

ADAÍSES SIMONE MACIEL DA SILVA

**ECOFISIOLOGIA DE BRIÓFITAS DE FLORESTA
ATLÂNTICA NORDESTINA**

**RECIFE
2007**

ADAÍSES SIMONE MACIEL DA SILVA

**ECOFISIOLOGIA DE BRIÓFITAS DE FLORESTA
ATLÂNTICA NORDESTINA**

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

Orientadora: Profa. Dra. Eliana Akie Simabukuro

Co-orientadora: Profa. Dra. Kátia Cavalcanti Pôrto

RECIFE

2007

Silva, Adáises Simone Maciel da
Ecofisiologia de briófitas de floresta atlântica nordestina /
Adáises Simone Maciel da Silva. – Recife: A Autora, 2007.

82 folhas : il.

Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – UFPE. CCB.

1. Ecofisiologia Vegetal 2 Briófitas 3. Mata Atlântica I. Título.

588
582.32

CDD (22.ed.)
CDU (2.ed.)

UFPE
CCB - 2007 - 013

ADAÍSES SIMONE MACIEL DA SILVA

**“ECOFISIOLOGIA DE BRIÓFITAS DE FLORESTA
ATLÂNTICA NORDESTINA”**

Banca Examinadora:



Profa. Dra. ELIANA AKIE SIMABUKURO (Orientadora) - UFSCAR



Profa. Dra. LILIA WILLADINO - UFRPE



Profa. Dra. LAÍSE DE HOLANDA CAVALCANTI ANDRADE - UFPE

RECIFE

2007

ATA DA PROVA PÚBLICA DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA ADAISES SIMONE MACIEL DA SILVA, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

As quatorze horas, do dia cinco de fevereiro de dois mil e sete, na sala de aula teórica, do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, do Centro de Ciências Biológicas, realizou-se a prova pública de dissertação da Mestranda ADAISES SIMONE MACIEL DA SILVA, intitulada: "NOVAS PERSPECTIVAS PARA A BRIOLOGIA: ASPECTOS ECOFISIOLÓGICOS DE BRIÓFITAS DA FLORESTA ATLÂNTICA NORDESTINA". A Banca Examinadora teve como membros titulares as Professoras: a Dra. ELIANA AKIE SIMABUKURO, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de São Carlos – Campus Sorocaba e Orientadora da aluna; a Dra. LILIA WILLADINO, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, e a Dra. LAISE DE HOLANDA CAVALCANTI ANDRADE, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pernambuco em substituição ao Dr. IVANY VALIO, do Departamento de Botânica, da Universidade de Campinas impossibilitado de comparecer. Como Membro Suplente, a Dra. TEREZINHA DE JESUS RANGEL CÂMARA, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pernambuco. O Dr. MARCCUS ALVES, na qualidade de Coordenador do Programa, iniciou a sessão apresentando os membros da banca e convidando em seguida a Dra. ELIANA AKIE SIMABUKURO para presidir a sessão, na qualidade de orientadora da aluna. A Dra. ELIANA AKIE SIMABUKURO convidou a aluna para fazer a exposição do seu trabalho. Após a apresentação da aluna, a Dra. ELIANA AKIE SIMABUKURO convidou a Dra. LILIA WILLADINO, para fazer a sua arguição em forma de diálogo. Em seguida, a mestranda foi arguida, também em forma de diálogo, pela Dra. LAISE DE HOLANDA ANDRADE CAVALCANTI. Após o término das arguições, a Dra. ELIANA AKIE SIMABUKURO teceu agradecimentos aos membros da banca pelas sugestões, fez alguns comentários sobre o trabalho de sua orientanda, e em seguida solicitou aos presentes que se retrassem por alguns instantes para que se procedesse a avaliação da mesma. Após reunir-se, a Banca Examinadora atribuiu a Mestranda ADAISES SIMONE MACIEL DA SILVA, a seguinte menção: "APROVADA COM DISTINÇÃO", por unanimidade, e face a este resultado a mesma está apta a receber o grau de Mestre em Biologia Vegetal pela Universidade Federal de Pernambuco. Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às 16h 15min, e para constar como Coordenador, EU, MARCCUIS ALVES, lavrei, datei e assinei esta ATA, que também assinam os demais presentes.

Recife, 05 de fevereiro de 2007.

Adalberto Simone Maciel da Silva

Lilia Willadino
Charmelina

Eliana Carolina L. Simão
Janaina B.P. Costa
Katerine Ant. P.O.B.

Saura C. Beal da Silva
Ysabel
Rafael Ribeiro de M. L.R.

Marccuis Alves
Coor. ATA

Acasus germinassis

Um dia, em algum lugar

Um anterozóide liberado por um pequeno musgo

Fora atraído por oosferas de outros musgos.

Mas o curso do caminho de atração, guiado por certas substâncias

Já não era o mesmo para todas elas.

Houvera algo que comprometera sua chegada ao destino tão aguardado

Houvera pouca água!

Mas uma pequena gota de orvalho que deslizara de uma folha de uma dita superior

Caira sobre o caminho e mudara todo o curso.

Agora, um riacho de águas turbulentas

Começara a levar um pequeno anterozóide para um destino desconhecido.

Ora! Mas imagine que o acaso quisera levá-lo à garganta de uma pequena caverna.

Caverna essa chamada arquegônio,

Encravada nos interstícios dos filídios de um ramo feminino.

Eis o milagre da fertilização e poucos dias se passaram

Até elevar-se de um pequenino musgo

Uma linda e imponente seta, erguendo em seu ápice o cálice da fecundação

Repleto de pequenas células, disseminadoras de vida.

Um belo dia, com o despontar do sol e o aquecer daquela estrutura, o esporângio

Suas portas começaram a se abrir

E de dentro delas pequeninos esporos atiravam-se uns contra os outros

Logo que uma leve brisa matinal balançara o esporângio

Escorreram pequeninas bolinhas brilhantes

Como se fosse poeira mágica

Quebrando a rotina de uma manhã na floresta.

Os esporos, antes irmãos intimamente ligados

Deixaram a tranqüilidade e proteção do seu lar

Para enfim ganharem os perturbadores e desconhecidos labirintos da floresta

Ou mesmo fora desta.

*Muitos não tiveram sorte em seu caminho,
Muitos encontraram um local seguro e até germinaram,
Mas havia poucos nutrientes e logo sucumbiram.*

*Mas houve um, em meio a tantos
Que subira o mais alto que pudera e fora levado pelas correntes de ar para longe.
Muito longe de onde fora originado.
E inesperadamente caíra onde poucos sobreviveriam:
Um local inabitado, recentemente devastado.*

*Lá, quase que por um milagre
(Sim, às vezes a germinação necessita de milagres...)
Uma leve chuva caíra todos os dias pela manhã
E como se não fosse praticamente improvável
Aquele pequenina célula, disseminadora de vida
Germinara,
Crescera e estabelecera outros iguais a si.*

*Enfim, depois de alguns anos,
Outros bem-aventurados diásporos também chegaram àquelas terras,
E hoje, já não se parece mais com o que houvera se tornado logo após a grande devastação.
Agora, já não são apenas musgos, mas também hepáticas, antóceros, orquídeas, árvores, aves e até lagartos,
naquela longínqua ilha.*

*Mesmo a mais frágil forma de vida, às vezes vence o acaso
Com ela mais vidas são atraídas
E milagrosamente disseminam sua essência
Não importa se além das barreiras de altas montanhas, de distantes oceanos
Ou mesmo além dos confins do(s) Universo(s)
A vida não parece um frágil milagre de um desatento acaso
Mas sim a mais perfeita continuidade das leis que regem a natureza.*

A todas as formas de vida, conhecidas ou não,

Dedico

*A*GRADECIMENTOS

*A*o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado, sem a qual seria impossível a realização desse trabalho.

*A*o Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), especialmente aos professores. Dr. Marccus Vinícius Alves, Dra. Iva Carneiro Leão Barros e Dra. Andréa Pedrosa Harand, pela dedicação e atenção em todo o tempo do curso.

A RPPN Frei Caneca, na pessoa do Sr. Gustavo Barros por permitir o trabalho na reserva.

*A*os mateiros e grandes mestres “Zezito” e seu filho Jossiel, cujos ensinamentos sobre a mata, plantas e animais jamais serão esquecidos.

*A*o motorista Sr. Gilcean pela ajuda ao longo de todo o trabalho e pelos momentos de descontração antes e após as coletas.

A FADE (Fundação de Amparo ao Desenvolvimento da UFPE), pela concessão dos veículos e motorista.

*A*o Laboratório de Fisiologia Vegetal e ao Laboratório de Biologia de Briófitas da UFPE, pela concessão do espaço e dos equipamentos utilizados nos experimentos dessa dissertação.

A Dra. Olga Yano, às biólogas Lisi Dámaris P. Alvarenga e Juliana Rosa do Pará, e à aluna de graduação Mércia P.P. Silva pela identificação das espécies.

A MSc. Flávia Carolina Lins da Silva e ao aluno de graduação Marciel Teixeira pelo auxílio durante as idas ao campo, coletas e fotografias do material biológico.

A Profa. Dra. Eliana A. Simabukuro, cujos agradecimentos são impossíveis de serem expressos, tão grande a orientação, credibilidade, amizade e preocupação concedidos nos últimos anos.

A Profa. Dra. Kátia C. Pôrto pela orientação, apoio, incentivo e confiança largamente depositados em mim.

À MSc. Flávia Carolina Lins da Silva pelas sugestões e discussões ao longo do trabalho, pelos momentos alegres e tristes vividos juntas e pelas constantes provas de amizade.

Ao amigo (míguio) Marcos Vinícius Meiado por tudo que aprendemos, sofremos e ganhamos juntos, por sua crescente vontade em aprender e discutir coisas novas e sua eterna vontade em ajudar.

Aos amigos Ana Cecília Oliveira, Anderson G. A. Araújo, Anna Flora Novaes, Carlos Eduardo P. da Silva (Lula), Eduardo Ricartti, Gisele L. de Oliveira, Janaína B. P. Costa, José Arturo Escobar, Juliana Rosa P. M. de Oliveira, Keyla Roberta Menezes, Laura Leal, Lisi Damaris P. Alvarenga, Luciana C. Gusmão, Marciel Teixeira, Márcio U. L. Rufino, Maria Fernanda Menelau, Micheline Lins, Paulo Roberto, Shirley M. Silva, Viviane Lira, Virág Venekay e Úrsula A. S. Costa pelos bons momentos (juntos ou distantes).

Às minhas eternas irmãzinhas da Amazônia, pessoas de coração gigantesco e mente aberta a novos horizontes, Janaína Costa e Taís Nazareth.

Ao curso de campo Ecologia da Floresta Amazônia (EFA), nas pessoas do Dr. Glauco Machado, Dr. José Luis Camargo, MSc. Bráulio Almeida dos Santos e o grande mestre Alécio Marajó dos Reis (Léo) pelo incentivo depositado.

Aos amigos eternos da Amazônia Alexandre Colombo, Ana Catarina Jakovac, André Junqueira, Bruno Buzatto, Daniel Tokman (Diablo Blanco), Daniele Kasper (Loura), Ernane Vierira Neto, Janaina Costa (Janinha), Juliana Almeida, Michelle Antunes, Renata Mello (Plantulinha), Roberto Munin, Rodrigo Souza, Simone Vosgueritchian, Tadeu Guerra, Taís Nazareth Gonçalves (Remosinha), Taíse Pinheiro, Tamaris Pinheiro (Tu), Thiago Santos pelos trinta dias de sufoco, alegrias, aprendizado e descobertas juntos.

Ao Prof. Dr. Adalberto José dos Santos, profissional maravilhoso e pessoa de coração esplendoroso, com quem eu aprendo milhões de coisas a cada dia.

À minha família, especialmente minha mãe, meu pai e minha tia, pela força e fé confiadas a mim, mesmo quando as coisas pareciam não darem certo. Sem os quais, os alicerces da minha vontade de vencer não seriam os mesmos, tão firmes e consolidados!!!

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	x
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	2
ÁREA DE ESTUDO.....	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
MANUSCRITO I (Morfogênese protonemática de briófitas ocorrentes em Remanescentes de Floresta Atlântica do estado de Pernambuco, Brasil).....	14
Abstract.....	15
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	18
Resultados e Discussão.....	19
Literatura citada.....	25
MANUSCRITO II (Germinação de esporos e crescimento inicial do musgo neotropical <i>Thamniopsis incurva</i> (Hornsh.) W.R. Buck: influência da luz e da disponibilidade hídrica).....	41
Abstract.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	45
Resultados.....	48
Discussão.....	64
Referências Bibliográficas.....	69
CONCLUSÕES.....	72
RESUMO.....	73
ABSTRACT.....	74
ANEXOS.....	75

LISTA DE FIGURAS

		Páginas
Manuscrito I		
Figura 1	Germinação de esporos de <i>Octoblepharum albidum</i> Hedw. cultivados <i>in vitro</i> sob luz contínua e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. Corpúsculos lipídicos (seta) (b) 14° dia de cultivo. (c) 21° dia de cultivo. Vacúolo (V) (d) 35° dia de cultivo. Barra de escala = 20µm.....	33
Figura 2	Germinação de esporos de <i>Bryum argenteum</i> Hedw. cultivados <i>in vitro</i> sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 3° dia de cultivo. (b) 7° dia de cultivo. Primeiras células protonemáticas de formato globoso atípico (seta). (c) 14° dia de cultivo. Células protonemáticas globosas (seta) e cilíndricas longas (seta dupla) Barra de escala = 20µm.....	34
Figura 3	Germinação de esporos de <i>Thamniopsis incurva</i> (Hornsch.) W.R. Buck. cultivados <i>in vitro</i> sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. (c-d) 28° dia de cultivo. (c) visão geral do cloronema ramificado (d) detalhe das células cloronemáticas. (e-f) 57° dia de cultivo. (e) células cloronemáticas com cloroplastos esparsos (seta). (f) botões gametofíticos originados a partir do cloronema (B). (g) 63° dia de cultivo. Gametóforo em formação (G). (h) 72° dia de cultivo. Gametóforos (dois) a partir de um único protonema. Barra de escala: c, g, h = 100 µm; a, b, d, e, f = 20µm.....	35
Figura 4	Germinação de esporos de <i>Crossomitrium patrisiae</i> (Brid.) Müll. Hal. cultivados <i>in vitro</i> sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. Início da ramificação protonemática. (c-d) 28° dia de cultivo. (c) cloronema com ramificações secundárias predominantes (d) detalhe das células cloronemáticas (e-f) 42° dia de cultivo. (e) gametóforo (G) com rizóides secundários (seta). (f) detalhe do gametóforo (G). (g-h) 57° dia de cultivo. (g) parede transversal do caulonema (seta). (h) gametóforo. (i) 72° dia de cultivo. Barra de escala: c, h, i = 100 µm; a, b, d, e, f, g = 20µm.....	36
Figura 5	Germinação de esporos de <i>Lepidopilum muelleri</i> (Hampe) Spruce cultivados <i>in vitro</i> sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. Início da ramificação protonemática. (c-d) 28° dia de cultivo. (c) cloronema bastante ramificado (d) detalhe das células cloronemáticas (e) 42° dia de cultivo. Ramificações laterais gemíferas (seta). (f) 57° dia de cultivo. Gemas protonemáticas em detalhe (seta) (g-h) 72° dia de cultivo. (g) vista geral do protonema gemífero. (h) detalhe da região de destacamento da gema protonemática. Barra de escala: c, g = 100 µm; a, b, d, e, f, h = 20µm.....	37
Figura 6	Germinação de esporos de <i>Isopterygium tenerum</i> (Sw.) Mitt. cultivados <i>in vitro</i> sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. Início da ramificação protonemática. (c) 21° dia de cultivo. Detalhe das células cloronemáticas. (d-e) 49° dia de cultivo. (d) gametóforo (G). (e) detalhe da parede	

	transversal do caulonema (seta). (f) 64° dia de cultivo. Gametóforo (G). Rizóides secundários (seta). (g-h) 76° dia de cultivo. (g) gametóforo em visão geral (G). (h) detalhe dos rizóides secundários e sua parede (seta). Barra de escala: d, f, g = 100 μm ; a, b, c, e, h = 20 μm	38
Figura 7	Germinação de esporos de <i>Radula recubans</i> Taylor cultivados <i>in vitro</i> sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 15° dia de cultivo. Rizóide primário presente (seta) (c) 28° dia de cultivo. Célula apical na extremidade do protonema (seta dupla) e rizóides (seta). (d-e) 49° dia de cultivo. (d) visão geral do gametófito jovem. (e) detalhe do tecido gametofítico com oleocorpos presentes (seta) (f) 63° dia de cultivo. Diferenciação da massa protonemática em filídios. Barra de escala: a, b, c, d, f = 20 μm ; e = 10 μm	39
Figura 8	Germinação de esporos de <i>Herbertus juniperoideus</i> (Sw.) Grolle cultivados <i>in vitro</i> sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) Visão geral dos esporos recém retirados da cápsula apresentando mais de uma célula (seta). (b) 13° dia de cultivo. (c) 34° dia de cultivo. (d) 48° dia de cultivo. (e) 63° dia de cultivo. Barra de escala: b, c, d, e = 20 μm ; a = 10 μm	40
Manuscrito II		
Figura 1	Germinação (%) de esporos de <i>Thamniopsis incurva</i> , mantidos em meio nutritivo Knop sob luz (fotoperíodo de 12h) e escuro contínuo.....	49
Figura 2	Germinação (%) de esporos de <i>Thamniopsis incurva</i> , mantidos em meio nutritivo de Knop líquido e solidificado com ágar 0,4%, sob fotoperíodo de 12h.	50
Figura 3	Germinação (%) de esporos de <i>Thamniopsis incurva</i> após armazenamento em laboratório sob escuro contínuo e 25°C.....	51
Figura 4	Protonemas (%) de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes qualidades de luz, sob fotoperíodo de 12h.....	53
Figura 5	Taxa de crescimento (células dia ⁻¹) de protonemas de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes qualidades de luz, sob fotoperíodo de 12h.....	55
Figura 6	Protonemas (%) de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes intensidades luminosas, sob fotoperíodo de 12h.....	57
Figura 7	Taxa de crescimento (células dia ⁻¹) de protonemas de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes intensidades luminosas, sob fotoperíodo de 12h.....	59
Figura 8	Protonemas (%) de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes potenciais hídricos, sob fotoperíodo de 12h.....	61
Figura 9	Taxa de crescimento (células dia ⁻¹) de protonemas de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes potenciais hídricos, sob fotoperíodo de 12h.....	63

LISTA DE TABELAS

Páginas

Manuscrito I

Tabela 1	Local de coleta, substrato/microhabitat e período de coleta das espécies estudadas. Material testemunho está depositado no herbário UFP.....	28
Tabela 2	Condições e tempo de cultivo, características do protonema e gametófito jovem das espécies estudadas. C = cloronema; Ca = caulonema; B = botão gametofítico; G = gametófito jovem; PG = protonema gemífero; Ge = gemas destacadas.....	29

Manuscrito II

Tabela 1	Porcentagem, tempo médio (dias) e velocidade média (dias ⁻¹) de germinação de esporos de <i>Thamniopsis incurva</i> mantidos em meio nutritivo de Knop sob fotoperíodo de 12h e escuro contínuo.....	49
Tabela 2	Porcentagem, tempo médio (dias) e velocidade média (dias ⁻¹) de germinação esporos de <i>Thamniopsis incurva</i> mantidos em meio nutritivo de Knop líquido e solidificado com ágar 4%, sob fotoperíodo de 12h.....	50
Tabela 3	Porcentagem, tempo médio (dias) e velocidade média (dias ⁻¹) de germinação de esporos de <i>Thamniopsis incurva</i> após armazenamento em laboratório a 25°C.....	51
Tabela 4	Protonemas (%) de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes qualidades de luz, sob fotoperíodo de 12h. Diferenças estatísticas são evidenciadas com letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas.....	54
Tabela 5	Protonemas (%) de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes qualidades de luz, sob fotoperíodo de 12h. Diferenças estatísticas são evidenciadas com letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas.....	58
Tabela 6	Protonemas (%) de <i>Thamniopsis incurva</i> cultivados sob diferentes potenciais hídricos, sob fotoperíodo de 12h. Diferenças estatísticas são evidenciadas com letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas.....	62

INTRODUÇÃO

Assim como muitos grupos de organismos diminutos, as briófitas, que compreendem os musgos, as hepáticas e os antóceros, ainda são pouco conhecidas quanto à sua ecologia e fisiologia, quando comparadas às espermatófitas. Essa lacuna é ainda maior e mais preocupante na região tropical, sobretudo no Neotrópico, que detém ecossistemas como a Floresta Atlântica, hoje considerada um “Hotspot”, ou seja, área prioritária para conservação por apresentar elevada biodiversidade, endemismo de espécies e alto índice de destruição da floresta original.

Organizações científicas ou cientistas interessados na proteção e conservação ambiental alertam para a importância do maior entendimento da biodiversidade, em especial para grupos como as briófitas. Esses vegetais desempenham importantes papéis dentro do ecossistema, que ainda não foram totalmente elucidados, como a ciclagem de nutrientes, retenção de água, interação com fungos, invertebrados e plantas superiores. Fisiologistas vêm estudando o potencial de muitas espécies no entendimento da função gênica e produção de proteínas essenciais. Ecólogos que trabalham com modeladores do clima global estão percebendo que grandes populações de *Sphagnum* em turfeiras podem ser relevantes para a modificação da temperatura global e movimento de massas de água. Muitos geneticistas e fisiologistas preferem trabalhar com briófitas em seus experimentos por apresentarem a vantagem de um ciclo de vida curto, fácil clonagem do material, fase dominante haplóide, facilitando o isolamento de genes mutantes.

Diante do contexto, essa dissertação apresentou como objetivo investigar alguns aspectos da ecofisiologia de briófitas ocorrentes em Floresta Atlântica do Nordeste brasileiro, que resultaram em dois artigos, o primeiro referente à morfogênese protonemática de seis espécies de musgos e duas espécies de hepáticas (Anexo 1), considerando adaptações ecológicas; e o segundo à ecofisiologia da germinação de esporos e crescimento inicial de musgo neotropical *Thamniopsis incurva* (Hornsh.) W.R. Buck.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Ecofisiologia de briófitas no Neotrópico

Fisiologicamente, as briófitas não são plantas simples ou mesmo primitivas, uma vez que, não devem ser vistas como precursoras das plantas vasculares, mas como representantes diversos (musgos, hepáticas e antóceros) e elaborados de uma estratégia alternativa de adaptação à vida na terra, compondo uma parte proeminente da vegetação em habitats como florestas temperadas, florestas tropicais de terras baixas a montanhas, desertos, pântanos e brejos, campos inóspitos polares e alpinos, e tundras (PROCTOR 2000a, 2000b; FRAHM 2003; KÜRSHNER 2004).

Em se tratando da germinação de esporos e crescimento inicial dos gametófitos de briófitas no Neotrópico, LÉON (1999) investigou o musgo *Cryphaea jamesoni* Tayl. na Venezuela. No Brasil, HELL (1967) descreveu a formação do gametófito das hepáticas talosas *Symphyogyna brasiliensis* Nees e *S. aspera* Steph. SILVA *et al.* (2006) estudaram a morfogênese protonemática de briófitas presentes em remanescentes de Floresta Atlântica Nordestina (Pernambuco, Brasil) e suas adaptações ecológicas.

Quanto a outros temas ecofisiológicos, ZOTZ *et al.* (1997) investigaram os processos de fotossíntese e respiração em musgos e hepáticas de florestas sub-montanas do Panamá; CLARK *et al.* (2005) estudaram os mecanismos de retenção de nutrientes inorgânicos por briófitas epífitas em florestas montanas da Costa Rica; ROMERO *et al.* (2006) avaliaram a ecofisiologia da dessecação de briófitas pendentes em florestas montanas da Costa Rica e LÉON-VARGAS *et al.* (2006) estudaram a tolerância à dessecação de briófitas em florestas montanas da Venezuela.

Germinação de esporos e morfogênese protonemática

As briófitas podem originar novos gametófitos após a germinação de esporos, germinação de gemas e regeneração de fragmentos da planta adulta (NEHIRA 1983). A germinação a partir dos esporos é um processo contínuo, mas definir seu limite torna-se um problema. Baseado nas mudanças morfológicas durante a germinação de esporos em musgos e hepáticas, três principais fases podem ser definidas: a embebição dos esporos; o conteúdo celular torna-se verde, decorrente da produção de clorofila; e o rompimento do exósporo com protrusão do protonema, o que indica o início do crescimento protonemático. Assim como em sementes, o processo de embebição é físico-químico e não depende da luz. A absorção de água pelos esporos secos promove a reidratação dos componentes celulares e o aumento gradual da germinabilidade ao longo dos dias de cultivo (HARTMAN e WEBER, 1990).

A definição de protonema difere entre alguns autores e conforme os grupos de briófitas estudados. Para briófitas folhosas a definição mais aceita inclui os estádios a partir da divisão do esporo até a formação de uma célula apical com três faces, que origina o gametófito folhoso. Já em briófitas talosas, esta definição inclui todos os estádios a partir da primeira divisão do esporo até a formação de uma célula de quatro faces. Algumas características do protonema podem ser modificadas pelas condições ambientais, mas outras são fixas como o poro germinativo, o tipo de desenvolvimento (endospórico ou exospórico) e a morfologia do protonema sob condições favoráveis de cultivo (NEHIRA 1983).

As hepáticas possuem grande variação de formas e número de células do protonema, tempo e local da formação dos rizóides, crescimento por célula apical ou por divisões intercaladas, número de faces da célula apical, estrutura celular firme ou flexível e presença ou ausência de um protonema secundário. Em alguns gêneros, o protonema pode ser globoso (*Haplomitrium*), filamentosos (*Cephalozia*), maciço (*Nardia*), cilíndrico (*Bazzania*), discóide (*Radula*), dimórfico – globoso e cilíndrico – (*Pleurozia*), dimórfico – talóide e cilíndrico – (*Ceratolejeunea*), dimórfico – filamentosos e talóide – (*Riccardia*) ou dimórfico – maciço e talóide – (*Pellia*) (NEHIRA 1983, CHOPRA e KUMRA 1988). Segundo NEHIRA (1983), os antóceros apresentam dois padrões básicos: um protonema globoso a cilíndrico desenvolvido fora do exósporo (*Anthoceros*; *Notothylas*; *Megaceros*) e um protonema multicelular talóide desenvolvido dentro do exósporo (*Dendroceros*).

Os protonemas de musgos são os mais estudados e apresentam grande variação de formas e longa duração quando comparados aos protonemas de hepáticas e antóceros. Nos musgos, o protonema pode ser filamentosos (Bryopsida), taloso (*Sphagnum*; *Tetraphis*; *Andreaea*), maciço (*Drummondia*; *Glypmitrium*), vesiculados (*Schistostega*) e em forma de funil (*Diphyscium*). O protonema filamentosos inclui o cloronema, o caulonema e os rizóides, podendo haver variações quanto à presença dos dois últimos (NISHIDA 1978).

Em geral, após a germinação dos esporos há produção de um filamento verde com paredes transversais, denominado cloronema. Esse filamento contém numerosos cloroplastos esféricos e logo se divide em ramificações primárias e secundárias (NISHIDA 1978; NEHIRA 1983).

