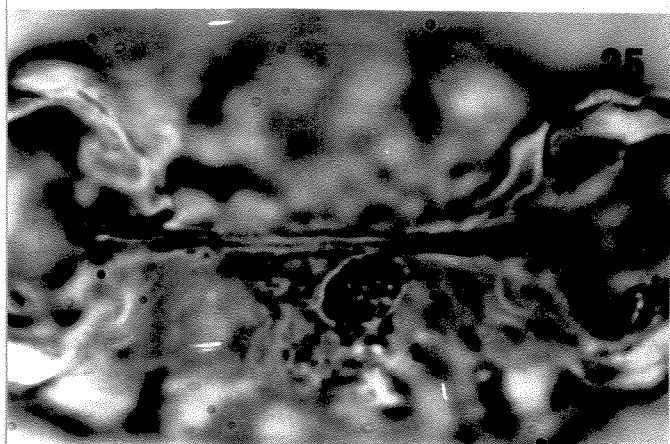
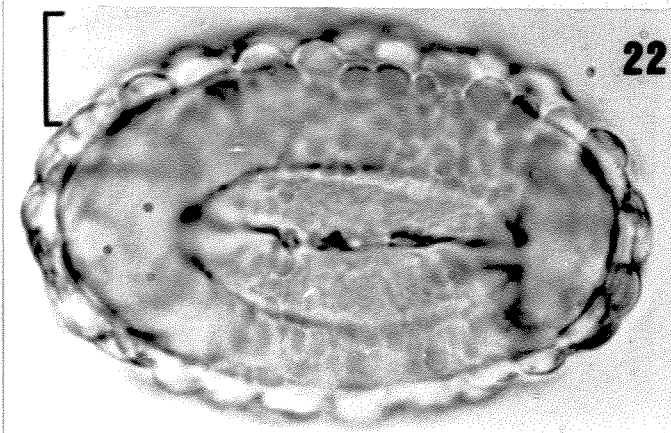
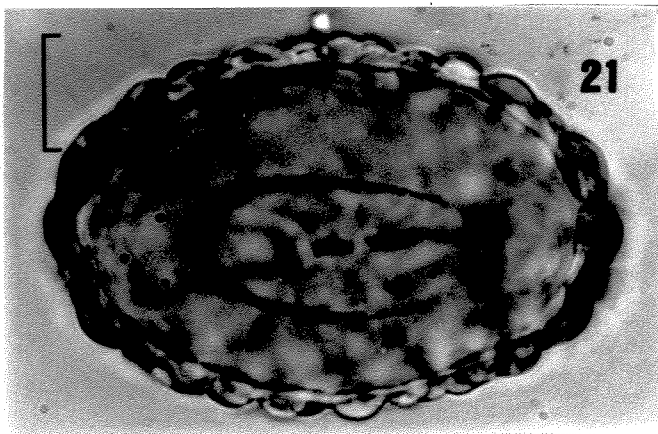
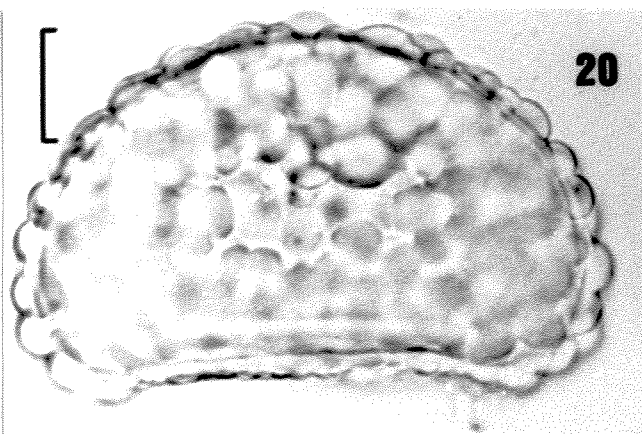


Tabela 10 - Medidas dos esporos (μm) de Polypodium ptilodum Kunze var. robustum (Fée) A.M. Evans.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	31,7 - 38,9	34,6 $\pm$ 0,8	1,2	5,4
Diâmetro equat. maior	43,8 - 58,5	51,0 $\pm$ 1,6	3,9	7,6
Diâmetro equat. menor	29,5 - 37,5	33,2 $\pm$ 1,0	2,3	7,0
Compr. total. da lesão	18,7 - 33,2	27,5 $\pm$ 1,2	2,9	10,6
Largura da margem da lesão	3,6 - 6,6	4,8 $\pm$ 0,8	1,2	24,1

Tabela 11 - Medidas da parede (μm) de esporos de Polypodium ptilodum Kunze var. robustum (Fée) A.M. Evans.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	2,6 - 3,6	3,3 $\pm$ 0,2
Sexina	1,9 - 2,6	2,3 $\pm$ 0,2
Nexina	0,7 - 1,5	1,0 $\pm$ 0,2

Polypodium triseriales Sw. (figuras 24-26)

Esporos médios e monoletes (figura 24). As medidas estão na tabela 12. A lesão é pequena, 40% do diâmetro equatorial maior. A margem da lesão é observado em um número reduzido de esporos.

A perina, tênue e translúcida, está presente apenas em esporos imaturos, não sendo retirada por acetólise de dois minutos. Os esporos não acetolisados e maduros não apresentam perina; neste caso o conteúdo celular dá uma coloração amarelo limão, mais intensa.

A exina é estratificada em 3 camadas (tabela 13), sendo apenas a mais externa ornamentada. Em análise de L.O. observam-se insulas (figuras 24 e 26). A exina é de cor ocre. A nexina 1 é de cor amarelo limão, enquanto que a nexina 2 é alaranjada. Gradualmente as verrugas diminuem de tamanho em direção à lesão. As medidas de altura das verrugas foram feitas no pólo distal (tabela 13).

Em vista equatorial, os esporos apresentam o formato côncavo-convexo, variando de plano-convexo (figura 24) a reniforme, em alguns esporos. Já em vista polar proximal, a maioria é oblonga, ocorrendo alguns esporos ovados ou elípticos.

Tabela 12 - Medidas dos esporos (μm) de Polypodium triseriales Sw.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	25,5 - 35,2	30,3 $\pm$ 1,1	2,6	8,7
Diâmetro equat. maior	38,5 - 54,8	47,2 $\pm$ 1,7	4,1	8,6
Diâmetro equat. menor	16,2 - 29,4	23,0 $\pm$ 1,4	3,5	15,1
Compr. total. da lesão	12,7 - 26,9	19,4 $\pm$ 1,5	3,7	19,0

Tabela 13 - Medidas da parede (μm) de esporos de Polypodium triseriales Sw.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	2,1 - 4,2	3,3 $\pm$ 0,4
Sexina	0,7 - 2,4	1,8 $\pm$ 0,4
Nexina 1	0,7 - 1,1	0,9 $\pm$ 0,1
Nexina 2	0,3 - 1,0	0,6 $\pm$ 0,2

Thelypteris chrisoides (Fée) Morton (figuras 27-31)

Esporos médios, monoletes (figuras 27 e 28), marrom escuro quando não acetolisados. As medidas estão na tabela 14. Apresentam margem da lesão saliente (figura 28).

A perina marrom é pouco densa. Envolve todo o esporo irregularmente na forma de pregas (figura 29). Estas não apresentam um padrão de ornamentação. A perina está presente em todos esporos, sendo de fácil remoção. A germinação ocorre através do rompimento da perina na região da lesão. Análise de L.O. mostra elementos na superfície (figuras 30 e 31), que em corte óptico revelam-se espículas e pilos; estão dispersos nas depressões e em alta densidade sobre as pregas.

A exina é psilada e estratificada em duas camadas (tabela 15). A camada externa é alaranjada e mais estreita, que a interna a qual é amarelo ouro.

Em vista equatorial, o esporo apresenta formato plano-convexo (figura 27) e em vista polar proximal, elíptico (figura 28).

Figuras 27 a 31 - Esporos de Thelypteris chrisoides.
Figura 27 - Vista equatorial. Figura 28 - Vista polar proximal. Figura 29 - Vista equatorial de esporo com perina. Figuras 30 e 31 - L.O. dos elementos de ornamentação da perina. Figuras 32 a 35 - Esporos de Thelypteris sp. Figura 32 - Vista equatorial. Figura 33 - Vista polar proximal. Figura 34 - Vista equatorial de esporo com perina. Figura 35 - Detalhe da ornamentação da perina. Todas as barras corresponde a 10 μ m.

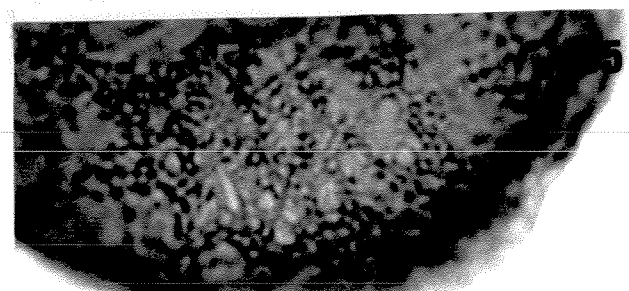
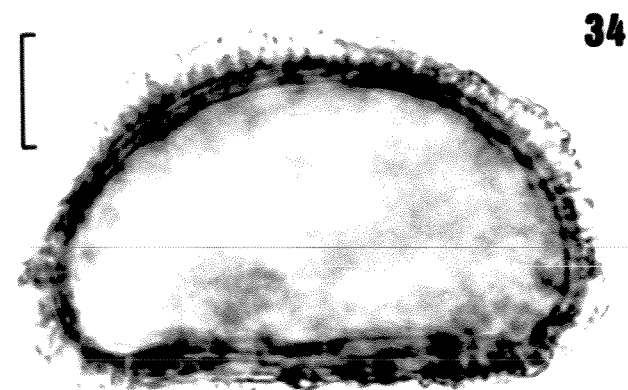
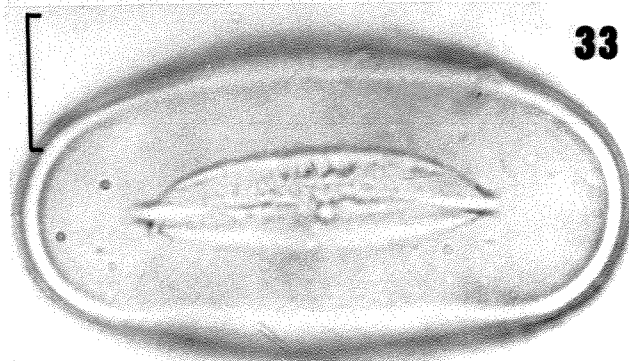
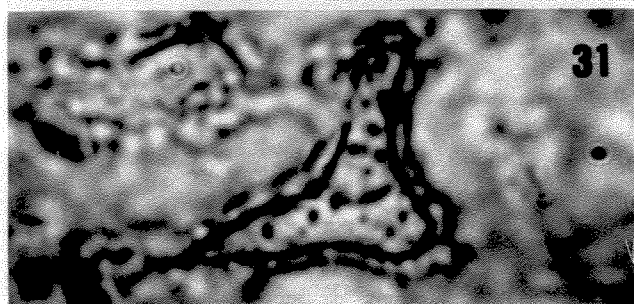
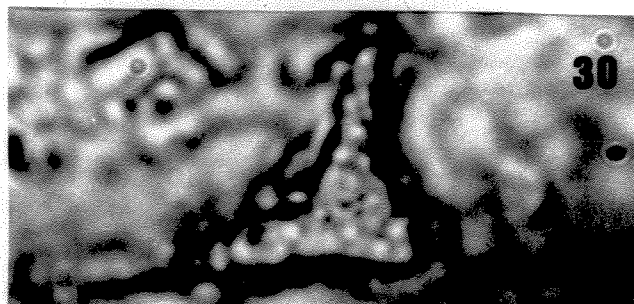
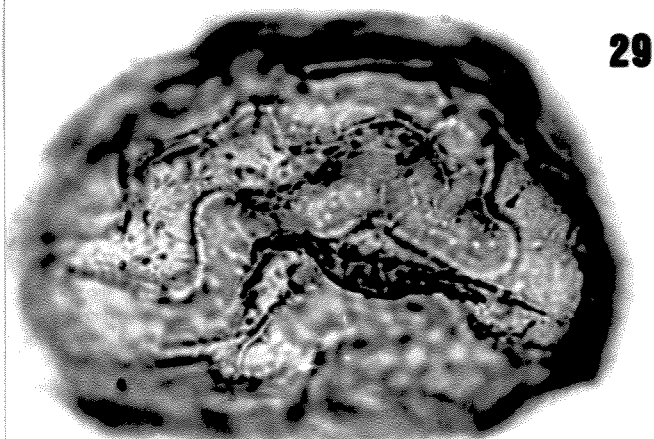
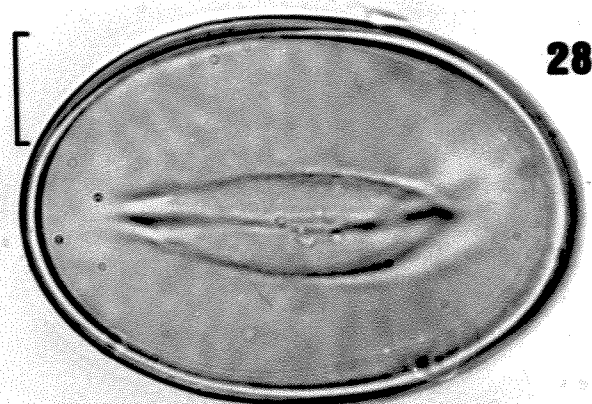


Tabela 14 - Medidas dos esporos (μm) de Ihelypteris chrisoides (Fée) Morton.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	29,3 - 35,0	32,3 $\pm$ 0,9	2,2	7,0
Diâmetro equat. maior	44,6 - 56,2	49,4 $\pm$ 1,2	2,9	5,9
Diâmetro equat. menor	31,2 - 37,6	33,8 $\pm$ 0,7	1,6	4,8
Compr. total. da lesão	25,0 - 34,8	31,2 $\pm$ 1,3	3,2	10,2
Largura da margem da lesão	2,2 - 4,6	3,8 $\pm$ 0,5	0,7	20,0

Tabela 15 - Medidas da parede de esporos (μm) de Ihelypteris chrisoides (Fée) Morton.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	1,4 - 2,3	1,7 $\pm$ 0,2
Sexina	0,8 - 1,3	0,8 $\pm$ 0,2
Nexina	0,8 - 1,2	0,9 $\pm$ 0,1

Thelypteris sp (figuras 32-35)

Esporos médios, monoletes (figuras 32 e 33) e marrons escuro, quando frescos. As medidas estão na tabela 16. Ocorre margem na lesão saliente (figura 33).

A perina é marrom e densa (figura 34). Em microscópio óptico é difícil definir a ornamentação. Na análise de L.O. percebe-se granulações sobre os muros do retículo. A perina está presente em toda a superfície, sendo de fácil remoção (em acetólise de dois minutos).

A exina é psilada e estratificada em duas camadas. Apresenta espessura total de $2,1 \pm 0,2\mu\text{m}$ (tabela 17).

O esporo, em vista equatorial é convexo no pólo distal e no proximal, plano na região (figura 32). É possível observar alguns esporos de aspecto reniforme. Em vista polar proximal é elíptico (figura 33), sendo raramente observado o formato ovado.

Tabela 16 - Medidas dos esporos (μm) de Ibellypteris sp.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	cv(%)
Diâmetro polar	25,9 - 30,7	29,1 $\pm$ 0,5	1,3	4,5
Diâmetro equat. maior	41,9 - 47,1	44,8 $\pm$ 0,6	1,6	3,5
Diâmetro equat. menor	24,4 - 31,5	27,0 $\pm$ 0,7	1,8	6,6
Compr. total. da lesão	23,6 - 30,7	26,4 $\pm$ 0,8	1,8	6,9
Largura da margem da lesão	2,1 - 2,7	2,5 $\pm$ 0,1	0,2	9,8

Tabela 17 - Medidas da parede de esporos (μm) de Ibellypteris sp.

	Taxa de variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Espessura total	1,6 - 2,4	2,1 $\pm$ 0,2
Sexina	0,1 - 1,2	0,8 $\pm$ 0,2
Nexina	1,0 - 1,7	1,2 $\pm$ 0,2

2 - Germinação

As curvas de germinação (a 25°C) das espécies (em ordem alfabética) são apresentadas a seguir. A germinação foi sempre testada com esporos recém-coletados.

Asplenium serra (figura 36)

Os esporos só começaram a germinar no dia 7. A germinação no dia 12 atingiu 91,2%. A velocidade foi de 13,4% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Blechnum brasiliense (figura 37)

Os esporos começaram a germinar no dia 2. A germinação final atingiu 58,3%. A velocidade foi de 19,0% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Blechnum glandulosum (figura 38)

Os esporos começaram a germinar no dia 4. A germinação no dia 9 atingiu 89,7%. A velocidade foi de 15,7% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Campyloneurum phyllitidis (figura 39).

Os esporos começaram a germinar no dia 5. A germinação final atingiu 72,0%. A velocidade foi de 11,1% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Tabela 18- Velocidade de germinação (coeficiente b de inclinação da reta de regressão) para as nove espécies de pteridófitas estudadas.

Espécie	Período para		Velocidade de germinação (%/dia)
	cálculo (dia)		
	Início	Fim	
<u>Asplenium serra</u>	6	11	13,4
<u>Blechnum brasiliense</u>	1	3	19,0
<u>Blechnum glandulosum</u>	3	8	15,7
<u>Campyloneurum ptyllitidis</u>	4	9	11,1
<u>Cyathea delgadii</u>	3	6	22,8
<u>Polypodium ptilodum</u> var.			
<u>robustum</u>	3	7	13,9
<u>Polypodium triseriales</u>	4	8	9,7
<u>Thelypteris chrisoides</u>	3	9	18,0
<u>Thelypteris</u> sp.	4	8	8,6

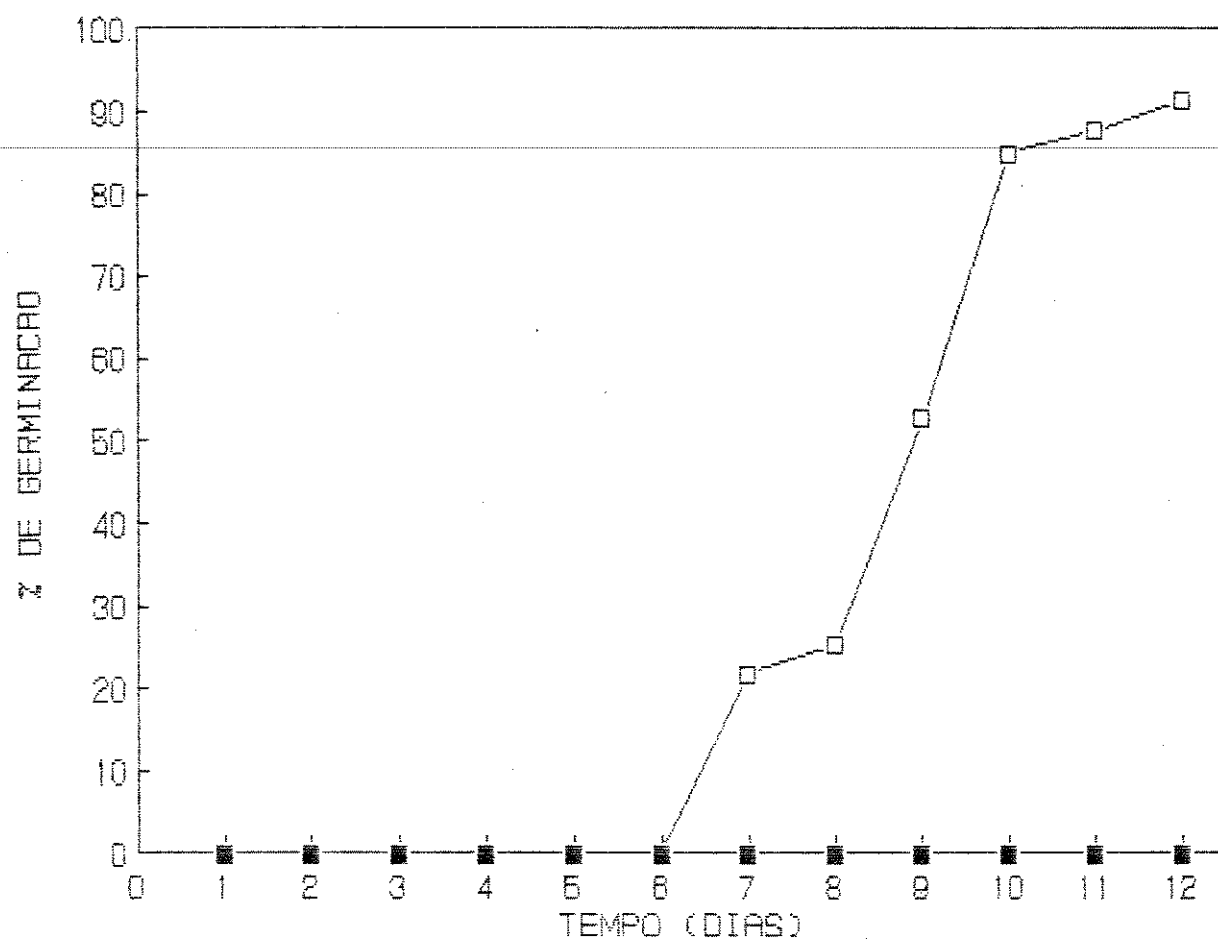


Figura 36 - Germinação de esporos de Asplenium serra Langsd. & Fisch.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

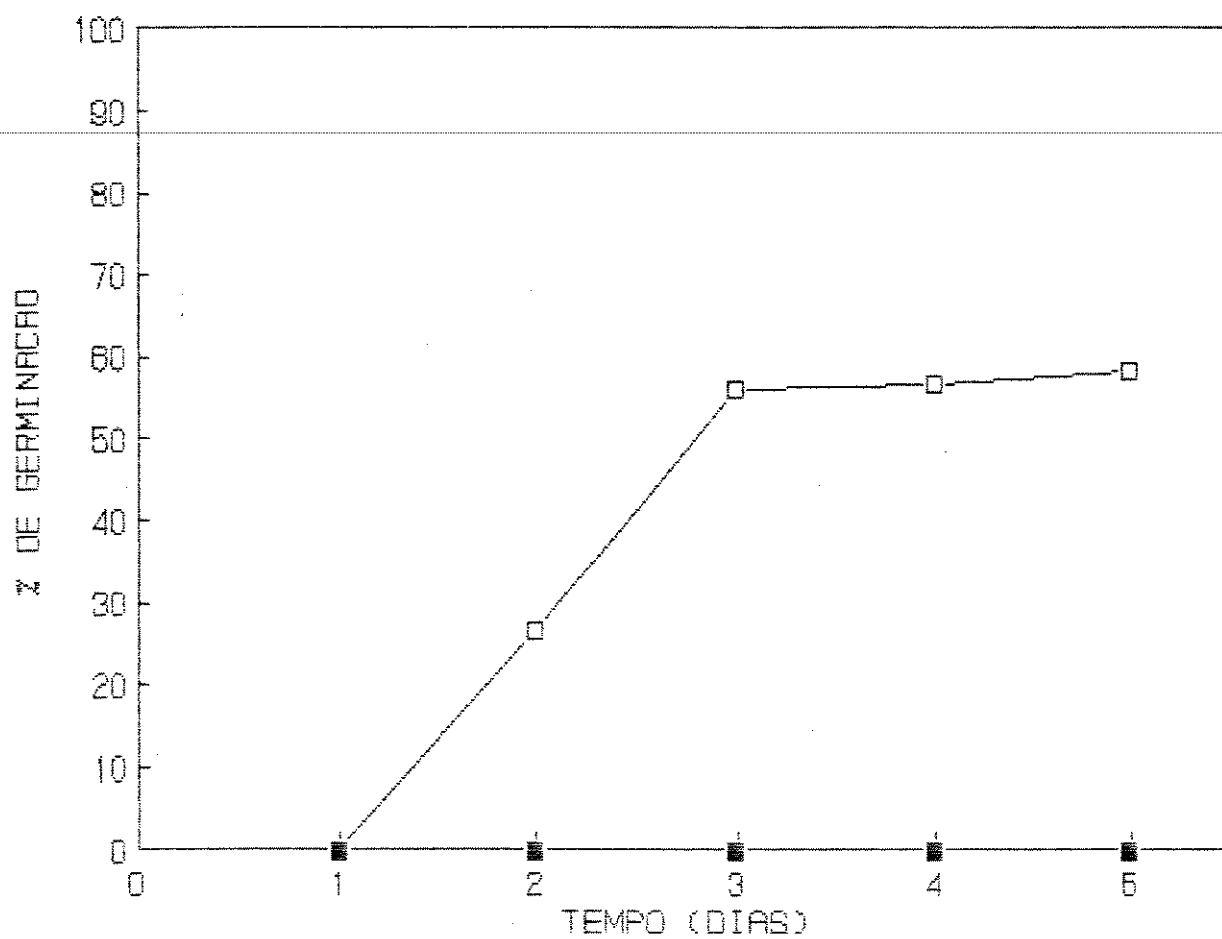


Figura 37 - Germinação de esporos de Blechnum brasiliense Desv.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

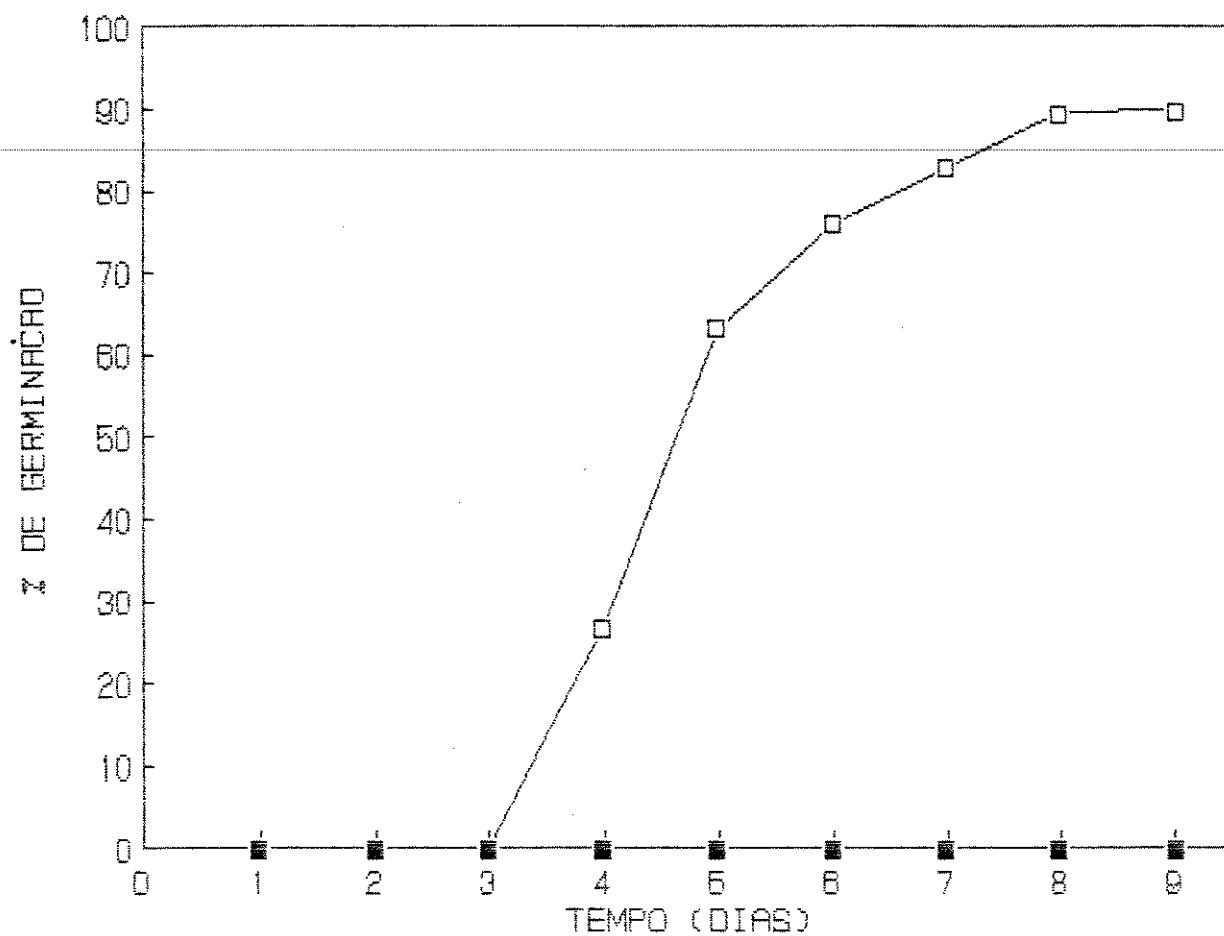


Figura 38 - Germinação de esporos de *Blechnum glandulosum* Link.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