Movimentos de substâncias, como nucleotídeos, açúcares e aminoácidos do centro do cloronema para os ápices dos filamentos ocorrem em direção oposta ao movimento de auxinas, o que resulta em mudanças fisiológicas que resultam na formação do caulonema (NEHIRA 1983; SCHOFIELD 1985). O caulonema é um filamento protonemático castanho, cujas paredes celulares são oblíquas e bastante pigmentadas. Os cloroplastos são estreitos e alongados (NISHIDA 1978, DUCKETT *et al.* 1998). Nesse filamento são formados, em geral, os botões gametofíticos, que constituem os primórdios dos gametóforos. Estas estruturas são formadas a partir da diferenciação

de uma célula com três faces (NEHIRA 1983).

O rizóide é um filamento mais fino em relação ao cloronema e ao caulonema. Em alguns gêneros, como *Funaria*, o rizóide primário origina-se diretamente do esporo no lado oposto à protrusão do cloronema (NISHIDA 1978). Mas, em geral, os rizóides originam-se a partir do caulonema, do gametófito folhoso ou, ainda, de outros rizóides. Suas paredes transversais são oblíquas e a pigmentação pode ser ausente ou castanha. Os propágulos vegetativos, encontrados em rizóides, são constituídos por estruturas análogas a tubérculos, chamados de “tubers”, que são responsáveis pela propagação e sobrevivência ao longo de estações desfavoráveis (SCHOFIELD 1985; DUCKETT e LIGRONE 1992; DUCKETT *et al.* 1998).

Influência de fatores abióticos sobre a germinação de esporos e crescimento inicial

A germinabilidade dos esporos de briófitas varia e muitos podem germinar nas primeiras 24h pós-dispersão. Em outros casos, a germinação ocorre cerca de uma semana após as condições ideais serem estabelecidas (*Andreaea rupestris* Hedw.), ou após trinta dias (*Pseudoscleropodium purum* (Hedw.) Fleish.). É possível que esporos de espécies de ambientes méxicos tenham períodos mais breves de viabilidade que aqueles de ambientes xéricos. Foram registrados esporos viáveis após armazenamento por três anos em *Sphagnum* e 20 anos em *Oedipodium* (SCHOFIELD 1985).

Condições favoráveis de temperatura, luz e umidade são pré-requisitos para a germinação dos esporos. Muitas briófitas, sejam elas originárias de zonas tropicais ou temperadas, presentes em altas ou baixas altitudes, crescerão *in vitro* em temperaturas que variam entre 5 e 25°C. Para os táxons tropicais, a faixa ótima situa-se entre 20-25°C. Temperaturas que excedam 30°C, ainda que por curto período, podem ser fatais para muitas espécies (DUCKETT *et al.* 2004).

Dois aspectos fundamentalmente diferentes da ação da luz sobre plantas devem ser considerados. Por um lado, a luz fornece energia necessária para a realização da fotossíntese, já por outro ela age como um sinal externo na regulação do desenvolvimento vegetal (HARTMAN e WEBER 1990). A resposta ao estímulo luminoso depende da variação da qualidade dentro da faixa do espectro de luz, ou seja, a luz vermelha e a luz azul são as mais efetivas no controle do desenvolvimento vegetal. O receptor da luz vermelha e vermelho-extremo, responsável por uma variedade de respostas nos vegetais, é o fitocromo, uma cromoproteína presente em suas formas interconvertíveis F_V e F_{VE} (esse último, a forma biologicamente ativa). Já a luz azul está relacionada à percepção de criptocromos, em sua maioria flavinas e/ ou carotenóides (HARTMAN e WEBER 1990).

Segundo KRUPA (1964), a germinação dos esporos de *Funaria hygrometrica* Hedw. é induzida por 12 horas de luz branca contínua e intensidade de 800 lux. O mesmo autor, em 1972,

comparou a influência da luz azul e vermelha, e constatou que o primeiro estágio dependente da luz foi induzido pelas duas faixas do espectro. Por outro lado, ele percebeu um efeito significativamente superior da luz vermelha. Quando os esporos foram submetidos à luz azul após serem irradiados com luz vermelha foi verificada uma diminuição da taxa de germinação. VALANNE (1966), ao estudar *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Dicranum scoparium* Hedw. e *F. hygrometrica* verificou que todas as regiões do espectro afetaram a germinação, com redução acentuada sob o azul e vermelho-extremo apenas na última espécie. Já em Marchantiales a influência de diferentes qualidades de luz sobre a germinação demonstrou a seguinte seqüência de redução da promoção: vermelho, vermelho-extremo, amarelo-esverdeado e azul. Além disso, os esporos de hepáticas não germinam no escuro ainda que na presença de açúcares (INOUE 1960). Em *Sphaerocarpus donellii* Aust. a germinação pode ser induzida pela luz azul e vermelho-extremo. Já em *Sphaerocarpus cristatus* M. A. Howe a luz vermelha, vermelho-extremo, verde e azul foram igualmente efetivas na promoção da germinação dos esporos (CHOPRA e KUMRA 1988).

Quanto ao crescimento protonemático, em *F. hygrometrica* a luz vermelha não modificou o protonema, mas a luz azul contribuiu para a redução do estágio cloronemático, cujas células se mostraram mais alongadas e células caulonemáticas foram formadas. Em *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & W. P. Schim. o desenvolvimento ocorreu sob luz vermelha, enquanto a luz azul e vermelho-extremo apresentaram efeito semelhante ao escuro (HARTMAN e WEBER 1990). A ramificação protonemática também parece estar relacionada à qualidade luminosa. Em *F. hygrometrica* e *P. patens* a ramificação foi estimulada pela irradiação vermelha, e apenas poucos ramos foram formados em luz vermelho-extremo (COVE *et al.* 1978; DEMVIK *et al.* 1971). Em *Physcomitrium turbinatum* (Michx.) Britt. a taxa de crescimento dos ramos laterais do cloronema foi controlada pela qualidade de luz. O crescimento foi máximo sob luz vermelha e mínimo sob luz vermelho-extremo. Já em *Anoetangium thomsonii* Mitt., a luz azul favoreceu a ramificação e promoveu o crescimento do protonema e sob luz vermelha o protonema tornou-se verde-pálido e esparso (RASHID 1970). Em *Didymodon recurvus* (Griff.) Broth. a luz vermelha foi mais efetiva que a luz azul na promoção do crescimento protonemático (HARTMAN e WEBER 1990). Na hepática *Sphaerocarpus donellii* a luz vermelha promove a morfogênese e a ramificação do talo, enquanto sob luz azul o talo permanece não ramificado. O crescimento do talo de *Marchantia polymorpha* L. exibe resposta mediada pelo fitocromo, com deformação do talo mediante aplicação de vermelho-extremo e reversão após exposição à luz vermelha. Em *Lunularia cruciata* (L.) Dumort. ex Lindb. o crescimento e a dormência são controlados pelo comprimento do dia. Dias curtos promovem o crescimento, enquanto dias longos ou tratamentos com *flashes* de luz induzem a dormência (CHOPRA e KUMRA 1988). A luz vermelha e azul promovem o crescimento e o vermelho-extremo o reduz, com possibilidade de reversibilidade do efeito (SCWABE e VALIO

1970). Em *Marchantia nepalensis* Lehm. et Lindb. o crescimento foi melhor sob vermelho-extremo que sob vermelho, laranja ou verde; em *Plagiochasma appendiculatum* Lehm. et Lindb. o crescimento foi inibido pela luz vermelha e promovido pela luz laranja; *Riccia discolor* Lehm. et Lindb. foi favorecida pela luz azul quando comparada ao amarelo ou vermelho; em *Riccia frostii* Aust. a luz vermelha promoveu o crescimento vegetativo, evidenciado na massa seca, mas por outro lado, a luz azul promoveu a ramificação do talo e maior número de regenerantes. A luz vermelho-extremo não promoveu o crescimento do talo (CHOPRA e KUMRA 1988).

O início do desenvolvimento caulonemático depende da regulação hormonal. Parece existir um tamanho crítico do cloronema como pré-requisito para a conversão do cloronema ao caulonema. Esse fenômeno é atribuído a uma capacidade de assimilação mínima do sistema cloronemático, necessária para providenciar energia e precursores para síntese de hormônios (HARTMAN e WEBER 1990). O primeiro sinal de desenvolvimento gametofítico em musgos é a indução de botões gametofíticos e formação da célula apical de três faces. A indução do botão é estritamente dependente da luz, e o requerimento de luz não pode ser substituído pela adição de fontes de carbono (açúcares) no escuro (MITRA *et al.* 1959; KATO e WATANABLE 1982; SIMON e NAEF 1981). A luz vermelha parece também ser efetiva na indução da formação de botões e segundo SIMON e NAEF (1981) a participação do fitocromo nesse processo foi comprovada através da reversão via vermelho-extremo. A formação de botões parece se fortemente inibida sob luz azul, mas o fenômeno torna-se ausente quando o substrato é renovado, sugerindo a produção de uma substância de inibição sob luz azul. Isso pode explicar a ausência de botões em *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb. (MITRA *et al.* 1959) e *Leptodictyum riparium* (Hedw.) Warnst. (KATO e WATANABLE 1982). É interessante destacar o efeito das citocininas como aceleradores e promotores da formação de botões gametofíticos na presença de luz. Provavelmente, esses hormônios devem se sobrepor, pelo menos parcialmente, à supressão do desenvolvimento gametofítico mediada pela luz azul (KATO e WATANABLE 1982).

Briófitas crescem e se desenvolvem estreitamente relacionadas com o substrato onde vivem, sendo estes determinantes de seus processos fisiológicos. Elas retêm grandes quantidades de água, que podem variar amplamente sem afetar o potencial hídrico de suas células, passando muito do seu tempo completamente túrgidas ou totalmente secas e metabolicamente inativas (PROCTOR *et al.* 1998; PROCTOR 2000a,b). A disponibilidade intermitente de água é a regra para muitas briófitas, enquanto para outras sua ausência é um fenômeno comum. Nessas briófitas o valor osmótico das células pode aumentar e atingir uma capacidade hídrica alta comparada às plantas com sementes tolerantes à seca. A tolerância à dessecação permite a algumas briófitas permanecerem dormentes em estágio vegetativo por até 23 anos (GLIME 2006). Esta tolerância é importante para o estabelecimento inicial e conseqüente sobrevivência e manutenção da população.

Para o estabelecimento de esporos ou diásporos vegetativos é necessária a presença de umidade suficiente que permita a produção de protonemas e gametófitos fixos. Posteriormente, um período extenso de dessecação pode ser tolerado (SCHOFIELD 1985).

O desenvolvimento de briófitas já foi acompanhado em uma série de meios de cultura, como Knop, Mohr, Murashige & Skoog, entre outros. Espécies de hepáticas calcífugas e muitos musgos, no entanto, apresentam melhor desenvolvimento em condições livres de nutrientes (DUCKETT *et al.* 2004). Suplementos orgânicos podem estimular o desenvolvimento e açúcares podem ser usados em substituição a requerimentos luminosos para o crescimento. A germinação de esporos e o crescimento dos protonemas podem ser conduzidos em meios líquidos e sólidos, embora culturas submersas possam apresentar um maior afastamento das condições naturais de desenvolvimento quando comparadas àquelas em meio sólido (SCHOFIELD 1985; DUCKETT *et al.* 2004).

Apesar do grande esforço de briólogos e fisiologistas, principalmente nos países de clima temperado, em estudar aspectos da ecofisiologia desses vegetais (ver GLIME 2006), pouco se sabe sobre os mecanismos que regulam a fisiologia das briófitas em ecossistemas tropicais, em particular no Neotrópico. Com a acelerada perda de biodiversidade e esforços ainda limitados da comunidade científica no conhecimento de grupos menos intensamente estudados, como as briófitas, muita informação tende a ser perdida e conseqüentemente não aproveitada. Além do mais, um completo entendimento do funcionamento do grupo só será alcançado quando espécies restritas a esses ecossistemas e a interação entre espécie x ambiente forem melhores estudadas.

ÁREA DE ESTUDO

Floresta Atlântica Nordestina

A Floresta Atlântica é o segundo conjunto de matas particularmente expressivas na América do Sul, perdendo apenas para a Floresta Amazônica, a maior do planeta. Está localizada na Serra do Mar, que faz parte do Domínio Florestal Tropical Atlântico. Esse domínio florestal estende-se por uma faixa relativamente paralela à costa brasileira, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, e constitui-se por "mares de morros" e "chapadões florestados", com solos profundos de drenagem perene (HÖFLING 2006; BIODIVERSITY HOTSPOTS 2006).

A Floresta Atlântica estende-se ao longo das montanhas e das encostas voltadas para o mar, bem como na planície costeira. Ela deve sua existência à elevada umidade atmosférica trazida pelos ventos marítimos. O vento úmido se condensa na costa, sob a forma de chuvas, ao subir para as camadas frias de maior altitude. Além da alta pluviosidade, nos topos dos morros há condensação de água em forma de neblina. Isto ocorre até mesmo durante os meses de primavera e verão, nas horas quentes do dia. Nem toda a costa oriental do Brasil, porém, apresenta condições climáticas idênticas e índices pluviométricos compatíveis com a existência de matas pluviais. Por esta razão, também ocorrem interrupções naturais das florestas, ao longo da Serra do Mar (HÖFLING 2006). O clima tem duas estações, definidas principalmente pelo regime de chuvas, embora seja latitudinalmente bastante variável. Enquanto no Nordeste brasileiro as temperaturas médias anuais variam em torno de 24°C, nas regiões Sudeste e Sul as médias anuais são mais baixas e a temperatura pode ocasionalmente chegar a -6°C (HÖFLING 2006).

A Floresta Atlântica brasileira é uma das 25 prioridades mundiais para a conservação. Calcula-se que essa floresta abrigue 20.000 espécies de plantas vasculares, sendo 8.000 endêmicas (MYERS *et al.* 2000). Uma das unidades biogeográficas que compõem a Floresta Atlântica brasileira localiza-se ao norte do rio São Francisco, abrangendo os estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte, com pequenos enclaves no Ceará e Piauí. A floresta costeira dessa região abriga várias espécies animais e vegetais endêmicas e, desta forma, tem sido identificada como um importante centro de endemismo na América do Sul - Centro de Endemismo Pernambuco (PRANCE 1982, 1987). A Floresta Atlântica ao norte do rio São Francisco, ou Floresta Atlântica nordestina recebe influência da biota Amazônica (PRANCE 1982) e dos trechos de floresta Atlântica do sul e sudeste do Brasil (ANDRADE-LIMA 1960, 1982), o que a torna bastante distinta do restante da Floresta Atlântica.

Com base na distribuição dos tipos de vegetação, estima-se que a Floresta Atlântica nordestina cobria uma área contínua de floresta com 76.938 km², ou 6,4% da extensão da Floresta

Atlântica brasileira. Ela é distribuída em cinco tipos vegetacionais: (1) áreas de tensão ecológica (43,8%); (2) floresta estacional semidecidual (22,9%); (3) floresta ombrófila aberta (20,5%); (4) floresta ombrófila densa (7,9%) e (5) formações pioneiras (6,1%). Dentro destes cinco tipos existem as florestas de terras baixas (< 100 m de altitude), submontanas (100-600 m) e montanas (> 600 m) (IBGE 1985).

Atualmente, poucos trechos da floresta ao norte do São Francisco possuem características originais, visto que foi reduzida a arquipélagos de pequenos fragmentos florestais. Embora represente pouco mais de 4% da área original de toda a Floresta Atlântica, esta região abriga cerca de 8% da flora de plantas vasculares. Outros grupos, como aves, répteis e anfíbios, apresentam também riqueza elevada. Parte desta riqueza é decorrente das relações históricas com a floresta Amazônica e com outros setores da floresta Atlântica brasileira (CEPAN 2006).

Devido aos 500 anos de colonização, hoje, a Floresta Atlântica se encontra bastante fragmentada, com 70% do que restou em áreas privadas. No Nordeste a situação é ainda pior sendo considerada a mais ameaçada a desaparecer em poucos anos caso medidas de conservação e manejo não sejam adotadas. As Reservas Particulares do Patrimônio Natural (RPPN) são um instrumento legal criado pelo governo brasileiro através do IBAMA para atender o anseio de proprietários em preservar áreas naturais e proteger o rico patrimônio biológico. Atualmente, existem mais de 500 RPPN's espalhadas em todo o território nacional, reflexo de maior consciência e iniciativa da sociedade civil no esforço de preservar os remanescentes (RPPN FREI CANECA 2006).

A Usina Colônia preocupada em manter suas reservas hídricas resolveu criar a RPPN Frei Caneca, a maior reserva de Floresta Atlântica em área privada do Estado de Pernambuco com 630,42 hectares. A RPPN Frei Caneca se encontra inserida na Serra do Urubu, uma das 25 áreas de extrema importância biológica e apontada como prioritária para a conservação da biodiversidade em Pernambuco, em razão da expressiva riqueza de alguns grupos biológicos além de espécies endêmicas e ameaçadas de extinção (RPPN FREI CANECA 2006).

Inventários florísticos de briófitas foram desenvolvidos recentemente em diversos fragmentos florestais da RPPN Frei Caneca. Esses estudos demonstraram a elevada riqueza e diversidade de espécies, inclusive com a constatação de táxons de nova ocorrência para o estado de Pernambuco e de distribuição restrita no país (ver PÔRTO *et al.* 2006; ALVARENGA *et al.* 2007). São elevados os números de espécies epífitas (truncos de árvores) e epífilas (folhas) no sub-bosque desses fragmentos de floresta, além da frequência de espécies de Pterobryaceae e Meteoraceae, *Phyllogonium viridae* e *Bryopteris filicina*, comuns a florestas sub-montanas e raras nos fragmentos de Floresta Atlântica Nordestina, o que também indica bom estado de preservação dos remanescentes inseridos na RPPN Frei Caneca (PÔRTO *et al.* 2006).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, L.D.P.; SILVA, M.P.P.P.; OLIVEIRA, J.R.P.M.; PÔRTO, K.C. Novas ocorrências de briófitas para Pernambuco, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** (no prelo), 2007.
- ANDRADE-LIMA, D. Estudos fitogeográficos de Pernambuco. **Arquivos do Instituto de Pesquisas Agronômicas de Pernambuco**, vol. 5, p. 305-341. 1960.
- ANDRADE-LIMA, D. Present day forest refuges in Northeastern Brazil, In: PRANCE, G.T. (ed.). **Biological Diversification in the Tropics**. New York: Columbia University Press, 1982. p. 245-254.
- BIODIVERSITY HOTSPOTS. **Atlantic Forest**. Disponível em: <http://www.biodiversityhotspots.org/xp/Hotspots/atlantic_forest/index.xml> Acesso em: 02 de novembro de 2006.
- CEPAN. **Floresta Atlântica ao norte do rio São Francisco**. Disponível em: <<http://www.cepan.org.br>> Acesso em 02 de novembro de 2006.
- CHOPRA, R.N.; KUMRA, P.K. **Biology of Bryophytes**. New Delhi: Wiley Eastern Limited, 1988.
- CLARK, K.L.; NADKARNI, N.M.; GHOLZ, H.L. Retention of inorganic nitrogen by epiphytic bryophytes in a tropical montane forest. **Biotropica**, vol. 37, p. 328-336. 2005.
- COVE, D.J.; SCHILD, A.; ASHTON, N.W.; HARTMANN, E. Genetic and physiological studies of the effect of light on the development of the moss, *Physcomitrella patens*. **Photochemistry and Photobiology**, vol. 27, p. 249-254. 1978.
- DEMKIV, O.T.; RIPETSKY, R.T.; FEDYK, Y.D. Effect of light of various wavelengths on morphology and physiology of *Funaria hygometrica* Hedw. protonema. **Ukrainian Botaniko Zhurn**, vol. 28, p. 309-316. 1971.
- DUCKETT, J.G.; BURCH, J.; FLETCHER, P.W.; MATCHAM, H.W.; READ, D.J.; RUSSELL, A.; PRESSEL, S. *In vitro* cultivation of bryophytes: a review of practicalitie, problems, progress and promise. **Journal of Bryology**, vol. 26, p.3-20. 2004.
- DUCKETT, J.G.; SCHMID, A.M.; LIGRONE, R. Protonemal morphogenesis. In: J.W. BATES, N.W. ASHTON ; J.G. DUCKETT (eds.). **Bryology for the twenty-first century**. Leeds: Maney and British Bryological Society, 1998. p. 223-246.
- DUCKETT, J.L.; LIGRONE, R. A survey of diaspore liberation mechanisms and germination patterns in mosses. **Journal of Bryology**, vol. 17, p. 335-354. 1992.
- FRAHM, J.P. Manual of tropical bryology. **Tropical Bryology**, vol. 23, p. 1-196. 2003.
- GLIME, J.M. **Bryophyte Ecology**. Disponível em: <<http://www.bryoecol.mtu.edu>> Acesso em 20 de outubro de 2006.

- HARTMAN, E.; WEBER, M. Photomodulation of protonema development. In: CHOPRA, R.N.; BHATLA, S.C. (Eds.). **Bryophyte development: Physiology and Biochemistry**. Flórida: CRC. Press, 1990. p. 33-54.
- HELL, K.G. Formação do gametófito em *Symphyogyna brasiliensis* Nees e *Symphyogyna aspera* Stephani (Hepaticae). **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP**, vol. 22, p. 245-260. 1967.
- HÖFLING, E. **Floresta Atlântica**. Disponível em: <<http://www.mre.gov.br/cdbrasil/itamaraty/web/port/meioamb/ecossist/atlantic/index.htm>> Acesso em 02 de novembro de 2006.
- IBGE. **Atlas nacional do Brasil: região Nordeste**. Rio de Janeiro: IBGE, 1985.
- INOUE, H. Studies on spore germination and the earlier stages of gametophyte development in the Marchantiales. **Journal of Hattori Botanical Laboratory**, vol. 23, p.149-191. 1960.
- KATO, Y.; WATANABE, Y. Protonemata of aquatic moss *Amblystegium riparium* cultured in darkness and in light: growth and gametophore bud formation. **Phytomorphology**, vol. 32, p. 270-276. 1982.
- KRUPA, J. Studies on the physiology of *Funaria hygrometrica* spore germination. IV. The effect of blue and red light on the germination of spores. **Acta Societatis Botanicorum poloniae**, vol. 41, p. 97-103. 1972.
- KRUPA, J. Studies on the physiology of germination of spores of *Funaria higrometrica* (Sibth). **Acta Societatis Botanicorum polaniae**, vol.33, p.179-192, 1964.
- KÜRSHNER, H. Life strategies and adaptations in bryophytes from the Near and Middle East. **Turkish Journal of Botany**, vol. 28, p. 73-84. 2004.
- LÉON, V.Y. Germinación de esporas y desarrollo de protonemas de *Cryphaea jamesoni* Tayl. (Cryphaeaceae: Musci) *in vitro*. **Plántula**, vol. 2, p. 153-157, 1999.
- LEÓN-VARGAS, Y.; ENGWALD, S.; PROCTOR, M.C.F. Microclimate, light adaptation and desiccation tolerance of epiphytic bryophytes in two Venezuelan cloud forests. **Journal of Biogeography**, vol. 33, p. 901–913. 2006.
- MITRA, G.C.; ALLSOPP, A.; WAREING, P.F. The effects of light of various qualities on the development of protonema and bud formation in *Pholia nutans* (Hedw.) Lindb., **Phytomorphology**, vol. 9, p. 47-55. 1959.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT. J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, vol. 403, p. 853-845. 2000.
- NEHIRA, K. Spore germination, protonema development and sporeling development. In: SHUSTER, R.M. (Ed.). **New Manual of Bryology**. vol. 1. Nichinan: The Hattori Laboratory, 1983. p. 343-379.

- NISHIDA, Y. Studies on the sporeling types in mosses. **Journal of Hattori Botanical Laboratory**, vol. 44, p. 371-454, 1978.
- PÔRTO, K.C.; ALVARENGA, L.D.P.; SANTOS, G.H.F. Briófitas. In: PÔRTO, K.C.; ALMEIDA-CORTEZ, J.S.; TABARELLI, M. (Orgs.). **Diversidade biológica e conservação da Floresta Atlântica ao Norte do Rio São Francisco**. Recife: Ministério do Meio Ambiente, p. 123-148, 2006.
- PRANCE, G.T. Biogeography of neotropical plants. In: WHITMORE, T.C.; G.T. PRANCE (eds.) **Biogeography and quaternary history in tropical**. Oxford: America Claredon Press, 1987. p.175-196.
- PRANCE, G.T. Forest refuges: evidences from woody angiosperms. In: PRANCE, G.T. (ed.) **Biological diversification in the tropics**. York: Columbia University Press, 1982. p. 137-158.
- PROCTOR, M.C.F.; NAGY, Z.; CSINTALAN, Z.; TAKÁCS, Z. Water-content components in bryophytes: analysis of pressure-volume relationships. **Journal of Experimental Botany**, vol. 49, p. 1845-1854. 1998.
- PROCTOR, M.C.P. **Physiological ecology**. In: SHAW, A.J.; GOFFINET, B. (Eds.) *Bryophytes Biology*. Cambridge: Cambridge University Press, 2000a. p. 225-247.
- PROCTOR, M.C.P. The bryophyte paradox: tolerance of desiccation, evasion of drought. **Plant Ecology**, vol. 151, p. 41-49. 2000b.
- RASHID, A. Spore germination, protonema development and bud formation in *Anoetangium thomsonii*. **Phytomorphology**, vol.20, p. 9-57. 1970.
- ROMERO C.; PUTZ F. E.; KITAJIMA K. Ecophysiology in relation to exposure of pendant epiphytic bryophytes in the canopy of a tropical montane oak forest. **Biotropica**, vol. 38, p. 35-41. 2006.
- RPPN Frei Caneca. **Reserva Particular do Patrimônio Natural Frei Caneca**. Disponível em: <<http://www.rppnfreicaneca.org.br>> Acesso em 02 de novembro de 2006.
- SCHOFIELD, W.B. Introduction to Bryology. New York: Macmillan Publishing Company, 1985.
- SCHWABE, W.W.; VALIO, Y.F.M. 1970. Growth and dormancy in *Lunularia cruciata* (L.) Dum. VI. Growth regulation by daylength, by red, far-red, and blue light, and by applied growth regulators and chelating agents. **Journal of Experimental Botany**, vol. 21, p. 122-137. 1970.
- SILVA, A.S.M.; SIMABUKURO, E.A.; PÔRTO, K.C. Morfogênese protonemática de briófitas ocorrentes em Remanescentes de Floresta Atlântica do estado de Pernambuco, Brasil. **Boletim do Instituto de Botânica**, v.18, p.213 – 227. 2006.
- SIMON, P.E.; NAEF, J.B. Light dependency of the cytokinin-induced bud initiation in protonemata of the moss *Funaria hygrometrica*. **Physiologia Plantarum**, vol. 53, p. 13-18.1981.

VALANNE, N. The germination phases of moss spores and their control by light. **Annales Botanici Fennici**, vol. 3, p.1-60. 1966.

ZOTZ, G.; BÜDEL, B.; MEYER, A.; ZELLNER, H.; LANGE, O.L. Water relations and exchange of tropical bryophytes in a lower montane rain forest in Panama. **Botanical Acta**, vol. 110, p. 9-17. 1997.