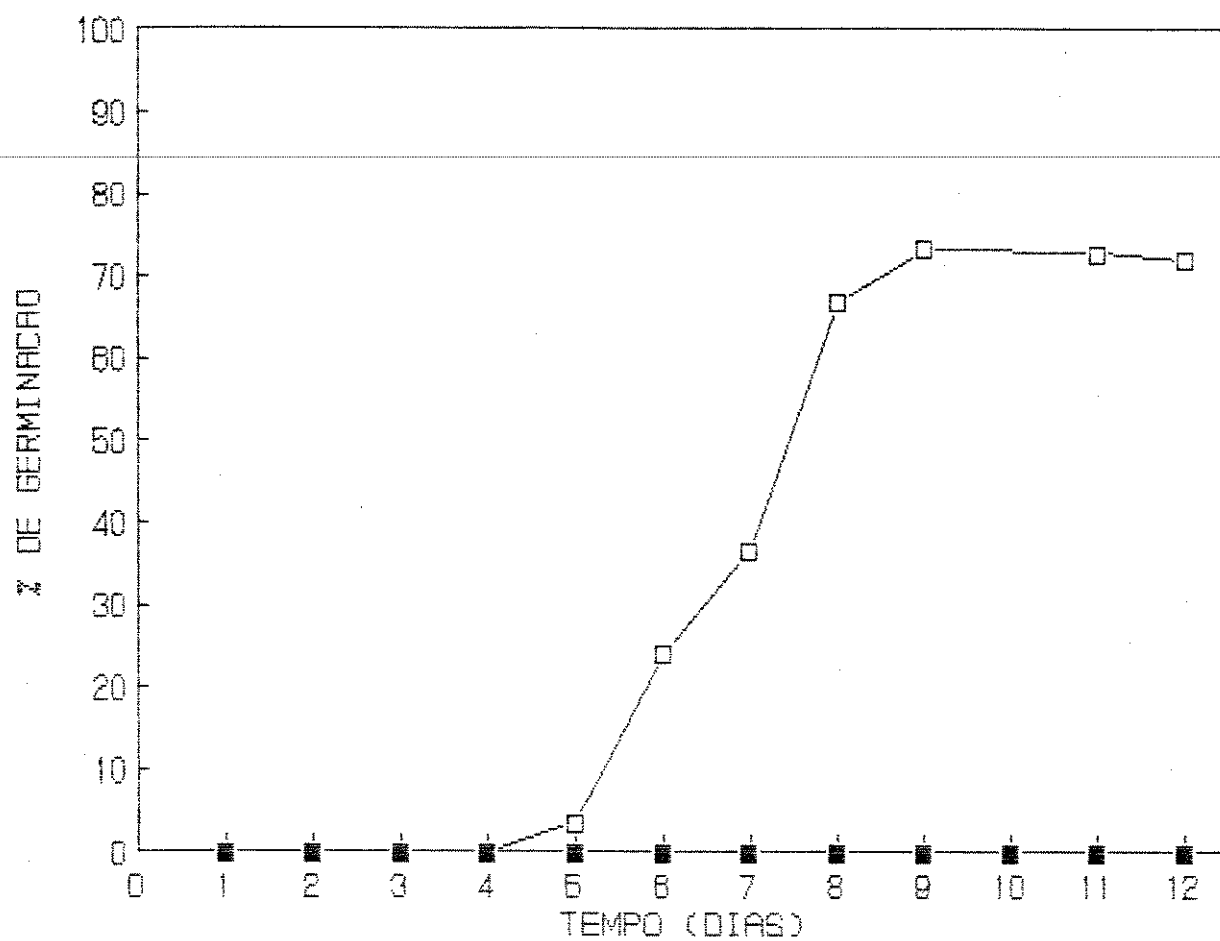


Figura 39 - Germinação de esporos de Campyloneurum phyllitidis Presl.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

Cyathea delgadii (figura 40)

Os esporos começaram a germinar no dia 4. A germinação final atingiu 91,8%. A velocidade foi de 22,8% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Polypodium ptilodum var. robustum (figura 41)

Os esporos começaram a germinar no dia 4. A germinação final atingiu 68,3%. A velocidade foi de 13,9% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Polypodium triseriales (figura 42)

Os esporos começaram a germinar no dia 5. A germinação final atingiu 51,2%. A velocidade foi de 9,7% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Thelypteris chrisoides (figura 43)

Os esporos começaram a germinar no dia 3. A germinação final atingiu 77,0%. A velocidade foi de 18,0% de germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

Thelypteris sp (figura 44)

Os esporos começaram a germinar no dia 5. A germinação no dia 10 atingiu 43,5%. A velocidade foi de 8,6% germinação por dia (tabela 18). Não ocorreu germinação no escuro.

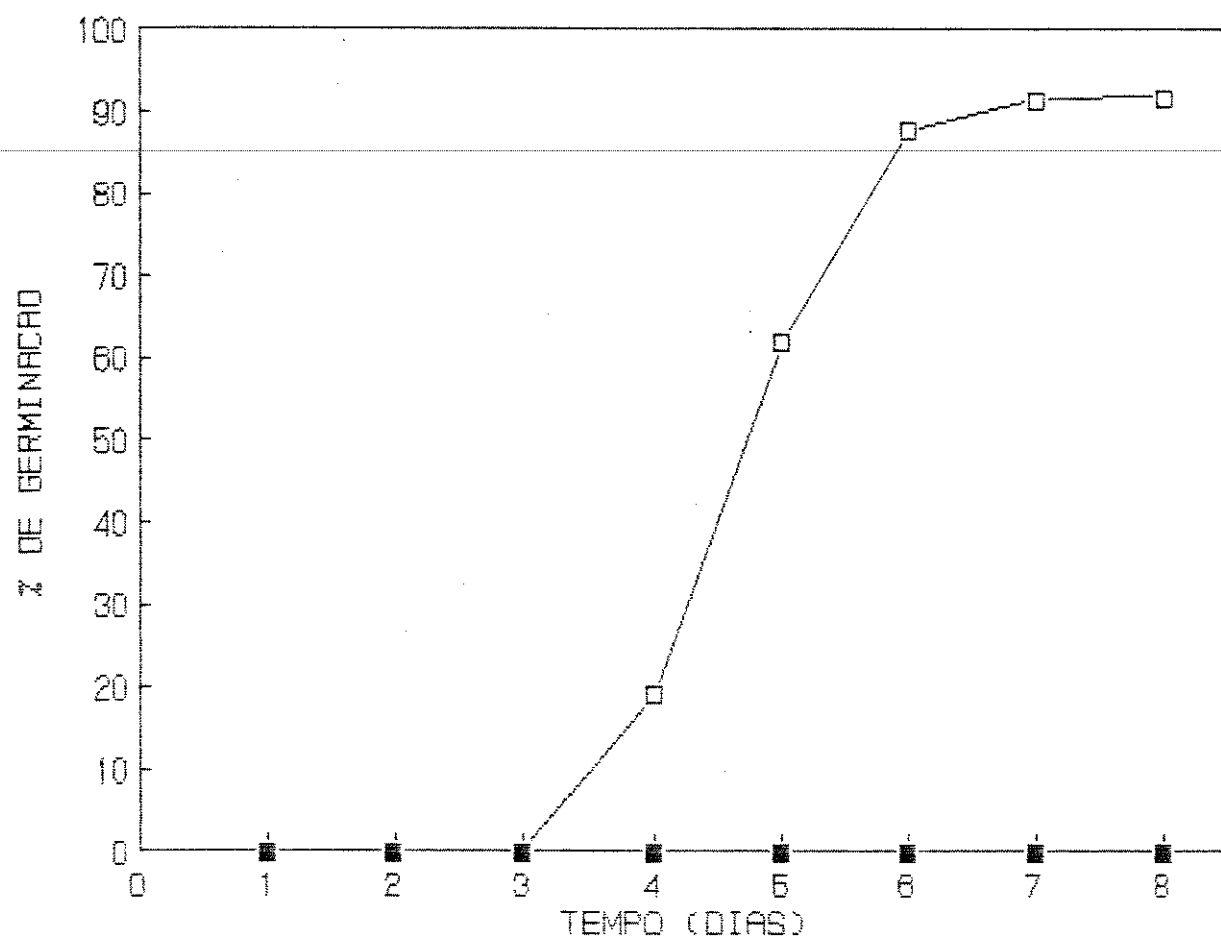


Figura 40 - Germinação de esporos de Cyathea delgadii Sternb.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

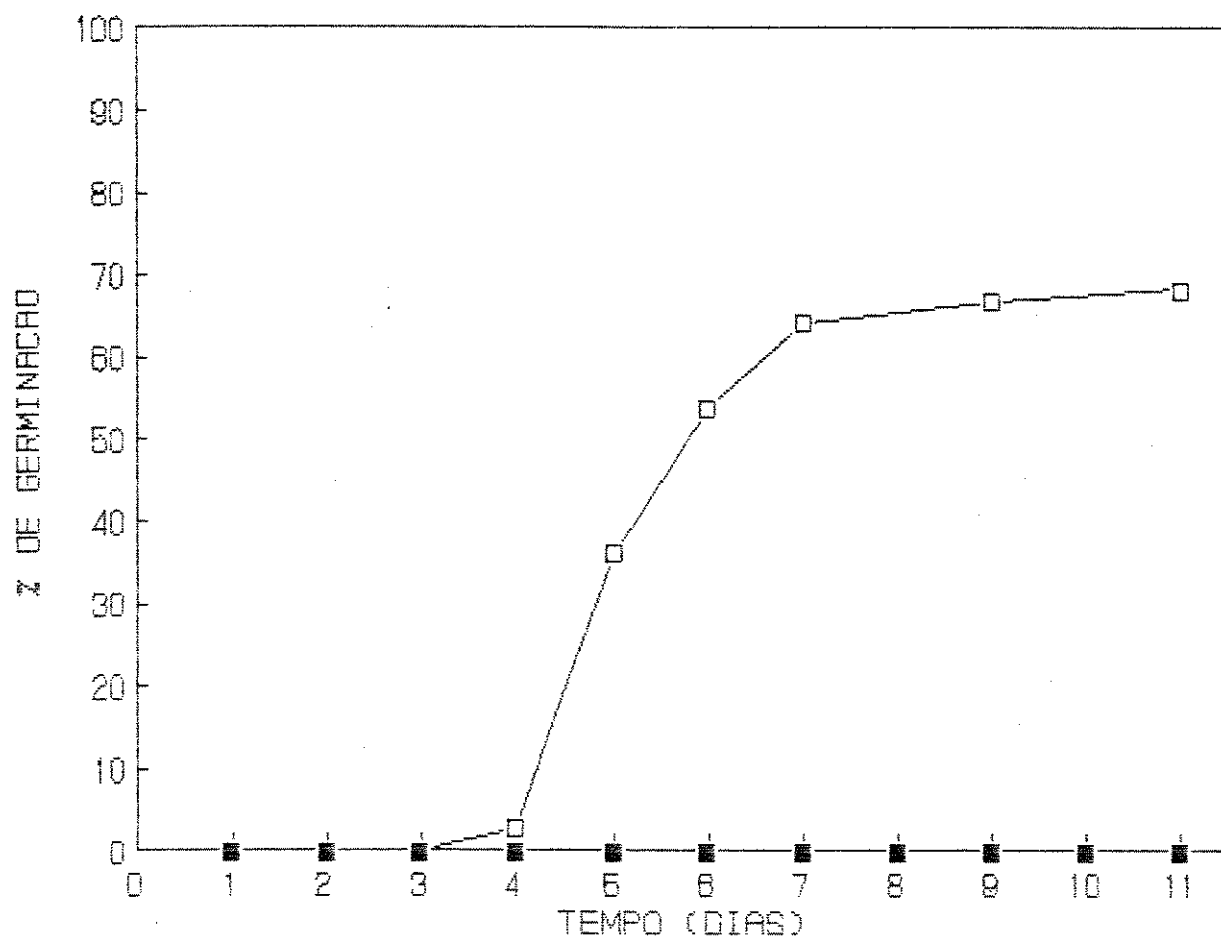


Figura 41 - Germinação de esporos de Polypodium ptilodum Kunze var. robustum (Fée) A.M. Evans.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

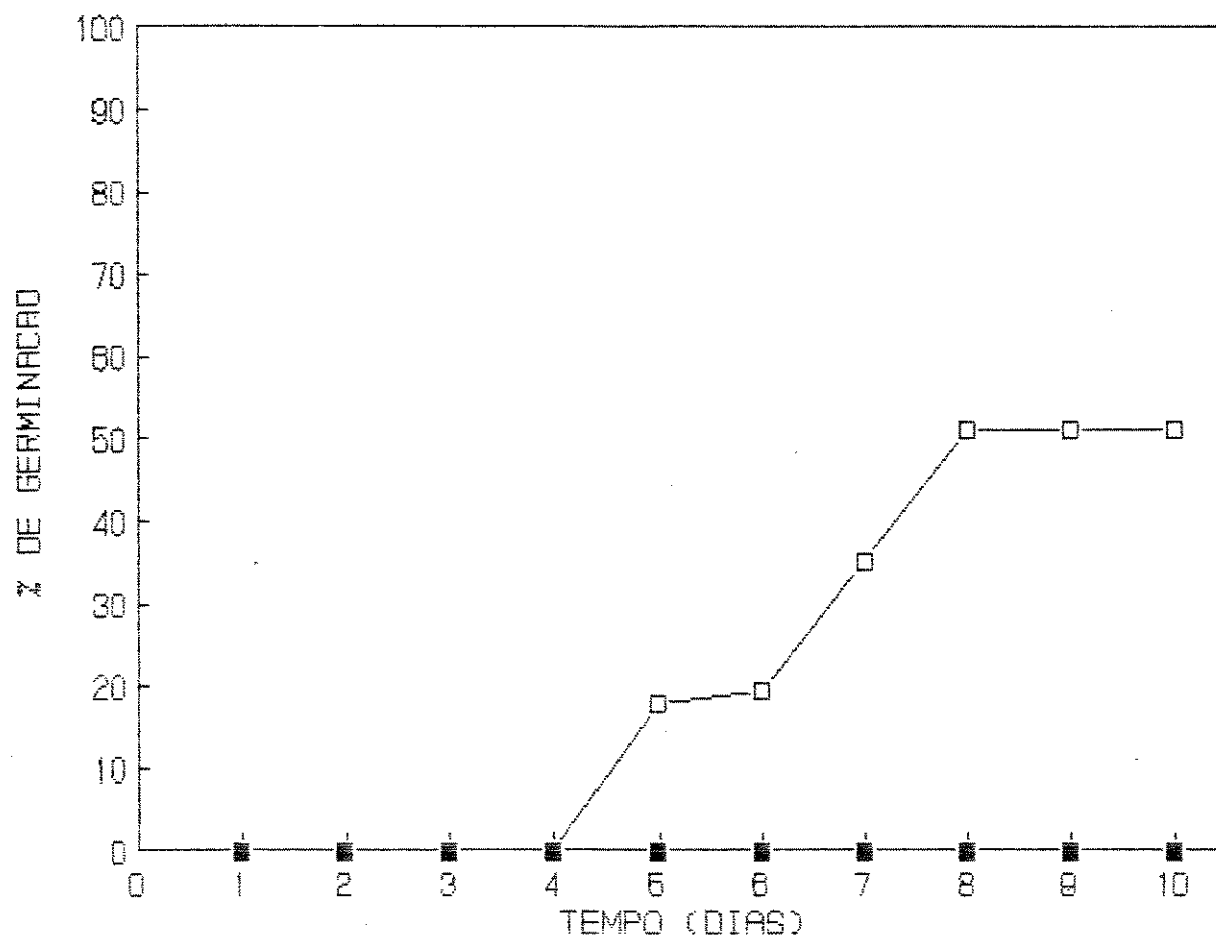


Figura 42 - Germinação de esporos de Polypodium triseriale Sw.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

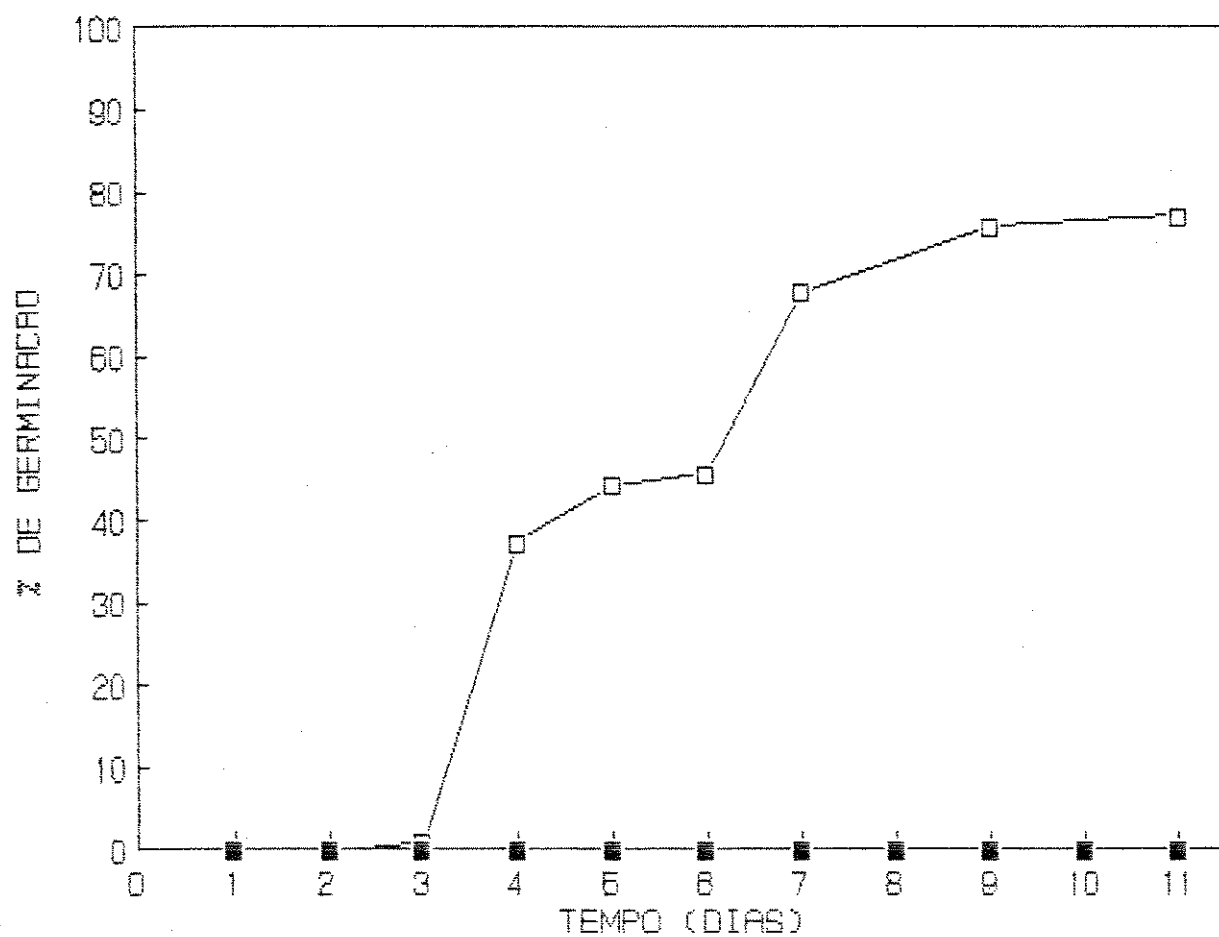


Figura 43 - Germinação de esporos de *Thelypteris chrisoides* (Fée) Morton.

Quadrados vazios: luz branca; quadrados cheios: escuro.

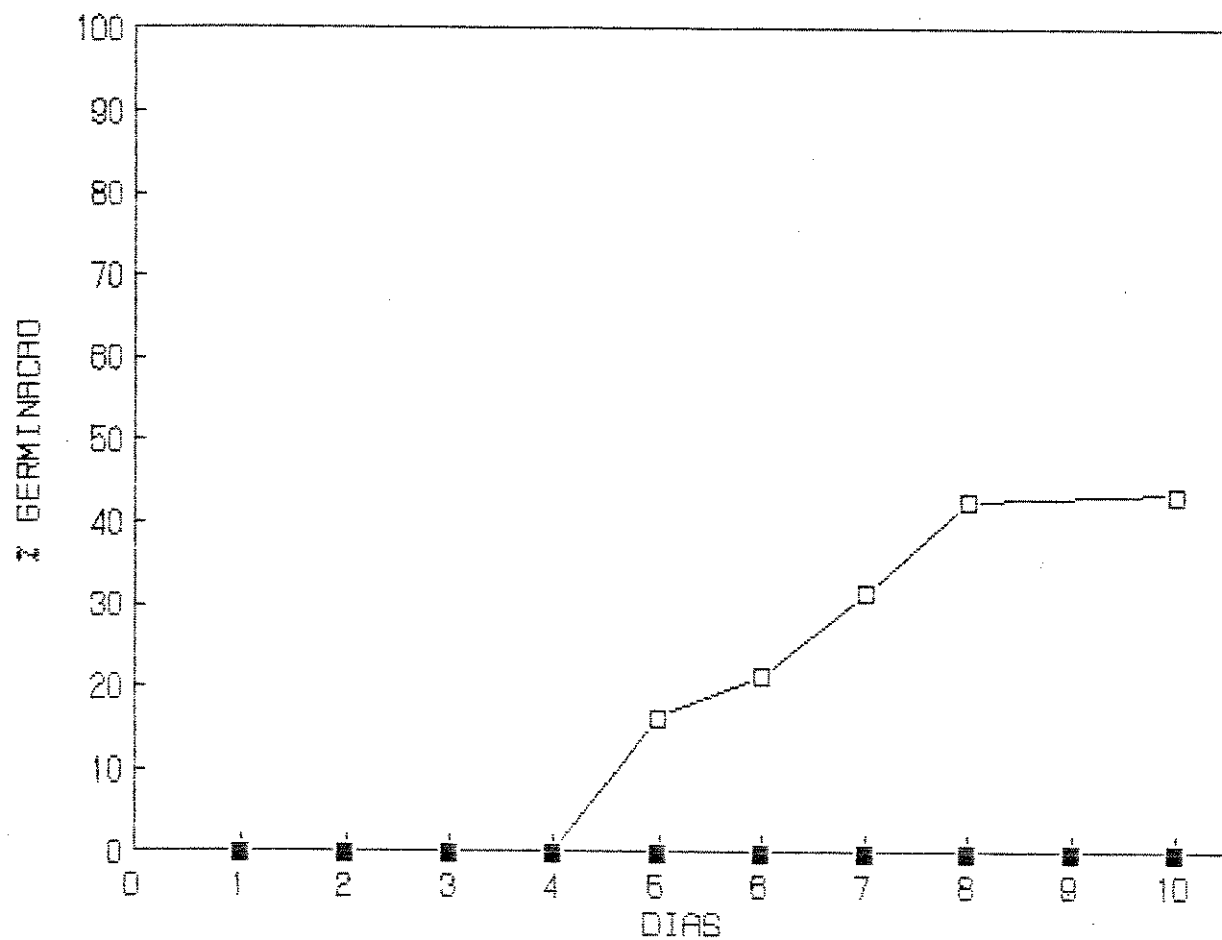


Figura 44 - Germinação de esporos de *Thelypteris* sp.
Quadrados vazios: luz branca; quadrados
cheios: escuro.

Comparando as várias espécies pode-se dizer que todas são totalmente fotoblásticas positivas. A maior velocidade de germinação foi apresentada por Cyathea delgadii e a menor por Thelypteris sp. A porcentagem de germinação foi alta (ao redor de 90%) em Asplenium serra, Blechnum glandulosum e Cyathea delgadii e baixa (menos de 50%) em Polypodium triseriales e Thelypteris sp. O início da germinação mais rápido (dia 2) foi da espécie Blechnum brasiliense e o mais tardio foi no dia 7 em Asplenium serra.

3 - Germinação e conteúdo de carboidratos, lipídios e proteínas de esporos de Cyathea delgadii.

A maior quantidade de esporos formados foi observado em maio. A figura 45 mostra a germinação destes durante diferentes períodos de armazenamento (armazenamento sob escuro e baixa temperatura). O início da germinação, em geral, foi no terceiro dia, sendo o valor máximo atingido no sétimo dia. Os esporos com 73 e 125 dias de armazenamento atrasaram o início da germinação em um dia. A velocidade de germinação é mostrada na tabela 19.

Para determinar qual lote de esporos deveria ser utilizado nas dosagens, foram feitas curvas de germinação dos esporos coletados em dezembro, janeiro, abril e maio, correspondendo a 272, 231, 177 e 148 dias de armazenamento (figura 46).

Os esporos coletados em dezembro praticamente não germinaram e os poucos que germinaram apresentaram gametófitos filamentosos. Os esporos coletados em janeiro iniciaram a germinação no sexto dia e atingiram o valor máximo no décimo terceiro dia com 53,5% de germinação. Dos esporos germinados, uma pequena parcela apresentou gametófito filamentoso. Os esporos coletados em abril e maio apresentaram padrão de germinação semelhante entre si, assim como a velocidade de germinação maiores (tabela 20). Foi escolhido o segundo material pela grande quantidade de esporos coletados.

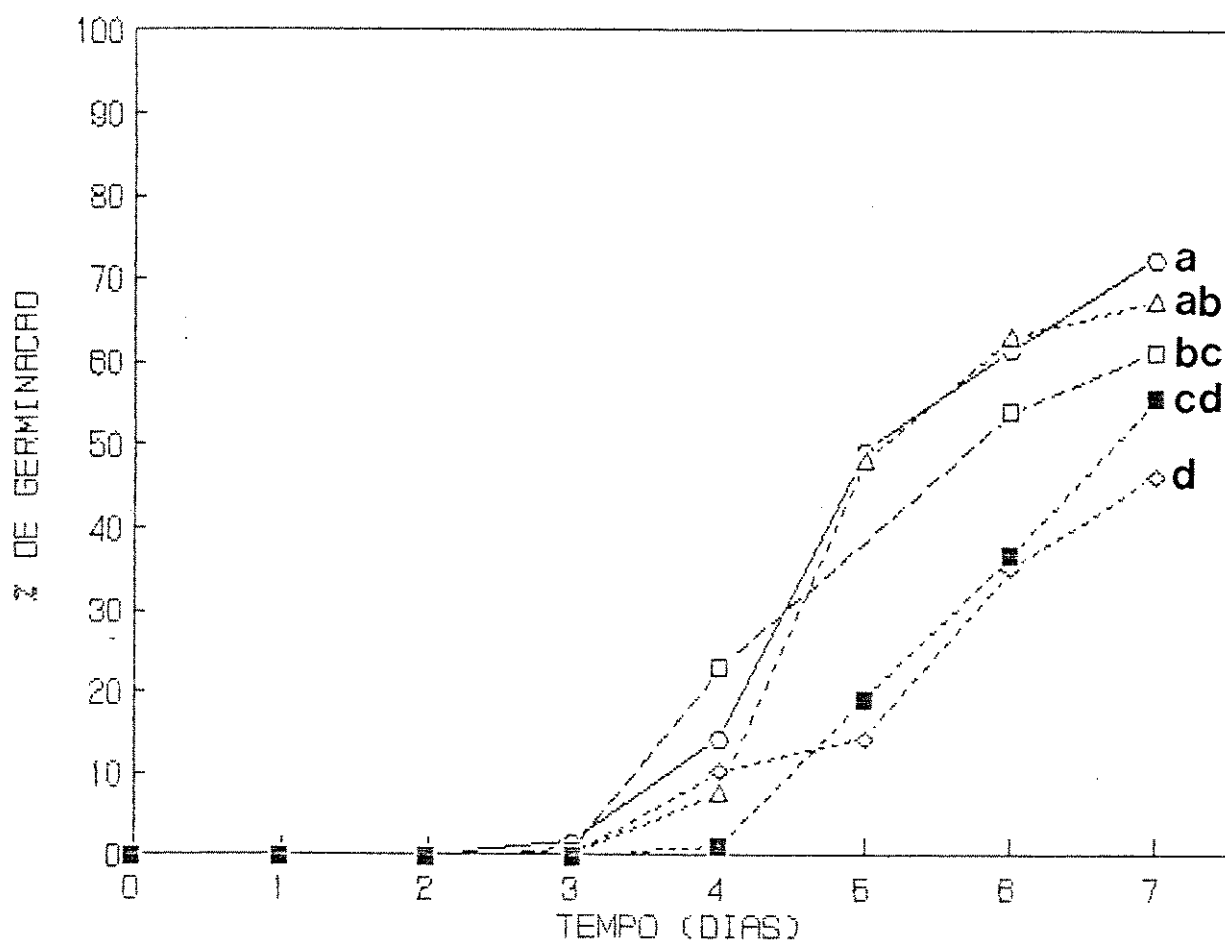


Figura 45 - Curvas de germinação de esporos de *Cyathea delgadii* coletados no mês de maio e armazenados por 46, 54, 58, 73 e 125 dias, sob luz contínua e temperatura de 25°C. Círculos vazios: 46 dias; triângulos vazios: 54 dias; quadrados vazios: 58 dias; losangos vazios: 73 dias; quadrados cheios: 125 dias. Letras comparam valores finais de germinação.

Tabela 19 - Velocidade de germinação (coeficiente b) para esporos de Cyathea delgadii coletados no mês de maio e armazenados por 46, 54, 58, 73 e 125 dias.