*Publicado no Boletim do Instituto de
Botânica nº18: 213-227 (2006)*

Morfogênese protonemática de briófitas ocorrentes em Remanescentes de Floresta Atlântica do estado de Pernambuco, Brasil

Adaíses Simone Maciel da Silva¹, Kátia Cavalcanti Pôrto¹ & Eliana Akie Simabukuro¹
Universidade Federal de Pernambuco

¹ Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária 50.670-901 Recife-PE. E-mail: adaisesmaciel@hotmail.com.

Morfogênese protonemática de briófitas ...

Abstract – (Protonemal morphogenesis of bryophytes occurs in Floresta Atlântica of the Pernambuco state, Brazil). Protonemal morphogenesis and the reproductive strategies studies of six mosses and two liverworts living in Floresta Atlântica of Pernambuco State, Brazil have been carried out. Two general patterns were identified for mosses/liverworts: exosporous/endosporous germination, filamentous/ unistratose or globose protonemal and slow/quick formation of the leafy gametophytes. In general, the species presented strategies that probably help in the colonization in field. In the mosses, it was verified the quick protonemal ramification and the large production of leafy gametophytes and protonemal gemmae, while in liverworts it was verified quick germination and short protonemal duration, generating directly the juvenile gametophyte.

Key words - bryophytes, morphogenesis, tropical rain forest, germination, protonemata.

Resumo – (Morfogênese protonemática de briófitas ocorrentes em Floresta Atlântica do estado de Pernambuco, Brasil). Seis musgos e duas hepáticas ocorrentes em Floresta Atlântica do Estado de Pernambuco foram avaliados quanto à morfogênese do protonema e suas prováveis estratégias reprodutivas. Dois padrões gerais foram identificados para musgos/hepáticas: germinação exospórica/endospórica, protonema filamentosos/ uniestratificados ou globosos e formação do gametófito folhoso lenta/rápida. Em geral, as espécies apresentaram estratégias que provavelmente auxiliam a colonização em campo. Nos musgos, verificou-se rápida ramificação do protonema e larga produção de gametóforos e gemas protonemáticas, enquanto em hepáticas constatou-se rápida germinação e curta duração do protonema, produzindo diretamente o gametófito jovem.

Palavras-chave – briófitas, morfogênese, floresta tropical, germinação, protonema.

Introdução

Em briófitas, há usualmente três formas nas quais novas plantas são originadas: após a germinação de esporos, germinação de gemas e regeneração de fragmentos da planta adulta (Nehira 1983). O estudo detém-se à análise da morfogênese protonemática em musgos e hepáticas presentes em Floresta Atlântica do estado de Pernambuco, a partir de esporos.

A definição de protonema difere entre alguns autores (Nehira 1983). Para briófitas folhosas a definição mais aceita inclui todos os estádios a partir da divisão do esporo até a formação de uma célula apical com três faces, da qual é originado o gametófito folhoso. Em briófitas talosas, por outro lado, esta definição é mais difícil, incluindo todos os estádios a partir da primeira divisão do esporo até a formação de uma célula de quatro faces.

Ainda que algumas características do protonema possam ser modificadas pelas condições ambientais, outras são fixas como o poro germinativo, o tipo de desenvolvimento (endospórico ou exospórico, dentro ou fora do exósporo respectivamente) e a morfologia do protonema sob condições favoráveis de cultivo.

O protonema de alguns musgos estudados pode ser filamentosos (Bryopsida), taloso (*Sphagnum*, *Tetraphis*, *Andreaea*), maciço (*Drummondia*, *Glyphomitrium*), vesiculado (*Schistostega*) e em forma de funil (*Diphyscium*). O protonema filamentoso inclui o cloronema, o caulonema e os rizóides, podendo haver variações quanto à presença dos dois últimos (Nishida 1978).

O cloronema é um filamento verde produzido a partir da germinação de esporos, de filamentos cloronemáticos primários, do caulonema ou mesmo do gametófito folhoso. Suas células têm paredes transversais finas, não pigmentadas e formam um ângulo reto ao longo do seu comprimento (Nishida 1978). Há numerosos cloroplastos esféricos a ovóides na periferia celular e um vacúolo grande e central. Propágulos vegetativos como gemas e células reprodutoras também podem estar presentes. As gemas são estruturas com mecanismos de abscisão claramente diferenciados. Em alguns casos, ex. *Funaria hygrometrica*, suas células são indiferenciadas daquelas do protonema não gemífero, mas podem, como em *Bryum*, ter paredes espessas, pigmentadas e às vezes papilosas além de notável acúmulo de lipídios (Duckett & Ligrone 1992). Seu crescimento resulta de expansão geral da parede celular, o que é responsável pela baixa taxa de crescimento ($< 10 \mu\text{m h}^{-1}$) verificada por Duckett *et al.* (1998) ao avaliarem algumas espécies de musgos. Os autores comentam que a organização e o alto número de cloroplastos sugerem que a principal função do cloronema seja a assimilação acompanhada pela propagação.

O caulonema é um filamento protonemático castanho originado do cloronema, dos rizóides, de um caulonema prévio ou do próprio gametófito folhoso. Suas paredes transversais são oblíquas,

espessas, bastante pigmentadas e possuem uma película. Os cloroplastos são estreitos e alongados localizados ao longo de um cordão endoplasmático entre numerosos vacúolos (Nishida 1978, Duckett *et al.* 1998). Neste filamento são formados, em geral, os botões gametofíticos, que constituem os primórdios dos gametóforos. Estas estruturas são formadas a partir da diferenciação de uma célula com três faces (Nehira 1983). Sob condição de cultura, parece que ausência de nutrientes, intensidades luminosas baixas ou mesmo escuro, favorecem tanto a produção de caulonema como a de rizóides. A taxa de crescimento ($> 20 \mu\text{m h}^{-1}$) é superior àquela encontrada em filamentos cloronemáticos e está diretamente relacionada ao crescimento apical evidenciado por Duckett *et al.* (1998). Suas paredes transversais oblíquas possuem elevado número de plasmodesmos, que juntamente com o alinhamento longitudinal dos plastídios e lúmen central expandido apresentam semelhança com os leptóides condutores de alimento em gametófitos e esporófitos de musgos. A explicação mais simples para esta congruência estrutural é que o caulonema é um elemento de condução de alimento com seus ápices crescendo como drenos para assimilados. Os fotossintatos produzidos pelo cloronema são transportados simplasticamente ao longo do caulonema. Além da função de transporte de solutos o caulonema apresenta grande relevância para a colonização de novos habitats (Duckett *et al.* 1998).

O rizóide é um filamento mais fino em relação ao cloronema e ao caulonema. Em alguns gêneros, como *Funaria*, o rizóide primário origina-se diretamente do esporo no lado oposto à protrusão do cloronema (Nishida 1978). Mas, em geral, os rizóides originam-se a partir do caulonema, do gametófito folhoso ou, ainda, de outros rizóides. Suas paredes transversais são oblíquas, espessas e a pigmentação varia de ausente a castanha muito intensa. Os cloroplastos, quando presentes, são estreitos e alongados distribuídos em cordões longitudinais no citoplasma. Os propágulos vegetativos, encontrados em rizóides, são constituídos por estruturas análogas a tubérculos, que são responsáveis pela propagação e sobrevivência ao longo de estações desfavoráveis (Schofield 1985, Duckett & Ligrone 1992, Duckett *et al.* 1998).

Duckett *et al.* (1998) defendem, ao contrário do que muitos trabalhos clássicos relatam, que os rizóides não constituem apenas estruturas de fixação, mas também podem funcionar como um sistema de condução de alimentos. Sua semelhança em estrutura ao caulonema e a citologia típica de condução (Duckett *et al.* 1998) aliada aos dados fisiológicos de absorção de nutrientes a partir do substrato (Bates 1992, Bates & Bakken 1998), sugerem que seu papel seja a absorção de íons e condução até o gametófito adulto. Além disso, a organização de suas ramificações no substrato aumenta a superfície de contato e absorção (Duckett *et al.* 1998). Desta forma, as funções deste filamento são de colonização, propagação, fixação, condução de solutos e absorção de nutrientes.

Em hepáticas, há grande variação quanto à forma e ao número de células do protonema, tempo e local da formação dos rizóides, crescimento por célula apical ou por divisões intercaladas,

número de faces da célula apical, estrutura celular firme ou flexível e presença ou ausência de um protonema secundário. Em alguns gêneros estudados, o protonema pode ser globoso (*Haplomitrium*), filamentoso (*Cephalozia*), maciço (*Nardia*), cilíndrico (*Bazzania*), discóide (*Radula*), dimórfico – globoso e cilíndrico (*Pleurozia*), dimórfico – talóide e cilíndrico (*Ceratolejeunea*), dimórfico – filamentoso e talóide (*Riccardia*) ou dimórfico – maciço e talóide (*Pellia*) (Nehira 1983, Chopra & Kumra 1988).

Em antóceros, há dois padrões básicos, conhecidos como um protonema globoso a cilíndrico desenvolvido fora do exósporo (*Anthoceros*, *Notothylas*, *Megaceros*) e um protonema multicelular talóide desenvolvido dentro do exósporo (*Dendroceros*).

São escassos os trabalhos desenvolvidos no Neotrópico que abordam o caráter ecofisiológico das briófitas tropicais. Em se tratando da morfogênese protonemática e dos estádios iniciais de desenvolvimento, Hell (1967) descreveu a formação do gametófito das hepáticas talosas *Symphogyna brasiliensis* Nees e *S. aspera* Steph. no Brasil e León (1999) analisou a germinação dos esporos e desenvolvimento protonemático de *Cryphaea jamesoni* Tayl. na Venezuela.

Este trabalho avaliou os processos envolvidos na morfogênese protonemática de espécies de briófitas presentes em Floresta Atlântica do estado de Pernambuco.

Material e Métodos

O material investigado neste trabalho incluiu oito espécies distribuídas em seis famílias, compreendendo musgos e hepáticas (tabela 1). O estudo reuniu trabalhos inseridos em diferentes projetos desenvolvidos ao longo de três anos. A metodologia usualmente empregada em briologia foi adaptada para espécies tropicais com o objetivo de reduzir a contaminação e favorecer o desenvolvimento (foram consideradas as condições de micro-habitat de coleta).

Exemplares contendo cápsulas maduras, porém ainda fechadas, foram utilizados nos experimentos. Esporófitos foram separados dos gametófitos e esterilizados em 1,5 % de hipoclorito de sódio por 2 min e lavados em água destilada estéril (Duckett *et al.* 2004). Os esporos de algumas cápsulas foram homogeneizados em solução nutritiva e distribuídos nos meios de cultura.

Foram utilizadas placas de Petri (6 cm de diâm.) contendo 10 mL de solução nutritiva de Mohr modificada por Dyer (Simabukuro 1995) [$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 510 mg L⁻¹; KNO_3 120 mg L⁻¹; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1440 mg L⁻¹; KH_2PO_4 250 mg L⁻¹; Solução de Ferro 1 mL L⁻¹ (Na_2EDTA 33,2 g L⁻¹; NaOH 3,65 g L⁻¹; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 25 g L⁻¹)] ou solução nutritiva Knop [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g L⁻¹; $\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,17 g L⁻¹; KH_2PO_4 0,175 g L⁻¹; KCl 0,06 g L⁻¹; FeCl (3 %) 1 mL L⁻¹] e fungicida nistatina 100U mL⁻¹ (Nehira 1988). Todas as placas foram seladas com parafilme de

PVC, evitando-se a evaporação do meio, bem como eventual contaminação. Foram utilizadas cinco réplicas por tratamento.

Vidraria, soluções nutritivas e água destilada foram autoclavados por 40 min, a 120 °C e 1 Kg cm⁻² e o material plástico utilizado na montagem dos experimentos foi mantido em solução etanólica 70% por 48 h. Os experimentos foram montados em câmara de fluxo laminar e conduzidos em sala de cultivo com temperatura constante de 25°C, fotoperíodo e intensidade luminosa controlados (tabela 2).

A avaliação do desenvolvimento protonemático foi realizada sob microscópio óptico com anotações das características gerais, bem como fotografias com auxílio de câmara digital acoplada ao microscópio óptico.

Resultados e Discussão

Tipo de desenvolvimento

Musgos

Nas seis espécies analisadas observou-se durante a germinação do esporo a formação de uma protuberância, que se alongou e dividiu transversalmente em duas células. Posteriormente um filamento foi formado. Este padrão, caracterizado por germinação exospórica e surgimento de protonema filamentoso, concorda com a proposta para espécies da classe Bryopsida (Chopra & Kumra 1988).

Octoblepharum albidum Hedw. (tabela 2 e figura 1)

Os esporos da espécie possuem plastídios e reserva energética na forma de corpúsculos lipídicos. As células cloronemáticas, do tipo cilíndricas longas (comprimento 2-4 vezes a largura), apresentaram cloroplastos esféricos distribuídos inicialmente na periferia das células. Ao final do cultivo as células demonstraram-se vacuolizadas e com vários corpúsculos lipídicos dispersos no citoplasma. Egunyomi (1978), estudando a germinação da espécie em solução de Knop sob diferentes intensidades luminosas, observou que a porcentagem decaiu com relação direta à redução da luz. Apesar do processo germinativo não ter sido prejudicado sob baixa intensidade luminosa (700 lux), a morfogênese do protonema foi limitada ao longo do tempo de ensaio. Isso pode ser constatado quando os esporos foram cultivados em vermiculita e areia acrescidas de solução nutritiva sob intensidade luminosa superior (1200 lux) (Silva & Simabukuro, dados não publicados). Neste caso, houve a formação de gametóforos cinquenta dias após o início do cultivo.

Bryum argenteum Hedw. (tabela 2 e figura 2)

Os esporos possuem corpúsculos lipídicos conspícuos, dificultando a visualização dos plastídios até o rompimento do exósporo. O cloronema consistiu de células cilíndricas longas (comprimento 5-6 vezes a largura) com ramificações. Os cloroplastos são esféricos a ovóides. A solução nutritiva de Mohr, ainda que empregada com sucesso no cultivo de espécies como *Funaria hygrometrica* Hedw. (Krupa 1964), pode ter promovido o formato globoso atípico das primeiras células do protonema em *B. argenteum*. Entretanto, após alguns dias o protonema assumiu o padrão tipo *Bryum* (células cilíndricas longas) verificado por Nishida (1978) para a espécie. Duckett *et al.* (2004) explicam que as condições do meio de cultura podem produzir desvios do padrão de desenvolvimento protonemático de espécies de briófitas, o que se reflete no formato das células, característica dos filamentos e formação de botões gametofíticos. Quando os esporos foram cultivados em vermiculita e areia acrescidas da mesma solução nutritiva, os protonemas demonstraram o padrão típico de células cilíndricas longas, apresentando caulonema e gametóforos ao 35° dia de cultivo (Silva & Simabukuro, dados não publicados).

Thamniopsis incurva (Hornsch.) W.R. Buck. (tabela 2 e figura 3)

Os esporos são clorofilados e não apresentam corpúsculos lipídicos. Após a germinação foi produzido o cloronema de células cilíndricas longas (comprimento 3-4 vezes a largura), muito clorofiladas, e de ápice obtuso. Tanto os filamentos protonemáticos primários como os secundários apresentaram células de paredes lineares. O filamento primário se dividiu originando ramificações até quinta ordem. Estas características tornam o cloronema altamente especializado na assimilação da luz (Duckett *et al.* 1998). Os botões gametofíticos e conseqüentemente os gametóforos originaram-se exclusivamente em ramos cloronemáticos. Entretanto, a presença de caulonema foi observada em baixa freqüência e sem associação com gametófitos folhosos. Apesar de Duckett *et al.* (1998) relatarem a presença de gametóforos estritamente dependentes da presença de caulonema, Nishida (1978) e Nehira (1983) apresentaram várias espécies de musgos onde o caulonema pode estar ausente do sistema protonemático ou não originar diretamente gametóforos.

Crossomitrium patrisiae (Brid.) Müll. Hal. (tabela 2 e figura 4)

Os esporos são clorofilados e não apresentam corpúsculos lipídicos. O cloronema foi constituído por células cilíndricas longas (comprimento 3-4 vezes a largura), densamente clorofiladas e de ápice oblongo. As células do protonema primário apresentaram paredes convexas, que foram substituídas por lineares no protonema secundário. O início das ramificações se deu após 14 dias de cultivo e não ultrapassou as ramificações quaternárias. O caulonema, evidenciado por células de paredes espessas e fortemente pigmentadas foi observado, mas não esteve associado ao

surgimento dos gametóforos. A formação de gametóforos foi marcada por uma produção eficiente de rizóides e filídios. Este padrão pode justificar a rapidez pela qual, espécies que ocupam habitats efêmeros como superfície de folhas, tendem a completar seu ciclo dentro de um período relativamente curto (Schofield 1981). A estratégia reprodutiva e de desenvolvimento garante o estabelecimento de novos indivíduos e a formação da colônia sobre folhas ainda não ocupadas.

Lepidopilum muelleri (Hampe) Spruce (tabela 2 e figura 5)

Os esporos são clorofilados e não apresentam corpúsculos lipídicos. O cloronema apresentou células cilíndricas longas (comprimento 3-4 vezes a largura), muito clorofiladas e de ápice oblongo. As células do protonema primário apresentaram paredes convexas, que foram substituídas por lineares no protonema secundário. As ramificações raramente chegaram a quaternárias e o crescimento foi caracterizado pelo investimento na produção de protonema gemífero. Não foi observada a existência de caulonema, botões e gametóforos até 84 dias de cultivo. A potencialidade do protonema em reproduzir-se vegetativamente é uma vantagem adaptativa tanto para a sobrevivência e reprodução no habitat ocupado como para a disseminação dos diásporos para novos locais (Schofield 1981, Duckett & Ligrone 1992). Característica semelhante foi observada em protonemas de *Hyophila involuta* (Hook.) A. Jaeg. cultivados *in vitro*, onde há produção de gemas ao invés de gametóforos (Sharma & Chopra 1986).

Isopterygium tenerum (Sw.) Mitt. (tabela 2 e figura 6)

Os esporos são clorofilados e não apresentam corpúsculos lipídicos conspícuos. As células do cloronema, cilíndricas longas (comprimento 5-6 vezes a largura), possuíam cloroplastos esféricos bem distribuídos. Grande número de ramificações secundárias e terciárias pôde ser visualizado após 14 dia de cultivo. O caulonema, os botões gametofíticos e os gametóforos surgiram concomitantemente. Houve alto investimento na produção de rizóides e filídios, ou seja, aumento da área superficial de fixação e assimilação. Em musgos terrícolas é comum um sistema protonemático muito extensivo, de células cilíndricas longas, com predominância de filamentos de paredes transversais oblíquas (caulonema), desaparecendo brevemente após o surgimento de gametóforos. Já em espécies epifíticas, o tempo de desenvolvimento da fase protonemática até o gametóforo parece ser reduzido (Nishida 1978, Schofield 1981). *I. tenerum* demonstrou uma associação das duas estratégias de reprodução. Isso pode ser relevante para a colonização dos diferentes substratos onde a espécie geralmente é encontrada em campo (corticícola, epixícola e terrícola) (Peralta 2005).

Hepáticas

Nas duas espécies analisadas a germinação ocorreu internamente ao exósporo, onde se processaram divisões celulares que aumentaram várias vezes seu tamanho original. O estágio protonemático, quando comparado àquele relatado para musgos, foi extremamente reduzido. Este padrão, caracterizado por germinação endospórica e surgimento de protonema discóide ou globoso de curta duração, concorda com o que foi proposto por Nehira (1983) para espécies da classe Jungermanniopsida.

Radula recubans Taylor (tabela 2 e figura 7)

Os esporos são clorofilados e quando comparados aos das espécies de musgos estudadas são grandes. O padrão protonemático observado compreendeu uma germinação rápida seguida de um estágio protonemático discóide uniestratificado. As células apresentaram cloroplastos conspícuos e parede delgada. O crescimento foi promovido por divisões subsequentes intercaladas e rizóides primários foram observados. O gametófito folhoso originou-se de uma célula marginal do protonema e a formação dos filídios foi rápida. Foi possível detectar a presença de oleocorpos em algumas células do gametófito. Segundo Thiers (1988), características como tamanho e capacidade fotossintética do esporo, rápida germinação e endosporia são estratégias importantes para o rápido estabelecimento das hepáticas folhosas, além de tendências neotênicas associadas a espécies presentes em habitats efêmeros.

Herbertus juniperoideus (Sw.) Grolle (tabela 2 e figura 8)

Os esporos são clorofilados e revestidos por uma exina castanha. A germinação foi extremamente rápida, provavelmente intracapsular. Entretanto, o protonema que adquiriu formato globoso, permaneceu estacionado até o final do cultivo e não produziu gametófito folhoso. Algumas hipóteses podem ser consideradas para explicar esse comportamento. Em espécies do gênero *Herbertus* é comum a raridade de esporófitos em campo, provavelmente provocada pela baixa frequência de populações bissexuais. Visto que a maioria das populações é funcionalmente estéril, existe largo investimento em reprodução assexuada através de fragmentos, cujo mecanismo é raro entre hepáticas, exceto entre as espécies do gênero *Herbertus* (Longton & Schuster 1983). Além disso, deve-se considerar a possível necessidade de associações do protonema desta espécie com outros organismos como fungos, bactérias e algas. Sabe-se que inúmeras associações são benéficas ao desenvolvimento de muitas briófitas, interferindo positivamente no controle hormonal e na fixação de nutrientes (Schofield 1985, Chopra & Kumra 1988, Spiess *et al.* 1990, Duckett *et al.* 2004).

Considerações ecológicas

A reprodução por esporos tem papel importante no estabelecimento, manutenção e expansão das populações de briófitas, assim como promove a variabilidade e o fluxo gênico. Entretanto, muitas espécies também podem reproduzir-se vegetativamente por fragmentação do gametófito ou, em alguns casos, por propágulos assexuados especializados (gemas). Em algumas espécies, os esporófitos não têm sido registrados enquanto que em outras eles parecem ser raros (Miles & Longton 1990).

Em musgos, o protonema, cujo período de duração é bastante longo, possui as funções principais de estabelecimento e produção de numerosos gametóforos a partir de um único esporo (Nishida 1978, Nehira 1983). Os rizóides, além das funções anteriormente citadas, podem ser muito importantes para a reprodução assexuada através de “tubérculos”. Estes propágulos diferem das gemas protonemáticas por não apresentarem mecanismos especiais de abscisão, mas serem dispersos somente após o rompimento dos filamentos que os comportam (Duckett *et al.* 1998). Já em hepáticas a estratégia parece ser outra, representada por um estágio protonemático de curta duração e produção do gametófito diretamente de uma célula localizada na margem do protonema, sem passar pelos estádios de cloronema e caulonema (Nehira 1983, Thiers 1988, Gradstein 1992).

Os seis musgos estudados apresentaram germinação exospórica e protonemas primário e secundário filamentosos. As peculiaridades puderam ser observadas ao longo do ensaio e diferentes estratégias, provavelmente utilizadas por estas espécies em campo, foram constatadas.

As características apresentadas pelo protonema podem estar direta ou indiretamente relacionadas com adaptações das espécies a determinados ambientes. A condição exospórica parece ter maior sucesso em ambientes terrestres e úmidos, enquanto a condição endospórica pode garantir a sobrevivência de protonemas que se desenvolvem em ambientes xéricos, epifíticos e saxícolas (Nishida 1978). Obviamente, há algumas exceções, principalmente para espécies que habitam ecossistemas como as florestas pluviais tropicais. Protonemas filamentosos com células cilíndricas longas, ramificações cloronemáticas numerosas e caulonema conspícuo são características geralmente relacionadas a ambientes com alta disponibilidade hídrica. Dentre as espécies estudadas, este tipo de comportamento pode ser claramente evidenciado em *Thamniopsis incurva* e *Isopterygium tenerum*.

Isopterygium tenerum parece ter apresentado uma estratégia intermediária entre *Thamniopsis incurva* e *Crossomitrium patrisiae*, com alto investimento inicial em células e ramificações protonemáticas (maior cobertura do substrato) concomitante com a redução do tempo

entre as fases protonemática e de gametóforo, além de investimento em estruturas fotossintetizantes e de fixação.

Por outro lado, um protonema maciço associado a células cilíndricas curtas ou globosas, ramificações cloronemáticas curtas e em pequeno número e caulonema não conspícuo podem indicar táxons típicos de locais sujeitos à baixa disponibilidade hídrica. As hepáticas estudadas podem ser visualizadas dentro deste sistema devido à endosporia, tipo de protonema (discóide uniestratificado e globoso) e formato das células (planas e globosas). Quanto aos musgos, *Crossomitrium patrisiae* e *Lepidopilum muelleri* representaram esta tendência com menores número e comprimento das ramificações quando comparados a *T. incurva* e *I. tenerum*. Além disso, ainda que suas células tenham sido claramente cilíndricas longas, a curvatura das paredes e a razão comprimento/largura das células demonstraram pequenas diferenças que as aproximam da tendência para hábitos sujeitos a maior dessecação.

Dentre os musgos avaliados, todas as espécies estudadas demonstraram estratégias que provavelmente auxiliam a colonização em campo.

I. tenerum e *B. argenteum* mostraram-se eficientes na rápida ocupação do substrato e estabelecimento a partir dos gametóforos. Características como o comprimento das células protonemáticas (5-6x a largura), número e velocidade de ramificação, rápida produção de caulonema e gametóforos abundantes indicam uma provável estratégia à ocupação de habitats mais adversos.

T. incurva apresentou rápido crescimento protonemático, evidenciado por inúmeros graus de ramificação. Isso garantiu uma maior área ocupada pelo protonema e só posteriormente a formação dos gametóforos.

A princípio *C. patrisiae* e *L. muelleri* demonstraram semelhantes padrões de desenvolvimento, com poucas ramificações protonemáticas e células não tão longas (3-4x a largura). Entretanto, à medida que *C. patrisiae* produziu rapidamente inúmeros gametóforos e caulonema, garantindo o estabelecimento do maior número possível de novos indivíduos, a estratégia verificada entre os protonemas de *L. muelleri* esteve ligada à reprodução assexuada por gemas protonemáticas. Neste caso, parece que o mecanismo de dispersão dos propágulos sexuais pode estar associado a um mecanismo secundário caracterizado pela reprodução assexuada. Obviamente, é importante ressaltar que em campo o protonema de *L. muelleri* pode comportar-se de modo diferente do observado em laboratório, produzindo apenas gametóforos ou até mesmo gametóforos e gemas protonemáticas.

Em hepáticas, a fase protonemática é curta, os esporos são geralmente médios a grandes e germinam rapidamente ao atingirem um substrato com umidade disponível. Em geral o padrão germinativo é endospórico, característica que permite às células do protonema em desenvolvimento

permanecerem por um período, protegidas da dessecação, exposição aos raios solares, predação, parasitismo, dentre outros fatores que possam inibir ou suprimir o crescimento gametofítico (Nehira 1983, Thiers 1988). O protonema de *R. recubans* não divergiu dessa estratégia e *H. juniperoideus* ainda que tenha apresentado um protonema estacionado nas primeiras fases de desenvolvimento, apresentou rápida germinação, padrão endospórico e protonema de células globosas e condensadas.

Outras espécies ocorrentes em Floresta Atlântica do estado de Pernambuco vêm sendo investigadas quanto à morfogênese protonemática e suas prováveis estratégias reprodutivas. No entanto, outros ecossistemas neotropicais devem ser investigados, pois certamente diferentes padrões e estratégias são lançados por suas espécies em contraste àquelas ocorrentes em ecossistemas temperados e frios.

Agradecimentos

À doutoranda Flávia Carolina Lins e Silva, pelo auxílio durante as coletas das espécies; às mestrandas Lisi Dámaris P. Alvarenga e Juliana Rosa P. M. Oliveira e à Dra Olga Yano pela identificação das espécies. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Literatura citada

Bates, J.W. 1992. Mineral nutrient acquisition and retention by bryophytes. *Journal of Bryology* 17: 223-240.

Bates, J.W. & Bakken, S. 1998. Nutrient retention, dessication and redistribution in mosses. *In: J.W. Bates, N.W. Ashton & J.G. Duckett (eds.). Bryology for the twenty-first century.* Maney and British Bryological Society, Leeds. pp. 293-304.

Chopra, R.N. & Kumra, P.K. 1988. *Biology of Bryophytes.* Wiley Eastern Limited, New Delhi. 350p.

Duckett, J.G., Burch, J., Fletcher, P.W., Matcham, H.W., Read, D.J., Russell, A. & Pressel, S. 2004. *In vitro* cultivation of bryophytes: a review of practicalitie, problems, progress and promise. *Journal of Bryology* 26: 3-20.

Duckett, J.L & Ligrone, R. 1992. A survey of diaspore liberation mechanisms and germination patterns in mosses. *Journal of Bryology* 17: 335-354.

Duckett, J.G., Schmid, A.M. & Ligrone, R. 1998. Protonemal morphogenesis. *In: J.W. Bates, N.W. Ashton & J.G. Duckett (eds.). Bryology for the twenty-first century.* Maney and British Bryological Society, Leeds. pp. 223-246.

- Egunyomi, A.** 1978. Comparative culture studies on the spores and gemmae of *Octoblepharum albidum* Hedw. The Journal of the Hattori Botanical Laboratory 44: 25-30.
- Gradstein, S.R.** 1992. The vanishing tropical rain forest as an environment for bryophytes and lichens. In: J.W. Bates & A.M. Farmer (eds.). Bryophytes and lichens in a changing environment. Clarendon Press, Oxford. pp. 234-258.
- Hell, K.G.** 1967. Formação do gametófito em *Symphyogyna brasiliensis* Nees e *Symphyogyna aspera* Stephani (Hepaticae). Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP 22: 245-260.
- Krupa, J.** 1964. Studies on the physiology of germination of spores of *Funaria hygrometrica* (Sibth.). Acta Societatis Botanicorum Poloniae 33: 179-191.
- León, V.Y.** 1999. Germinación de esporas y desarrollo de protonemas de *Cryphaea jamesoni* Tayl. (Cryphaeaceae: Musci) in vitro. Plantula 2: 153-157
- Longton, R.E. & Schuster, R.M.** 1983. Reproductive Biology. In: R.M. Schuster (ed.). New Manual of Bryology, v. 1. The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, pp. 386-462.
- Miles, C.J. & Longton, R.E.** 1990. The role of spores in reproduction in mosses. Botanical Journal of the Linnean Society 104: 149-173.
- Nehira, K.** 1983. Spore germination, protonema development and sporeling development. In: R.M. Schuster (ed.). New Manual of Bryology. v. 1. The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, pp. 343-379.
- Nehira, K.** 1988. Germination and protonema. In: J.M. Glime (ed.). Methods in Bryology. Hattori Botanical Laboratory, Nichinan. pp.113-117.
- Nishida, Y.** 1978. Studies on the sporeling types in mosses. The Journal of the Hattori Botanical Laboratory 44: 371-454.
- Peralta, D.F.** 2005. Musgos (Bryophyta) do Parque Estadual da Ilha Anchieta (PEIA), São Paulo, Brasil. Dissertação de mestrado.: Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 209p
- Schofield, W.B.** 1981. Ecological significance of morphological characters in the moss gametophyte. The Bryologist 84:149-165.
- Schofield, W.B.** 1985. Introduction to Bryology. Macmillan Publishing Company, New York. 309-330p.
- Sharma, P. & Chopra, R.N.** 1986. In vitro production and behaviour of protonemal gammae in *Hyophila involuta* (Hook.) Jaeg. The Journal of the Hattori Botanical Laboratory 60: 137-141.
- Simabukuro, E.A.** 1995. Pteridófitas da Estação Experimental e Reserva Biológica de Moji Guaçu (SP): Morfologia de esporos, chuva polínica, banco de solo e viabilidade de *Cyathea delgadii* Sternb. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 220p.

Spiess, L., Lippincott, B.B. & Lippincott, J.A. 1990. Physiology of moss-bacterial associations. *In*: R.N. Chopra & S.C. Bhatla (eds.). Bryophyte development: physiology and biochemistry. CRC Press, Boca Raton. pp. 119-137.

Thiers, B.W. 1988. Morphological adaptations of the Jungermanniales (Hepaticae) to the Tropical Rainforest habitat. *The Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 64: 5-14.

Tabela 1. Local de coleta, substrato/microhabitat e período de coleta das espécies estudadas. Material testemunho está depositado no herbário UFP.

Espécies	Local de coleta	Substrato/microhabitat	Período
BRYOPHYTA			
Calymperaceae			
<i>Octoblepharum albidum</i>	Reserva Ecológica de Dois Irmãos, Recife (8°04'S e 34°52'O, 30m alt).	Tronco vivo/borda da mata	X/ 2004
Bryaceae			
<i>Bryum argenteum</i>	Reserva Ecológica Municipal de Bonito, Bonito (8°28'S e 35°43'O, 750m alt).	Substrato antrópico/borda da mata	X/ 2003
Pilotrichaceae			
<i>Thamniopsis incurva</i>	Reserva Particular do Patrimônio Natural Frei Caneca, Jaqueira (8°42'S e 35°50'O, 648m alt).	Pedra úmida/interior da mata	IV/ 2005
<i>Crossomitrium patrisiae</i>	RPPN Frei Caneca, Jaqueira (8°43'S e 35°50'O, 600m alt).	Folhas de arbustos/interior da mata	X/ 2005
<i>Lepidopilum muelleri</i>	RPPN Frei Caneca, Jaqueira (8°43'S e 35°50'O, 600m alt).	Galho vivo/interior da mata	X/ 2005
Hypnaceae			
<i>Isopterygium tenerum</i>	RPPN Frei Caneca, Jaqueira (8°43'S e 35°50'O, 600m alt).	Pedra/borda da mata	IV/ 2005
MARCHANTIOPHYTA			
Radulaceae			
<i>Radula recubans</i>	RPPN Frei Caneca, Jaqueira (8°42'S e 35°50'O, 648m alt).	Galho vivo/interior da mata	VI/ 2005
Herbertaceae			
<i>Herbertus juniperoideus</i>	RPPN Frei Caneca, Jaqueira (8°42'S e 35°50'O, 648m alt).	Galho caído/interior da mata	V/ 2005

Tabela 2. Condições e tempo de cultivo, características do protonema e gametófito jovem das espécies estudadas. C = cloronema; Ca = caulonema; B = botão gametofítico; G = gametófito jovem; PG = protonema gemífero; Ge = gemas destacadas.

Espécie	Condições de cultivo	Tempo (dias)	Número de células	Características
<i>Octoblepharum albidum</i>	Solução de Knop, luz contínua, 700 lux	7	3-4	Germinação exospórica, bipolar
		14	7-8 C	Protonema filamentosos
		21	8-10 C	Células longas
		35	12-14 C	Rizóide primário ausente Cloronema presente
<i>Bryum argenteum</i>	Solução de Mohr modificada por Dyer (1979), fotoperíodo de 12h, 1200 lux	3	1-3	Germinação exospórica, bipolar
		7	1-3 C	Protonema filamentosos
		14	4-10 C	Células longas Rizóide primário ausente Cloronema presente
<i>Thamniopsis incurva</i>	Solução de Knop, fotoperíodo de 12h, 1200 lux	7	4-6	Germinação exospórica, bipolar
		14	6-8 C	Protonema filamentosos
		28	>100 C	Células longas
		57	>100 C	Rizóide primário ausente
		63	>100 C/Ca/B/G	Cloronema presente
		72	>100 C/Ca/G	Caulonema eventual
<i>Crossomitrium patrisiae</i>	Solução de Knop, fotoperíodo de 12h, 1200 lux	7	2-3	Germinação exospórica, bipolar
		14	10-13 C	Protonema filamentosos
		28	>100 C	Células longas
		42	>100 C/G	Rizóide primário ausente
		57	>100 C/Ca/G	Cloronema e caulonema presentes
		72	>100 C/Ca/G	

Tabela 2. (cont.)

Espécie	Condições de cultivo	Tempo (dias)	Número de células	Características
<i>Lepidopilum muelleri</i>	Solução de Knop, fotoperíodo de 12h, 1200 lux	7	5-7	Germinação exospórica, bipolar
		14	10-13 C	Protonema filamentosos
		28	>100 C	Células longas
		42	>100 C/PG	Rizóide primário ausente
		57	>100 C/PG	Cloronema presente
		72	>100 C/PG/Ge	Protonema gemífero
<i>Isopterygium tenerum</i>	Solução de Knop, fotoperíodo de 12h, 1200 lux	7	4-6	Germinação exospórica, bipolar
		14	>20 C	Protonema filamentosos
		21	>100 C	Células longas
		49	>100 C/Ca/G	Rizóide primário ausente
		64	>100 C/Ca/G	Cloronema e caulonema presentes
		76	>100 C/Ca/G	
<i>Radula recubans</i>	Solução de Knop, fotoperíodo de 12h, 1200 lux	7	2-4	Germinação endospórica,
		15	8-16	Protonema uniestratificado discóide
		28	>20 G	Rizóide primário presente
		49	40-100 G	
		63	>100 G	
		77	>100 G	
<i>Herbertus juniperoideus</i>	Solução de Knop, fotoperíodo de 12h, 1200 lux	13	3-4	Germinação endospórica,
		34	6-8	Protonema globoso
		48	6-8	

Legenda das figuras

Figura 1 . Germinação de esporos de *Octoblepharum albidum* Hedw. cultivados *in vitro* sob luz contínua e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. Corpúsculos lipídicos (seta) (b) 14° dia de cultivo. (c) 21° dia de cultivo. Vacúolo (V) (d) 35° dia de cultivo. Barra de escala = 20µm.

Figura 2. Germinação de esporos de *Bryum argenteum* Hedw. cultivados *in vitro* sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 3° dia de cultivo. (b) 7° dia de cultivo. Primeiras células protonemáticas de formato globoso atípico (seta). (c) 14° dia de cultivo. Células protonemáticas globosas (seta) e cilíndricas longas (seta dupla) Barra de escala = 20µm.

Figura 3. Germinação de esporos de *Thamniopsis incurva* (Hornsch.) W.R. Buck. cultivados *in vitro* sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. (c-d) 28° dia de cultivo. (c) visão geral do cloronema ramificado (d) detalhe das células cloronemáticas. (e-f) 57° dia de cultivo. (e) células cloronemáticas com cloroplastos esparsos (seta). (f) botões gametofíticos originados a partir do cloronema (B). (g) 63° dia de cultivo. Gametóforo em formação (G). (h) 72° dia de cultivo. Gametóforos (dois) a partir de um único protonema. Barra de escala: c, g, h = 100 µm; a, b, d, e, f = 20µm.

Figura 4. Germinação de esporos de *Crossomitrium patrisiae* (Brid.) Müll. Hal. cultivados *in vitro* sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. Início da ramificação protonemática. (c-d) 28° dia de cultivo. (c) cloronema com ramificações secundárias predominantes (d) detalhe das células cloronemáticas (e-f) 42° dia de cultivo. (e) gametóforo (G) com rizóides secundários (seta). (f) detalhe do gametóforo (G). (g-h) 57° dia de cultivo. (g) parede transversal do caulonema (seta). (h) gametóforo. (i) 72° dia de cultivo. Barra de escala: c, h, i = 100 µm; a, b, d, e, f, g = 20µm.

Figura 5. Germinação de esporos de *Lepidopilum muelleri* (Hampe) Spruce cultivados *in vitro* sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. Início da ramificação protonemática. (c-d) 28° dia de cultivo. (c) cloronema bastante ramificado (d) detalhe das células cloronemáticas (e) 42° dia de cultivo. Ramificações laterais gemíferas (seta). (f) 57° dia de cultivo. Gemas protonemáticas em detalhe (seta) (g-h) 72° dia de cultivo. (g) vista geral do protonema gemífero. (h) detalhe da região de destacamento da gema protonemática. Barra de escala: c, g = 100 µm; a, b, d, e, f, h = 20µm.

Figura 6. Germinação de esporos de *Isopterygium tenerum* (Sw.) Mitt. cultivados *in vitro* sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 14° dia de cultivo. Início da ramificação protonemática. (c) 21° dia de cultivo. Detalhe das células cloronemáticas. (d-e) 49° dia de cultivo. (d) gametóforo (G). (e) detalhe da parede transversal do caulonema (seta). (f) 64° dia de cultivo. Gametóforo (G). Rizóides secundários (seta). (g-h) 76° dia de cultivo. (g) gametóforo em visão geral (G). (h) detalhe dos rizóides secundários e sua parede (seta). Barra de escala: d, f, g = 100 µm; a, b, c, e, h = 20µm.

Figura 7. Germinação de esporos de *Radula recubans* Taylor cultivados *in vitro* sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) 7° dia de cultivo. (b) 15° dia de cultivo. Rizóide primário presente (seta) (c) 28° dia de cultivo. Célula apical na extremidade do protonema (seta dupla) e rizóides (seta). (d-e) 49° dia de cultivo. (d) visão geral do gametófito jovem. (e) detalhe do tecido gametofítico com oleocorpos presentes (seta) (f) 63° dia de cultivo. Diferenciação da massa protonemática em filídios. Barra de escala: a, b, c, d, f = 20µm; e = 10 µm.

Figura 8. Germinação de esporos de *Herbertus juniperoideus* (Sw.) Grolle cultivados *in vitro* sob fotoperíodo de 12h e 25°C. (a) Visão geral dos esporos recém retirados da cápsula apresentando mais de uma célula (seta). (b) 13° dia de cultivo. (c) 34° dia de cultivo. (d) 48° dia de cultivo. (e) 63° dia de cultivo. Barra de escala: b, c, d, e = 20µm; a = 10 µm.