Tempo de armazenamento (Dias)	Período (Dia) para cálculo		Velocidade de germinação (%/dia)
	Início	Fim	
46	3	7	13,42
54	3	6	17,59
58	3	7	12,36
73	3	7	9,79
125	4	7	12,12

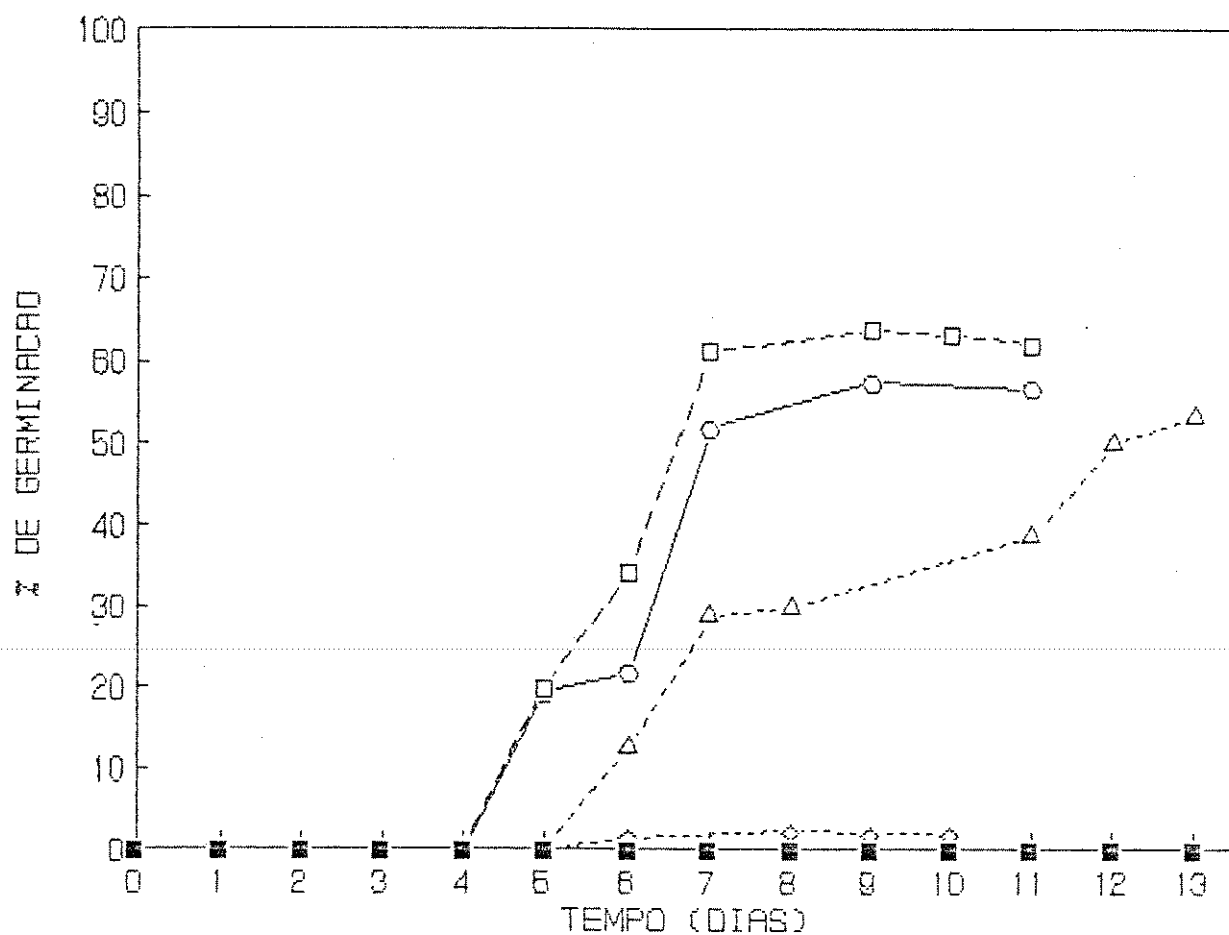


Figura 46 - Curvas de germinação de esporos de *Cyathea delgadii*, em luz e escuro contínuo e temperatura constante de 25°C, armazenados por 148, 177, 231, 272 dias (coletas feitas em maio, abril, janeiro e dezembro, respectivamente).
 Círculos vazios: 148 dias; quadrados vazios: 177 dias; triângulos vazios: 231 dias; losangos vazios: 272 dias; quadrados cheios: escuro para todos.

Tabela 20 - Velocidade de germinação (coeficiente b) para esporos de Cyathea delgadii armazenados por 148, 177, 231 e 272 dias em escuro e 4°C. As coletas foram feitas em maio, abril, janeiro e dezembro, respectivamente.

Tempo de armazenamento (Dias)	Período (Dia) para cálculo		Velocidade de germinação (%/dia)
	Início	Fim	
148	4	9	6,04
177	4	7	6,75
231	5	12	4,42
272	5	8	1,82

Foi feita a dosagem de açúcares, lipídios e proteínas em esporos secos (não embebidos) das diferentes coletas. Como pode ser visto nas tabelas 21 e 22 o conteúdo de açúcares solúveis totais, amido e lipídios parecem ser respostas ao tempo de armazenamento. Em um mesmo lote houve sensível decréscimo dos lipídios (tabela 22). Das dosagens de proteínas solúveis totais, pode-se observar que os esporos coletados em dezembro e janeiro (279 e 241 dias respectivamente) apresentaram baixíssimos valores. Esporos coletados em abril e maio apresentam valores superiores, sem diferença significativa na primeira dosagem, mas diferindo após 86 dias de armazenamento, período no qual se observa grande decréscimo (tabela 23).

Para comprovar a ausência de fenóis no extrato de proteínas, foi feito um teste com os solventes etanol (70%), éter dietílico e hidróxido de sódio (0,1N) utilizados normalmente para dosagens de fenóis, lipídios e proteínas, respectivamente. Os resultados indicam que os fenóis, 6,18 μg equivalente ácido fênico mg^{-1} , presentes nos esporos são retirados com éter dietílico antes das dosagens protéicas (tabela 24).

Os açúcares solúveis totais, amido, lipídios totais e proteínas solúveis totais foram dosados após 0, 3, 6, 12 e 24 horas de embebição, em intervalo de 24 horas durante a germinação em luz e após 10 dias em escuro.

Na figura 47, observa-se que os açúcares solúveis totais decrescem significativamente durante as doze primeiras horas de embebição, permanecendo estável até o início da germinação.

Tabela 21 - Conteúdo de açúcares solúveis totais e amido em esporos secos de C. delgadoi armazenados em escuro e 40°C.
As letras comparam valores na vertical.

Coleta (Ano-Mês)	Armazenamento (Dias)	Açúcares solúveis totais ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)	Amido ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
1989 DEZ	288	14,92 c	3,79 b
1990 JAN	247	27,72 a	10,47 a
ABR	164	21,95 b	5,43 b
MAI	134	18,81 b	11,77 a
DMS _{5%} (Tukey)		3,79	2,70

Tabela 22 - Conteúdo de lipídios totais em esporos secos de *C. delgadoi* armazenados em escuro e 4°C.

As letras comparam valores na vertical.

Coleta (Ano-Mês)	Armazenamento (Dias)	Lipídios ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
1989 DEZ	209	76,1 C
	295	21,4 b
1990 JAN	168	117,3 B
	254	44,6 b
ABR	84	216,4 A
	171	83,6 a
MAI	-	-
	141	91,7 a
DMS _{5%} (Tukey)		24,5
		33,8

Tabela 23 - Conteúdo de proteínas solúveis totais em esporos secos de C. delgadii armazenados em escuro e 4°C.

As letras comparam valores na vertical.

Coleta (Ano-Mês)	Armazenamento (Dias)	Proteínas solúveis ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
1989 DEZ	209	-
	279	1,74 c
1990 JAN	168	-
	241	0,08 c
ABR	84	48,60 N.S.
	155	19,40 a
MAI	54	50,02 N.S.
	125	15,95 b
DMS _{5%}		-
		3,84

Tabela 24 - Conteúdo de fenóis de esporos secos de Cyalhea delgadii extraídos em etanol (70%), éter dietílico e hidróxido de sódio (0,1 N).

Extrato	µg equivalente ác.fênico . mg ⁻¹

Etanol (70%)	6,18 a
éter dietílico	7,68 b
Hidr. sódio (0,1 N)	0,18 c

DMS _{5%} (Tukey)	0,62

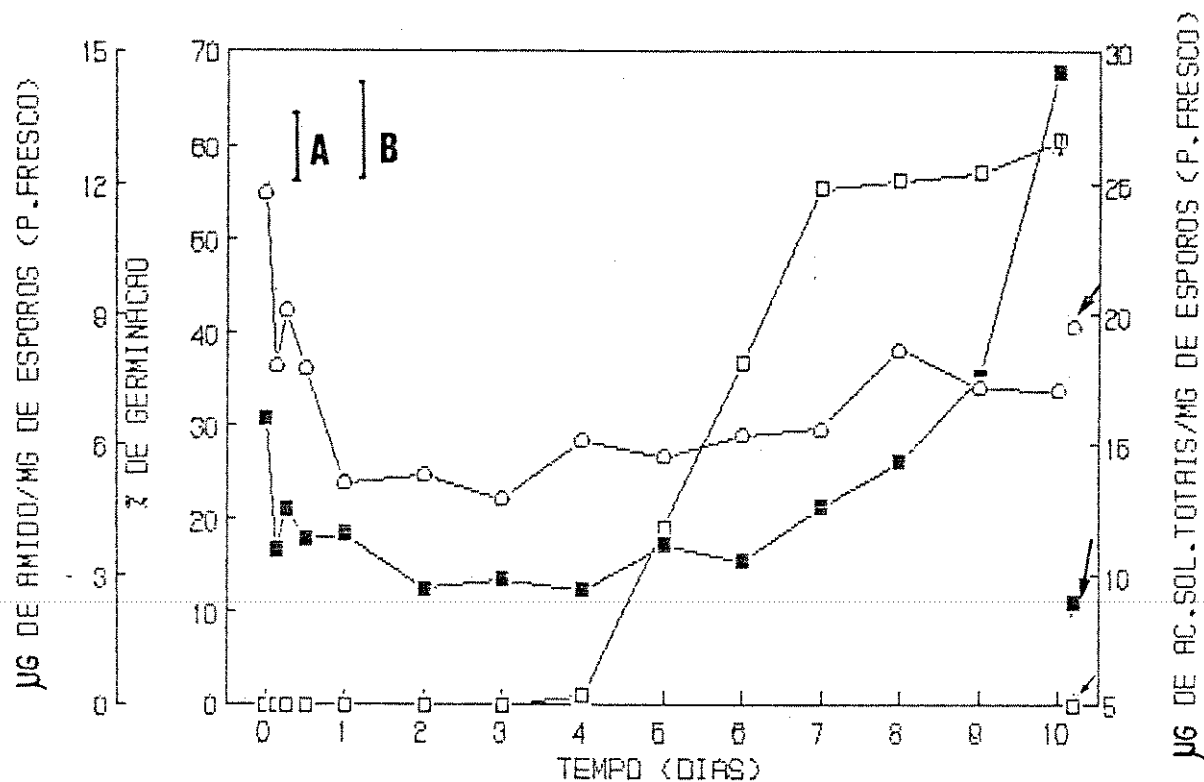


Figura 47 - Conteúdo de açúcares solúveis totais e amido em esporos secos (dia 0) de *Cyathea delgadii*, durante embebição e germinação, sob luz constante; após 10 dias em escuro. Temperatura constante de 25°C. Quadrados vazios: germinação; quadrados cheios: açúcares solúveis; círculos vazios: amido; setas: escuro. Barras correspondem a DMS 5% para comparação de todos os pontos das curvas : A= açúcares solúveis; B= amido.

Durante a germinação, inicia-se um acréscimo de açúcares, sendo aumento significativo apenas no décimo dia. Em escuro (décimo dia), observa-se valor inferior ao encontrado em esporo seco e ao germinado em luz (décimo dia) (tabela 25). O amido também apresenta decréscimo durante as primeiras horas de embebição, porém com valor estabilizado durante os dez dias de germinação em luz. O valor encontrado em escuro no décimo dia é inferior ao encontrado em esporos secos (tabela 25). A partir do primeiro dia de embebição observa-se que à medida que os açúcares solúveis totais diminuem, o amido aumenta. Ainda que as mudanças não sejam estatisticamente diferentes, esta resposta é observada até o décimo dia.

Os esporos secos apresentaram 9,17% de lipídios. Durante a embebição há a formação de lipídios e durante a germinação há um decréscimo (figura 48). O valor inicial e final em luz são iguais sendo apenas os primeiros dias de germinação diferentes estatisticamente. Os esporos que ficaram em escuro por 10 dias apresentam valor estatisticamente igual aos esporos secos e aos germinados em luz por 10 dias.

As proteínas solúveis totais, de maneira geral, aumentam de valor durante a embebição e germinação. Apenas o décimo dia em luz é estatisticamente diferente do valor inicial. Observa-se aumento também em esporos por 10 dias no escuro (figura 49).

Tabela 25 - Conteúdo de açúcares solúveis totais, amido, lipídios totais e proteínas solúveis totais ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ de esporos) em esporos secos (dia 0), embebidos (dia 10 em escuro) e germinados (dia 10 em luz) de C. delgadii.

	Dia 0	Dia 10	
	(esporos secos)	Escuro	Luz
Acúcares Sol.Totais	15,95	8,94	29,29
Amido	11,77	8,74	7,30
Lipídios	91,70	103,20	171,70
Proteínas Sol.Totais	15,95	26,05	24,56

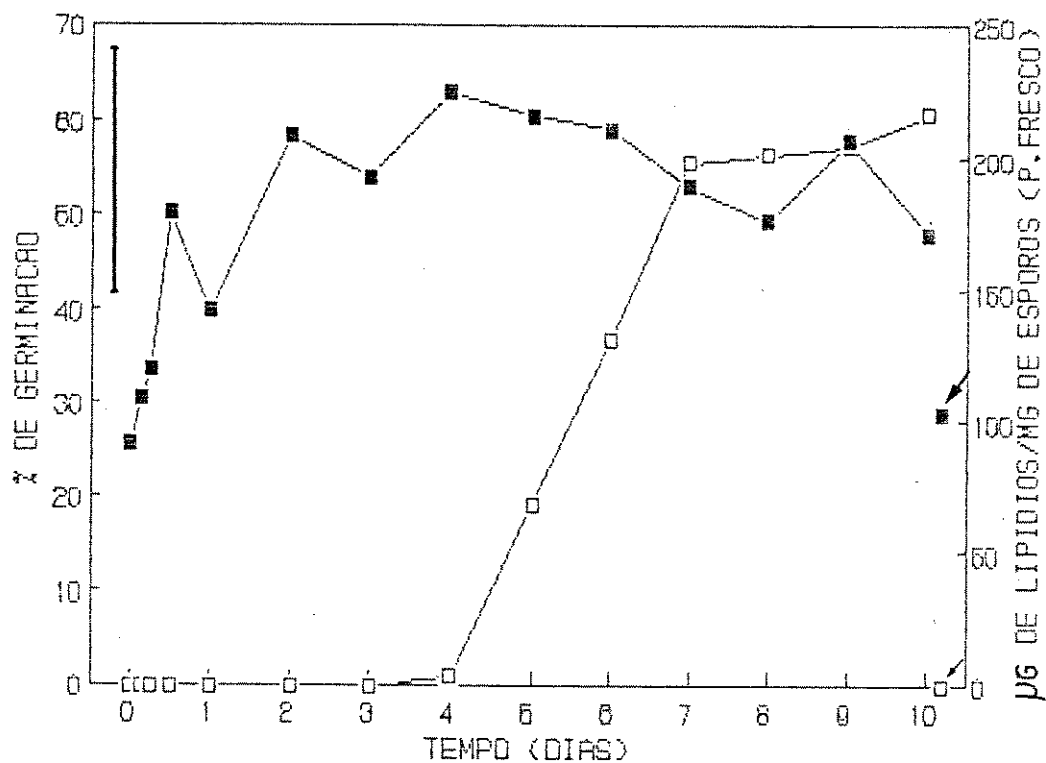


Figura 48 - Conteúdo de lipídios em esporos secos (dia 0) de *Cyathea delgadii*, durante embebição e germinação, sob luz constante, após 10 dias em escuro. Temperatura constante de 25°C. Quadrados vazios: germinação; quadrados cheios: lipídios; setas: escuro. Barra corresponde a DMS 5% para comparação de todos os pontos da curva de lipídios.