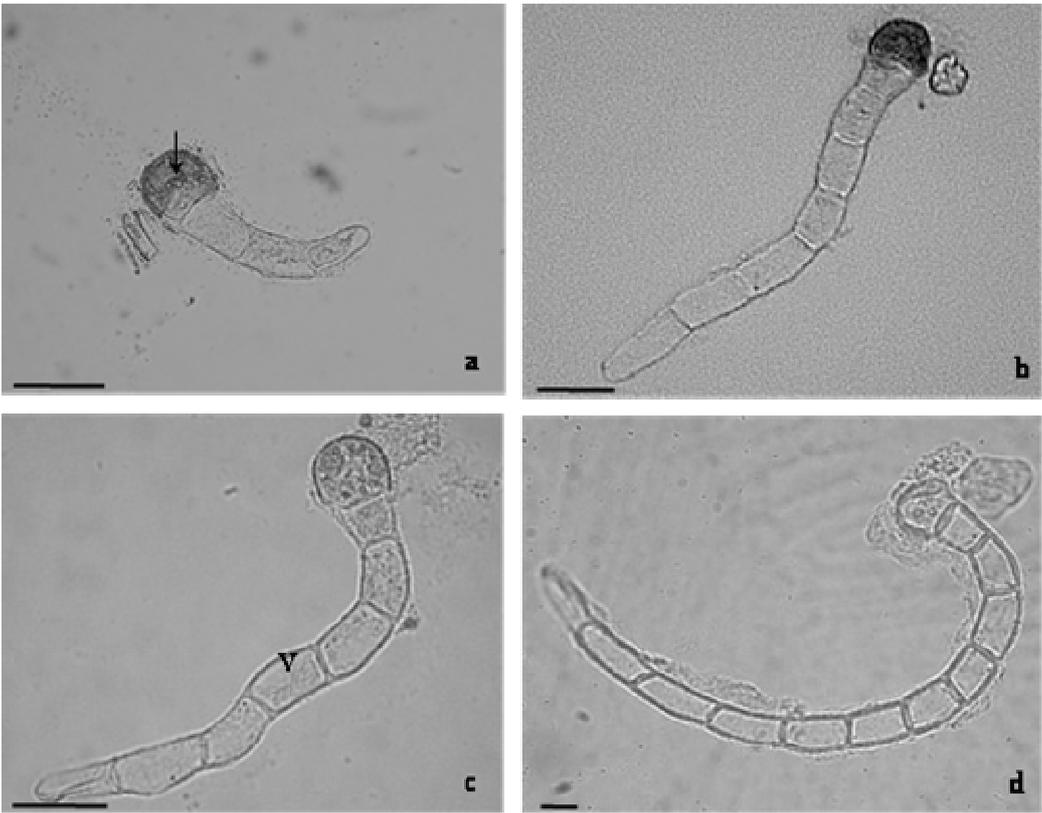


FIGURA 1

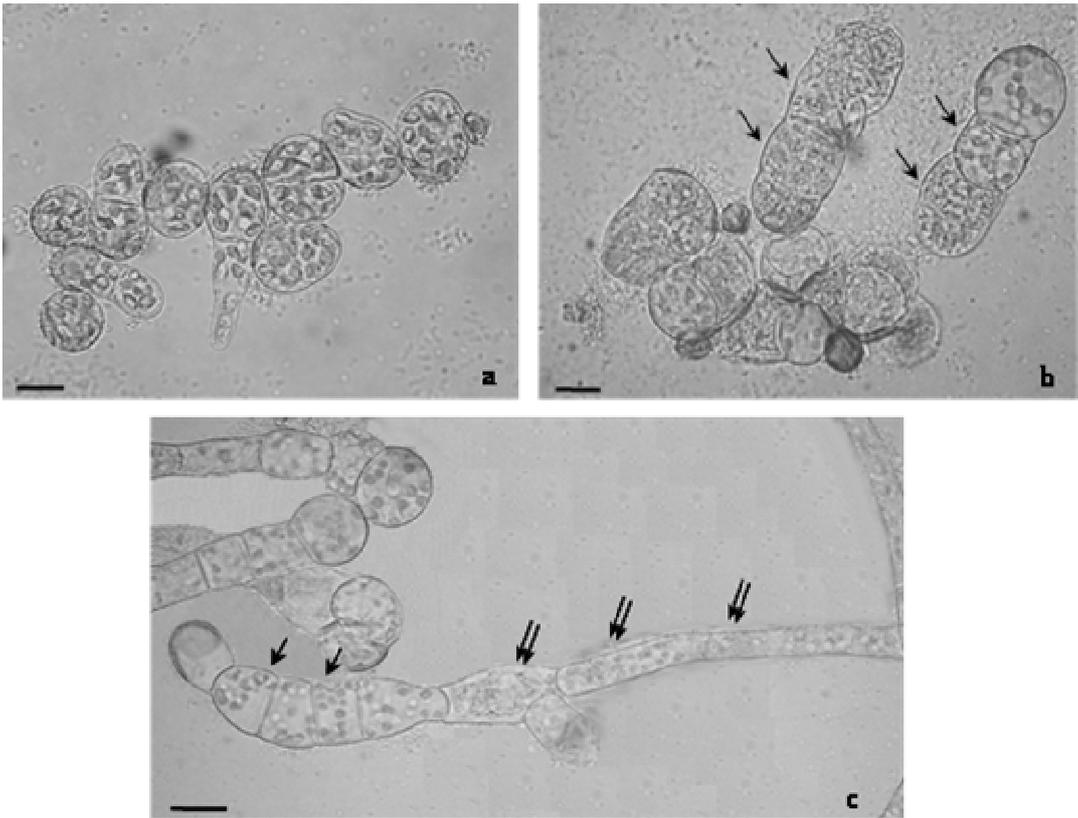


FIGURA 2

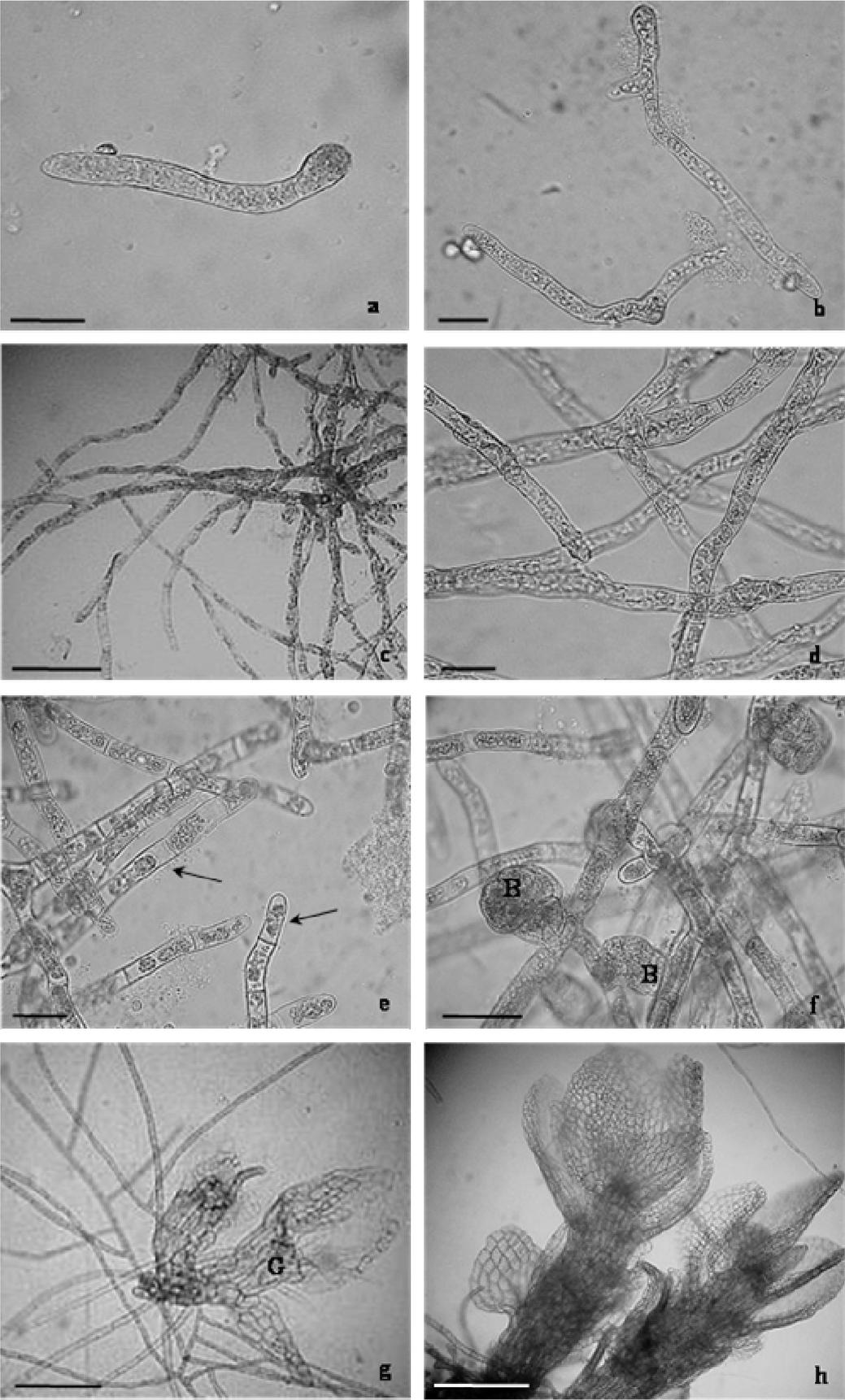


FIGURA 3

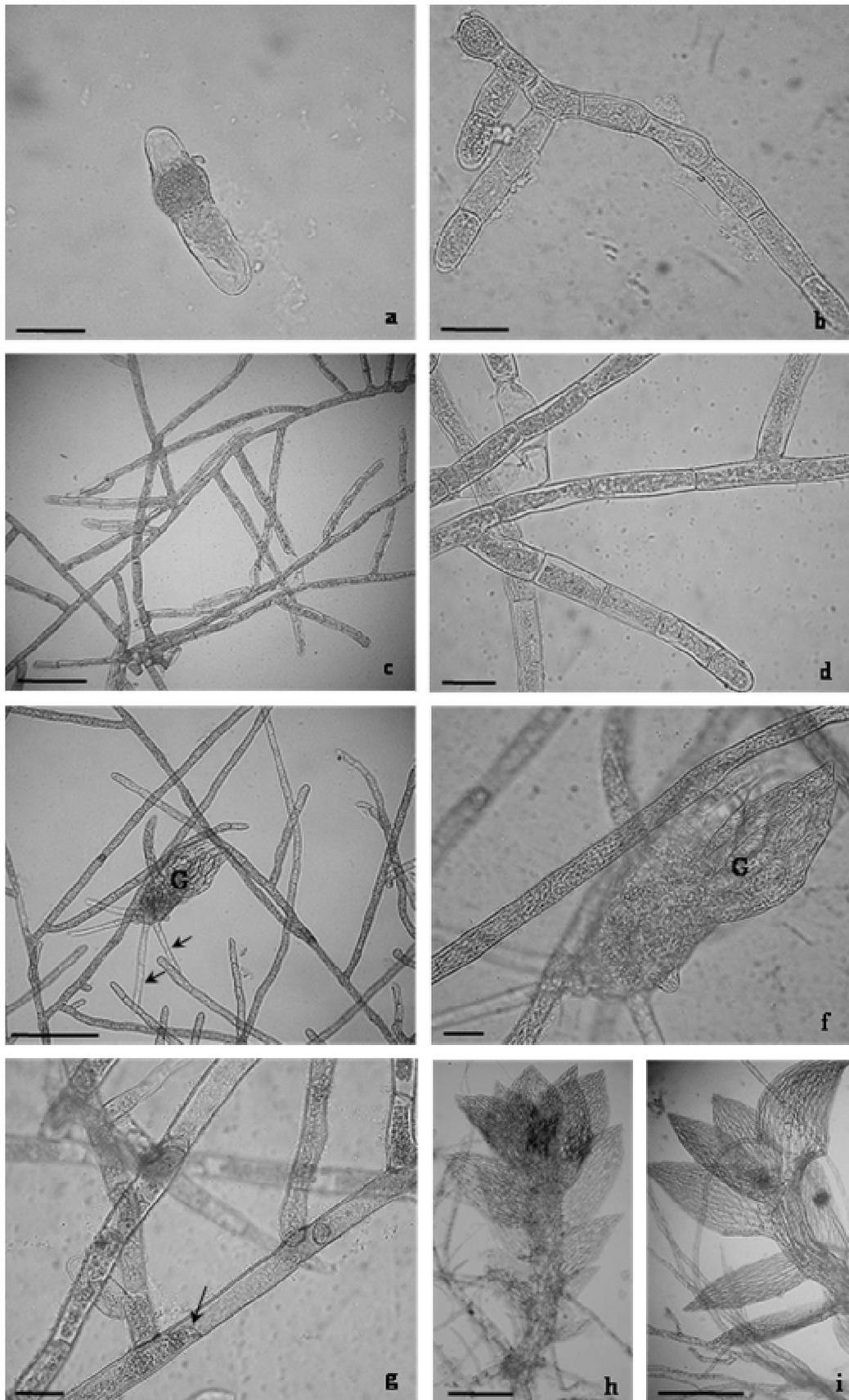


FIGURA 4

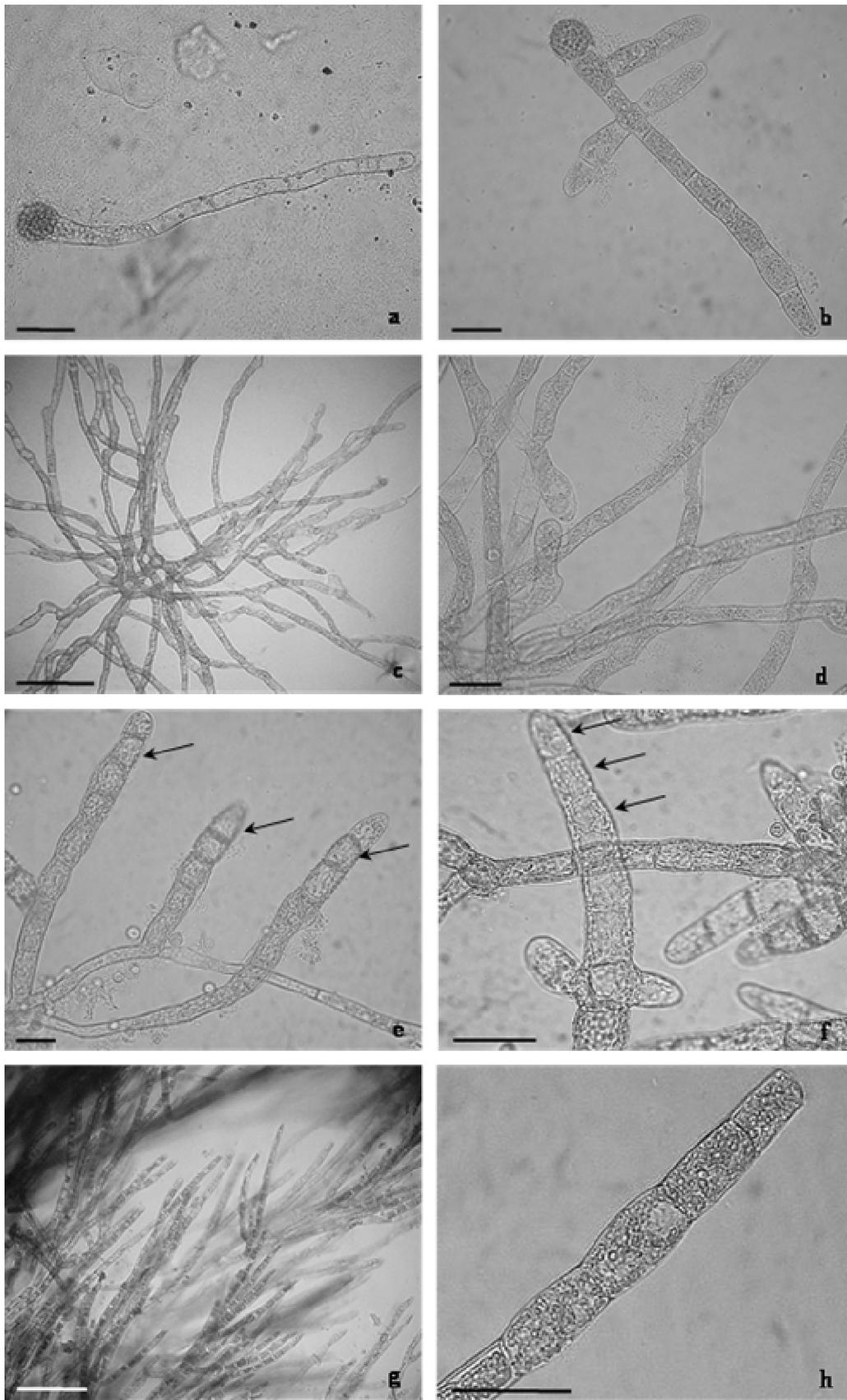


FIGURA 5

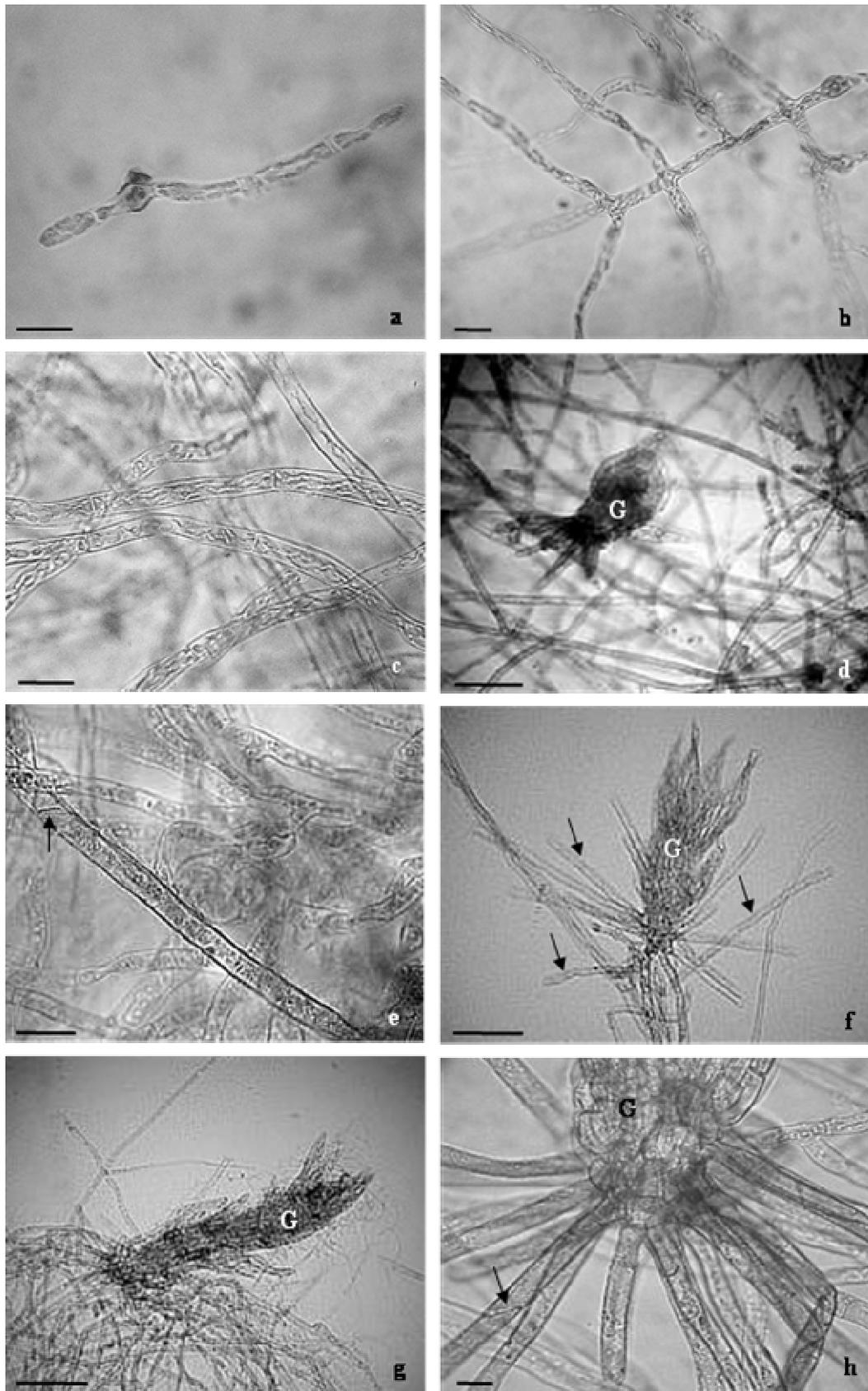


FIGURA 6

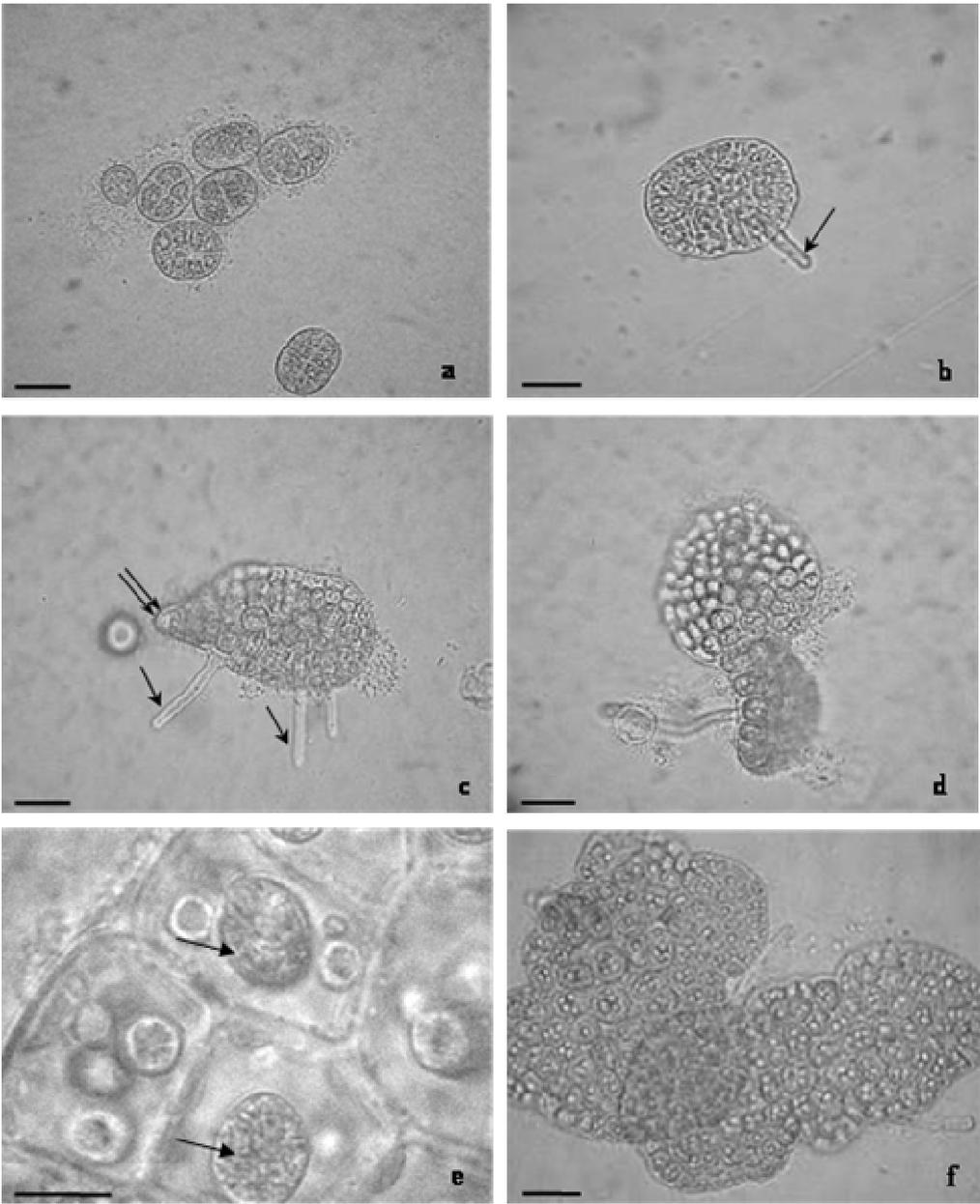


FIGURA 7

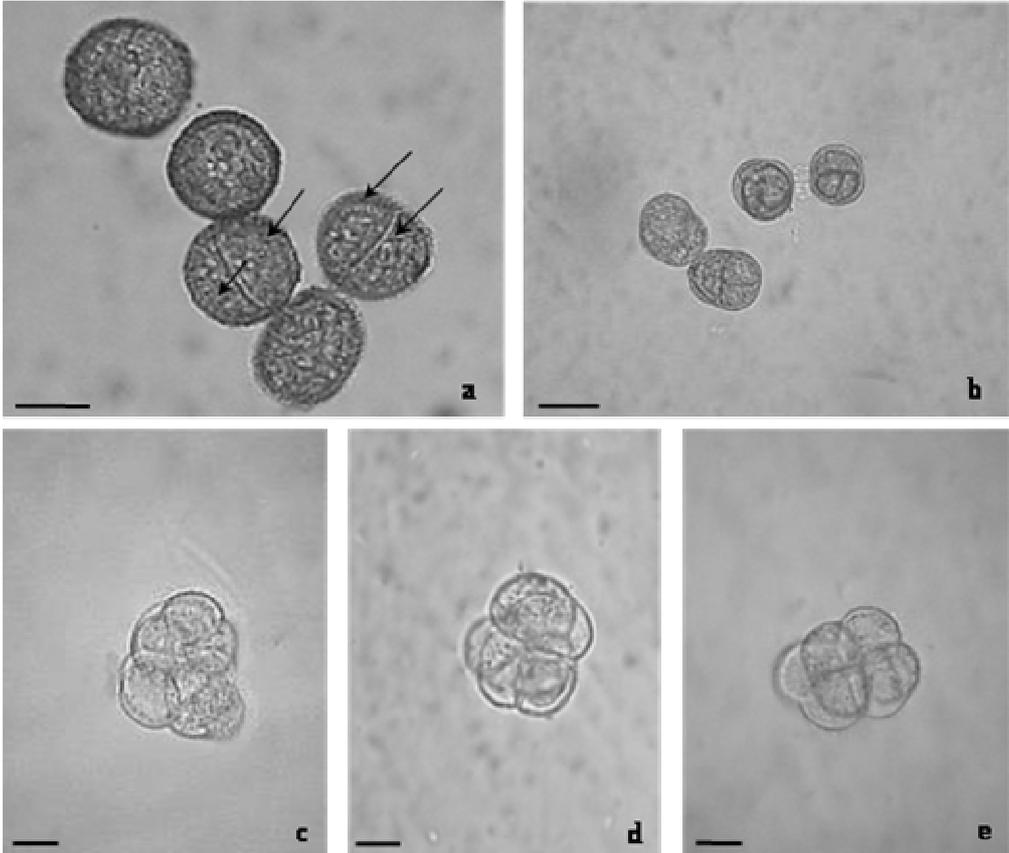


FIGURA 8

*Manuscrito a ser enviado para
Plant Ecology*

Germinação de esporos e crescimento protonemático do musgo neotropical *Thamniopsis incurva* (Hornsh.) W.R. Buck: influência da luz e disponibilidade hídrica

ADAÍSES SIMONE MACIEL DA SILVA¹, KÁTIA CAVALCANTI PÔRTO¹
& ELIANA AKIE SIMABUKURO¹

¹*Universidade Federal de Pernambuco, Brasil*

Abstract

Thamniopsis incurva is a terricolous and rupicolous neotropical moss, associate to courses of water and occurs in Tropical Pluvial Forest. It had been studied the spores viability and germinability, the protonemata growth under different lighth intensity and quality and water potentials from populations in fragments of Northeastern Atlantic Forest (Pernambuco, Brazil). Mature capsules had been esterilized and spores distributed in Knop media (liquid and solidified by 0.4% agar). The spores had lost the viability quickly. Germination was observed on photoperiod 12 h and continuous darkness. Different intensities and qualities of light had not inhibited the protonemata growth and the bud formation, that indicate a high amplitude of microhabitats for colonization. On the other hand, the spore germination, the protonemata growth and the gametophytes establishment was reduced on -0.06 MPa. The species ecophysiological data suggest that strategies to populations maintainance and establishment involved fast germination and protonemata growth, but restricted to microhabitats under hight moisture.

Keywords: bryophytes, germination, protonemata, ecophysiology, tropical rain forest.

Introdução

As briófitas são representantes elaborados de uma estratégia alternativa de adaptação à vida na terra, compondo uma parte proeminente da vegetação em habitats desde florestas temperadas e florestas tropicais a desertos e tundras (Proctor 2000, Kürshner 2004). Ainda são escassos os estudos ecofisiológicos de briófitas tropicais, seja porque poucos ecofisiologistas têm investigado briófitas ou porque os briólogos clássicos usualmente não trabalham com fisiologia (Frahm 2003). Ademais, um completo entendimento do comportamento ecológico das briófitas só pode ser alcançado se sua fisiologia for bem conhecida.

A viabilidade dos esporos de briófitas varia de poucos dias a várias décadas. Segundo Schofield (1985), esporos de espécies de ambientes méxicos possuem períodos menores de viabilidade quando comparados àqueles de ambientes xéricos. A germinação inicia-se com a embebição dos esporos, seguida pela produção de clorofila, rompimento do exósporo e protrusão do protonema (Nehira 1983, Hartman e Weber 1990). Na maioria dos musgos, após a germinação do esporo, é originado um filamento clorofilado de várias células, denominado cloronema. Esse filamento passa por modificações morfo-fisiológicas, que constituem um novo filamento de cor castanha, chamado caulonema, onde são formados os botões gametofíticos que crescerão em novos gametóforos (Nishida 1978).

Condições favoráveis de temperatura, luz e umidade são pré-requisitos para a germinação dos esporos e desenvolvimento dos protonemas. Para os táxons tropicais, 20-25°C tende a ser o ótimo de temperatura (Duckett et al. 2004). A luz apresenta dois aspectos diferentes de ação, ou seja, fornece energia necessária para realização da fotossíntese e age como um sinal externo na regulação do desenvolvimento vegetal (Hartman e Weber 1990). A água, por sua vez, é fundamental para a embebição do esporo e sua limitação pode reduzir ou inibir totalmente a germinação, dependendo da espécie estudada (Schofield 1985). O crescimento protonemático parece ser mais tolerante a determinados níveis de estresse hídrico, porém o tempo de divisão celular assim como o tempo para a formação de botões gametofíticos é ampliado.

Thamniopsis incurva (Hornsh.) W.R. Buck é um musgo neotropical da família Pilotrichaceae. A espécie é autóica, de crescimento pleurocárpico e encontrada principalmente em Floresta Pluvial Tropical. Possui hábito terrícola e rupícola, geralmente associada a cursos d'água (Buck 1998, Peralta 2005, Vaz 2005). No Brasil, está presente principalmente nas regiões Sudeste e Sul, e são escassos os registros dessa espécie na região Nordeste. Nos fragmentos de Floresta Atlântica acima do rio São Francisco, também denominada Floresta Atlântica Nordestina, a espécie foi registrada para o estado da Paraíba (Vaz 2005) e pela primeira vez para o estado de Pernambuco no presente estudo.

Sua distribuição pouco abrangente no Nordeste brasileiro pode estar ligada à restrição por fatores abióticos sobre o ciclo de vida da espécie. Dessa forma, este estudo foi realizado com esporos de *Thamniopsis incurva* sob condições controladas de laboratório, com os objetivos de: (1) avaliar a germinabilidade e a viabilidade dos esporos, considerando a estratégia reprodutiva da espécie e as condições ambientais das populações; (2) analisar a germinação e o crescimento protonemático sob diferentes níveis de luminosidade e disponibilidade hídrica, a fim de interpretar a ação isolada dos fatores abióticos no ciclo de vida da espécie.

Material e Métodos

LOCAL E ESPÉCIE DE ESTUDO

As populações estudadas encontram-se em um dos remanescentes de Floresta Atlântica submontana (08°42' S e 35°50' O) pertencentes à Reserva Particular do Patrimônio Natural Frei Caneca (município de Jaqueira, Pernambuco, Brasil), que possui 630,42 hectares, altitude de 500 a 750 m, temperatura média anual de 22-26°C e pluviosidade de 1337 mm (RPPN Frei Caneca 2006). Nesse fragmento florestal há presença de neblina nas primeiras e últimas horas do dia, principalmente durante a estação chuvosa e dias mais úmidos.

As populações de *T. incurva* são encontradas colonizando afloramentos rochosos associados à água e acúmulo de húmus. A maior concentração de populações encontra-se sobre a superfície inclinada de uma rocha cristalina exposta, onde uma lâmina de água percola continuamente. Essas populações ocupam aproximadamente 6 m² da rocha, e apresentam indivíduos em diferentes estádios fenológicos, desde protonemas (confirmados sob microscópio óptico) e pequenos gametófitos até adultos com esporófitos e cápsulas abertas. Há dois estratos arbóreos, que sombreiam as populações de *T. incurva*, um formado por *Cyathea corcovadensis* e um outro estrato arbóreo mais esparsos (intensidade luminosa média = 250 ± 145 lux).

CARACTERIZAÇÃO DA GERMINAÇÃO

Exemplares contendo cápsulas maduras, porém ainda fechadas, foram utilizados nos experimentos. Esporófitos foram separados dos gametófitos, desinfestados em 1,5 % de hipoclorito de sódio por 2 min e lavados em água destilada estéril (Duckett et al. 2004). Os esporos de algumas cápsulas foram homogeneizados em solução nutritiva e distribuídos nos meios de cultura, com número aproximado de 200 esporos . mL⁻¹.

Foram utilizadas placas de Petri (6 cm de diâm.) contendo 10 mL de solução nutritiva Knop [Ca(NO₃)₂ . H₂O 0,5 g L⁻¹; MgSO₄ . 2H₂O 0,17 g L⁻¹; KH₂PO₄ 0,175 g L⁻¹; KCl 0,06 g L⁻¹; FeCl (3 %) 1 mL L⁻¹] mais fungicida nistatina 100U mL⁻¹ (Nehira 1988). Todas as placas foram seladas com parafilme de PVC, evitando-se a evaporação, bem como eventual contaminação. Foram utilizadas cinco réplicas por tratamento.

Vidraria, soluções nutritivas e água destilada foram autoclavados por 40 min, a 120 °C e 1 Kg cm⁻² e o material plástico utilizado na montagem dos experimentos foi mantido em solução etanólica 70% por 48 h. Os experimentos foram montados em câmara de fluxo laminar e conduzidos em sala de cultivo com temperatura constante de 25°C, fotoperíodo de 12h e intensidade luminosa de 1200 lux (correspondente a 14,4 μmol . m⁻² . s⁻¹).

Para caracterização da germinação foram utilizados os tratamentos de luz (fotoperíodo de 12h) e escuro contínuo. O tratamento de escuro contínuo foi realizado envolvendo-se as placas em

três sacos plásticos pretos. Quanto à natureza física do meio nutritivo, foram utilizados os tratamentos com solução nutritiva líquida e solução solidificada com ágar 0,4% (Silva et al. 2006).

A fim de avaliar a viabilidade, esporos foram envolvidos em tripla camada de papel alumínio e mantidos em placas de Petri forradas com papel de filtro, seladas com parafilme. A germinação e o armazenamento foram conduzidos sob fotoperíodo de 12h e 25°C (Wiklund e Rydin 2004).

A realização das contagens de germinação foi feita com cinco lâminas por tratamento, que foram montadas em câmara de fluxo laminar com uso de material asséptico. As contagens foram diárias até a estabilização das curvas e realizadas sob microscópio óptico com registro de cem esporos em cada lâmina.

CRESCIMENTO PROTONEMÁTICO

Os experimentos foram montados de maneira similar ao método acima descrito e mantidos sob fotoperíodo de 12h e 25°C. Foram utilizadas três réplicas (placas de Petri de 9cm de diâmetro) por tratamento por dia de avaliação. Foram avaliados 30 protonemas por réplica a cada 15 dias de cultivo até 90 dias, sob microscópio óptico. Como parâmetro de crescimento, foi escolhido o número de células protonemáticas e a partir desse dado foi calculada a taxa de crescimento protonemático para cada tratamento.

Intensidade luminosa

Foi analisada a influência das intensidades luminosas de 100, 70, 50, 30 e 10% de 1200 lux (correspondentes a 14,4; 10,08; 7,20; 4,32 e 1,44 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente) sobre o crescimento e a morfogênese protonemática. Para isto, foram usadas telas sombrite com diferentes filtros à passagem da luz envolvendo as placas de Petri.

Qualidade de luz

Foi avaliado o efeito da luz branca, vermelha, vermelho-extremo e azul sobre o crescimento e morfogênese protonemática. Para isso, foram utilizadas duas camadas de papel celofane em volta das placas de Petri.

Disponibilidade hídrica

A fim de testar a limitação da disponibilidade hídrica sobre o crescimento e a morfogênese protonemática foram empregados os potenciais hídricos de 0,0, -0,02, -0,04, -0,06, -0,08, -0,1, -0,2, -0,4, -0,6, -0,8, -1,0 MPa. Os diferentes potenciais foram obtidos com uso de polietilenoglicol 6000 em solução nutritiva Knop (Villela et al. 1991).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A amostragem em todos os tratamentos foi feita de forma casualizada. Os dados foram analisados com o uso do programa Biostat 3.0. Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem, com análise estatística realizada a partir de dados transformados em $\text{ArcSen}\sqrt{(\%/100)}$. Os dados de crescimento protonemático foram expressos em porcentagem e a taxa de crescimento protonemático foi calculada segundo a seguinte equação: Taxa de crescimento = (número de células no tempo 2 – número de células no tempo 1) x (tempo 2 – tempo 1) (Wiklund e Rydin 2004).

Foram utilizados os testes t-Student e Análise de variância (Tukey $p < 0,05$) para comparação de médias entre os tratamentos, levando-se em consideração a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. Quando estes pré-requisitos não foram alcançados, os dados foram analisados através dos testes não paramétricos Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, respectivamente. O tempo médio de germinação foi calculado de acordo com a equação tempo médio = $\sum(tn) / \sum n$, onde t é o tempo em dias, começando do dia 0 e n é o número de esporos que completaram a germinação no dia t. A velocidade média foi calculada segundo $v = 1/\text{tempo médio}$ (Laboriau 1983).

Resultados

CARACTERIZAÇÃO DA GERMINAÇÃO

Os esporos de *Thamniopsis incurva* são intensamente clorofilados e sob microscópio óptico não se observam corpúsculos lipídicos. A germinação ocorreu um dia após o início do cultivo, quando foi produzido um protonema de células cilíndricas e clorofiladas (cloronema). O processo germinativo foi registrado sob luz (Figura 1 e Tabela 1), com alta porcentagem e velocidade média de germinação (Tabela 1, $Z = 2,8823$, $p = 0,0039$; $Z = 2,882$, $p = 0,004$, respectivamente). A germinação sob escuro contínuo só foi verificada após onze dias de cultivo, constituindo apenas seis por cento dos esporos germinados. A germinação sob escuro contínuo foi caracterizada pela protrusão e alongamento da célula protonemática que anteriormente constituía o esporo, sem ocorrência de divisão celular. Já sob a luz, o protonema se ramificou rapidamente, com formação de filamentos cloronemáticos secundários.

A natureza física do meio nutritivo não influenciou a porcentagem, a velocidade média e o tempo médio de germinação de esporos de *T. incurva* (Figura 2 e Tabela 2, $p > 0,005$), ou seja, na presença de luz tanto em meio líquido como em meio solidificado com ágar 0,4%, os esporos germinaram rapidamente e em grande número. Sob as duas condições os protonemas se desenvolveram de modo semelhante, apresentando cloronemas primário e secundário simultaneamente.

A viabilidade dos esporos de *T. incurva* foi rapidamente perdida dentro de dois meses, com uma redução de 93% no primeiro mês e 100% no segundo mês após a coleta dos esporos e manutenção sob escuro contínuo a 25°C. A porcentagem e a velocidade média de germinação decresceram significativamente no primeiro mês (Figura 3 e Tabela 3, $F = 5755,013$, $p < 0,0001$; $t = 4,0431$, $p = 0,0155$) e após dois meses de armazenamento, os esporos encontram-se aclorofilados e deformados, provavelmente devido à perda hídrica.

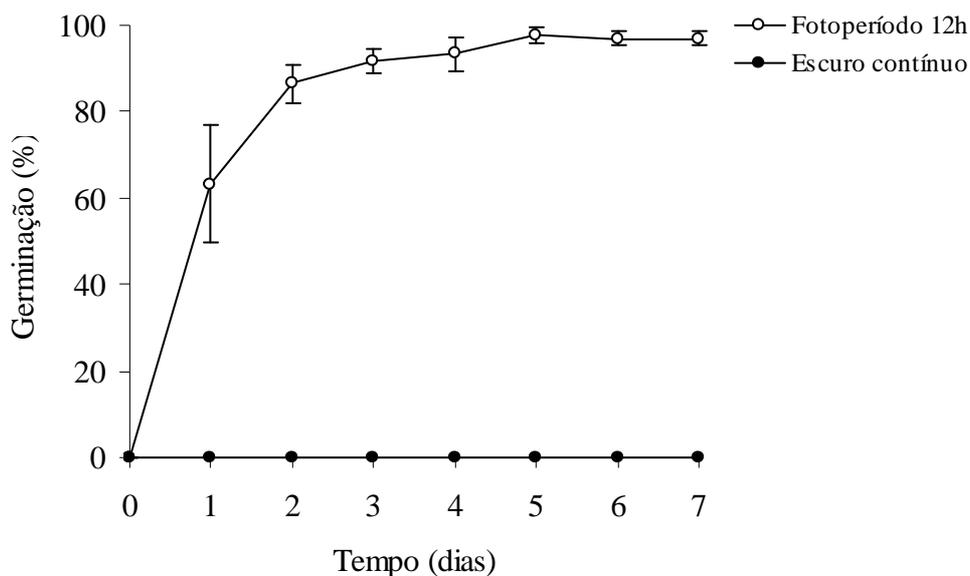


Figura 1. Germinação (%) de esporos de *Thamniopsis incurva* mantidos em meio nutritivo Knop sob luz (fotoperíodo de 12h) e escuro contínuo.

Tabela 1. Porcentagem, tempo médio (dias) e velocidade média (dias⁻¹) de germinação de esporos de *Thamniopsis incurva* mantidos em meio nutritivo de Knop sob fotoperíodo de 12h e escuro contínuo após onze dias de cultivo.

Tratamento	Germinação (%)	Tempo médio (dias)	Velocidade média (dias ⁻¹)
Fotoperíodo de 12h	97a	3,8751b	0,2581a
Escuro contínuo	6b	8,3333a	0,0833b

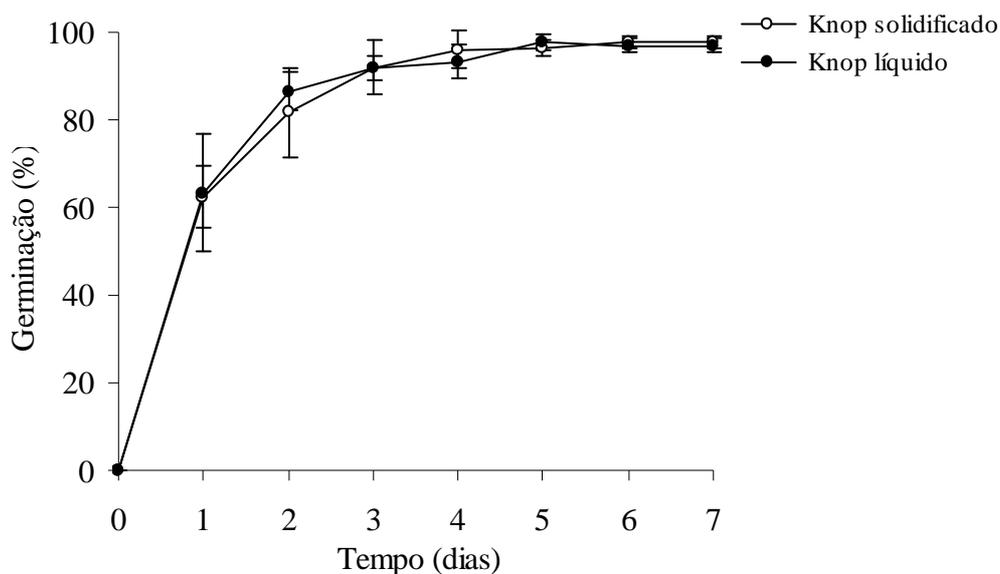


Figura 2. Germinação (%) de esporos de *Thamniopsis incurva* mantidos em meio nutritivo de Knop líquido e solidificado com ágar 0,4%, sob fotoperíodo de 12h.

Tabela 2. Porcentagem, tempo médio (dias) e velocidade média (dias⁻¹) de germinação esporos de *Thamniopsis incurva* mantidos em meio nutritivo de Knop líquido e solidificado com ágar 0,4%, sob fotoperíodo de 12h.

Tratamento	Germinação (%)	Tempo médio (dias)	Velocidade média (dias ⁻¹)
Meio de Knop líquido	97a	3,8751a	0,2581a
Meio de Knop solidificado	98a	3,9000a	0,2564a

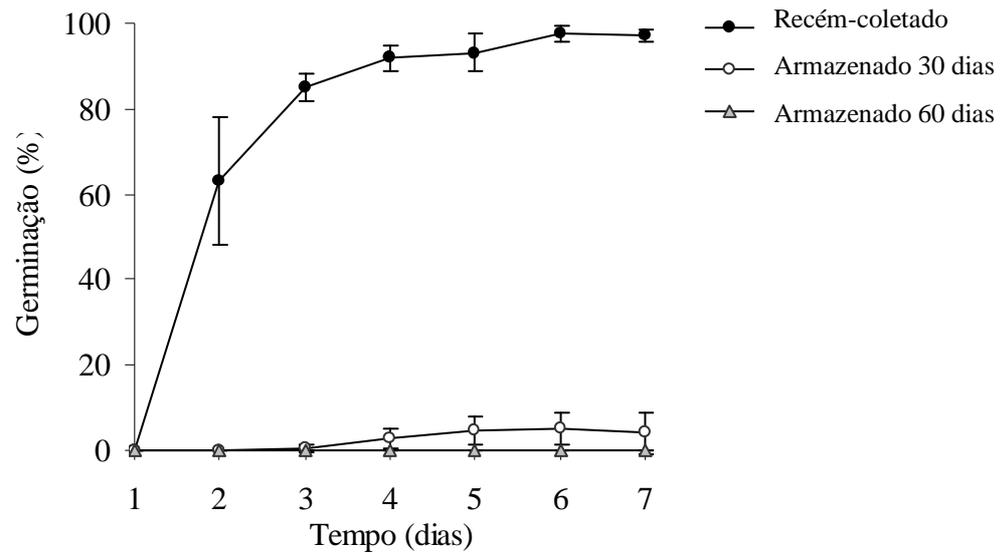


Figura 3. Germinação (%) de esporos de *Thamniopsis incurva* após armazenamento em laboratório sob escuro contínuo a 25°C.

Tabela 3. Germinação (%), tempo médio (dias) e velocidade média (dias⁻¹) de esporos de *Thamniopsis incurva* após armazenamento em laboratório a 25°C.

Tratamento	Germinação (%)	Tempo médio (dias)	Velocidade média (dias ⁻¹)
Recém-coletado	97a	3,8751b	0,2581a
Armazenado 30 dias	4b	6,4446a	0,1665b
Armazenado 60 dias	0c	-	-

CRESCIMENTO PROTONEMÁTICO

Intensidade luminosa

A germinação dos esporos de *T. incurva* foi verificada sob todas as intensidades luminosas aplicadas. A morfogênese não foi inibida por nenhum tratamento, e em todos tratamentos foi observada a produção de botões gametofíticos. A quantificação desses botões por tratamento não se mostrou um bom parâmetro para análise do crescimento, visto que a formação dessas estruturas varia fortemente entre cada protonema e em função da produção e liberação de auxinas no meio.

Houve diferenças no número de células protonemáticas ao longo de noventa dias de avaliação, e sob 1200 lux os protonemas apresentaram maior número de células em comparação aos demais tratamentos (Figura 4 e Tabela 4, $p < 0,05$). Ainda que protonemas sob 120 lux tenham apresentado menor número de células quando comparados aos protonemas cultivados sob intensidades luminosas mais altas, exceto 1200 lux, não foram detectadas diferenças significativas (Tabela 4, $p > 0,05$).

Foram registradas altas taxas de crescimento protonemático sob as intensidades luminosas de 1200 a 840 lux, em contraste às intensidades de 360 e 120 lux (Figura 5, $F = 16,27$, $P < 0,0001$). As menores taxas de crescimento entre os protonemas cultivados sob 360 e 120 lux de intensidade luminosa demonstraram inibição do desenvolvimento protonemático em comparação aos protonemas cultivados sob intensidades luminosas mais altas (Figura 5).

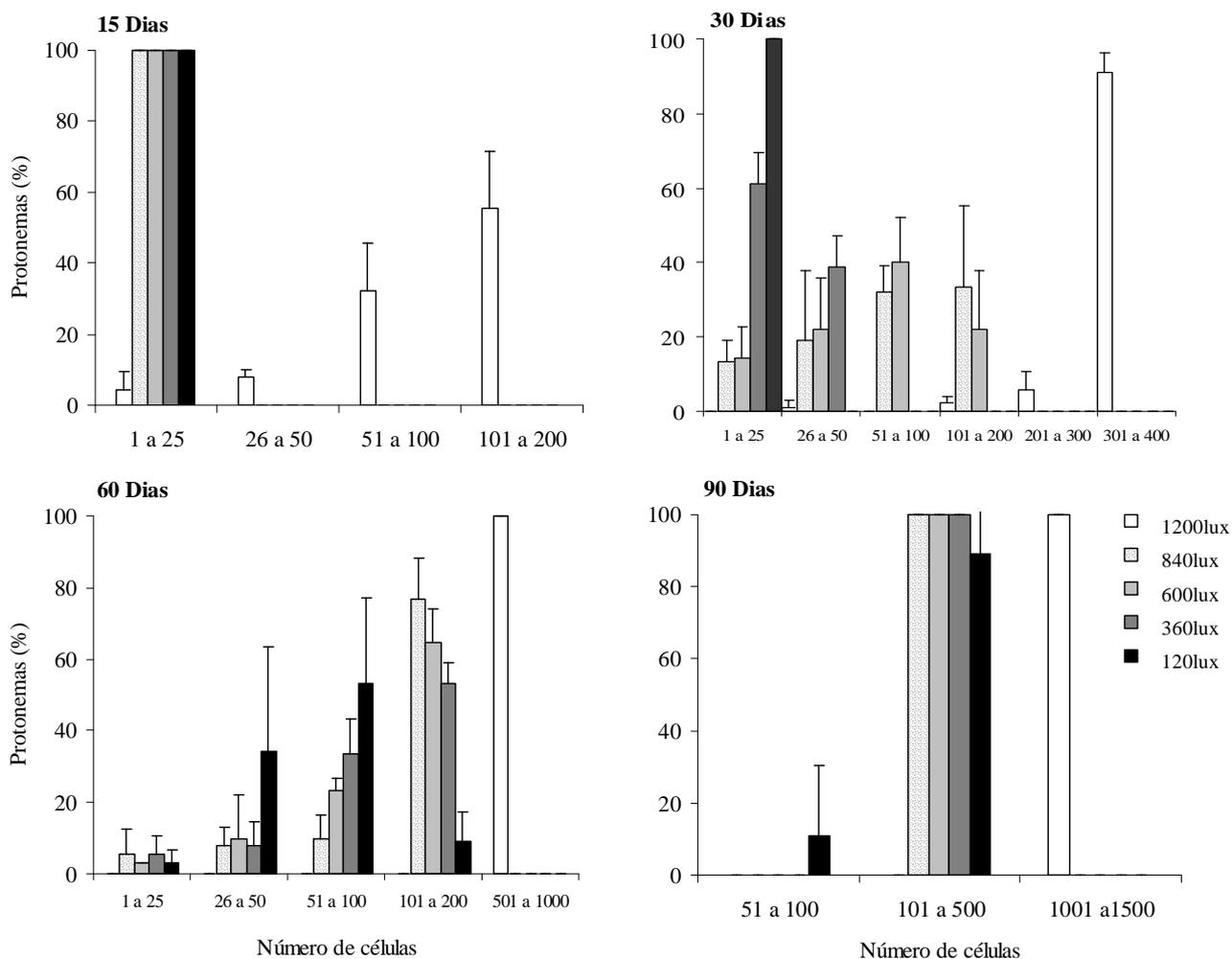


Figura 4. Protonemas (%) de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes intensidades luminosas, sob fotoperíodo de 12h.

Tabela 4. Protonemas (%) de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes intensidades de luz, sob fotoperíodo de 12h. Diferenças estatísticas são evidenciadas com letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas.

Número de células	Protonemas (%) sob diferentes intensidades de luz				
	1200 lux	840 lux	600 lux	360 lux	120 lux
<i>15 dias</i>					
1 a 25	4,4 Bb	100 Aa	100 Aa	100 Aa	100 Aa
26 a 50	7,8 Ba	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb
51 a 100	32,2 Aba	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb
101 a 200	55,6 Aa	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb
<i>30 dias</i>					
1 a 25	0 Bc	13,3 BCc	14,4 Abc	61,1 Ab	100 Aa
26 a 50	1,1 Bb	18,9 ABab	22,2 Aab	28,9 Ba	0 Bb
51 a 100	0 Bb	32,2 Aa	40,0 Aa	0 Cb	0 Bb
101 a 200	2,2 Bab	33,3 Aa	22,2 Aa	0 Cb	0 Bb
201 a 300	5,6 Ba	0 Cb	0 Bb	0 Cb	0 Bb
301 a 400	91,1 Aa	0 Cb	0 Bb	0 Cb	0 Bb
<i>60 dias</i>					
1 a 25	0 Ba	5,6 Ba	3,3 Ca	5,6 Ca	3,3 Ba
26 a 50	0 Ba	7,8 Ba	10 BCa	7,8 Ca	34,4 ABa
51 a 100	0 Bb	10 Bb	23,3 Bab	33,3 Ba	53,3 Aa
101 a 200	0 Bc	76,7 Aa	64,4 Aab	53,3 Ab	8,9 Abc
501 a 1000	100 Aa	0 Bb	0 Cc	0 Cc	0 Bb
<i>90 dias</i>					
51 a 100	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb	11,1 Ba
101 a 500	0 Bb	100 Aa	100 Aa	100 Aa	88,9 Aa
1000 a 1500	100 Aa	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb

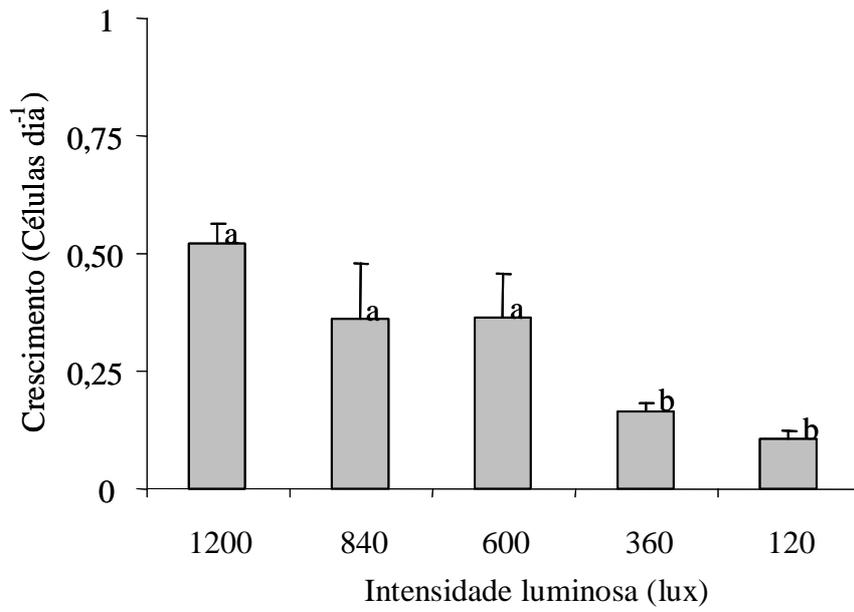


Figura 5. Taxa de crescimento (células dia⁻¹) de protonemas de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes intensidades luminosas, sob fotoperíodo de 12h.

Qualidade de luz

Os esporos de *T. incurva* germinaram sob luz branca, vermelha, vermelho-extremo e azul. No entanto, a morfogênese protonemática foi modulada diferentemente entre os diferentes tratamentos utilizados.

Os protonemas submetidos a diferentes qualidades de luz diferiram em número de células ao longo dos 90 dias de cultivo (Figura 6 e Tabela 5). Durante todo o cultivo, os protonemas crescidos sob luz branca apresentaram maior número de células quando comparados aos protonemas mantidos sob os demais tratamentos (Tabela 5, $p < 0,05$). A luz vermelho-extremo e azul reduziram o crescimento protonemático, mas não impediram a formação de estruturas como botões gametofíticos e, mesmo, gametóforos.

Por outro lado, a taxa de crescimento dos protonemas cultivados sob luz vermelha foi significativamente maior que sob os demais tratamentos e a luz vermelho-extremo proporcionou as menores taxas de crescimento protonemático (Figura 7, $F = 81.69$, $p < 0,0001$).

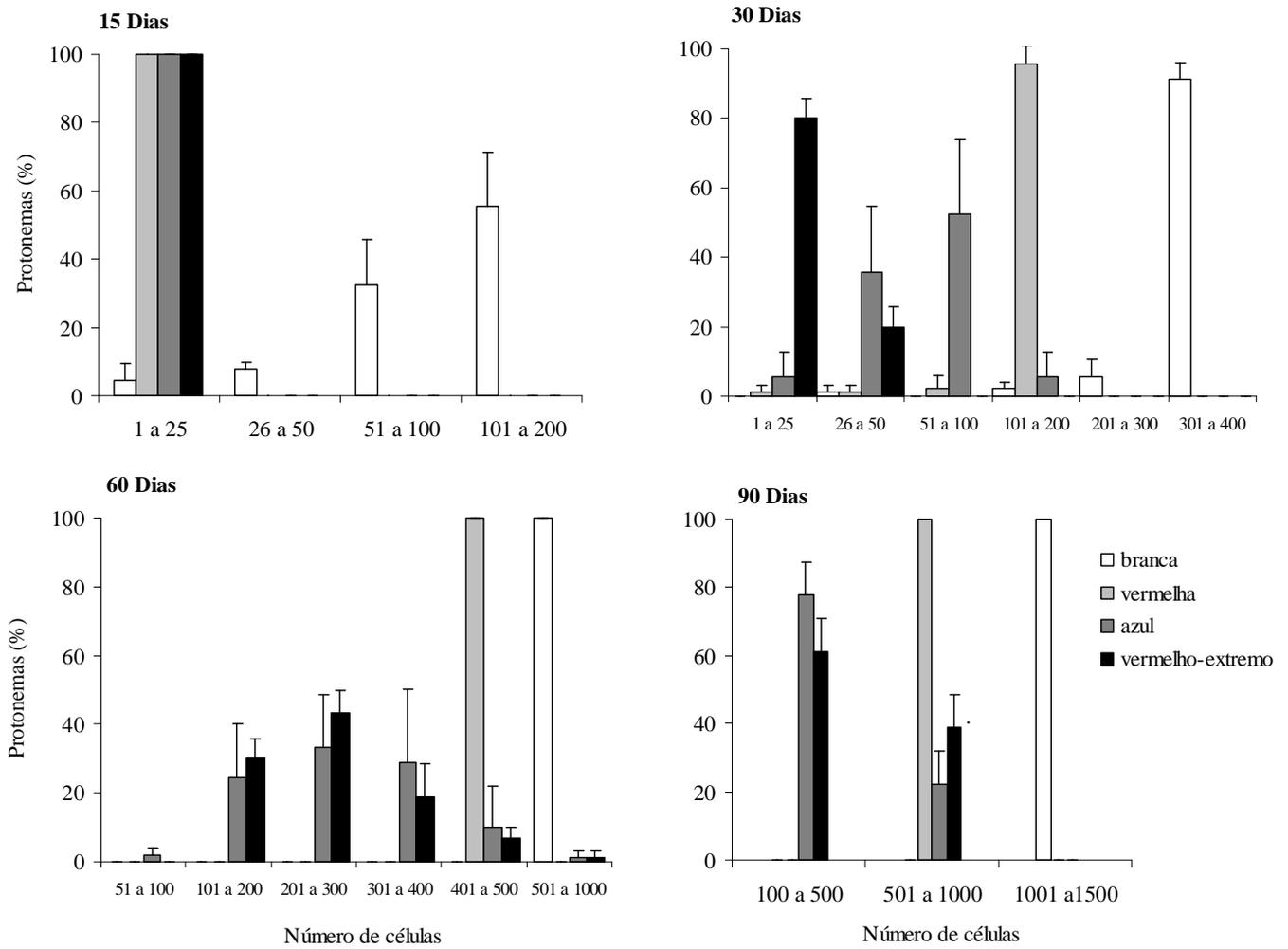


Figura 6. Protonemas (%) de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes qualidades de luz, sob fotoperíodo de 12h.

Tabela 5. Protonemas (%) de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes qualidades de luz, sob fotoperíodo de 12h. Diferenças estatísticas são evidenciadas com letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas.

Número de células	Protonemas (%) sob diferentes qualidades de luz			
	Branca	Vermelha	Vermelho-extremo	Azul
<i>15 dias</i>				
1 a 25	4,4 Bb	100 Aa	100 Aa	100 Aa
26 a 50	7,8 Ba	0 Bb	0 Bb	0 Bb
51 a 100	32,2 Aba	0 Bb	0 Bb	0 Bb
101 a 200	55,6 Aa	0 Bb	0 Bb	0 Bb
<i>30 dias</i>				
1 a 25	0 Bb	1,1 Bb	80 Aa	5,6 BCb
26 a 50	1,1 Bb	1,1 Bb	20 Bab	35,6Aba
51 a 100	0 Bb	2,2 Bb	0 Cb	52,2 Aa
101 a 200	2,2 Bb	95,6 Aa	0 Cb	5,6 BCb
201 a 300	5,6 Ba	0 Ba	0 Ca	0 Ca
301 a 400	91,1 Aa	0 Bb	0 Cb	0 Cb
<i>60 dias</i>				
51 a 100	0 Bb	0 Bb	0 Db	2,2 Ca
101 a 200	0 Bb	0 Bb	30 Aba	24,4 Aba
201 a 300	0 Bb	0 Bb	43,3 Aa	33,3 Aa
301 a 400	0 Bb	0 Bb	18,9 BCa	28,9 Aba
401 a 500	0 Bb	100 Aa	6,7 CDb	10 BCb
501 a 1000	100 Aa	0 Bb	1,1 Db	1,1 Cb
<i>90 dias</i>				
101 a 500	0 Bb	0 Bb	0 Aa	77,8Aa
501 a 1000	0 Bc	100 Aa	61,1 Bb	22,2Bb
1000 a 1500	100 Aa	0 Bb	38,9 Cb	0Cb

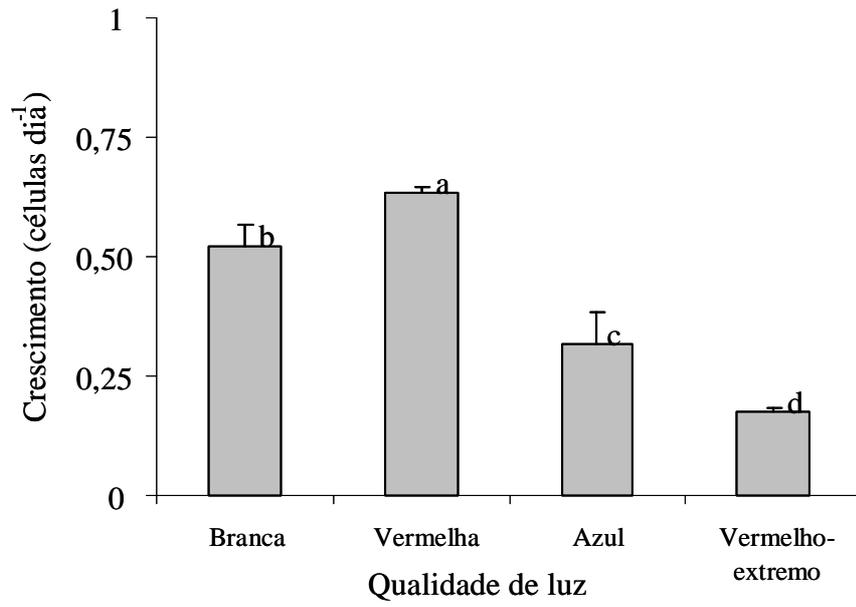


Figura 7. Taxa de crescimento (células dia⁻¹) de protonemas de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes qualidades de luz, sob fotoperíodo de 12h.

Disponibilidade hídrica

A germinação dos esporos de *T. incurva* não foi verificada sob os potenciais hídricos de -0,2 a -1,0 MPa. No entanto, os esporos dessa espécie germinaram quando submetidos aos potenciais entre 0,0 e -0,1 MPa. A morfogênese foi inibida sob os potenciais hídricos de -0,06 a -0,1 MPa, sem formação de botões gametofíticos e ausência de cloronemas secundários sob -0,08 e -0,1 MPa.

Ao longo dos 90 dias de cultivo foram detectadas diferenças no número de células protonemáticas (Figura 8 e Tabela 6, $p < 0,05$). Protonemas cultivados sob 0,0 MPa apresentaram os maiores números de células em todos os dias de avaliação, seguidos dos tratamentos -0,02, -0,06 e -0,04 MPa (Tabela 8, $p < 0,05$). As maiores taxas de crescimento protonemático foram verificadas sob os potenciais de 0,0 a -0,06 MPa, com alta redução do crescimento protonemático a partir do potencial de -0,08 MPa. Apesar da taxa de crescimento protonemático mostrar-se aparentemente inferior sob o potencial de -0,04 MPa, estatisticamente não diferiu dos potenciais de -0,02 e -0,06 MPa. Além disso, a semelhança estatística entre as taxas de crescimento sob -0,04 e -0,08 MPa refletem a amplitude de resposta dos protonemas sob os potenciais hídricos intermediários (Figura 9, $F = 9,45$, $p < 0,001$).