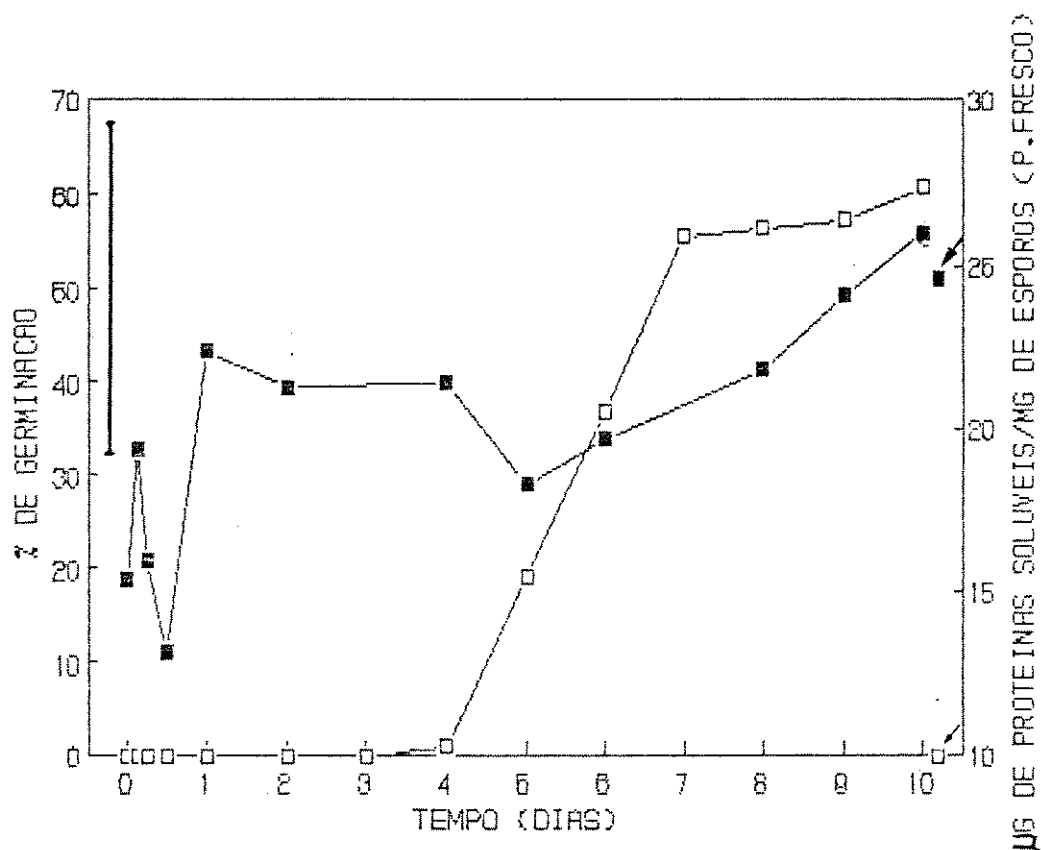


Figura 49 - Conteúdo de proteínas solúveis em esporos secos (dia 0) de *Cyathea delgadii*, durante embebição e germinação, sob luz constante, após 10 dias em escuro. Temperatura constante de 25°C. Quadrados vazios: germinação; quadrados cheios: proteína solúveis; setas: escuro. Barra corresponde a DMS 5% para comparação de todos os pontos da curva de proteínas.

IV - DISCUSSAO

CRABBE et al. (1975) citam que há cerca de 12000 espécies de pteridófitas conhecidas, distribuídas em aproximadamente 400 gêneros. Ocorrem nos mais variados habitats, apresentando uma grande variedade de formas e tamanhos, tanto no esporófito quanto no gametófito (PAGE, 1979).

Por apresentarem as fases esporofítica e gametofítica bem definidas, as pteridófitas são consideradas material ideal para o estudo de controle da diferenciação de tecidos vasculares, folhas em desenvolvimento e organização da célula apical, controle da expressão sexual e germinação (RAGHAVAN, 1985).

Neste trabalho, apenas nove espécies foram estudadas sob os aspectos de morfologia e germinação de esporos. Pertencem à ordem Filicales, distribuídas em cinco famílias: Aspleniaceae (Asplenium), Blechnaceae (Blechnum), Cyatheaceae (Cyathea), Polypodiaceae (Campyloneurum e Polypodium) e Thelypteridaceae (Thelypteris).

Asplenium, principal gênero de Aspleniaceae, é cosmopolita com cerca de 700 espécies (Copeland, 1947 in NAYAR & DEVI, 1964a). No estudo da morfologia dos esporos de Asplenium presentes na Índia, todas as espécies, com exceção de A. viride, apresentam perina com uma dobra proeminente, quase reta sobre a região da lesão (NAYAR & DEVI, 1964a). Asplenium serra, espécie epífita, é amplamente distribuída na América tropical, desde as grandes Antilhas e México até o Brasil Meridional, Uruguai e o

noroeste da Argentina, entre 1000 e 1700 metros de altitude (SOTA, 1973). O esporo foi descrito por TRYON & TRYON (1982) como possuindo superfície reticulada com baixas estruturas columeliformes. A imagem de microscopia eletrônica de varredura confirma as observações feitas aqui em microscopia óptica. NAYAR & DEVI (1964a) citam que a evolução do gênero Asplenium teria sido através da redução da ornamentação da exina assim como da perina, aumentando o tamanho do esporo e das as pregas da perina, e, em alguns casos, com a ausência da prega na região da lesão. A redução da ornamentação da perina e exina não teriam, no entanto, ocorrido paralelamente.

Blechnaceae é uma pequena família de samambaias terrestres a qual inclui cerca de oito gêneros (LLOYD, 1976). Blechnum, típico gênero de Blechnaceae, compreende cerca de 200 espécies (Copeland, 1947 in NAYAR & DEVI, 1964a). Blechnum brasiliense foi descrito como tendo esporo monolete, de forma plano convexo e exina psilada (sexina duas vezes mais espessa do que a nexina) (ERDTMAN & SORSA 1971; MORELLI, 1976). As observações do presente estudo assemelham-se às descrições e medidas da literatura, exceto para o comprimento da lesão que apresentou um valor ligeiramente inferior. A perina foi descrita por MORELLI (1976) como rugada, podendo ocorrer grandes rugas que dão à superfície do esporo o aspecto de pregas. As observações aqui mostradas, no entanto, estão de acordo com Nayar et al. (1966, in MORELLI, 1976) ao descrevê-la como granulosa. O esporo de Blechnum occidentale (KREMP & KAWASAKI, 1972) também é do tipo monolete e elipsoidal,

mas a sua exina pode apresentar ornamentação com verrugas ou ser psilada. Em Blechnum brasiliense a exina é psilada.

No estudo da morfologia de esporos de Cyatheaceae, a presença da perina e sua ornamentação são importantes para a sistemática do grupo (GASTONY, 1974). Esporos maduros de Cyathea delgadii não apresentaram perina quando acetolisado por dois minutos. KREMP & KAWASAKI (1972) descrevem esporos de Cyathea arborea como sendo triletes e subtriangulares, mas também não citam a presença de perina. Se estas espécies apresentam perina, ela é facilmente removível em esporos maduros, pois todo material foi coletado de soros já abertos. Foram observados três tipos de esporos de C. delgadii. O tipo predominante é aquele que apresenta margem saliente na lesão e superfície verrugosa. Seriam necessários estudos mais detalhados para se afirmar a razão real dos três tipos (grau de maturação, anomalia, plasticidade fenotípica...). Cabe lembrar que todos os tipos apresentam conteúdo celular. Variação em formato de esporos também foi encontrada por ESTEVES *et al.* (1985) em Trichipteris corcovadensis.

Campyloneurum phyllitidis é uma espécie muito frequente na América tropical (Estados Unidos a Argentina e Uruguai), crescendo, na Argentina, como epífita ou às vezes sobre rochas e paredes (SOTA, 1973). Seus esporos foram descritos por NAYAR & DEVI (1964b), e por KREMP & KAWASAKI (1972). Algumas diferenças são encontradas nas medidas e na descrição da exina. Os esporos observados por KREMP & KAWASAKI são maiores apresentando 61,5 X 37,9 μm ; NAYAR & DEVI encontraram 31 X 52 X 40 μm e as medidas

deste trabalho dão 25,9 X 43,8 X 26,9 μ m. A exina foi descrita como fracamente areolada (NAYAR & DEVI, 1964b), subpsilada (KREMP & KAWASAKI, 1972) e verrugada (TRYON & TRYON, 1982). No presente estudo a exina apresenta baixas verrugas.

No gênero Polypodium, as duas espécies estudadas já foram descritas por outros autores. NAYAR & DEVI (1964b) descreveram esporos de Polypodium triseriales. Os autores também observaram material coletado no Brasil. As descrições de esporos monoletes insulados estão de acordo com o presente trabalho, onde os esporos são menores. Esporos de Polypodium robustum foram descritos por OLIVEIRA-CAMARGO & FERREIRA (1976) como monoletes e verrugosos. Suas medidas estão muito próximas (pouco inferior) às encontradas em P. ptilodum var. robustum. ERDTMAN (1971) descreveu os esporos do gênero como monoletes (triletes em P. subpinnatum), sem perina e ornamentados com verrugas e/ou tubérculos. ESTEVES (1989) descreveu cinco espécies de Polypodium de cerrado. Encontrou perina em Polypodium hirsutissimum, P. latipes, P. pleopeltifolium e P. squamulosum (ausente em P. polypodioides), sendo resistente em todas as espécies à acetólise de dois minutos, o que dificultou a observação da escultura.

TRYON & TRYON (1982) citam três principais tipos de arquitetura da superfície de esporos de espécies americanas de Thelypteridaceae: rugado e reticulado (Thelypteris) e espinhoso para o subgênero Stegnogramma. Thelypteris palustri têm mostrado variação da perina em diferentes áreas geográficas: reticulada (Europa), espinhosa (N.Zelândia), verrugada (leste da América do

Norte) e com projeções irregulares ou papilas (sudeste da América do Norte e Japão)(TRYON & TRYON, 1973). Não foi encontrada descrição de esporos de Thelypteris chrisoides para comparação com o presente trabalho, onde os esporos apresentaram perina com pregas e exina psilada.

MITSUI (1986) atribui ao perisporo ou perina a função de proteção ao esporo. Seria também mais uma barreira para a célula rizoidal ultrapassar antes da germinação. Entre as espécies estudadas não foi possível relacionar presença de perina com baixa germinação ou velocidade de germinação.

Vários fatores influenciam a germinação, entre eles a luz e temperatura. A maioria das espécies de pteridófitas apresentam germinação na presença de luz (MILLER, 1968). As curvas de germinação aqui apresentadas mostraram que as nove espécies também germinam na presença de luz. Em nenhuma espécie foi observada germinação no escuro.

Segundo os valores obtidos, Cyathea delgadii apresentou maior velocidade e Thelypteris sp, a menor. C. delgadii apresenta alta germinabilidade pois atingiu cerca de 90% de germinação. Também Asplenium serra e Blechnum glandulosum atingiram altos valores de germinação, porém apresentando um período de dormência maior (A. serra) e velocidade inferior (B. glandulosum). Embora com alta germinabilidade, A. serra e B. glandulosum apresentam alta reprodução vegetativa, por ramificação de rizoma ou por estoques (PEREIRA-NORONHA, 1989).

Asplenium serra e Polypodium ptilodum var. robustum apresentam velocidade de germinação muito próximos, no entanto o padrão de germinação difere. Parâmetros como tempo de dormência e porcentagem de germinação final devem ser considerados: A. serra inicia a germinação mais tarde, porém com maior número de esporos germinando.

As baixas velocidades encontradas em P. triseriales e Thelypteris sp são respostas à baixa germinação final e ao período necessário para atingir a estabilização. A baixa germinação final não dever ser considerada como um fator isolado pois é resposta da espécie e/ou da população às condições ambientais e aos fatores genéticos. Pode ou não ser um fator desfavorável para estabilização do protalo, assim como a rápida germinação observada em Blechnum brasiliense (que não apresenta ramificação de rizomas).

Durante o armazenamento de esporos de pteridófitas observa-se deterioração através da redução da porcentagem (KLEKOWSKI, 1970) e velocidade de germinação, sensibilidade do tratamento de luz na fase de indução (MOHR et al., 1964) e taxa de desenvolvimento após germinação (TOWILL & IKUMA, 1975a).

Para reduzir a taxa de deterioração, os esporos são comumente armazenados secos, em frascos fechados, algumas vezes em dessecador, e à baixa temperatura. Esporos clorofilados, de Matteuccia struthiopteris e Onoclea sensibilis, que geralmente apresentam curto período de viabilidade, puderam em baixa temperatura permanecer viáveis, sem decréscimo de germinação, por dois

anos (GANTT & ARNOTT, 1965; MILLER & MILLER, 1961). Esporos de Osmunda regalis, em contrapartida, deterioram em menos de seis semanas a 4°C (Haigh & Howard, 1970 in DYER 1979).

Em esporos de Cyathea delgadii, MARCONDES-FERREIRA & FELIPPE (1984) estudaram o armazenamento a 4 e 25°C. Foi observado que a 25°C os esporos perdem total viabilidade após um ano, enquanto que a 4°C a viabilidade decresce durante o armazenamento, sendo observado após dois anos apenas 7% de germinação.