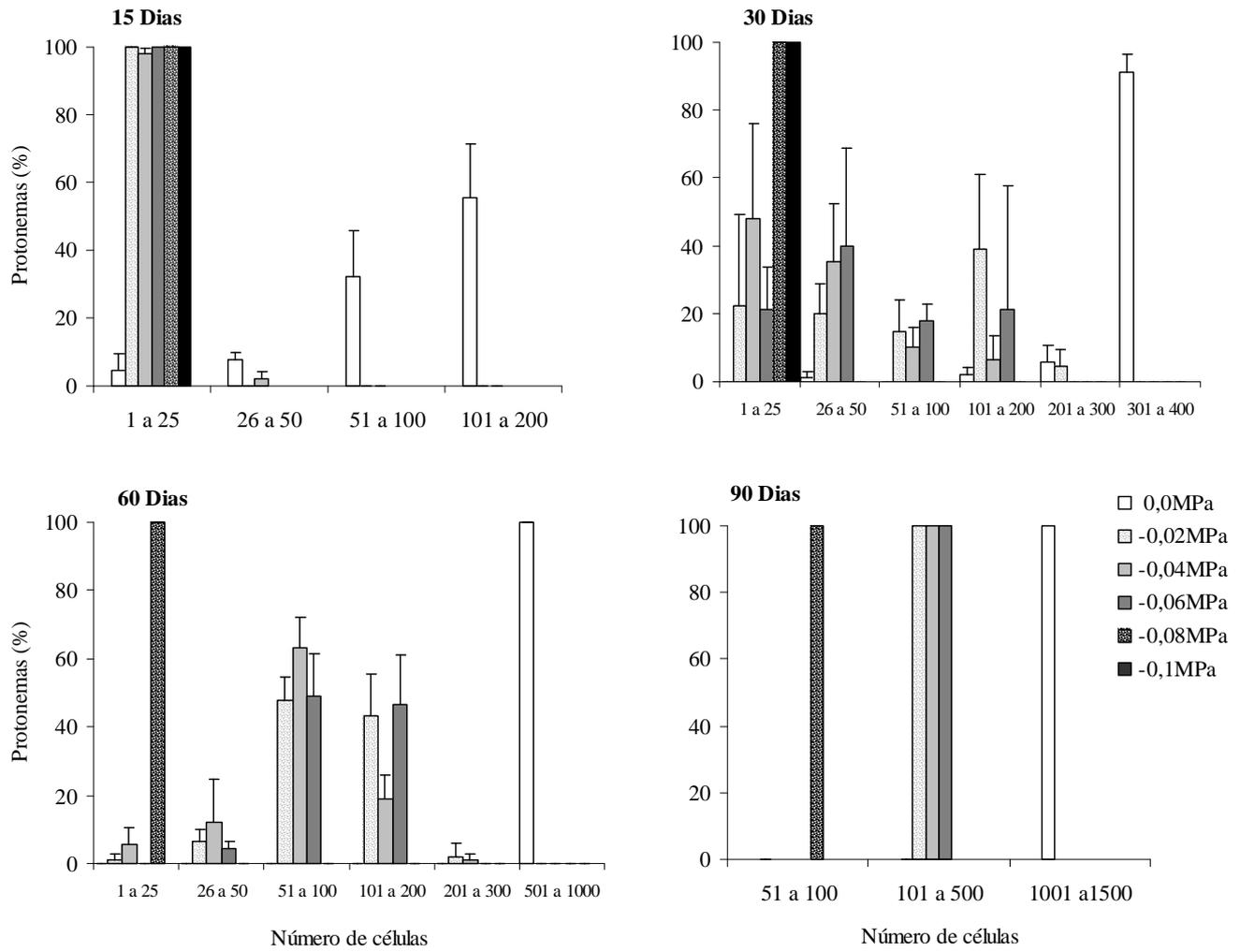


Figura 8. Protonemas (%) de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes potenciais hídricos, sob fotoperíodo de 12h.

Tabela 6. Protonemas (%) de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes potenciais hídricos, sob fotoperíodo de 12h. Diferenças estatísticas são evidenciadas com letras maiúsculas nas colunas e letras minúsculas nas linhas.

Número de células	Protonemas (%) sob diferentes intensidades de luz					
	0,0 MPa	-0,02 MPa	-0,04 MPa	-0,06 MPa	-0,08 MPa	-0,1 MPa
<i>15 dias</i>						
1 a 25	4,4 Bb	100 Aa	97,8 Aa	100 Aa	100 Aa	100 Aa
26 a 50	7,8 Ba	0 Bb	2,2 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb
51 a 100	32,2 Aba	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb
101 a 200	55,6 Aa	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb
<i>30 dias</i>						
1 a 25	0 Bc	22,2 Abc	47,8 Ab	21,1 Abc	100 Aa	100 Aa
26 a 50	1,1 Bb	20,0 Aab	35,6 ABab	40,0 Aa	0 Bb	0 Bb
51 a 100	0 Bb	14,4 Aa	10,0 ABa	17,8 Aa	0 Bb	0 Bb
101 a 200	2,2 Ba	38,9 Aa	6,7 Ba	21,1 Aa	0 Ba	0 Ba
201 a 300	5,6 Ba	4,4 Aa	0 Ba	0 Aa	0 Ba	0 Ba
301 a 400	91,1 Aa	0 Ab	0 Bb	0 Ab	0 Bb	0 Bb
<i>60 dias</i>						
1 a 25	0 Bb	1,1 Bb	5,6 Bb	0 Bb	100 A	0 Ab
26 a 50	0 Ba	6,7 Ba	12,2 Ba	4,4 Ba	0 Ba	0 Aa
51 a 100	0 Bb	47,8 Aa	63,3 Aa	48,9 Aa	0 Bb	0 Ab
101 a 200	0 Bc	43,3 Aa	18,9 Bb	46,7 Aa	0 Bc	0 Ac
201 a 300	0 Ba	2,2 Ba	1,1 Ba	0 Ba	0 Ba	0 Aa
501 a 1000	100 Aa	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Ab
<i>90 dias</i>						
51 a 100	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb	100 Aa	0 Bb
101 a 500	0 Bb	100 Aa	100 Aa	100 Aa	0 Bb	0 Bb
1000 a 1500	100 Aa	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb	0 Bb

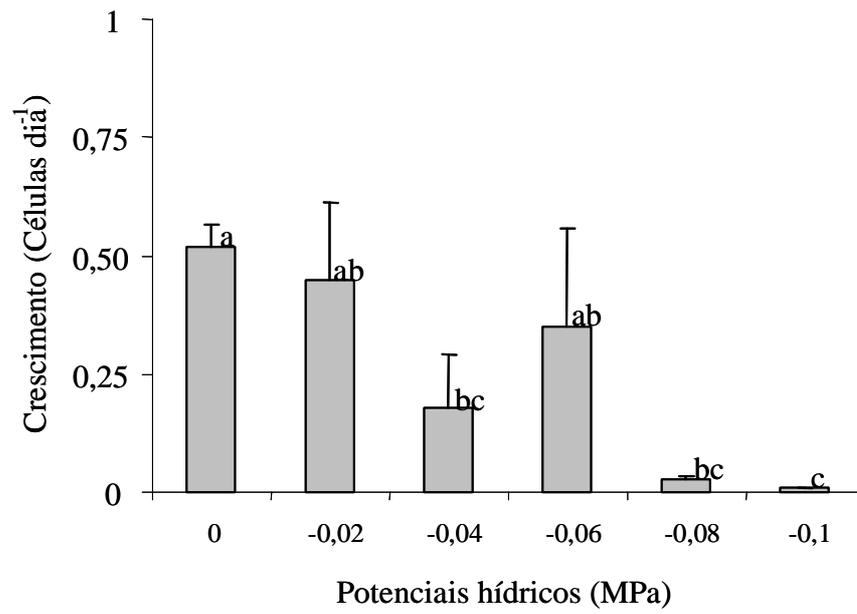


Figura 9. Taxa de crescimento (células dia⁻¹) de protonemas de *Thamniopsis incurva* cultivados sob diferentes potenciais hídricos, sob fotoperíodo de 12h.

Discussão

Thamniopsis incurva está presente em ambientes méxicos como floresta pluvial tropical, onde as populações encontram-se geralmente sobre rochas associadas a cursos de água. A estratégia reprodutiva concentrou-se em uma larga produção de esporos ao longo de grande parte do ano, com redução do número de esporófitos maduros entre os meses de dezembro a março. Sendo assim, ao longo de um ano, foi possível observar grande número de gametófitos férteis com cápsulas imaturas, maduras e operculadas ou já abertas. A ausência de reservas sob a forma de corpúsculos lipídicos e a natureza clorofilada dos esporos de *T. incurva* podem ser relacionadas com o rápido metabolismo e germinação verificados entre seus esporos. Essa estratégia pode indicar que, na natureza, os esporos de *T. incurva* germinam rapidamente após serem dispersos e submetidos a condições ideais para a germinação.

A análise da viabilidade dos esporos de *T. incurva* em laboratório comprovou que a germinabilidade decresce rapidamente dentro dos primeiros 30 dias depois da retirada dos esporos da cápsula e manutenção sob as mesmas condições favoráveis à germinação. Egunyomi (1978) verificou que os esporos de *Octoblepharum albidum*, um musgo com características xerofíticas, presente no Brasil desde bordas de florestas à caatinga, permaneceram viáveis por oito meses sob temperatura e umidade ambiente. Segundo Schofield (1985), é possível que esporos de espécies de ambientes méxicos tenham períodos mais breves de viabilidade que aqueles de ambientes xéricos. Sobre o assunto, During (2001) comenta que ainda há poucas evidências acerca da longevidade dos esporos de briófitas, mas certamente a viabilidade dos diásporos está diretamente associada ao material de reserva que possuem. Duckett e Renzaglia (1993) verificaram que esporos e propágulos assexuados de briófitas contêm proteínas e lipídios como substâncias de reserva, enquanto diásporos de curta longevidade usualmente apresentam amido.

Em briófitas e outros criptógamos, a viabilidade dos esporos também deve estar ligada à resistência contra seca, frio extremo e radiação ultravioleta, experimentados durante a dispersão a longas distâncias. Zanten e Pócs (1981) e Zanten e Gradstein (1988), em experimentos de viabilidade de esporos, obtiveram forte correlação entre a tolerância de esporos e a amplitude da distribuição das espécies. Esporos de espécies endêmicas à Nova Zelândia mostraram-se menos tolerantes aos tratamentos experimentais que esporos de espécies com ampla distribuição mundial. A baixa tolerância dos esporos de *T. incurva* à dessecação prolongada em laboratório pode ratificar a amplitude de distribuição desse musgo nas florestas neotropicais. Provavelmente, características apresentadas pelos esporos de *T. incurva*, como natureza clorofilada, alto conteúdo hídrico e espessura delicada do exósporo, que resultam em rápida dessecação após liberação da cápsula e

conseqüente redução do período de viabilidade, limitem a dispersão dos esporos dessa espécie entre fragmentos florestais muito distantes entre si.

Glime (2006) discute a relação entre o tamanho dos esporos e a produção por cápsula. Em *T. incurva*, os esporos são pequenos (<15 µm) e encontram-se em elevado número, com estimativas acima de 10.000 esporos por cápsula. Produzir esporos pequenos significa maior investimento em número por cápsula e aumento da probabilidade de dispersão a longas distâncias; todavia, nestes casos, a viabilidade tende a ser reduzida, visto que há diminuição de reservas (Glime 2006). Por outro lado, parece existir uma relação entre o tamanho do esporo e propágulos assexuados em briófitas. Segundo Longton e Schuster (1983), espécies com esporos menores, e conseqüentemente menos reserva, também investiriam em propágulos assexuados. Em *T. incurva*, ainda que não haja registros de propágulos assexuados especializados na literatura clássica (Buck 1998), a formação de gemas protonemáticas a partir do cultivo *in vitro* de esporos foi recentemente verificada por Silva et al. (2006).

A ocorrência da germinação dos esporos de *T. incurva* sob escuro contínuo, ainda que em pequeno número, pode ser bastante relevante como um caráter adaptativo da espécie. Em campo, é possível que os esporos apresentem a capacidade de ser dispersos e germinar rapidamente, ainda que quando sombreados ou mesmo soterrados por uma pequena camada de solo ou serrapilheira da floresta, ou seja, locais onde indivíduos adultos não são facilmente encontrados. Assim, pequenas variações das condições microclimáticas, que favoreçam o desenvolvimento protonemático, tendem a favorecer o crescimento de protonemas que já iniciaram seu processo germinativo à frente de outros esporos que não germinaram sob essas condições. É provável que essas variações microclimáticas relacionadas à luz, proporcionem o surgimento de populações em diferentes estádios de desenvolvimento, o que pode favorecer alguns indivíduos durante os processos de competição, estabelecimento dos gametófitos e constituição da nova colônia.

A intensidade luminosa influencia diretamente o estabelecimento e a manutenção do ciclo das briófitas. De acordo com a alteração da intensidade da luz, o aparato fotossintético desses vegetais é adaptado com a presença de pigmentos de fotoproteção e acessórios, que auxiliam em condições de excesso ou restrição de luz, respectivamente. Assim como observado em esporos de *T. incurva*, Egunyomi (1978) constatou que esporos de *Octoblepharum albidum* germinaram e produziram protonemas sob todas as intensidades luminosas utilizadas, com 100% sob 1375 lux e 5,1% sob 1 lux. Todavia, o autor também constatou que sob 1375 lux os protonemas se apresentaram deteriorados ao final do experimento, o que indica efeito deletério da irradiação forte.

Uma série de respostas a diferentes intensidades luminosas tem sido verificada entre os esporos de briófitas cultivados *in vitro*. A germinação de esporos e formação de protonemas de *Fontinalis squamosa*, um musgo aquático, foi promovida tanto sob 3°C e 49 lux quanto sob 20°C e

3000 lux (Glime e Knoop 1986), indicando extensa amplitude térmica e luminosa, o que favoreceu a sobrevivência da espécie ao longo do ano. Em *Riccia gangetica*, uma hepática terrestre, o crescimento do talo foi favorecido significativamente sob 5000 lux, enquanto que abaixo de 500 lux houve diminuição da capacidade de regeneração, comprimento e espessura do talo e massa seca (Patidar e Kaul 1983). Em *Microdus brasiliensis* e *Campylopus richardii* o crescimento e a ramificação do protonema aumentaram com a intensidade luminosa até 4500 lux, mas em *Hymenostylium recurvirostre* o crescimento do protonema foi máximo sob 3500 lux. Sob 150 lux o protonema dessas três espécies de musgo tornou-se verde pálido e esparsamente ramificado. É fato que existe uma faixa ótima de germinação dos esporos e crescimento de briófitas, que varia em função do hábito da espécie estudada. Em *T. incurva*, a germinação de esporos e o desenvolvimento protonemático sob intensidades de 120 a 1200 lux sugere que, no campo, a espécie pode colonizar desde ambientes com alta incidência solar (por exemplo, clareiras de floresta) até ambientes com densa cobertura por vários estratos arbóreos e arbustivos. Isso significa que o estabelecimento de novos indivíduos e multiplicação das populações não é limitado pela intensidade luminosa até um limite de aproximadamente 10% de passagem da luz.

Chopra e Kumra (1988) discutem que as respostas morfogenéticas em espécies de briófitas variam marcadamente, havendo dois sistemas de resposta: (1) sistema fitocromo, com resposta de fotorreversão entre a luz vermelha e o vermelho-extremo e presente na maioria das espécies de briófitas e (2) sistema pigmento azul - vermelho-extremo, onde a reversão não está envolvida e é conhecido apenas na hepática *Sphaerocarpus donellii*. A promoção do crescimento protonemático mediada pela luz branca e vermelha em *T. incurva* concorda com os resultados observados em *Funaria hygrometrica*, *Ceratodon purpureus*, *Dicranum scoparium* (Krupa 1964, Valanne 1966), *Physcomitrella patens* (Hartman e Weber 1990), *Polytrichum commune* (Hahn e Miller 1966), *Marchantia polymorpha* (Nakasato et al. 1999). Já em protonemas de *Pohlia nutans*, a luz azul promoveu maior crescimento protonemático quando comparada à luz vermelha, e quando as duas faixas do espectro foram combinadas verificou-se maior crescimento (Mitra et al. 1965).

Apesar da luz vermelho-extremo e azul terem reduzido o crescimento protonemático em *T. incurva*, não impediram a formação de estruturas como botões gametofíticos e gametóforos. Sobre o assunto, Hartman e Weber (1990) defendem a idéia de que protonemas submetidos à luz azul sofrem inibição da formação de botões gametofíticos em consequência do acúmulo de uma provável substância inibidora. Esse fato foi constatado em protonemas de *F. hygrometrica* e *P. nutans*, cuja formação de botões gametofíticos foi observada sob luz vermelha (Chopra e Kumra 1988). O efeito inibidor da luz azul pode ser revertido pela renovação do substrato (Hartman e Weber 1990), pela adição de citocininas ou luz vermelha (Mitra et al. 1965). Da mesma forma, um

balanço de luz azul e vermelha pode promover o desenvolvimento de botões em gametóforos (Mitra et al. 1965).

Possivelmente *T. incurva* possua mecanismos de resposta a sinais luminosos em faixas do espectro como o azul e vermelho-extremo. Isso pode ser relevante para a colonização de ambientes de florestas tropicais densas. Ao mesmo tempo, pode-se pensar que em *T. incurva* existam dois mecanismos de resposta a estímulos luminosos, um amplamente distribuído entre a maioria das briófitas, ligado à recepção via sistema fitocromo (vermelho – vermelho-extremo) e outro menos abundante (ou pouco estudado), ligado à recepção por um pigmento receptor da luz azul (azul – vermelho-extremo). Estudos futuros, que atentem para a detecção do estímulo luminoso e isolamento do pigmento fotorreceptor, serão importantes para a elucidação de sua ação. Além disso, é interessante avaliar o efeito da luz azul em conjunto com o emprego de diferentes intensidades luminosas sob o crescimento de *T. incurva*, uma vez que em laboratório os fatores abióticos tendem a ser analisados isoladamente, o que difere da natureza, onde há um sinergismo de fatores atuando sobre as espécies.

O emprego do ágar 0,4%, em laboratório, constituiu um meio propício para os experimentos de longa duração aos quais foram submetidos os protonemas de *T. incurva*. A alta porcentagem e velocidade média de germinação registradas entre os esporos de *T. incurva*, tanto em meio líquido como em meio solidificado com ágar 0,4%, demonstram que a solidificação do meio e, conseqüentemente, redução da disponibilidade hídrica, nesse caso, não interferiu nos processos de germinação e crescimento protonemático. É importante enfatizar que a utilização dos meios nutritivos líquido ou solidificado com ágar 0,4% nos diferentes experimentos não produziu quaisquer diferenças em porcentagem ou velocidade de germinação, bem como durante o crescimento dos protonemas. O uso de ágar interferindo na germinação e no desenvolvimento protonemático, no entanto, foi observado em *Phaeoceros bulbiculosus* e *Microdus brasiliensis*, respectivamente (Mehta 1988, Herguida e Ron 1989). Neste último caso, houve inibição do crescimento dos protonemas à medida que se diminuiu a hidratação do meio (por adição de ágar), com comprimento de 1,71mm em meio líquido, 1,52mm em 0,4%, 1,42mm em 0,8% e 1,40mm em 1,6% de ágar.

A forte influência da disponibilidade hídrica a partir dos potenciais inferiores a -0,04 MPa sobre a germinação de esporos e o crescimento protonemático de *T. incurva* reflete a preferência da espécie em colonizar habitats onde a disponibilidade hídrica é elevada, como solo e rochas em consórcio com cursos de água próximos ou no interior de florestas. Outras respostas fisiológicas de esporos e protonemas em relação à disponibilidade hídrica foram observadas em alguns musgos. *Octoblepharum albidum*, espécie corticícola presente em vários ecossistemas, como floresta pluvial tropical de terras baixas e em savanas, apresentou esporos viáveis e que germinaram sob potenciais

hídricos de até -1,46 MPa (Silva et al. dados não publicados). Essa mesma espécie apresentou crescimento protonemático atrasado à medida que os potenciais hídricos do meio foram reduzidos, mas não houve deformação de células nem aparente mudança na coloração devido à redução de plastídeos (Silva et al. dados não publicados). Os musgos *Neckera pennata* (epífita) e *Buxbaumia viridis* (epíxila), comuns a florestas decíduas da Suécia, apresentam hábitos distintos. Enquanto esporos de *Neckera* demonstraram maior tolerância a baixos potenciais hídricos, como -2 MPa, esporos de *Buxbaumia* germinaram até -1,5 MPa. O crescimento protonemático, da mesma forma que a germinação, foi igualmente influenciado pelos potenciais hídricos aos quais foram submetidos os esporos de *Neckera* e *Buxbaumia* (Wiklund e Rydin 2004). Em *T. incurva* a tolerância a baixos potenciais hídricos é relativamente reduzida quando comparada à tolerância verificada nas duas espécies de musgos citadas acima.

Os dados observados nesse estudo indicam que, pelo menos para as populações de *Thamniopsis incurva* analisadas, a história de vida concentra-se em um hábito perene, com alto esforço reprodutivo sexuado ao longo de todo o ano, elevada produção de esporos, tamanho reduzido do esporo e desconhecimento de propágulos assexuados especializados (Buck 1998). A alta limitação da germinação dos esporos e do crescimento protonemático de *T. incurva* pela redução da disponibilidade hídrica estão relacionados às características dos esporos e ao ótimo fisiológico para estabelecimento da espécie. A redução da viabilidade dos esporos associada à intolerância desses diásporos a potenciais hídricos inferiores a -1,0 MPa devem limitar não apenas a dispersão dos esporos entre remanescentes de floresta muito afastados, mas principalmente o estabelecimento de novos indivíduos em outras áreas de floresta. Se por um lado, a baixa tolerância da espécie ao estresse hídrico demonstra maior suscetibilidade a habitats com menor disponibilidade hídrica, a plasticidade nas respostas dos esporos, protonemas e gametóforos juvenis, sob diferentes intensidades e qualidades de luz, indica uma amplitude maior de habitats que podem ser ocupados pela espécie. As estratégias utilizadas pela espécie envolvem custos e benefícios, assim como alocação dos recursos em uma reprodução sexuada contínua, com muitos esporos, escassez em reservas energéticas, baixa viabilidade, germinação rápida e morfogênese indiferente às condições luminosas. Essas características devem ser mais vantajosas para a manutenção das populações já existentes e estabelecimento de novas populações em curto prazo nos fragmentos florestais circunvizinhos, com microhabitats onde não haja restrição hídrica à germinação e ao estabelecimento dos gametófitos.

Agradecimentos

À doutoranda Flávia Carolina Lins e Silva, pelo auxílio durante as coletas das espécies; à mestranda Juliana Rosa P. M. Oliveira e à Dra Olga Yano, pela identificação da espécie. Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

- Buck WR (1998) Pleurocarpous mosses of The West Indies. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 82: 1-400.
- Chopra RN, Kumra PK (1988) *Biology of Bryophytes*. Wiley Eastern Limited, New Delhi.
- Duckett JG, Burch J, Fletcher PW, Matcham HW, Read DJ, Russell A, Pressel S (2004) *In vitro* cultivation of bryophytes: a review of practicalities, problems, progress and promise. *Journal of Bryology* 26: 3-20.
- Duckett JG, Renzaglia KS (1993) The reproductive biology of the liverwort *Blasia pusilla* L. *Journal of Bryology* 17: 541-552.
- During HJ (2001) New frontiers in Bryology and Lichenology: Diaspore banks. *The Bryologist* 104: 92-97.
- Egunyomi A (1978) Comparative cultura studies on the spores and gemmae of *Octoblepharum albidum* Hedw. *Journal of Hattori Botanical Laboratory* 44: 25-30.
- Frahm JP (2003) Manual of tropical bryology. *Tropical Bryology* 23: 1-196.
- Glime JM (2006) Chapter 3 – Sexual strategies. In: *Bryophyte Ecology*. <http://www.bryoecol.mtu.edu>. Acesso em 20 de Out de 2006.
- Glime JM, Knoop BC (1986) Spore germination and protonemal development of *Fontinalis squamosa*. *Journal of Hattori Botanical Laboratory* 61: 487-497.
- Hahn LW, Miller JH (1966) Light dependence of chloroplast replication and starch metabolism in the moss *Polytrichum commune*. *Physiologia Plantarum* 19: 134-141.
- Hartman E, Weber M (1990) Photomodulation of protonema development. In: Chopra RN, Bhatla SC (eds) *Bryophyte development: Physiology and Biochemistry*. CRC. Press, Flórida, pp. 33-54.
- Herguida P, Ron E (1989) Sobre la germinación de la espora em *Phaeoceros bulbiculosus* (Brothero) Prosk. *Cryptogamie Bryologie Lichénologie* 10: 353-359.
- Krupa J (1964) Studies on the physiology of germination of spores of *Funaria hygrometrica* (Sibth). *Acta Societatis Botanicorum Polaniae* 33: 179-192.

- Kürshner H (2004) Life strategies and adaptations in bryophytes from the Near and Middle East. *Turkish Journal of Botany* 28: 73-84.
- Laborouriau LG (1983) A germinação das sementes. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington.
- Longton RE, Schuster RM (1983) Reproductive Biology. In: Schuster RM (ed) *New Manual of Bryology*. vol 1. The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, pp. 386-462.
- Mehta P (1988) *In vitro* studies on spores germination, protonemal differentiation and bud formation in three mosses grown in vitro. *Journal Hattori Botanical Laboratory* 64: 401-410.
- Mitra GC, Misra LP, Prabha C (1965) Interaction of red and blue light on the development of the protonema and bud formation in *Pohlia nutans*. *Planta* 65: 42-48.
- Nakazato T, Kadota A, Wada M (1999) Photoinduction of spore germination in *Marchantia polymorpha* L. is mediated by photosynthesis. *Plant and Cell Physiology* 40: 1014-1020.
- Nehira K (1983) Spore germination, protonema development and sporeling development. In: SHUSTER RM (ed) *New Manual of Bryology*, vol 1. The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, pp. 343-379.
- Nehira K (1988) Germination and protonema. In: Glime JM (ed) *Methods in Bryology*. Hattori Botanical Laboratory, Nichinan, pp. 113-117.
- Nishida Y (1978) Studies on the sporeling types in mosses. *Journal of Hattori Botanical Laboratory* 44: 371-454.
- Patidar KC, Kaul A (1983) Cultures studies on *Riccia gangetica* Ahmad. II. – Influence of light on growth. *Cryptogamie Bryologie and Lichénologie* 4: 363-368.
- Peralta DF (2005) Musgos (Bryophyta) do Parque Estadual da Ilha Anchieta (PEIA), São Paulo, Brasil. Dissertação, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo.
- Proctor MCP (2000) Physiological ecology. In: Shaw AJ, Goffinet B (eds) *Bryophytes Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 225-247.
- RPPN Frei Caneca (2006) Reserva Particular do Patrimônio Natural Frei Caneca. <http://www.rppnfreicaneca.org.br>. Acesso em 02 de Nov de 2006.
- Schofield WB (1985) *Introduction to Bryology*. Macmillan Publishing Company, New York.
- Silva ASM, Simabukuro EA, Pôrto KC (2006) Morfogênese protonemática de briófitas ocorrentes em Remanescentes de Floresta Atlântica do estado de Pernambuco, Brasil. *Boletim do Instituto de Botânica* 18: 213-227.
- Valanne N (1966) The germination phases of moss spores and their control by light. *Annales Botanici Fennici* 3: 1-60.
- Vaz TF (2005) A família Pilotrichaceae no estado do Rio de Janeiro. Dissertação, Museu Nacional do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

- Villela FA, Doni Filho L, Siqueira EL (1991) Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6.000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26: 1957-1968.
- Wiklund K, Rydin H (2004) Ecophysiological constraints on spore establishment in bryophytes. *Functional Ecology* 18: 907-913.
- Zanten BO, Gradstein SR (1988) Experimental dispersal geography of neotropical liverworts. *Beihefte zur Nova Hedwigia* 90: 41-94.
- Zanten BO, Pócs T (1981) Distribution and dispersal of bryophytes. *Advances in Bryology* 1: 479

ADAÍSES SIMONE MACIEL DA SILVA, Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária 50.670-901 Recife-PE. E-mail: adaisismaciel@hotmail.com.