Também pode-se observar neste estudo um decréscimo na porcentagem associado ao atraso do início da germinação em esporos armazenados a 4°C. Em pouco mais de dois meses e meio observou-se um decréscimo de 16,8% de germinação o que corresponde a uma queda de 23,2% do valor inicial. A redução poderia estar relacionada com algum fator externo como umidade e fator interno, próprio da espécie.

A variação de germinação ocorre não somente entre espécies, mas entre amostras de esporos de uma mesma população (SUGAI et al., 1977). MARCONDES-FERREIRA (1983) e RANDI (1987) observaram germinação de esporos de C. delgadii coletados no mesmo local, porém em anos diferentes. No primeiro caso a estabilização foi atingida no décimo segundo dia enquanto no segundo, já no sétimo dia. No acompanhamento de RANDI (1987) observou-se que o início da germinação ocorre entre o quinto e sexto dia nos esporos coletados de janeiro a março; entre abril e novembro isto ocorre entre terceiro e quarto dia. De maneira geral, a porcentagem final permaneceu constante durante o ano (ao redor de 75%),

com os meses de fevereiro e setembro apresentando um pequeno acréscimo (cerca de 82%).

Os esporos coletados em dezembro, janeiro, abril e maio apresentaram redução da porcentagem final e velocidade de germinação paralelas ao aumento do tempo de armazenamento. Havendo os fatores armazenamento e época de coleta, é difícil afirmar qual fator é preponderante. Entretanto, a atuação do armazenamento no decréscimo da porcentagem final e velocidade de germinação é comprovada nos esporos coletados em maio e germinados após diferentes períodos de estocagem.

O armazenamento, segundo SMITH & ROBINSON (1975), também provoca germinação apolar. Em experimento com Polypodium vulgare, os autores constataram que a divisão polar estaria relacionada com algumas substâncias de crescimento presentes em esporos recém-coletados. Quando esporos estocados por quatro anos foram colocados para germinar sobre meio sólido onde esporos recém-coletados já haviam germinados, observou-se redução da produção de gametófitos apolares. A divisão apolar, formando gametófitos filamentosos também foi observada em Cyathea delgadii nos esporos coletados em dezembro (estocados por 272 dias) e, em menor escala, nos coletados em janeiro (estocados por 231 dias).

RANAL (1983) observou a germinação de Polypodium hirsutissimum no escuro em esporos recém-coletados. Ao serem estocados por três meses, os esporos perderam a viabilidade.

Os esporos, assim como as sementes de plantas superiores, apresentam vários tipos de substâncias de reservas. Esporos

de Onoclea sensibilis possuem no mínimo quatro substâncias de reservas: lipídios e proteínas (TOWILL & IKUMA, 1975b; DeMAGGIO & STETLER, 1980; 1985), ácido fítico (DeMAGGIO & STETLER, 1985) e sacarose (TOWILL & IKUMA, 1975b).

Através de estudos histoquímicos têm sido revelado que os principais materiais estocados são lipídios e proteínas em esporos não clorofilados de Blechnum spicant e Pteridium aquilinum (GULLVÅG, 1969) e o principal para os esporos clorofilados de Matteuccia struthiopteris é a proteína.

Cyathea delgadii apresenta esporos aclorofilados (RANDI, 1987) e entre açúcares solúveis totais, amido, lipídios e proteínas solúveis totais dosados, os lipídios e as proteínas apresentam-se em maior quantidade. Estes conteúdos, no entanto, reduzem-se drasticamente durante o armazenamento. Observou-se também que os esporos apresentam conteúdo que varia durante a época do ano, demonstrando que os fatores ambientais influenciam na formação dos esporos através da produção e tranlocação desse conteúdo.

TOWILL & IKUMA (1975b) observaram que a luz induz a germinação e ativa também o sistema de degradação de sacarose e síntese de amido que ocorrem concomitantemente. Acreditava-se que a sacarose proveria precursores de carbono para síntese de amido. No entanto, nesta mesma espécie, foi provado, através de inibidores específicos, que a mobilização de sacarose não depende da síntese do amido, assim como a síntese de amido não é afetada pela ausência de degradação de sacarose (TOWILL, 1985).

Em Cyathea delgadii, os açúcares solúveis totais e o amido poderiam atuar como produtos de reserva utilizados já nas primeiras horas de embebição. Os açúcares solúveis totais permanecem em valor constante apartir das 12 horas de embebição. Observa-se um aumento paralelo à germinação, aumento este que reflete em valor significativo apenas no décimo dia. Possivelmente este aumento está relacionado com o sistema fotossintetizante instalado após a germinação, pois RANDI (1987) observou grande aumento entre o sétimo e décimo quarto dia de germinação, período o qual há formação de protalo. No escuro, houve decréscimo de açúcares solúveis, o que por um lado comprovaria que o sistema enzimático atuante não necessita de luz para ser instalado, e por outro lado, que estes não poderiam ser considerados material de reserva utilizado na germinação, visto que não ocorreu germinação no escuro. Também em esporos de Onoclea sensibilis foi observado decréscimo lento do conteúdo em escuro, sendo rápido nas primeiras dez horas na presença de luz. O amido, após a mobilização nas primeiras 24 horas, permanece estável durante a germinação em luz. Assim como os açúcares solúveis, o amido foi sintetizado após o estabelecimento da fotossíntese na fase de protalo (RANDI, 1987).

Lipídios estão presentes em grande quantidade em esporos de algumas pteridófitas e atuam como produto de reserva. Em esporos de Adiantum capillus-veneris, Dryopteris, Polypodium vulgare e Pteris vittata foram observados decréscimo de 50% do total lipídico durante a germinação, indicando que este material

de reserva poderia prover os esporos com energia e material durante a fase inicial de desenvolvimento celular (ROBINSON *et al.*, 1973; GEMMRICH, 1980; MINAMIKAWA *et al.*, 1984; DeMAGGIO & STETLER, 1985). Em esporos de Matteuccia e Onoclea a redução de lipídio durante a germinação foi de 12,5%.

Em esporos de C. delgadii foi observado síntese durante o período de embebição e estabilização durante a germinação. É difícil justificar o aumento de lipídios durante a fase de embebição pois os esporos não são clorofilados e a síntese não estaria relacionada com fotossíntese. Poderíamos supor que as diferenças estão relacionadas com a heterogeneidade do material coletado. Por outro lado, sínteses lipídicas já foram observadas através de marcação radioativa em esporos de Anemia phyllitidis e Polypodium vulgare (ROBINSON *et al.*, 1973; GEMMRICH, 1979).

Espécies clorofiladas são caracterizadas por pequena viabilidade, rápida germinação e alto conteúdo de água (CRAN, 1979). Nestes casos, os lipídios poderiam atuar nas primeiras horas de embebição com fornecimento de energia para germinação. No entanto, em esporos aclorofilados de Thelypteris dentata, SEILHEIMER (1978) afirma que os lipídios e a formação de clorofila estão relacionados com o aparato fotossintético, em protalo. Durante o período inicial de germinação não foi observado redução, a única mudança significativa foi o aumento do ácido linoléico.

RANDI & FELIPPE (1988c) encontraram 43% de lipídios em esporos secos de C. delgadii. Durante os primeiros sete dias de germinação em luz houve uma queda acentuada do conteúdo lipídico,

ficando entre o sétimo e décimo quarto dia uma diferença não significativa. Embora os dados obtidos estejam em peso fresco, eles se assemelham mais aos dados de peso seco encontrados por RANDI (1987), onde durante os sete primeiros dias de germinação o conteúdo permaneceu estável e somente entre o sétimo e o décimo quarto dia, fase de protalo, ocorreu decréscimo.

Esporos de C. delgadii em escuro por dez dias apresentaram conteúdo lipídico estatisticamente igual ao encontrado em esporos secos e esporos germinados em luz após dez dias, porém inferior aos esporos embebidos e germinados em luz após 4-6 dias. Em esporos de Anemia phyllitidis não foi observado degradação de lipídios em esporos embebidos no escuro, o que indicou que as atividades das enzimas degradadoras, nesta espécie, em contraste com as de síntese lipídica é regulada por luz (GEMMRICH, 1979).

Os resultados de conteúdo protéico foram obtidos pelo método de Bradford. Este método é criticado por dosar fenóis causando uma superestimativa em material rico em fenóis e, entre as proteínas, dosar apenas os grandes peptídios (COHEN & DeMAGGIO, 1986; MATTOO et al., 1987). Os dados obtidos não sofreram interferência de fenóis pois a pequena quantia existente no material foi retirada antes da dosagem.

Segundo análise de variância sobre os dados, o conteúdo protéico permaneceu constante durante embebição e germinação, havendo acréscimo significativo apenas no décimo dia de germinação em luz. No entanto, a literatura fala sobre mudanças protéicas durante a embebição e germinação que coincidem com as variações

não significativas encontradas neste trabalho.

Durante as doze primeiras horas de embebição observa-se um decréscimo do conteúdo protéico não significativo estatisticamente. Embora o valor encontrado em esporos secos seja muito baixo, levando a crer que este não seria o principal produto de reserva para promoção da germinação, nota-se que o decréscimo foi de aproximadamente 18% do valor inicial. Também em Matteuccia struthiopteris (GANTT & ARNOTT, 1965; COHEN & DeMAGGIO, 1986) e em Pteridium aquilinum (RAGHAVAN, 1970) foram observados decréscimo de proteínas solúveis durante as primeiras horas de embebição, os valores e o tempo desta fase variaram entre as espécies. No primeiro caso, com 15% de proteínas em esporos secos foi possível observar decréscimo do número de grânulos protéicos bem como as transformações de tamanho e formato. Esta redução seria resultado da ação enzimática, enzimas as quais preexistem em esporos secos.

HUCKABY & MILLER (1984) observaram nove peptídios considerados específicos para rizóides pois não foi observado nem antes da divisão celular, nem em célula protonemal. Desta forma poderia se projetar a idéia de que em C. delgadii a síntese protéica observada durante o período de 12-24 horas precederia a divisão celular.

Os esporos mantidos em escuro por dez dias apresentaram valor de proteínas próximo ao obtido no mesmo dia em luz. Estatisticamente o valor em escuro é igual aos esporos secos e aos germinados em luz por dez dias. Em esporos de Pteris vittata tam-

bém não foi observada síntese de DNA e proteínas nem em esporos em completo escuro nem em esporos expostos a choque de luz vermelho seguido de luz vermelho-extremo. Se fossemos considerar a pequena variação, como anteriormente, poderíamos supor que os esporos em escuro estariam utilizando-se do processo de síntese protéica observada antes da divisão celular em esporos embebidos em luz (RAGHAVAN, 1977). Não havendo germinação, não haveria divisão celular que interrompesse a síntese.

Em esporos de C. delgadii, RANDI (1987) também observou um aumento do conteúdo protéico no sétimo e décimo quarto dia de germinação em luz. Ao confrontar os valores em dia zero e sétimo dia de germinação em luz, observa-se que os valores neste trabalho são sensivelmente inferiores. Esta diferença poderia ser esclarecida através das diferenças ambientais para formação dos esporos uma vez que são coletas de locais e anos diferentes. Uma sugestão para futuros estudos é a comparação entre diferentes populações.

V - RESUMO

Foi feito um levantamento das espécies de pteridófitas presentes na mata ciliar da Reserva Biológica de Moji-Guaçu (SP). Destas, as nove espécies mais frequentes e com maior quantidade de esporos foram escolhidas para o estudo da morfologia e germinação. As espécies são: Asplenium serra, Blechnum brasiliense, Blechnum glandulosum, Campyloneurum phyllitidis, Cyathea delgadii, Polypodium ptilodum var. robustum, Polypodium triseriales, Thelypteris chrisoides e Thelypteris sp.

Para o estudo morfopalinológico, os esporos foram acetolisados. As descrições foram baseadas em medidas e fotografias feitas em microscópio óptico.

A germinação dos esporos foi realizada em meio de cultura líquido, em câmara de crescimento sob luz e escuro contínuos, a 25°C constante. As nove espécies apresentaram-se como fotoblásticas positivas.

Cyathea delgadii foi a espécie escolhida para um estudo mais detalhado na parte de fisiologia. Os esporos foram coletados nos meses de dezembro/1989, janeiro, fevereiro, abril e maio/1990. Após estocagem, observou-se que a porcentagem final e a velocidade de germinação, assim como com o conteúdo de lipídios e proteínas, decrescem com o aumento do tempo de estocagem. Foi observado germinação apolar em esporos estocados por 272 dias em escuro e a 4°C.

Foram dosados o conteúdo de açúcares solúveis totais, amido, lipídios e proteínas solúveis totais em esporos secos; embebidos por 3, 6, 12, 24 horas; embebidos e germinados, durante intervalos de vinte e quatro horas até décimo dia e, em esporos mantidos no escuro por dez dias. Açúcares solúveis e amido decrescem durante as primeiras horas de embebição e são sintetizados após a germinação. Em escuro, o valor de amido é inferior ao valor encontrado em esporos secos e superior ao encontrado em esporos germinados na luz (décimo dia). O valor de açúcares solúveis é inferior aos valores encontrados em esporos secos e germinados após dez dias em luz. O conteúdo lipídico em esporos secos apresentou-se igual ao valor de esporos germinados por dez dias em luz e escuro contínuos. As proteínas solúveis totais permaneceram estáveis durante a germinação, sendo apenas o valor no décimo dia superior. Esporos em escuro por dez dias apresentaram valor estatisticamente igual aos esporos secos e germinados em luz por dez dias.

VI - LITERATURA CITADA

- BARTH, O.M. & MELHEM, T.S. 1988. Glossário ilustrado de palinologia. Campinas, Ed. da UNICAMP, 75p.
- BERTONI, J.E. de A. 1984. Composição florística e estrutura fitossociológica de uma floresta do interior do Estado de São Paulo: Reserva Estadual de Porto Ferreira. Tese de Mestrado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 196p.
- BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
- CAMARGO, J.C.G., CESAR, A.L., GENTIL, J.P., PINTO, S.A.F., TROPMAIR, H. 1971. Estudo fitogeográfico da vegetação ciliar do rio Corumbataí, SP. Série Biogeográfica n.º 3. São Paulo, Instituto de Geografia e História, Universidade de São Paulo.
- CHEN, C.Y. & IKUMA, H. 1979. Photocontrol of the germination of Onoclea spores. V. Analysis of germination processes by means of temperature. Plant Physiol. 63: 704-708.
- COHEN, H.P. & DeMAGGIO, A.E. 1986. Biochemistry of fern spore germination: protease activity in ostrich fern spores. Plant Physiol. 80: 992-996.

- CRABBE, J.A., JERMY, A.C. & MICKEL, J.T. 1975. A new general sequence for the pteridophyte herbarium. Fern Gaz. 11:141-162.
- CRAN, D.G. 1979. The ultrastructure of fern gametophyte cells. In The experimental biology of ferns (A.F. DYER, ed.), London, Academic Press, p.171-212.
- DeMAGGIO, A.E. & STETLER, D.A. 1980. Storage products in spores of Onoclea sensibilis L. Amer. J. Bot. 67(4): 452-455.
- DeMAGGIO, A.E. & STETLER, D.A. 1985. Mobilisation of storage reserves during fern spore germination. Proc. Roy. Soc. Edinb. 86B: 195-202.
- DE VUONO, Y.S., BARBOSA, L.M. & BATISTA, E.A. 1982. A Reserva Biológica de Mogi-Guaçu. Silvic. S. Paulo, 16A(1): 548-558.
- DYER, A.F. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. In The experimental biology of ferns (A.F. DYER, ed.), London, Academic Press, p.253-305.
- EITEN, G. 1963. Habitat flora of Fazenda Campininha, São Paulo, Brasil. In Simpósio sobre o cerrado. (M.G. FERRI, ed.), São Paulo, Ed.E. Blücher Ltda. e EDUSP, p.179-231.

- ERDTMAN, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Stockholm, Almqvist & Wiksell, 539p.
- ERDTMAN, G. 1969. Handbook of palynology (morphology-taxonomy-ecology). An introduction to the study of pollen grains and spore. Copenhagen, Munksgaard, 486p.
- ERDTMAN, G. 1971. Pollen and spore morphology/plant taxonomy. Stockholm, Almqvist & Wiksell, 302 p.
- ERDTMAN, G. & SORSA, P. 1971. Pollen and spore morphology/plant taxonomy. IV. An introduction to palynology. Stockholm, Almqvist & Wiksell, 127p.
- ESTEVES, L.M. 1984. Morfologia e germinação de esporos de Trichipteris corcovadensis. Tese de Mestrado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 92p.
- ESTEVES, L.M. 1989. Morfologia e germinação de esporos de pteridófitas dos cerrados do Estado de São Paulo. Tese de Doutorado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 112p.
- ESTEVES, L.M. & FELIPPE, G.M. 1985. Fotossensibilidade de esporos de pteridófitas dos cerrados. Revta brasil. Bot. 8:219-222.

- ESTEVEES, L.M. & FELIPPE, G.M. 1988. Efeito de luz e temperatura na germinação de Polypodium latipes. An. Congr. SBSP 5: 29-34.
- ESTEVEES, L.M., FELIPPE, G.M. & MELHEM, T.S. 1985. Germination and morphology of spores of Trichipteris corcovadensis. Am. Fern J. 75(3):92-102.
- GANTT, E. & ARNOTT, H. 1965. Spore germination and development of the young gametophyte of the ostrich fern (Matteuccia struthiopteris). Amer. J. Bot. 52(1): 82-94.
- GASTONY, G.J. 1974. Spore morphology in the Cyatheaceae. I. The perine and sporangial capacity: general considerations. Amer. J. Bot. 61(6):672-680.
- GASTONY, G.J. 1979. Spore morphology in the Cyatheaceae. III. The genus Trichipteris. Amer. J. Bot. 66:1238-1260.
- GASTONY, G.J. & TRYON, R.M. 1976. Spore morphology in the Cyatheaceae. II. The genera Lophosoria, Metaxya, Sphaeropteris, Alsophila and Nephelea. Amer. J. Bot. 63:738-758.
- GEMMICH, A.R. 1977. Mobilization of reserve lipids in germinating spores of the fern Anemia phyllitidis L. Plant Sci. Lett. 9:301-307.

- GEMMRICH, A.R. 1979. Lipid synthesis in imbibed spores of the fern Anemia phyllitidis L. Sw. Z. Pflanzenphysiol. Bd. 54(1): 58-62.
- GEMMRICH, A.R. 1980. Developmental changes in microbody enzyme activities in germinating spores of the fern Pteris vittata. Z. Pflanzenphysiol. Bd. 97(2): 153-160.
- GEMMRICH, A.R. 1982. Effects of red light and gibberellic acid on lipid metabolism in germination spores of the fern Anemia phyllitidis. Physiol. Pl. 54(1):58-62.
- GIBBS, P.E. & LEITAO FILHO, H.F. 1978. Floristic composition of an area of gallery forest near Mogi-Guaçu, state of São Paulo, S.E. Brazil. Revta brasil. Bot. 1:151-156.
- GULLVÄG, B.M. 1969: Primary storage products of some pteridophyte spores. A fine structural study. Phytomorphol. 19: 82-92.
- HUCKABY, C.S. & MILLER, J.H. 1984. Spore germination and rhizoid differentiation in Onoclea sensibilis. A two-dimensional electrophoretic analysis of the extante soluble proteins. Plant Physiol. 74: 656-662.

- HUCKABY, C.S. & RAGHAVAN, V. 1981. Spore germination patterns in the ferns Cyathea and Dicksonia. Ann. Bot. 47:397-403.
- KLEKOWISKI, E.J. 1970. Reproductive biology of the Pteridophyta. IV. An experimental study of mating systems in Ceratopteris thalictroides (L.) Brongn. Bot. J. Linn. Soc. 63: 153-169.
- KNOBLOCK, I.W., SPINK, G.C. & FULFS, J.C. 1970. Preliminary scanning electron microscope observations on the relief of the spore wall of some Cheilanthoid ferns. Grana Palinol. 11:23-26.
- KOTCHETKOFF-HENRIQUES, O. 1989. Composição florística e estrutural de uma mata mesófila semidecídua na cabeceira do rio Cachoeira, Serra de Itaqueri, Itirapina, SP. Tese de Mestrado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 121 p.
- KREMP, G.O.W. & KAWASAKI, T. 1972. The spores of the pteridophytes. Illustration of the spores of the ferns and fern allies. Tokyo, Hirokawa Publishing Company, 398p.
- LEITAO FILHO, H.F. 1982. Aspectos taxonômicos das florestas do Estado de São Paulo. Silvicultura em São Paulo 16A: 197-206.

- LLOYD, R.M. 1976. Spore morphology of the Hawaiian genus Sadleria (Blechnaceae). Amer. Fern J. 66(1): 1-7.
- MARCONDES-FERREIRA, W. 1983. Efeito de luz e temperatura na germinação de esporos de Cyathea delgadii Sternb. Tese de Mestrado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 63p.
- MARCONDES-FERREIRA, W. & FELIPPE, G.M. 1984. Effects of light and temperature on the germination of spores of Cyathea delgadii. Revta brasil. Bot. 7:54-56.
- MATTOO, R.L., ISHAQ, M. & SALEEMUD DIN, M. 1987. Protein assay by Coomassie Brilliant Blue G-250 binding method is unsuitable for plant tissues rich in phenols and phenolases. Anal. Biochem. 163: 376-384.
- MAZZAFERA, P. 1987. Estudos sobre a resistência induzida no complexo Coffea arabica L. - Hemileia vastatrix BERK ET BR. (café-ferrugem). Tese de Mestrado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 128p.
- MELHEM, T.S. & MATOS, M.E.R. 1972. Variabilidade de forma nos grãos de pólen de Eriope crassipe Benth. - Labiatae. Hoehnea 2:1-10.

- MILLER, J.H. 1968. Fern gametophytes as experimental material.
Bot. Rev. 34:361-440.
- MILLER, J.H. & MILLER, P.M. 1961. The effect of different light condition and sucrose on the growth and development of the gametophyte of the fern Onoclea sensibilis. Amer. J. Bot. 48 : 154-158.
- MINAMIKAWA, T., KOSHIBA, T. & WADA, M. 1984. Compositional changes in germinating spores of Adiantum cappilus-veneris L. Bot. Mag. 97: 313-322.
- MITSUI, K. 1986. The development of the perispore in the fern family Thelypteridaceae. In Pollen and spore: form and function. (S. BLACKMORE & J.K. FERGUSON, ed.) London, Society of London Academic Press Number 12, p.401-403.
- MOHR, H., MEYER, U. & HARTMANN, K. 1964. Die beeinflussung der farnsporenkeimung (Osmunda cinnamomea (L.) und O. claytoniana (L.)) uber das phytochronsystem und die photosynthese. Planta 60: 483-496.
- MORELLI, M.A. 1976. Estudio palinológico de las especies daustrosudamericanas del genero Blechnum L., subgenero Blechnum (Blechnaceae-Pteridophyta). Bol. Soc. Argentina Bot. XVIII(1-2): 155-175.

- NAYAR, B.K. & DEVI, S. 1964a. Spore morphology of Indian Ferns. II. Aspleniaceae and Blechnaceae. Grana Palinol. 5(2):222-246.
- NAYAR, B.K. & DEVI, S. 1964b. Spore morphology of Indian Ferns. III. Polypodiaceae. Grana Palinol. 5(3): 343-395.
- NAYAR, B.K. & KNOBLOCK, I.W. 1971. Spore morphology of some American species of Cheilanthes and Notholaena. Grana Palinol. 11:27-35.
- OLIVEIRA-CAMARGO, M.R. & FERREIRA, A.G. 1976. Spores of Polypodium L. (Polypodiaceae) from Rio Grande do Sul (Brasil). Rev. Brasil. Biol. 36(1): 21-36.
- PAGE, C.N. 1979. The diversity of ferns. An ecological perspective. In The experimental biology of ferns., (A.D. DYER, ed.), London, Academic Press, p.9-56.
- PAL, S. & PAL, N. 1970. Spore morphology and taxonomy of Polypodiaceae. Grana Palinol. 10:141-148.
- PEREIRA-NORONHA, M.R. 1989. Formas de vida e reprodução em pteridófitas. Tese de Doutorado. Rio Claro, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 272p.

- RAGHAVAN, V. 1970. Germination of bracken fern spores. Regulation of protein and RNA synthesis during initiation and growth of the rhizoid. Exp. Cell Res. 63(2-3): 342-352.
- RAGHAVAN, V. 1971. Phytochrome control of germination of the spores of Asplenium nidus. Plant Physiol. 48: 100-102.
- RAGHAVAN, V. 1973. Blue light interference in the phytochrome controlled germination of spores of Cheilanthes farinosa. Plant Physiol. 51:306-311.
- RAGHAVAN, V. 1977. Cell morphogenesis and macromolecule synthesis during phytochrome-controlled germination of spores of the fern, Pteris vittata. J. Exp. Bot. 28 (103): 439-456.
- RAGHAVAN, V. 1980. Cytology, physiology and biochemistry of germination of fern spore. Int. Rev. Cytol. 62:69-118.
- RAGHAVAN, V. 1985. Cytology of germination of spores of homosporous ferns. In The experimental biology of ferns., (A.C. DYER & C.N. PAGE, eds.), Edinburgh, The Royal Society of Edinburg, p.5-11.

- RANAL, M.A. 1983. Efeito da temperatura e da intensidade luminosa no desenvolvimento de gametófitos de pteridófitas. Tese de Mestrado. Rio Claro, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 234p.
- RANDI, A.M. 1987. Aspectos fotomorfogênicos, bioquímicos e citoquímicos durante a germinação de esporos de Cyathea delgadii Sternb. Tese de Doutorado. Campinas, Universidade Estadual de Campinas, 192p.
- RANDI, A.M. & FELIPPE, G.M. 1988a. Effect of red light and far-red on the germination of spores of Cyathea delgadii. Revta brasil. Bot. 11:41-45.
- RANDI, A.M. & FELIPPE, G.M. 1988b. Germinação de esporos de Cyathea delgadii sob luz azul e aplicações longas de vermelho. Revta brasil. Biol. 48:979-984.
- RANDI, A.M. & FELIPPE, G.M. 1988c. Lipid content during germination of spores of the fern Cyathea delgadii. Revta. brasil. Bot. 11: 37-39.
- ROBINSON, P.M., SMITH, D.L., SAFFORD, R. & NICHOLS, B.W. 1973. Lipid metabolism in the fern Polypodium vulgare. Phytochem. 12: 1377-1381.

- SALGADO-LABOURIAU, M.L., VANZOLINI, P.E. & MELHEM, T.S. 1965. Variation of polar axes and equatorial diameters in pollen grains of two species of Cassia. Grana Palinol. 6:166-176.
- SALVADOR, J.L.G. 1987. Considerações sobre as matas ciliares e a implantação de reflorestamentos mistos nas margens de rios e reservatórios. São Paulo, CESP. Série Divulgação e Informações 105, 29p.
- SEILHEIMER, A.V. 1978. Chlorophyll and lipid changes on germination in the non-green spores of Thelypteris dentata. Amer. Fern J. 68(3): 67-70.
- SMITH, D.L. & ROBSON, P.M. 1975. The effects of spore age on germination and gametophyte development in Polypodium vulgare L. New Phytol. 74 (1): 101-108.
- SNEDECOR, G.N. 1962. Statistical methods. Iowa, Iowa State University, 534p.
- SOTA, E.R. De la. 1973. Sinopsis de las Pteridofitas del noroeste de Argentina II. Darwiniana 18(1-2): 173-263.
- SUGAI, M. & FURUYA, M. 1967. Photomorphogenesis in Pteris vittata. Phytochrome-mediated spore germination and blue light interaction. Plant Cell Physiol. 8:737-748.

SUGAI, M., TAKENO, K. & FURUYA, M. 1977. Diverse responses of spores in the light-dependent germination of Lygodium japonicum. Plant Sci. Lett. 8: 333-338.

TEMPLEMANT, T.S., DeMAGGIO, A.E. & STETLER, D.A. 1987. Biochemistry of fern spore germination: globulin storage proteins in Matteuccia struthiopteris L. Plant Physiol. 85: 343-349.

TOWILL, L.R. 1980. Analysis of starch accumulation and germination in Onoclea spore. Amer. J. Bot. 67(1): 88-94.

TOWILL, L.R. 1985. Mobilisation of carbohydrates during germination of spores of Onoclea sensibilis L. Proc. Roy. Soc. Edin. 86B: 203-212.

TOWILL, L.R. & IKUMA, H. 1973. Photocontrol of the germination of Onoclea spores. I. Action spectrum. Plant Physiol. 51 (5):973-978.

TOWILL, L.R. & IKUMA, H. 1975a. Photocontrol of the germination of Onoclea spores. II. Analysis of germination processes by means of anaerobiosis. Plant Physiol. 55: 150-154.

- TOWILL, L.R. & IKUMA, H 1975b. Photocontrol of the germination of Onoclea spores. IV. Metabolic changes during germination. Plant Physiol. 56:468-473.
- TRYON, A.F. & TRYON, R.M. 1973. Thelypteris in northeastern North America. Amer. Fern J. 63(3): 65-76.
- TRYON, R.M. & TRYON, A.F. 1982. Ferns and allied plants. Cambridge, USA, Springer-Verlag-New York Inc. 857p.
- WITTIER, D.P. 1973. The effect of light and other factors on spore germination Botrychium dissectum. Can. J. Bot. 51: 1791-1794.