KÁTIA CAVALCANTI PÔRTO, Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária 50.670-901 Recife-PE. E-mail: kporto@ufpe.br.

ELIANA AKIE SIMABUKURO, Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária 50.670-901 Recife-PE. E-mail: esimabuk@hotmail.com.

CONCLUSÕES

- A morfogênese protonemática de espécies de briófitas se mostrou uma interessante ferramenta para elucidar características e estratégias envolvidas nos primeiros estádios do ciclo de vida e fundamentais para o estabelecimento de novos gametófitos.
- Grupos distintos de briófitas, como hepáticas e musgos, podem apresentar estratégias ecológicas similares, referentes à germinação dos esporos e ao desenvolvimento protonemático, quando presentes em um mesmo hábitat. Espécies de musgos e de hepáticas comuns a habitats com baixa disponibilidade hídrica, por exemplo, apresentaram germinação e morfogênese rápida, tendência a células menores e acelerada diferenciação em gametófitos juvenis a partir dos protonemas.
- As estratégias ecofisiológicas de *Thamniopsis incurva* (Hornsh.) W.R. Buck, referentes à germinação dos esporos e crescimento inicial, demonstraram a limitação do estabelecimento da espécie a partir de microhabitats sob baixa disponibilidade hídrica, mas não por diferentes qualidades e intensidades de luz.

RESUMO

A ecologia e a ecofisiologia de briófitas ainda são pouco conhecidas quando comparadas com as de espermatófitas. No Neotrópico essa lacuna é ainda maior e mais preocupante. É importante entender as relações desses vegetais, como a ciclagem de nutrientes, retenção hídrica, interações com fungos, invertebrados e outras plantas. Desta forma, o presente estudo investigou alguns aspectos da ecofisiologia das briófitas na Floresta Atlântica do Nordeste brasileiro. Foram avaliadas a morfogênese protonemática e as estratégias reprodutivas de seis espécies de musgos e duas espécies de hepáticas, e foram estudados a germinação de esporos e o crescimento inicial do musgo *Thamniopsis incurva* sob diferentes condições de luz e disponibilidade hídrica. Cápsulas maduras foram desinfestadas e os esporos distribuídos em meio Knop (líquido e solidificado com ágar 0,4%). Dois padrões gerais foram identificados para musgos/hepáticas: germinação exospórica/endospórica, protonema filamentosso/ uniestratificado ou globoso e formação do gametófito folhoso lenta/rápida. Em geral, as espécies apresentaram estratégias que provavelmente auxiliam a colonização em campo. Nos musgos, verificou-se rápida ramificação do protonema e larga produção de gametóforos e gemas protonemáticas, enquanto em hepáticas constatou-se rápida germinação e curta duração do protonema, produzindo diretamente o gametófito jovem. Os esporos de *Thamniopsis incurva* perderam rapidamente a viabilidade (aprox. 30 dias). A germinação foi observada sob fotoperíodo de 12 h e escuro contínuo. Diferentes intensidades e qualidades de luz não inibiram o crescimento protonemático e a formação de botões gametofíticos, o que indica uma alta capacidade para colonizar diversos micro-habitats. Por outro lado, a germinação dos esporos, o crescimento protonemático e o estabelecimento de gametófitos foram reduzidos sob potenciais a partir de $-0,06$ MPa. A partir dos dados ecofisiológicos da espécie é sugerido que estratégias para manutenção e estabelecimento envolvam germinação e crescimento protonemático rápidos, desde que restritos a micro-habitats submetidos à alta umidade.

ABSTRACT

The bryophyte ecology and physiology are still little known when compared with the spermatophytes. In the Neotropic this gap is bigger and more preoccupying. It is important to understand the bryophyte relations like the nutrient cycling, water retention, interactions with fungi, invertebrates and others plants. In this way, the present study investigated some aspects of the bryophyte ecophysiology in Northeast Atlantic Forest of Brazil. The protonema morphogenesis and the reproductive strategies of six mosses and two liverworts had been evaluated and it was studied the spore germination and initial growth of the moss *Thamniopsis incurva* under different light and water availability. Mature capsules had been esterilized and spores distributed in Knop media (liquid and solidified by 0.4% agar). Two general patterns were identified for mosses/liverworts: exosporous/endosporous germination, filamentous/ unistratose or globose protonemal and slow/quick formation of the leafy gametophytes. In general, the species presented strategies that probably help in the colonization in field. In the mosses, it was verified the quick protonemal ramification and the large production of leafy gametophytes and protonemal gemmae, while in liverworts it was verified quick germination and short protonemal duration, generating directly the juvenile gametophyte. The spores of *Thamniopsis incurva* had lost the viability quickly (30 days). Germination was observed on photoperiod 12 h and continuous darkness. Different intensities and qualities of light had not inhibited the protonemata growth and the bud formation, that indicate a high amplitude of microhabitats for colonization. On the other hand, the spore germination, the protonemata growth and the gametophytes establishment was reduced on -0.06 MPa. The species ecophysiological data suggest that strategies to populations maintainance and establishment involved fast germination and protonemata growth, but restricted to microhabitats under high moisture.

ANEXOS

ANEXO 1



Vista geral das briófitas estudadas na dissertação. A. *Bryum argenteum*. B. *Octoblepharum albidum*. C. *Isopterygium tenerum*. D. *Lepidopilum muelleri*. E. *Crossomitrium patrisiae*. F. *Thamniopsis incurva*. G. *Herbertus juniperoideus*. H. *Radula recubans*.

ANEXO 2

INSTRUÇÕES AOS AUTORES - Boletim do Instituto de Botânica

O Boletim do Instituto de Botânica publica trabalhos originais, extensos, que, por seu conteúdo, correspondam ao formato de um livro, em todas as áreas da Botânica e da Micologia (anatomia, biologia celular, biologia molecular, bioquímica, ecologia, filogenia, fisiologia, genética, morfologia, palinologia, taxonomia), em português ou inglês, produzidos por técnicos do Instituto de Botânica.

O trabalho deve conter as informações estritamente necessárias para sua compreensão e estar rigorosamente dentro das normas do Boletim. Deve ser submetido em três vias impressas (original e duas cópias) para: Editor Responsável, Boletim do Instituto de Botânica, Instituto de Botânica, Caixa Postal 4005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil.

Todo trabalho submetido é analisado por, pelo menos, dois assessores e sua aceitação depende de decisão dos editores. Uma vez aceito para publicação, a versão final deve ser encaminhada em duas vias impressas e em disquete, gravado em "Rich Text Format" (.rtf). Serão fornecidos, gratuitamente, 10 exemplares do volume correspondente para o autor principal.

Preparo do original - utilizar Word for Windows versão 6.0 ou superior, fonte Times New Roman, tamanho 12, em espaço 1,5, alinhando o texto pela margem esquerda, sem justificar. Usar papel branco, tamanho A4, com margens de 2 cm de todos os lados. As páginas devem ser numeradas e notas de rodapé, evitadas. O manuscrito não deverá exceder a 400 páginas impressas, incluindo tabelas e figuras.

Primeira página - deve conter o título em negrito, com apenas as iniciais maiúsculas; nome completo dos autores, com as iniciais maiúsculas e demais minúsculas; nome da instituição; endereço completo dos autores e endereço eletrônico do autor para correspondência devem ser colocados logo abaixo dos nomes dos autores, indicados por numerais sobrescritos; título resumido. Auxílios, bolsas e números de processos correspondentes, quando for o caso, devem aparecer no item Agradecimentos.

Texto - iniciar em nova página. Os títulos de capítulos devem ser escritos em negrito, com letras na opção "caixa alta" do Word, centralizados. Nomes científicos devem ser grafados em itálico, bem como expressões latinas (p. ex. "*et al.*", "*apud*"). Em trabalhos taxonômicos, as chaves de identificação devem ser do tipo indented e as citações de obras devem ser abreviadas de acordo com o BPH. Nomes de autores de espécies devem ser abreviados de acordo com Brummit & Powell (1992)

Citação de figuras e tabelas - devem ser por extenso, numeradas em arábico e na ordem em que aparecem no texto. Em trabalhos de taxonomia, a citação de figuras dos táxons deve ser colocada na linha abaixo do nome do táxon, como no exemplo:

Cordia sellowiana Cham., *Linnaea* 4: 479. 1829.

Figuras 7-8

Citação de literatura - usar o sistema autor-data, apenas com as iniciais maiúsculas; quando no mesmo conjunto de citações, seguir ordem cronológica; quando dois autores, ligar os sobrenomes por &; quando mais de dois autores, mencionar o sobrenome do primeiro, seguido da expressão *et al.*; para trabalhos publicados no mesmo ano por um autor ou pela mesma combinação de autores, usar letras logo após o ano de publicação (p. ex.: Gomes 1944a, b, etc.); não utilizar vírgula para separar autor do ano de publicação e sim para separar diferentes citações (ex.: Dyer & Lindsay 1996, Hamilton 1988); citar referências a resultados não publicados da seguinte forma: (Capelari, dados não publicados).

Citação de material de herbário - detalhar as citações de material de herbário de acordo com o seguinte modelo: BRASIL. São Paulo: São Paulo, Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, data de coleta (ex.: 10-IX-1900), *coletor e número de coleta* (acrônimo do herbário). Número de registro no herbário deve ser citado apenas quando não houver número de coletor, de acordo com o exemplo a seguir: (SP250874).

Unidades de medida - utilizar abreviaturas sempre que possível; nas unidades compostas utilizar espaço e não barras para indicar divisão (ex.: mg dia⁻¹ ao invés de mg/dia, µg L⁻¹ ao invés de µg/L, deixando um espaço entre o número e a unidade (p. ex.: 200 g; 50 m); colocar coordenadas geográficas sem espaçamento entre os números (p. ex.: 23°46'S e 46°18'W).

Referências bibliográficas - digitar os autores em negrito, com iniciais maiúsculas e demais minúsculas; seguir ordem alfabética dos autores; para o mesmo autor ou mesma combinação de autores, seguir ordem cronológica; citar títulos de periódicos por extenso; evitar a citação de dissertações e teses; não citar resumos de congressos, monografias de cursos ou artigos no prelo. Numa das cópias do artigo o(s) autor(es) deve(m) indicar, a lápis, ao lado das referências, a(s) página(s) onde cada uma aparece citada no texto. Seguir os exemplos abaixo:

Benjamin, L. 1847. Utriculariae. *In*: C.F.P. Martius (ed.). Flora Brasiliensis. Typographia Regia, Monachii, v. 10, pp. 229-256, t. 20-22.

- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellog, E.A. & Stevens, P.F.** 1999. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Sunderland, 464 p.
- Giulietti, A.M., Pirani, J.R. & Harley, R.M.** 1997. Espinhaço Range region, eastern Brazil. *In*: S.D. Davis, V.H. Heywood, O. Herrera-MacBryde, J. Villa-Lobos & A.C. Hamilton (eds.). Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation, v. 3: The Americas. World Wide Fund for Nature & The World Conservation Union, Cambridge, pp. 397-404.
- Giannotti, E. & Leitão Filho, H.F.** 1992. Composição florística do cerrado da Estação Experimental de Itirapina (SP). *In*: R.R. Sharif (ed.). Anais do 8º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Campinas, pp. 21-25.
- Kessler, M.** 1995. Present and potential distribution of *Polylepis* (Rosaceae) forests in Bolivia. *In*: S.P. Churchill, H. Balslev, E. Forero & J.L. Luteyn (eds.). Biodiversity and conservation of Neotropical montane forests. The New York Botanical Garden, New York, pp. 281-294.
- Borba, E.L.** 2001. Biosistemática de espécies rupícolas de *Pleurothallis* (Orchidaceae) ocorrentes em campos rupestres brasileiros: aspectos reprodutivos, genéticos, fitoquímicos, morfológicos e taxonômicos. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 184 p.
- Alves-da-Silva, S. & Bicudo, C.E.M.** 2002. Contribution to the knowledge of genus *Euglena* (Euglenophyceae) of the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Hoehnea* 29: 79-91.
- Para citação de referências obtidas via internet, seguir os exemplos abaixo:*
- ASC.** 1994 [5 de maio]. Logical data model for museum collections transaction management, version 1.0. [<http://nmnhwww.si.edu/gopher-menus/LogicalDataModelforMuseumCollectionsTransactionManagement.html>].
- Berendsohn, W.G.** 1995 [25 de agosto]. IOPI world vascular checklist. A case model of checklist system data, version 6.0. *In*: K. Wilson (ed.). Global plant checklist project plan, version 7.3. [<http://www.bgbm.fu-berlin.de/IOPI/iopimodel73/7301root.htm>].
- Berendsohn, W.G.** 1999 [10 de janeiro]. Standards, information models, and data dictionaries for biological collections. [<http://www.bgbm.fu-berlin.de/TDWG/acc/Referenc.htm>].
- Tabelas** - utilizar os recursos de criação de tabela do Word for Windows, apresentando cada tabela em página separada, no final do texto; não inserir linhas verticais; usar linhas horizontais apenas para destacar o cabeçalho e para fechar a tabela. Iniciar por "Tabela" e numeração em arábico, na ordem em que aparece no texto (p. ex.: Tabela 1., Tabela 2.), seguidas por título breve e objetivo. Evitar abreviaturas (exceto para unidades) mas, se inevitável, acrescentar seu significado na legenda. Em tabelas que ocupem mais de uma página, acrescentar nas páginas seguintes, no canto superior esquerdo "Tabela 1. (cont.)", repetindo o cabeçalho, mas não o título.
- Figuras** - enviar o original das figuras acompanhado de três cópias; colocar cada figura ou conjunto de figuras em páginas separadas, identificadas no verso, a lápis, com o nome do autor e o número da figura; as legendas devem ser colocadas em seqüência, em página à parte, nunca junto às figuras. Cada figura (foto, desenho, gráfico, mapa ou esquema) deve ser numerada em arábico, na ordem em que aparece no texto; letras minúsculas podem ser usadas para subdividir figuras; a colocação do número na figura deve ser, sempre que possível, no canto inferior direito. A altura máxima para uma figura ou grupo figuras publicada é de 230 mm, incluindo a legenda, podendo ajustar-se à largura de uma (81 mm) ou de duas (172 mm) colunas ou e ser proporcional (até duas vezes) à área final da ocupação da figura (a área útil da revista é de 230 mm de altura por 172 mm de largura). Desenhos devem ser originais, feitos com tinta nanquim preta, sobre papel branco de boa qualidade ou papel vegetal; linhas e letras devem estar nítidas o suficiente para permitir redução. Fotografias e gráficos são aceitos em branco e preto; impressão de figuras coloridas é possível desde que custeada pelo(s) autor(es). A escala adotada é a métrica, devendo estar graficamente representada no lado esquerdo da figura. Utilizar fonte Times New Roman nas legendas de figuras e de gráficos. Figuras em meio eletrônico são aceitas desde que em formato Tiff (.tif) e com resolução de, pelo menos, 300 dpi, utilizando, preferencialmente, o programa CorelDraw no processamento. Tais figuras nunca devem ser coladas em Word. Figuras com baixa qualidade gráfica ou fora das proporções não serão aceitas. Os originais dos trabalhos serão mantidos pela editoria por até um ano após sua publicação, período em que poderão ser solicitadas pelo(s) autor(es), após esse prazo, serão destruídos.

Dúvidas devem ser tiradas utilizando sempre o último volume publicado.

ANEXO 3

Instructions for Authors - *Plant Ecology*

General

Plant Ecology publishes original articles, short notes and review articles in all fields of terrestrial and aquatic plant ecology. Manuscripts reporting results of descriptive, historical and experimental studies on any aspect of plant physiological, population, community, ecosystem and landscape ecology are solicited as well as manuscripts on ecological theory. Plant Ecology also publishes book reviews and notices of scientific meetings. Manuscripts must be in English.

Online Manuscript Submission

Springer now offers authors, editors and reviewers of Plant Ecology the option of using our fully web-enabled online manuscript submission and review system. To keep the review time as short as possible (no postal delays!), we encourage authors to submit manuscripts online to the journal's editorial office. Our online manuscript submission and review system offers authors the option to track the progress of the review process of manuscripts in real time. Manuscripts should be submitted to: <http://vege.edmgr.com>

The online manuscript submission and review system for Plant Ecology offers easy and straightforward log-in and submission procedures. This system supports a wide range of submission file formats: for manuscripts - Word, WordPerfect, RTF, TXT and LaTeX; for figures - TIFF, GIF, JPEG, EPS, PPT, and Postscript.

NOTE: By using the online manuscript submission and review system, it is NOT necessary to submit the manuscript also in printout + disk.

In case you encounter any difficulties while submitting your manuscript on line, please get in touch with the responsible Editorial Assistant by clicking on "CONTACT US" from the tool bar.

The name, address, telephone and fax number of the author responsible for correspondence, reprints, etc. should be sent on a separate page or in the cover letter. Names, addresses, and telephone and fax numbers of potential referees for a manuscript may also be submitted in the cover letter. Recommended referees may not have reviewed the manuscript and may not have any personal, institutional, or professional relationship with the author(s). The Editor-in-Chief is under no obligation, however, to use a recommended referee.

Manuscripts are reviewed by members of the Editorial Board, appropriate referees, and the Editor-in-Chief. The final decision to accept or reject a manuscript is made by the Editor-in-Chief. The Editorial Office will inform authors on acceptance, revision, or rejection of manuscripts. Revised manuscripts should be submitted in duplicate (and an electronic copy on disk, if possible) to the Editorial Office within 3 months or else the manuscript will be sent out again for review.

All correspondence concerning submitted manuscripts should refer to the manuscript number and should be sent to the Editorial Office. If the author handling correspondence changes address, the Editorial Office should be notified immediately.

There are no page charges. Papers accepted for publication become copyright of Springer.

Electronic figures

Electronic versions of your figures must be supplied. For vector graphics, EPS is the preferred format. For bitmapped graphics, TIFF is the preferred format. The following resolutions are optimal: line figures - 600 - 1200 dpi; photographs - 300 dpi; screen dumps - leave as is. Colour figures can be submitted in the RGB colour system. Font-related problems can be avoided by using standard fonts such as Times Roman, Courier and Helvetica.

Colour figures

Colour figures may be printed at the author's expense. Please indicate at submission which figures should be printed in colour, the number of colour pages you prefer and to which address we can send the invoice. In addition, please specify if figures are to appear together on a colour page.

Language

We appreciate any efforts that you make to ensure that the language is corrected before submission. This will greatly improve the legibility of your paper if English is not your first language.

vege.edmgr.com

Manuscript Preparation

1. Manuscripts must be typed with margins of at least 25 mm or 1 inch. All pages including tables and figures should be numbered.

2. Manuscripts should be concise and precise. The CBE Style Manual, available from the AIBS, Washington, D.C., USA, is recommended for stylistic details. Always consult a recent issue of the journal for details on format, sequence of headings and arrangement of the manuscript.

3. The Title and name(s) and address(es) of the author(s) should be placed on the first page of the manuscript. The title should be informative and brief, usually no more than 15 words. Subtitles should be avoided. If an electronic copy of the manuscript is submitted on disk, the name of the file, operating system and word processor used to prepare the manuscript should be indicated on the title page.

Key Words

Up to six Key words should be provided that are not included in the title. They should be placed in alphabetical order at the top of page 2.

Abstract

An Abstract must be included. It should be factual and not exceed 350 words. The Abstract should be placed after the Keywords on the second page of the manuscript.

Main Text

Should start on a new page. For research papers, the text should normally consist of five sections: Introduction, Methods, Results, Discussion and References. Primary headings are left justified and in bold and secondary headings are left justified and in italics. All paragraphs should be indented, except those immediately after a heading. Footnotes should be avoided. The International System of Units (SI) should be used for all measurements.

Nomenclature

The basis for the Nomenclature of taxa and syntaxa used should be indicated in the Methods section as should the latitude and longitude of the study site(s), if appropriate.

Acknowledgments and dedications

Must be placed after the Main text and before the References.

References

1. *Journal article:*

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

2. *Inclusion of issue number (optional):*

Saunders DS (1976) The biological clock of insects. *Sci Am* 234(2):114–121

3. *Journal issue with issue editor:*

Smith J (ed) (1998) Rodent genes. *Mod Genomics J* 14(6):126–233

4. *Journal issue with no issue editor:*

Mod Genomics J (1998) Rodent genes. *Mod Genomics J* 14(6):126–233

5. *Book chapter:*

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York

6. *Book, authored:*

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

7. *Book, edited:*

Smith J, Brown B (eds) (2001) *The demise of modern genomics*. Blackwell, London

8. *Chapter in a book in a series without volume titles:*

Schmidt H (1989) Testing results. In: Hutzinger O (ed) *Handbook of environmental chemistry*, vol 2E. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 111

9. *Chapter in a book in a series with volume title:*

Smith SE (1976) Neuromuscular blocking drugs in man. In: Zaimis E (ed) *Neuromuscular junction. Handbook of experimental pharmacology*, vol 42. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp593–660

10. *Proceedings as a book (in a series and subseries):*

Zowghi D et al (1996) A framework for reasoning about requirements in evolution. In: Foo N, Goebel R (eds) *PRICAI'96: topics in artificial intelligence. 4th Pacific Rim conference on artificial intelligence*, Cairns, August 1996. *Lecture notes in computer science (Lecture notes in artificial intelligence)*, vol 1114. Springer, Berlin Heidelberg New York, p 157

11. *Proceedings with an editor (without a publisher):*

Aaron M (1999) The future of genomics. In: Williams H (ed) *Proceedings of the genomic researchers*, Boston, 1999

12. *Proceedings without an editor (without a publisher):*

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *Streptomyces fradiae*. In: *Abstracts of the 3rd international symposium on the genetics of industrial microorganisms*, University of Wisconsin, Madison, 4–9 June 1978

13. *Paper presented at a conference:*

Chung S-T, Morris RL (1978) Isolation and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid from *Streptomyces fradiae*. Paper presented at the 3rd international symposium on the genetics of *industrial microorganisms*, University of Wisconsin, Madison, 4–9 June 1978

14. *Patent:*

Name and date of patent are optional

Norman LO (1998) Lightning rods. US Patent 4,379,752, 9 Sept 1998

15. Dissertation:

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

16. Institutional author (book):

International Anatomical Nomenclature Committee (1966) Nomina anatomica. Excerpta Medica, Amsterdam

17. Non-English publication cited in an English publication:

Wolf GH, Lehman P-F (1976) Atlas der Anatomie, vol 4/3, 4th edn. Fischer, Berlin. [NB: Use the language of the primary document, not that of the reference for "vol" etc.!]

18. Non-Latin alphabet publication:

The English translation is optional.

Marikhin VY, Myasnikova LP (1977) Nadmolekulyarnaya struktura polimerov (The supramolecular structure of polymers). Khimiya, Leningrad

19. Published and In press articles with or without DOI:

19.1 In press

Wilson M et al (2006) References. In: Wilson M (ed) Style manual. Springer, Berlin Heidelberg New York (in press)

19.2. Article by DOI (with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med 78:74–80. DOI 10.1007/s001090000086

19.3. Article by DOI (before issue publication with page numbers)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med (in press). DOI 10.1007/s001090000086

19.4. Article in electronic journal by DOI (no paginated version)

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. Dig J Mol Med. DOI 10.1007/s801090000086

20. Internet publication/Online document

Doe J (1999) Title of subordinate document. In: The dictionary of substances and their effects. Royal Society of Chemistry. Available via DIALOG. [http://www.rsc.org/dose/title of subordinate document](http://www.rsc.org/dose/title%20of%20subordinate%20document). Cited 15 Jan 1999

20.1. Online database

Healthwise Knowledgebase (1998) US Pharmacopeia, Rockville. <http://www.healthwise.org>. Cited 21 Sept 1998

Supplementary material/private homepage

Doe J (2000) Title of supplementary material. <http://www.privatehomepage.com>. Cited 22 Feb 2000

University site
Doe J (1999) Title of preprint. <http://www.uni-heidelberg.de/mydata.html>. Cited 25 Dec 1999

FTP site
Doe J (1999) Trivial HTTP, RFC2169. <ftp://ftp.isi.edu/in-notes/rfc2169.txt>. Cited 12 Nov 1999

Organization site
ISSN International Centre (1999) Global ISSN database. <http://www.issn.org>. Cited 20 Feb 2000

Appendices

Information too detailed to be included in the main text, for instance a list of areas sampled or technical details of a model, may be presented in appendices. Appendices should be numbered sequentially and placed before the References.

Figures

All photographs, graphs and diagrams should be referred to as a 'Figure' and they should be numbered consecutively (1, 2, etc.). Multi-part figures ought to be labelled with lower case letters (a, b, etc.). Please insert keys and scale bars directly in the figures. Relatively small text and great variation in text sizes within figures should be avoided as figures are often reduced in size. Figures may be sized to fit approximately within the column(s) of the journal. Provide a detailed legend (without abbreviations) to each figure, refer to the figure in the text and note its approximate location in the margin. Please place the legends in the manuscript after the references.

Tables

Each table should be numbered consecutively (1, 2, etc.). In tables, footnotes are preferable to long explanatory material in either the heading or body of the table. Such explanatory footnotes, identified by superscript letters, should be placed immediately below the table. Please provide a caption (without abbreviations) to each table, refer to the table in the text and note its approximate location in the margin. Finally, please place the tables after the figure legends in the manuscript.

Scientific names

Scientific names of genera and species should be given in full with authority when they are cited for the first time. If species names occur repeatedly in the text the genus name may be abbreviated or, if no confusion arises, only the genus name may be used. Common names should not be used.

Formulae

Formulae should be presented in the text. Complicated formulae should be collected and presented as a figure in camera-ready appearance. Mathematical derivations should be kept to a minimum and put in an appendix.

Italics

Italics should be used for secondary headings, scientific names of taxa (genus and lower) and syntaxa, algebraic expressions and symbols in formulae. If italics can not be printed, text to be set in italics can be indicated by underlining it once. Bold text, i.e., primary headings, can be indicated by underlining it twice if it cannot be printed.

Page Proofs

Page proofs are sent to the author(s) together with the manuscript. The corrected proofs, together with the manuscript, should be returned to the Editorial Office without delay. Instructions for proof correction will be included with the proofs.

Reprints

Fifty free reprints of each paper will be provided. Additional reprints can be ordered from the Publishers on the order form accompanying the proofs.

Book Reviews

Submit books and monographs to be reviewed to the Book Review Editor (see list of members of the Editorial Board for address). Anyone who wishes to review books for Plant Ecology should send a curriculum vitae and brief description of their area of expertise to the book review editor.

Springer Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. To publish via Springer Open Choice, upon acceptance please click on the link below to complete the relevant order form and provide the required payment information. Payment must be received in full before publication or articles will publish as regular subscription-model articles. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles.