

c

**CONTROLE POPULACIONAL DE *Blechnum brasiliense* Desv. E  
*Blechnum occidentale* L. E FORMAÇÃO DO BANCO DE ESPOROS EM  
DOIS FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA**

**RECIFE  
2003**

**FLÁVIA CAROLINA LINS DA SILVA**

**CONTROLE POPULACIONAL DE *Blechnum brasiliense* Desv. E  
*Blechnum occidentale* L. E FORMAÇÃO DO BANCO DE ESPOROS EM  
DOIS FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA**

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

**RECIFE  
2003**

**FLÁVIA CAROLINA LINS DA SILVA**

**CONTROLE POPULACIONAL DE *Blechnum brasiliense* Desv. E *Blechnum occidentale* L. E FORMAÇÃO DO BANCO DE ESPOROS EM DOIS FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA**

**Dissertação apresentada à Banca Examinadora**

---

**Orientadora: Dra. Eliana Akie Simabukuro**

**Departamento de Botânica – CCB - UFPE**

---

**1º Examinador: Dr. Nataniel Franklin de Melo**

**Embrapa – Semi-Árido – Petrolina - PE**

---

**2º Examinador: Dra. Kátia Cavalcanti Pôrto**

**Departamento de Botânica – CCB - UFPE**

**RECIFE  
2003**

*Aos meus pais e à minha irmã.*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho, em especial:

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), na pessoa da Profa. Kátia Cavalcanti Pôrto.

À Profa. Eliana Akie Simabukuro pelo incentivo à pesquisa e, antes de tudo, pela amizade e confiança em mim depositadas desde a época da minha graduação.

Ao Laboratório de Fisiologia Vegetal na pessoa da Profa. Dilosa C. de A. Barbosa por ter concedido o espaço e os equipamentos utilizados nos experimentos desta dissertação.

Ao Laboratório de Invertebrados Terrestres na pessoa do Prof. Simão Vasconcelos por ter autorizado o uso das câmaras de germinação durante a condução de experimentos deste trabalho.

Aos Prof<sup>os</sup>. Marcelo Guerra e Clemens Schlindwein pelo auxílio nas fotografias presentes nesta dissertação.

Ao biólogo Henrique Castelletti pelo incentivo, apoio e amizade.

Ao mestre Augusto Santiago pela amizade, identificação do material botânico e pela ajuda na escolha da área de estudo.

Aos amigos e biólogos Luciana Teixeira, Marliete Soares e Paulo Silva pela amizade e momentos de descontração durante o curso.

Aos amigos de laboratório Kátia Chisaki, Jéssica Miranda, Fernanda Melo e Humberto da Silva Júnior pelos momentos de descontração no laboratório e companheirismo durante as coletas.

Ao mestre André Santos pela confecção do mapa da dissertação.

Aos amigos de turma do PPGBV Ana Virgínia Leite, Maura Rejane Mendes, Ruth Raquel Soares e Conceição de Paula Luna pela amizade.

**SUMÁRIO**

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	9
4. MANUSCRITO I .....	15
Abstract .....	16
Introdução .....	17
Material e Métodos .....	19
Resultados e Discussão .....	22
Literatura Citada .....	41
5. MANUSCRITO II .....	45
Abstract .....	46
Introdução .....	47
Material e Métodos .....	48
Resultados .....	49
Discussão .....	57
Agradecimentos .....	59
Referências.....	59
6. MANUSCRITO III .....	63
Abstract .....	64
Resumo .....	65
Introdução .....	66
Material e Métodos .....	67
Resultados e Discussão .....	69
Referências Bibliográficas .....	81

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	83
RESUMO .....	84
ABSTRACT .....	86
ANEXOS	

## 1. INTRODUÇÃO

As pteridófitas constituem um importante grupo vegetal, principalmente no que diz respeito a diversidade de plantas. Elas formam o segundo grande grupo de plantas vasculares e são significantes componentes de algumas comunidades (Dyer, 1994). Nesse caso, para que essa comunidade tenha continuidade se faz necessário um maior conhecimento a respeito de suas espécies.

A distribuição das pteridófitas sugere falta de investigações mais detalhadas a respeito do seu ciclo de vida, uma vez que esse pode sofrer alterações dependendo da espécie. Variações na distribuição de espécies por processos randômicos, pela dispersão, podem determinar algumas variações sutis no seu ciclo de vida. Em pteridófitas é importante conhecer os fatores que afetam a germinação, o desenvolvimento de gametófitos e, posteriormente, o estabelecimento da geração esporofítica (Dyer, 1994; Pangua *et al.* 1999).

A maioria dos esporos de pteridófitas são sensíveis a luz e necessitam de sua ação para desencadear o processo de germinação. Outros fatores como temperatura, nutrição mineral e pH também influenciam a germinação (Miller, 1968; Dyer, 1979).

Uma vez iniciado o processo de germinação, dar-se-á início ao desenvolvimento do gametófito. Os gametófitos exibem uma grande variação morfológica. Essa variação inclui a capacidade de crescer indeterminadamente e ramificar, fazendo surgir um clone, ou ainda reproduzir-se através de gemas (Chiou & Farrar, 1997).

Trabalhos sobre germinação de esporos e desenvolvimento de gametófitos em laboratório vêm sendo realizados nos últimos anos (Rashid, 1976; Dyer, 1979; Jaramillo *et al.* 2000). Estudos sobre pteridófitas são necessários para melhor compreensão do potencial de dispersão e sobrevivência das espécies. Por outro lado, banco natural de esporos no solo é muito importante para o conhecimento da vegetação original. As avaliações têm demonstrado que algumas espécies de pteridófitas têm capacidade de manter-se vivas através do banco de esporos no solo sendo considerado um material potencial para conservação (Dyer, 1994). Dessa forma, o banco de esporos traz informações a respeito das estratégias reprodutivas de espécies de pteridófitas (Dyer & Lindsay, 1992).

### ***Espécies estudadas***

As espécies *Blechnum brasiliense* Desv. e *Blechnum occidentale* L. são terrestres, de distribuição geográfica tropical e subtropical (Tryon & Tryon, 1982). *Blechnum brasiliense* apresenta porte subarborescente, rizoma ereto e frondes de 60 a 150cm de comprimento.

*Blechnum occidentale* apresenta porte herbáceo, rizoma horizontal e frondes de 30 a 60cm (Jones, 1987; Silva, 2000). No Brasil, ambas ocorrem nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Em Pernambuco, encontram-se distribuídas desde a restinga até o agreste (Jones, 1978; Barros, 1997; Silva, 2000).

Este trabalho teve por objetivo estudar a ecofisiologia da germinação de esporos e o desenvolvimento de gametófitos de *Blechnum brasiliense* Desv. e *B. occidentale* L. para discutir a importância de fatores ambientais na reprodução sexuada e no estabelecimento das espécies. Foi discutido o grau de tolerância das espécies a fatores como temperatura, estresse hídrico e nutrição mineral visando o seu uso na composição de áreas de florestamento.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Germinação

As pteridófitas possuem esporos clorofilados que diferem de esporos aclorofilados por apresentarem alto teor de umidade, alta taxa metabólica, além da clorofila. Esses esporos quando mantidos em condições favoráveis germinam rapidamente (Rashid, 1976; Dyer, 1979; Esteves & Felipe, 1985; Randi & Felipe, 1988; Randi, 1996).

Em pteridófitas a germinação está caracterizada por apresentar fases que envolvem a embebição dos esporos, a absorção de luz, divisão polar e protusão da primeira célula rizoidal (Rashid, 1976; Marcondes-Ferreira & Felipe, 1984).

As fases de dormência e quiescência não estão bem definidas, mas alguns fatores são capazes de desencadear o processo de germinação, a exemplo da luz, temperatura, estresse hídrico e nutrição mineral (Raghavan, 1989).

A luz é um dos principais fatores para desencadear a germinação de esporos fotoblásticos positivos. Simabukuro *et al.* (1993) estudaram o fotoblastismo de oito espécies de pteridófitas de mata ciliar e observaram que todas as espécies são fotoblásticas positivas. Esteves & Felipe (1985) estudando fotossensibilidade de esporos de nove espécies do cerrado, verificaram fotoblastismo positivo em todas as espécies, embora apenas *Polypodium pleopeltifolium* e *P. polypodioides* apresentaram baixos valores de germinação. Tratamento de escuro seguidos de um pré-tratamento com luz vermelha e vermelho-extremo proporcionaram a germinação de esporos de *Cyathea delgadii* (Randi & Felipe, 1988).

Os efeitos da temperatura são importantes na germinação de esporos. Em alguns casos, temperaturas muito elevadas ou muito baixas podem alterar a germinação. A temperatura ótima varia em torno de 15 a 30°C e varia entre as espécie (Nayar & Kaur, 1971; Dyer, 1979). Esporos de *Pteris vittata*, *Dryopteris erythrosora*, *Onoclea sensibilis*, *Matteuccia struthiopteris* e *Asplenium nidus* apresentaram germinação num faixa de 25 a 28°C. Por sua vez, *Dryopteris pseudo-mas* apresenta anormalidades no seu desenvolvimento quando a germinação for em temperatura superior a 28°C (Dyer, 1979).

Esporos de *Onoclea sensibilis* quando expostos a uma temperatura de 30°C apresentaram germinação no escuro (Towill, 1978). Esteves & Felipe (1988), estudando esporos de *Polypodium latipes* verificaram que a melhor temperatura para a germinação foi a 25°C. Ranal (1999), estudando a influência da temperatura na germinação de esporos de *Adiantopsis radiata*, *Microgramma lindbergii*, *M. squamulosa*, *Polypodium hirsutissimum*, *P.*

*pleopeltifolium*, *P. polypodioides*, *P. latipes* e *Pteris denticulata*, observou que temperaturas de 21 e 25°C induziam a germinação. Nas temperaturas de 18 e 29°C houve redução da porcentagem de germinação. As temperaturas alternadas podem causar danos à estrutura do esporos quando aplicadas nos períodos de pré e pós-indução (Marcondes-Ferreira & Felipe, 1984). Em *Cyathea delgadii* a alternância de temperatura induziu a germinação a 35°C o mesmo não ocorreu em *Polypodium latipes* e *P. pleopeltifolium* (Esteves & Felipe, 1988; Felipe *et al.*, 1992).

Warne & Lloyd (1980) estudaram a germinação de pteridófitas de florestas tropicais e temperadas. *Ceratopteris pteridoides* e *C. thalictroides*, espécies de floresta tropical, não germinaram a uma temperatura de 12°C, embora tenha sido muito rápida a germinação a 17°C. Em *Matteuccia struthiopteris*, espécie de floresta temperada, a germinação ocorre na faixa de 11 a 16°C. Apesar da baixa porcentagem de germinação, a melhor temperatura para as espécies citadas foi 21°C.

Assim como na luz e temperatura, as espécies respondem de maneira diferente quando submetidas a variações nutricionais. A germinação de esporos ocorre em meios contendo apenas água, meios com ausência de micronutrientes e macronutrientes (Miller, 1968; Nayar & Kaur, 1971; Dyer, 1979). No entanto, o crescimento do gametófito fica limitado à forma filamentosa. Esse tipo de desenvolvimento foi observado em *Dryopteris erythrosora*, *D. filix-mas* e *Pteridium aquilinum*. Em espécies como *Dryopteris pseudo-mas* houve formação apenas de rizóides (Dyer, 1979).

São poucas as pteridófitas que ocorrem em áreas desérticas ou áridas e seus estudos concentram-se em morfologia e taxonomia (Dyer, 1979). A avaliação do estresse hídrico na germinação e no crescimento inicial visam discutir a tolerância da espécie em condições de baixa disponibilidade hídrica. Os trabalhos concentram-se em espécies de interesse econômico e/ou de ampla distribuição geográfica. Perez & Tambelini (1995) estudaram o estresse hídrico na germinação e no crescimento de algarobeira (*Prosopis juliflora*). Observaram uma redução da velocidade de germinação da espécie e uma redução da parte aérea e aumento da parte subterrânea. Este tipo de resposta também foi encontrado por Jones & Turner (1978) em *Sorghum*. Joshi *et al.* (1992) verificaram a redução da germinação com o aumento do estresse em *Bidens biternata*, *Cnicus argyranthus*, *Cynoglossum furcatum*, *Galinsoga ciliata*, *Oenothera rosea*, *Polygonum capitatum*, *Rumex hastatus*, *Stachys serricea* e *Viola serpens*. O mesmo padrão foi observado por Borges *et al.* (1991) estudando *Dalbergia nidra* e *Cedrela fissilis*. De um modo geral, a germinação e o crescimento são reduzidos quando o estresse é muito severo. Santarém *et al.* (1996) estudaram três leguminosas e

observaram redução do peso da matéria seca das plântulas quando o potencial hídrico foi alterado para -0,49MPa.

A redução da viabilidade de esporos de *Pteris vittata* foi estudada por Beri & Bir (1993). Os esporos armazenados por 100 dias apresentaram embebição inferior aos esporos frescos. Houve redução na porcentagem de germinação e no conteúdo de açúcares solúveis totais após armazenamento. Esporos de *Cyathea delgadii* armazenados por 54-275 dias a 4°C, não apresentaram diferença na germinação (Randi & Felipe, 1988). Quanto maior o tempo de armazenamento, menor foi a faixa de temperatura ótima (Marcondes-Ferreira & Felipe, 1984). Esporos de *Lycopodium lucidulum* quando armazenados por um curto período de tempo apresentaram taxa de germinação de 0,1% (Whittier & Webster, 1986). Silva (2001) estudou esporos de *Nephrolepis biserrata* e observou a perda da viabilidade a medida que o tempo de armazenamento foi aumentando. Esporos de *Polypodium vulgare* permaneceram viáveis após 7 meses de armazenamento embora a taxa de germinação tenha sido baixa (2%) (Smith & Robinson, 1975). Esporos de *Dicksonia sellowiana* apresentaram 81,75% de germinação após 731 dias de armazenamento a 10°C (Filippini *et al.*, 1999). Silva Júnior (2002) verificou que esporos de *Cyathea pungens* apresentaram diminuição na porcentagem de germinação quando armazenados a 5°C. Houve variação da qualidade do esporo em relação a época do ano o que resultou em perda total de viabilidade aos 180 dias de armazenamento. Resultado similar foi encontrado por Silva (2001) em esporos de *Nephrolepis biserrata*, os quais perderam totalmente a viabilidade aos 150 dias de armazenamento.

## **2.2. Desenvolvimento de gametófito**

Os gametófitos possuem variações morfológicas que vão desde a diferenciação celular até o estabelecimento da forma adulta. Por este motivos são classificados segundo o padrão de desenvolvimento em seis tipos: *Adiantum*, *Aspidium*, *Ceratopteris*, *Drynaria*, *Kaulinia*, *Marattia* e *Osmunda* (Raghavan, 1989).

A morfologia dos gametófitos pode variar na mesma espécie em função de mudanças climáticas. Essa alteração inclui a capacidade de crescer indeterminadamente e formar ramificações. Em algumas famílias, os gametófitos apresentaram a capacidade de reproduzir por dispersão de gemas, sem formar os gametas (Chiou & Farrar, 1997).

Gametófitos que crescem em meio contendo apenas água estão limitados ao desenvolvimento exclusivamente na forma filamentosa. Esse tipo de desenvolvimento foi

observado em *Dryopteris erythrosora*, *D. filix-mas* e *Pteridium aquilinum*. Em espécies como *Dryopteris pseudo-mas* houve formação apenas de rizóides (Dyer, 1979).

Esporos de algumas espécies de pteridófitas apresentam-se fotoblásticas negativas e após a germinação no escuro desenvolvem gametófitos subterrâneos e micorrízicos. *Lycopodium lucidulum* e *Diplasiastrum xhabereri* (híbrido de *D. digitatum* e *D. tristachyum*) são representantes desses gametófitos subterrâneos (Whittier & Webster, 1986; Whittier & Britton, 1995).

Pray (1971) estudou gametófitos de híbridos de pteridófitas do gênero *Pellaea* e Krahulec *et al.* (1996) estudaram a formação de gametófitos a partir de híbridos de *Hippochaete* verificando que apesar de serem híbridos, os gametófitos não apresentavam variação. Em todos os casos as espécies apresentaram-se morfológicamente funcionais e capazes de produzir gametófitos saudáveis.

Bruce & Beitel (1979) estudaram comunidades de gametófitos de *Lycopodium* de áreas temperadas. Através desses estudos construíram chaves de identificação para gametófitos e esporófitos jovens. Cousens (1979) estudou o desenvolvimento de gametófitos de *Blechnum spicant* e concluiu que dentro de uma mesma população pode haver variação entre os gametófitos no que diz respeito às estruturas reprodutivas. Numa mesma população foi observado a formação de gametófitos uni e bissexuados.

Pérez-García *et al.* (1998) estudaram o desenvolvimento dos gametófitos de três espécies de *Phlebodium* e constataram o crescimento do tipo polipodiáceos. Verificaram ainda a formação dos gametângios a partir do 55<sup>o</sup> dia de cultivo. Nayar (1960) estudou o desenvolvimento de gametófitos de *Anthyrium esculatum* e observou a formação de gametângios desde a forma filamentosa até a forma cordada. Pérez-García & Riba (1993) fizeram observações dos gametófitos de *Woodwardia martinezii* e *W. spinulosa*. Observaram que, de modo geral, as duas espécies apresentam o mesmo padrão de desenvolvimento de outras espécies da família Blechnaceae: desenvolvimento protálico do tipo *Aspidium*, com gametófitos bissexuados com anterídio e arquegônio surgindo por volta do 3<sup>o</sup> e o 5<sup>o</sup> mês, respectivamente.

Durán & Anton (1995) estudaram o desenvolvimento de gametófitos de *Blechnum australe* subsp. *auriculatum*, *B. laevigatum* e *B. australe* subsp. *auriculatum* x *B. laevigatum* quanto a presença ou não de ramificações, discutindo a influência da estrutura no desenvolvimento do gametófito. Nem todos os gametófitos apresentaram ramificações, mas os poucos que as tinham não apresentaram estrutura reprodutiva.

Durán & Anton (1996) observaram a formação de gametófitos de *Blechnum laevigatum* em diferentes densidades de esporos. Verificaram a formação de gametófitos cilíndricos e eretos. Entretanto, vale salientar que esta característica de gametófitos da família Blechnaceae independente da densidade. A densidade afetou apenas o surgimento de gametófitos unissexuados ou bissexuados numa mesma placa.

Klekowski (1969) estudou a biologia reprodutiva de pteridófitas da família Blechnaceae. Verificou o surgimento de gametófitos anãos em *Blechnum brasiliense* quando esta foi cultivada em altas densidades. O autor cita a possibilidade de outras espécies da mesma família apresentarem o mesmo tipo de anomalia. O desenvolvimento de gametófitos de *Lygodium heterodoxum* e *L. venustum* foi verificado por Mendoza *et al.* (1999). Neste estudo os autores observaram o desenvolvimento de gametófitos numa densidade de 120 a 250 esporos por cm<sup>2</sup>. Os gametófitos submetidos a altas densidades apresentaram-se dióicos e com formatos diferentes. Gametófitos anteridiados eram cordiforme-espatulados, diferindo dos arquegoniados cordiforme-reniformes.

Silva (2001) estudou o desenvolvimento de gametófitos de *Nephrolepis biserrata* em diferentes substratos e observou que na água os gametófitos permaneceram apenas na forma filamentosa de desenvolvimento, enquanto nos demais substratos (solo, vermiculita e ágar) a forma observada foi a cordiforme.

### **2.3. Banco de esporos**

Segundo Dyer (1994), o estudo do banco de esporos é importante por ser uma estratégia de conservação potencial que poderá ser utilizada na regeneração de áreas devastadas.

Sheffield (1996) observou a produção e dispersão de esporos e discutiu a importância dos distúrbios ambientais (vento e água) na formação de banco de *Pteridium* no solo. Dyer & Lindsay (1996) verificaram a formação de banco de esporos de *Asplenium septentrionale*, *Cystopteris dickieana*, *Dryopteris cristata*, *Gymnocarpium robertianum*, *Osmunda regalis*, *Thelypteris palustris* e *Woodsia alpina*. Os autores, analisaram a possibilidade de conservar algumas espécies, e proporcionar a restauração de populações através do banco de esporos.

Mediante a análise de solo em diferentes profundidades nas estações seca e chuvosa do cerrado e mata ciliar do Brasil, Simabukuro *et al.* (1998) quantificaram o banco de esporos de pteridófitas. Foram encontrados 12 espécies na estação chuvosa e sendo oito em comum as duas estações. Esporos de *Cyathea delgadii* apresentaram alta frequência em ambas estações,

o mesmo não ocorrendo com *Polypodium latipes*. Esporos de *Blechnum brasiliense* foram encontrados nas amostras da estação seca. A capacidade de *Cyathea delgadii* e *Nephrolepis biserrata* formarem banco de esporos foi avaliada através do armazenamento no local de estudo, cerrado e mata, respectivamente. Em *Cyathea delgadii*, o tempo de armazenamento foi de dez meses e *Nephrolepis biserrata* foi de três meses (Guimarães & Felipe, 1999; Silva, 2001).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, I.C.L. **Pteridófitas ocorrentes em Pernambuco**: ensaio biogeográfico e análise numérica. Recife, 1997. 577f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

BERI, A.; BIR, S.S. Germination of stored spores of *Pteris vittata*. **American Fern Journal**, v. 83, p. 73-78. 1993.

BORGES, E.E.L. *et al.* Estudos preliminares sobre o efeito do estresse hídrico na germinação de sementes de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nidra*) e cedro-rosa (*Cedrela fissilis*). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 13, p. 115-118. 1991.

BRUCE, J.G.; BEITEL, J.M. A community of *Lycopodium* gametophytes in Michigan. **American Fern Journal**, v. 69, p.33-41. 1979.

CHIOU, W.L.; FARRAR, D.R. Comparative gametophyte morphology of selected species of the family Polypodiaceae. **American Fern Journal**, v. 87, p. 77-86. 1997.

COUSENS, M.I. Gametophyte ontogeny, sex expression, and genetic load as measures of population divergence in *Blechnum spicant*. **American Journal Botany**, v. 66, p. 116-132. 1979.

DURÁN, M.; ANTON, A.M. Sobre la ramificaciones en gametófitos de *Blechnum*. (Blechnaceae-Pteridophyta). **Darwiniana**, v. 33, p. 27-34. 1995.

DURÁN, M. & ANTON, A.M. Erect gametophytes in *Blechnum laevigatum* in axenic cultures. **Phytomorphology**, v. 46, p. 59-64. 1996.

DYER, A.F. **The experimental biology of ferns**. London: Academic Press In (London) LTD, 1979. 657p.

DYER, A.F. Natural soil spore banks – can they be used to retrieve lost ferns? **Biodiversity and Conservation**, v. 3, p 160-175. 1994.

DYER, A.F.; LINDSAY, S. Soil spore bank of temperate ferns. **American Fern Journal**, v. 82, p. 89-122. 1992.

DYER, A.F.; LINDSAY, S. Soil spore banks - a new resource for conservation. In: J.M. CAMUS, M. GIBBY AND R.J. JOHNS (Eds) **Pteridology in Perspective**. Royal Botanic Gardens Kew, 1996. p. 153-160.

ESTEVEES, L.M.; FELIPPE, G.M. Fotossensibilidade de esporos de pteridófitas dos cerrados. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 8, p. 219-222. 1985.

ESTEVEES, L.M.; FELIPPE, G.M. **Efeito de luz e temperatura na germinação de *Polypodium latipes***. In: V Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, 1988, São Paulo. Anais... São Paulo. 1988. p. 29-34.

FELIPPE, G.M.; SASSAKI, R.M.; AVEIRO, S.M.G. Germinação de esporos de *Polypodium pleopeltifolium*: resultados preliminares. **Acta Botanica Brasilica**, v. 6, p. 49-54. 1992.

FILIPPINI, E.C.P.; DUZ, S.R.; RANDI, A.M. Light and storage on the germination of spores of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook., Dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, p.21-26. 1999.

GUIMARÃES, T.B.; FELIPPE, G.M. The survival and establishment potencial of spores of *Cyathea delgadii* Sternb. In soils from Itirapina and Moji Guaçu (SP), Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, p. 385-390. 1999.

JARAMILLO, J.R.; PÉREZ-GARCÍA, B.; MENDOZA, A. Fase gametofítica del helecho *Llavea cordifolia* (Pteridaceae). **Revista de Biología Tropical**, v. 48, p. 19-23. 2000.

JONES, D.L. **Encyclopaedia of ferns**. Oregon: Timber Press Inc (Portland), 1987.

JONES, M.M.; TURNER, N.C. Osmotic adjustment in leaves of *Sorghum* in response to water deficits. **Plant Physiology**, v. 61, p. 122-126. 1978.

JOSHI, M.; JOSHI, H.; SINGH, S.P. Response of water, temperature and light on germination behaviour of some successional species. **Tropical Ecology**, v. 33, p. 54-62. 1992.

KLEKOWSKI, E.J., JR. Reproductive biology of the Pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. **Botanical Journal Linnean Society**, v. 62, p. 361-377. 1969.

KRAHULEC, F.; HROUDA, L.; KOVÁROVÁ, M. Production of gametophytes by *Hippochaete* (Esquisetaceae) hybrids. **Preslia**, v. 67, p. 213-218. 1996.

MARCONDES-FERREIRA, W.; FELIPPE, G.M. Effects of light and temperature on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 7, p. 53-56. 1984.

MENDOZA, A., PÉREZ-GARCÍA, B.; RIBA, R. Desarrollo protálico de *Lygodium heterodoxum* y *Lygodium venustum* (Schizaeaceae). **Revista de Biología Tropical**, v. 47, p. 83-92. 1999.

MILLER, J.H. Fern gametophytes: as experimental. **The Botanical Review**, v. 34, p. 361-440. 1968.

NAYAR, B.K. The gametophyte and young sporophyte of *Athyrium esculum*. **American Fern Journal**, v. 50, p. 194-203. 1960.

NAYAR, B.K.; KAUR, S. Gametophytes of homosporous ferns. **The Botanical Review**, v. 37, p. 295-396. 1971.

PANGUA, E.; GARCÍA-ÁLVAREZ, L.; PAJARÓN, S. Studies on *Cryptogramma crista* spore germination. **American Fern Journal**, v. 89, p. 159-170. 1999.

PÉREZ-GARCÍA, B.; RIBA, R. Observaciones sobre los gametofitos de *Woodwardia martinezii* Maxon ex Weatherby y *W. spinulosa* Mart. & Gal. (Blechnaceae). **Acta Botânica Mexicana**, v. 21, p. 7-14. 1993.

PÉREZ-GARCÍA, B.; RIBA, R.; MENDOZA, A.; REYES J.I. Compared gametophytic development of three species of *Phlebodium* (Polypodiaceae, *s.str.*). **Revista de Biologia Tropical**, v. 46, p. 1059-1067. 1998.

PEREZ, S.C.J.G.A.; TAMBELINI, M. Efeito dos estresses salino e hídricos envelhecimento precoce na germinação de algarobeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, p. 1289-1295. 1995.

PRAY, T.R. The gametophytes of natural hybrids in the fern genus *Pellaea*. **American Fern Journal**, v. 61, p. 128-136. 1971.

RAGHAVAN, V. **Development biology of fern gametophytes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 361p.

RANAL, M.A. Effects of temperature on spore germination in some fern species from semideciduous mesophytic forest. **American Fern Journal**, v. 89, p. 149-158. 1999.

RANDI, A.M. Photosensitivity, viability and storage reserves in spores of *Acrostichum danaeifolium* Langsd. & Fisch. (Pteridaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 19, p. 105-108. 1996.

RANDI, A.M.; FELIPPE, G.M. Effects of red and far-red on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 11, p. 41-45. 1988.

RASHID, A. **An introduction to pteridophyta (Diversity and differentiation)**. New Delhi: Vikas Publishing House PUT LTD, 1976. 283p.

SANTARÉM, E.R. *et al.* Efeito do estresse hídrico na germinação e crescimento inicial de três espécies de leguminosas. **Acta Botânica Brasileira**, v. 10, p. 213-221. 1996.

SHEFFIELD, E. From pteridophyte to sporophyte in the natural environment. In: J.M. CAMUS, M. GIBBY AND R.J. JOHNS (Eds) **Pteridology in Perspective**. Royal Botanic Gardens Kew, 1996. p. 541-549.

SILVA JÚNIOR, A.H.P. **Germinação e formação de banco de esporos de *Cyathea pungens* (Willd.) Domin.** Recife, 2002. 32f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco.

SILVA, F.C.L. **Ecofisiologia da germinação de esporos e desenvolvimento de gametófitos de *Nephrolepis biserrata* (Sw.) Schott (Pteridophyta) do Refúgio Ecológico Charles Darwin, Igarassu (PE).** Recife, 2001. 52f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco.

SILVA, M.R. **Pteridófitas da Mata do Estado – Serra do Mascarenhas – município de São Vicente Férrer, estado de Pernambuco – Brasil.** Recife, 2000. 283f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal de Pernambuco.

SIMABUKURO, E.A.; ESTEVES, L.M.; FELIPPE, G.M. Fotoblastismo de pteridófitas de mata ciliar. **Insula**, v. 22, p.177-186. 1993.

SIMABUKURO, E.A.; ESTEVES, L.M.; FELIPPE, G.M. Analysis of fern spore bank in southeast Brazil. **Hoehnea**, v. 25, p. 45-57. 1998.

SMITH, D.L.; ROBINSON, P.M. Effects of spore age on germination and gametophyte development in *Polypodium vulgare* L. **New Phytology**, v. 74, p. 101-108. 1975.

TOWILL, L.R. Temperature and photocontrol of *Onoclea* spore germination. **Plant Physiology**, v. 62, p. 116-119. 1978.

TRYON, R.M.; TRYON, A.F. **Ferns and allied plants with special reference to Tropical America.** New York: Springer-Verlag, 1982. 867p.

WARNE, T.R.; LLOYD, R.M. The role of spore germination and gametophyte development in habitat selection: temperature and responses in certain temperate and tropical fern. **Bulletin of The Torrey Botanical Club**, v. 107, p.37-64. 1980.

WHITTIER, D.P.; BRITTON, D.M. Gametophytes of *Diplasiastrum xhabereri*. **American Fern Journal**, v. 85, p. 89-94. 1995.

WHITTIER, D.P.; WEBSTER, T.R. Gametophytes of *Lycopodium lucidulum* from axenic culture. **American Fern Journal**, v. 76, p. 48-55. 1986.

---

***4. Manuscrito I a ser  
enviado para American  
Fern Journal***

**Germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. e *Blechnum occidentale* L.  
(Pteridophyta)**

FLÁVIA CAROLINA LINS DA SILVA E ELIANA AKIE SIMABUKURO

Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes  
Rego, s/n. Cidade Universitária. Recife (PE). Cep 50670-901. Brazil.

ABSTRACT – It was studied the germination of spores of *Blechnum brasiliense* Desv. and *B. occidentale* L. collected in Mata da Azuada and in Reserva Biológica Municipal, Bonito (PE). This paper aims to assess the effects of temperature, mineral nutrition and water stress on germination, as well as to evaluate the viability of spores stored in controlled and environment conditions. Fertile fronds were collected and selected spores were maintained in glass flasks, in the darkness, at 5°C. The spores were sterilized in 0.5% calcium hypochlorite per 2 minutes and then distributed on Mohr's solution. For the temperature experiment, it was tested 10, 15, 20, 25, 30 and 35°C. Distilled water, Mohr's solution at concentrations of 10, 50 and 100% and Mohr's solution without iron were tested in mineral nutrition experiment. For water stress, water potentials of –0.01 to –1.0MPa were used. All experiments were conducted at 25°C and 12h photoperiod. The *B. brasiliense* and *B. occidentale* fresh spores had the germination started in the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> day, respectively. In both species, the final value was 100%. The germination was not observed in temperatures of 10 and 35°C. No significant differences were observed in germination with the mineral treatments. Main modifications occurred in the gametophyte development: maintenance of filamentous form in gametophytes treated with water and 10% Mohr's solution as well as absence of chlorophyll in those maintained in Mohr's solution without iron. The gametophytes development was similar in 50 and 100% Mohr's solution. In the water stress experiment, germination rate of both species was 100% at water potentials from

-0.01 to -0.04MPa. Low germination rate at water potentials from -0.05 to -1.0MPa, was observed only for *B. brasiliense* without rhizoid and death before the end of the filamentous stage. Spores stored at 25°C in darkness maintained 100% germination for 12 months. On the other hand, environmental condition reduced the spore germinability and there was no germination after 9 months of storage.

A germinação de esporos de pteridófitas pode sofrer interferência de vários fatores ambientais como luz, temperatura e umidade. Alguns esporos de pteridófitas passam por um período de dormência antes de germinar, principalmente aqueles pertencentes às famílias Hymenophyllaceae e Vittariaceae (Nayar e Kaur, 1971). Fatores como luz e temperatura podem quebrar essa dormência fazendo com que os esporos germinem. Esporos de *Dryopteris filix-mas*, *Osmunda cinnamomea* e *O. claytoniana*, após um período de hidratação, germinam em 24 a 36 horas (Nayar e Kaur, 1971).

A maioria dos esporos de pteridófitas tem como fator desencadeador da germinação a luz. Luz vermelha, vermelho-extremo e azul quando captadas pelo fitocromo, controlam a germinação de algumas espécies, como *Anemia flexuosa*, *A. raddiana*, *Cyathea delgadii*, *Dryopteris concolor*, *Osmunda claytoniana*, *O. cinnamomeae*, *Polypodium hirsutissimum* e *P. latipes* (Marcondes-Ferreira e Felipe, 1984; Esteves e Felipe, 1985; Randi e Felipe, 1988a; Raghavan, 1989).

A temperatura pode alterar a germinação de esporos em luz branca, podendo ocorrer indução, redução ou até inibição da germinação. A temperatura ótima para a maioria das espécies está próxima de 25°C (Nayar e Kaur, 1971; Dyer, 1979). Em *Pteris vittata*, *Dryopteris erythrosora*, *Onoclea sensibilis*, *Matteuccia struthiopteris* e *Asplenium nidus* a temperatura ótima varia entre 25 e 28°C. Em *Dryopteris pseudo-mas* germinação numa temperatura acima de 28°C, apresenta anormalidades no desenvolvimento de gametófitos (Dyer, 1979). Altas temperaturas podem mudar o fotoblastismo como em *Onoclea* (Towill, 1978). A alternância de temperatura pode levar ao aumento da velocidade de germinação, como por exemplo em *Cyathea delgadii* e *Polypodium pleopletifolium* (Dyer, 1979; Marcondes-Ferreira e Felipe, 1984; Young, 1985; Esteves e Felipe, 1988).

Esporos de *Osmunda* permanecem viáveis por algumas semanas. No entanto, quando estocados no escuro a viabilidade permanece por um longo período. Esporos de *Pellea truncata* permanecem viáveis após 50 anos de armazenamento a 4°C. Em temperatura ambiente, esporos de *Blechnum nudum*, *Matteuccia struthiopteris*, *Onoclea sensibilis* e outras

espécies de Osmundaceae, Grammitidaceae e Hymenophyllaceae perdem a viabilidade em poucas semanas de armazenamento (Miller, 1968; Dyer, 1979; Raghavan, 1989). Esporos de *Asplenium* armazenados por 48 anos apresentaram uma alta taxa de germinação e rápido desenvolvimento do gametófito (Dyer, 1979). Esporos de *Polypodium vulgare* permanecem viáveis após 7 meses de armazenamento com taxa de germinação de 2% (Smith e Robinson, 1975). Camloh (1999), verificou que os esporos de *Platycerium bifurcatum* permaneciam viáveis após 14 meses de armazenamento a 5°C mas houve um atraso no desenvolvimento do gametófito. Esporos de *Dicksonia sellowiana* apresentaram 81,75% de germinação após 731 dias de armazenamento a 10°C (Filippini et al., 1999). Esporos de *Equisetum hyemale* congelados a -70°C apresentaram 35 e 25% de germinação após um período de 12 e 16 meses de armazenamento, respectivamente (Whittier, 1996).

Estresse hídrico e deficiência nutricional são pouco estudados em pteridófitas (Miller, 1968; Dyer, 1979; Raghavan, 1989). Em sementes de *Prosopis juliflora*, o estresse hídrico não afetou a germinação mas provocou diminuição das radículas das plântulas o que refletiu no peso da matéria seca da espécie (Perez e Tambelini, 1995). Santarém et al. (1996) observaram que sementes de *Senna macranthera*, *S. multijuga* e *Mimosa bimacronata* apresentaram retardo no início da germinação e sensível redução na parte aérea e subterrânea das plântulas das três espécies quando submetidas a estresse hídrico, mas apesar desses sintomas as plântulas conseguiram sobreviver em situações críticas de falta de água. Por sua vez, a deficiência nutricional pode ocasionar um retardo no crescimento e no desenvolvimento da planta. A falta de nutrientes minerais pode causar descoloração, abscisão dos ramos e clorose nas plantas, sejam elas jovens ou adultas (Larcher, 2000).

Segundo Raghavan (1989) a falta de água e de nutrientes podem induzir a apogamia. Em *Pteridium aquilinum* esta indução ocorreu por ação do etileno quando os esporos formaram mantidos em alta densidade.

### ***Espécies estudadas***

As espécies *Blechnum brasiliense* Desv. e *Blechnum occidentale* L. são terrestres, de distribuição geográfica tropical e subtropical (Tryon e Tryon, 1982) *Blechnum. brasiliense* apresenta porte subarborescente, rizoma ereto e frondes de 60 a 150cm de comprimento. *Blechnum occidentale* apresenta porte herbáceo, rizoma horizontal e frondes de 30 a 60 cm (Jones, 1987; Silva, 2000). No Brasil, ambas ocorrem nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Em Pernambuco,

encontram-se distribuídas desde a restinga até o agreste (Jones, 1987; Barros, 1997; Silva, 2000).

O objetivo deste trabalho foi determinar a relação entre a temperatura, nutrição mineral, estresse hídrico e a germinação e avaliar a viabilidade de esporos recém coletados e em condições de armazenamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. e *Blechnum occidentale* L. foram obtidos de frondes férteis coletadas nas matas da Azuada (08°03'02,5" S e 34°56'53,2" W) e da Reserva Biológica Municipal (08°30'27" S e 35°43'25" W), Bonito - PE (Fig. 1). Os espécimes identificados foram depositados no herbário UFP da Universidade Federal de Pernambuco (UFP 32993 e 32998). As frondes foram secas em casa de vegetação por um período de 5 dias. Os esporos foram obtidos através de filtragem em tecido de náilon com malha de 50µm armazenados a seco e mantidos em frascos de plástico, no escuro, a 5°C.

Em todos os experimentos, os esporos foram desinfestados com hipoclorito de cálcio (0,5%) por dois minutos (Simabukuro et al., 1998) e distribuídos em 3 erlenmeyers de 125mL contendo 25mL de solução nutritiva de Mohr modificada por Dyer (1979) com o fungicida nistatina (100U.mL<sup>-1</sup>) (Randi e Felipe, 1988a). Em todos os tratamentos foram utilizados materiais autoclavados durante 40min, a 120°C e 1kg.cm<sup>-2</sup>. Todos os tratamentos foram mantidos em câmara de crescimento com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12h.

A germinação foi avaliada através da montagem de 2 lâminas com material de cada erlenmeyer e contagem de 100 esporos por lâmina. Os valores médios foram expressos em porcentagem de germinação (Marcondes-Ferreira e Felipe, 1984; Esteves e Felipe, 1985; Randi e Felipe, 1988a; Simabukuro et al., 1993; Simabukuro et al., 1998).

Os dados pluviométricos foram fornecidos pela Fábrica Bonsuco, localizada no município de Bonito (PE), Brasil.

**VIABILIDADE DOS ESPOROS RECÉM-COLETADOS PRODUZIDOS EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO** – As frondes férteis foram coletadas nos meses de agosto de 2001 a agosto de 2002. Os esporos recém-coletados foram distribuídos em solução nutritiva e mantidos até a estabilização da curva de germinação. A avaliação do experimento foi diária, até a estabilização da curva.

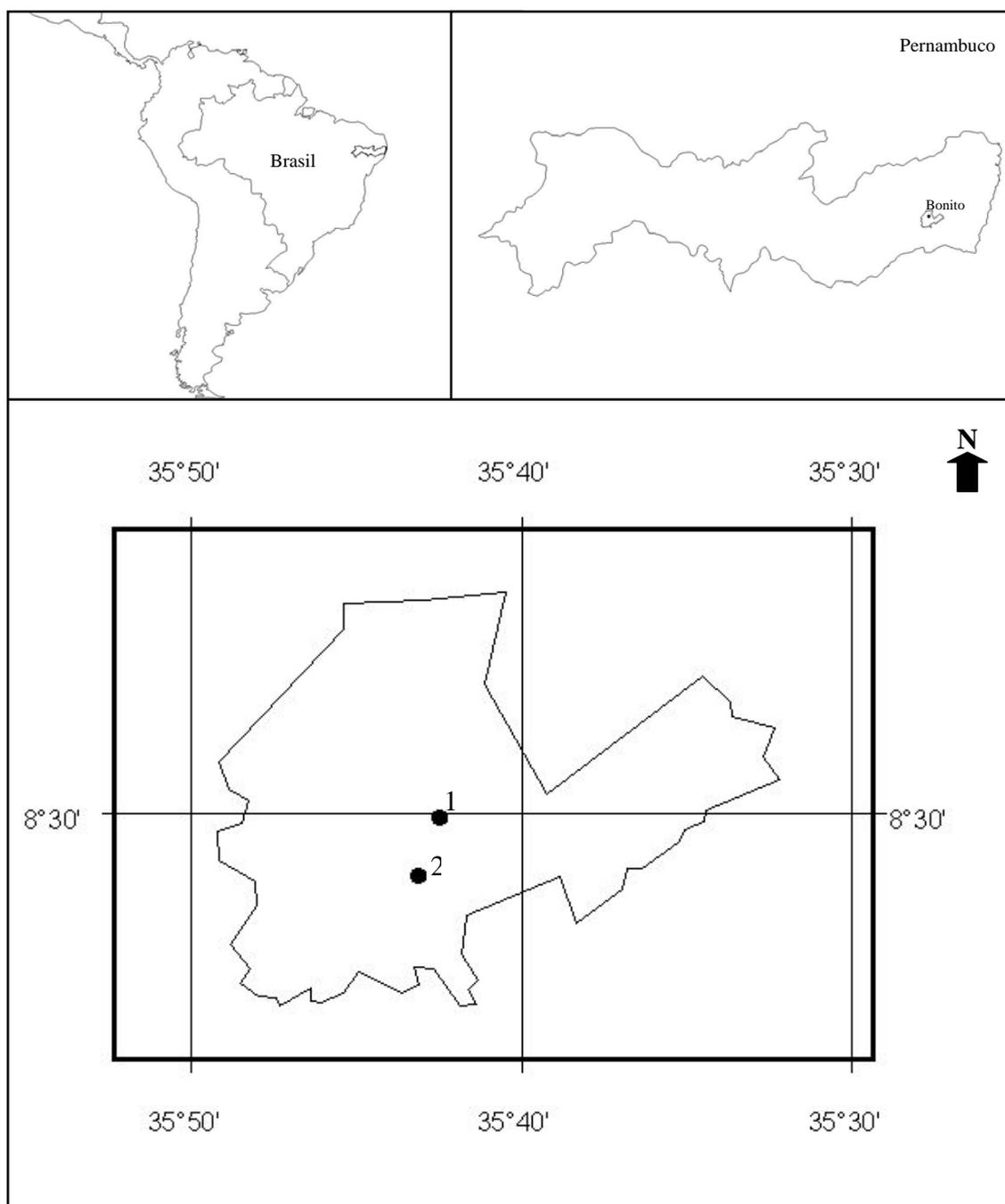


FIG. 1: Localização das áreas de estudo no município de Bonito (PE), Brasil. Mata da Reserva (1) e Mata da Azuada (2).

GERMINAÇÃO DE ESPOROS SOB DIFERENTES TEMPERATURAS – Os esporos foram mantidos em solução nutritiva sob as temperaturas constantes de 10, 15, 20, 30 e 35°C, em BOD com luz contínua. A avaliação foi diária até a estabilização da curva de germinação. Tratamentos de luz e escuro contínuos foram realizados para testar o fotoblastismo de cada espécie, segundo Esteves e Felipe (1988).

INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO MINERAL NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS – A influência da nutrição mineral na germinação foi observada através de experimentos conduzidos em água, solução nutritiva a 10, 50 e 100% e solução com ausência de ferro. A avaliação do experimento foi diária até a estabilização da curva de germinação.

INFLUÊNCIA DO ESTRESSE HÍDRICO NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS – A influência do estresse hídrico na germinação foi observada através de solução nutritiva acrescida de polietileno glicol 6000 (PEG 6000) nos potenciais hídricos de -0,01; -0,02; -0,03; -0,04; -0,05; -0,1; -0,15; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8 e -1,0 MPa (Villela et al., 1991). O experimento foi avaliado a cada dois dias.

VIABILIDADE DE ESPOROS ARMAZENADOS EM CONDIÇÕES CONTROLADAS E CONDIÇÕES AMBIENTAIS – Para testar a viabilidade em condições controladas, os esporos foram armazenados a seco e mantidos a 5°C e escuro constante no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco. Para avaliar a viabilidade de esporos em condições ambientais, o experimento foi montado em outubro de 2001 nas Matas da Azuada e da Reserva Biológica Municipal. Para este experimento foram montados sacos de náilon de 25cm<sup>2</sup> contendo 10g de solo e 200mg de esporos. Os sacos permaneceram no campo tanto na superfície do solo quanto enterrados a 5cm de profundidade. O experimento teve duração de 12 meses, sendo os sacos coletados após tempos determinados de 1, 2, 3, 6, 9 e 12 meses (Silva, 2001). Os experimentos de viabilidade foram avaliados a cada três dias até a estabilização da curva de germinação.

ANÁLISE ESTATÍSTICA – Os dados em porcentagem foram transformados em valor angular para o cálculo de análise de variância simples (teste de Tukey a 5%) comparando a porcentagem final de germinação entre os tratamentos, utilizando o software Bioestat 2.0

(Ayres et al. 2000). Os cálculos de tempo médio e velocidade de germinação foram feitos segundo Labouriau (1987).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

VIABILIDADE DOS ESPOROS RECÉM-COLETADOS PRODUZIDOS EM DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO – As frondes férteis de *Blechnum brasiliense* Desv. foram coletadas no interior das matas, em áreas alagáveis, e *B. occidentale* L. nas bordas e barrancos. A produção de esporos ocorreu no período de agosto de 2001 a agosto de 2002 com menor número de frondes férteis nos meses de junho e agosto de 2002. A germinabilidade das duas espécies, nos dois locais, foi alta atingindo 100% entre o 5<sup>o</sup> e 8<sup>o</sup> dia. Houve diferença significativa entre as populações apenas em alguns dias nas curvas de dezembro/01, abril/02 e agosto/02 em *B. brasiliense* (Fig. 2) e outubro/01, junho/02 e agosto/02, em *B. occidentale* (Fig. 3).

A variação na qualidade e quantidade dos esporos ao longo do ano indica a sazonalidade das espécies estudadas. A germinação mais rápida ocorreu nos esporos liberados ao final da estação chuvosa (outubro/01) e a maior velocidade ocorreu nos meses de fevereiro/02 (*B. occidentale*) e abril/02 (*B. brasiliense*), após estação seca (Fig. 4). Variação na velocidade de germinação entre esporos produzidos ao longo do ano foram observados em *Cyathea delgadii*, *Cyathea pungens* e *Nephrolepis biserrata* (Randi e Felipe, 1988b; Silva, 2001; Silva Júnior, 2002). Dados referentes a esporos de *Nephrolepis biserrata* diferiram dos resultados de *B. brasiliense* apresentando melhor germinação nos meses de fevereiro e março de 2000 (Silva, 2001). *Cyathea pungens* apresentou melhor germinação em março, abril, maio de 2001 e maio de 2002 (Silva Júnior, 2002).

Comparando os esporos produzidos em agosto nos anos de 2001 e 2002, observa-se que a melhor germinação ocorreu em 2001 com antecipação do início da germinação e maior velocidade (Figs. 5 e 6). A pluviosidade dos anos não diferem expressivamente, indicando que a umidade não influenciou nos resultados.

GERMINAÇÃO DE ESPOROS SOB DIFERENTES TEMPERATURAS – Nas duas espécies estudadas, não foi observada germinação nas temperaturas extremas de 10 e 35°C constante (Fig. 7). Verificou-se maior velocidade de germinação na temperatura de 30°C para *Blechnum brasiliense*, seguida de 25 e 20°C (Tabela 1). Em *Blechnum occidentale*, por outro lado, a maior velocidade de germinação ocorreu na temperatura de 25°C, seguida de 20 e 30°C (Tabela 2). Apesar das diferentes velocidades de germinação, em todos os casos houve

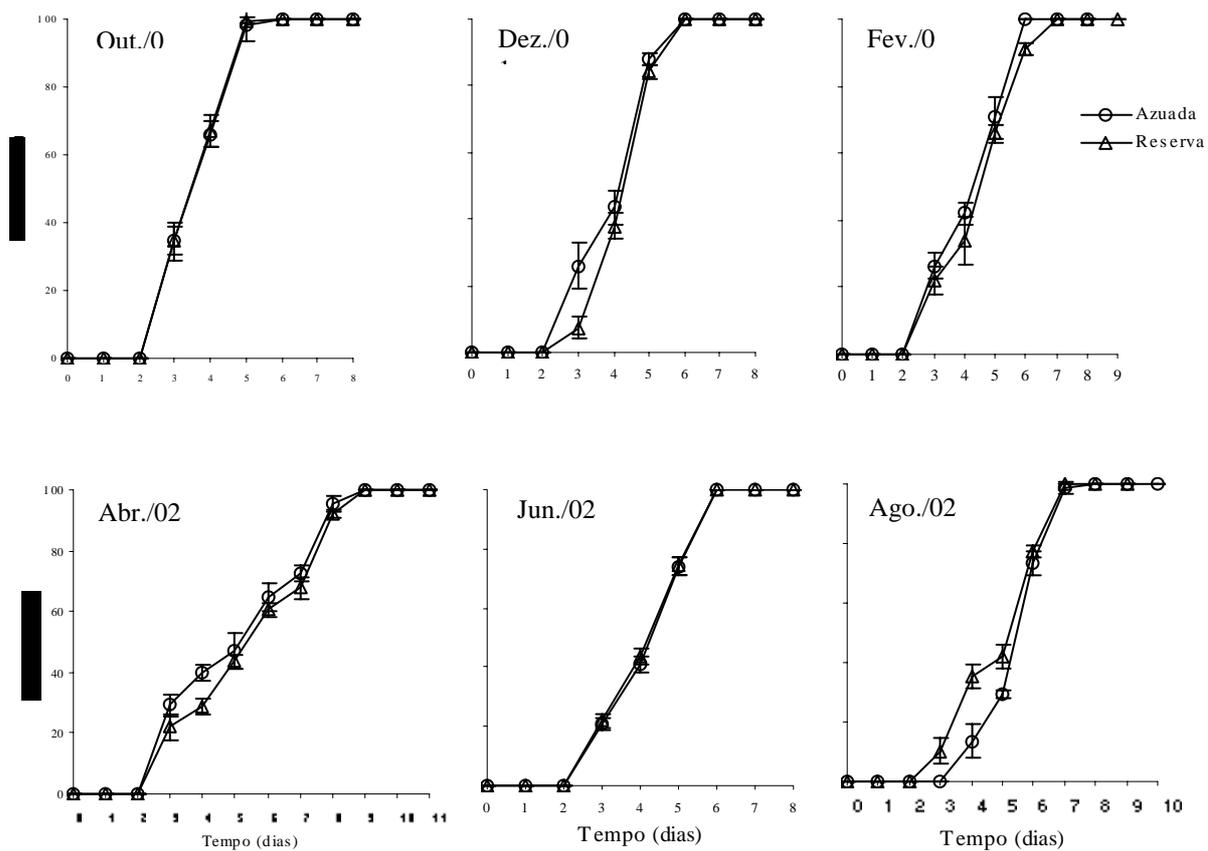


FIG. 2: Germinação de esporos recém-coletados de *Blechnum brasiliense* Desv., a 25°C e fotoperíodo de 12h. Nível de significância 5%.

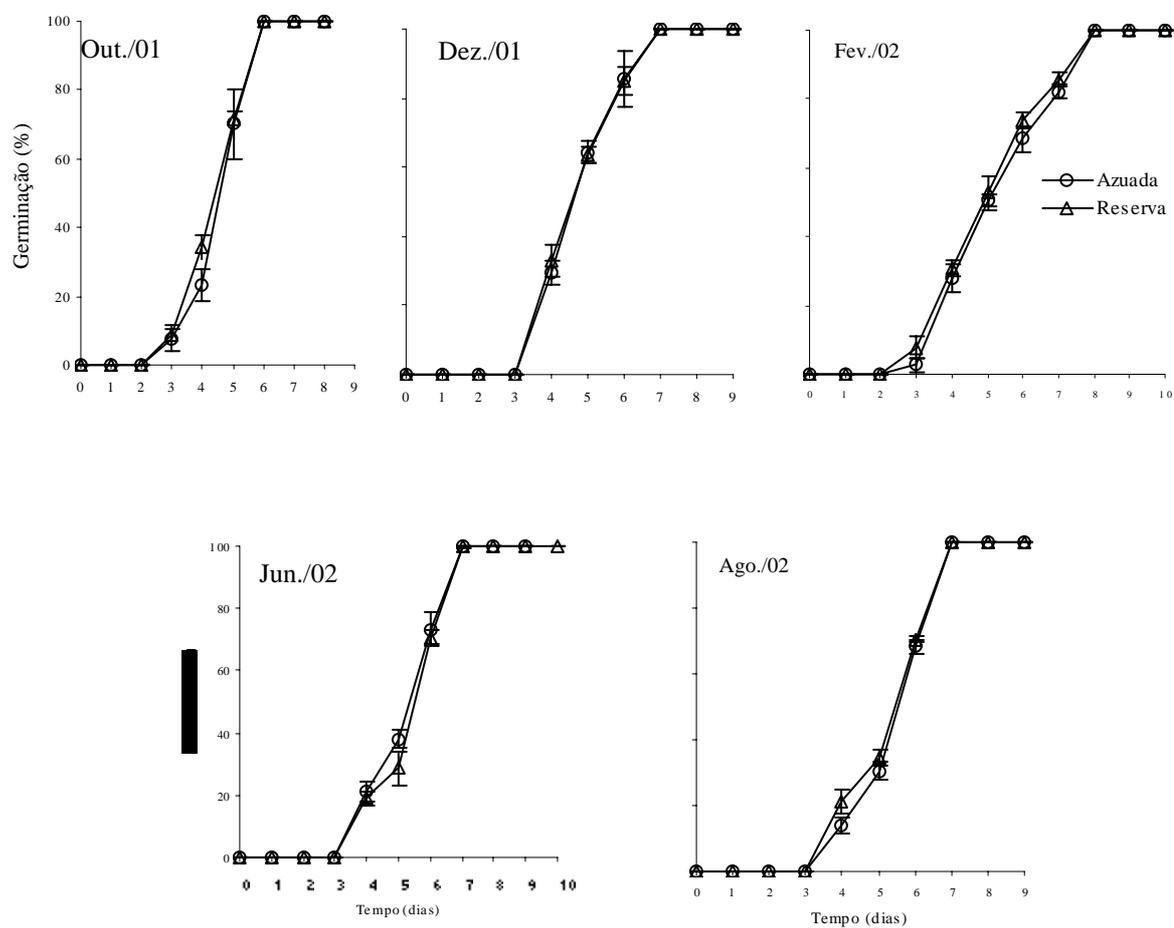


FIG. 3: Germinação de esporos recém-coletados de *Blechnum occidentale* L., a 25°C e fotoperíodo de 12h. Nível de significância 5%.

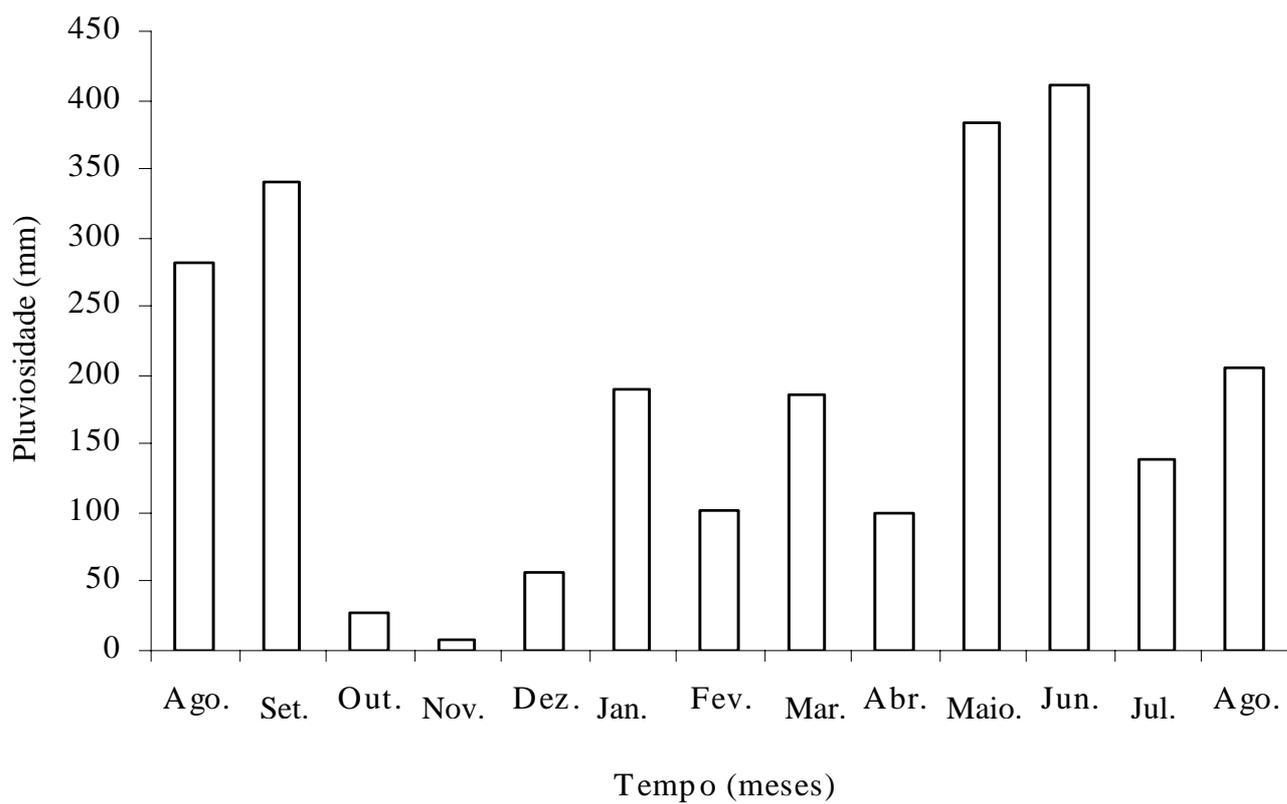


FIG. 4: Pluviosidade (mm) entre agosto de 2001 e agosto de 2002, no município de Bonito (PE). Fonte: Fábrica Bonsuco.

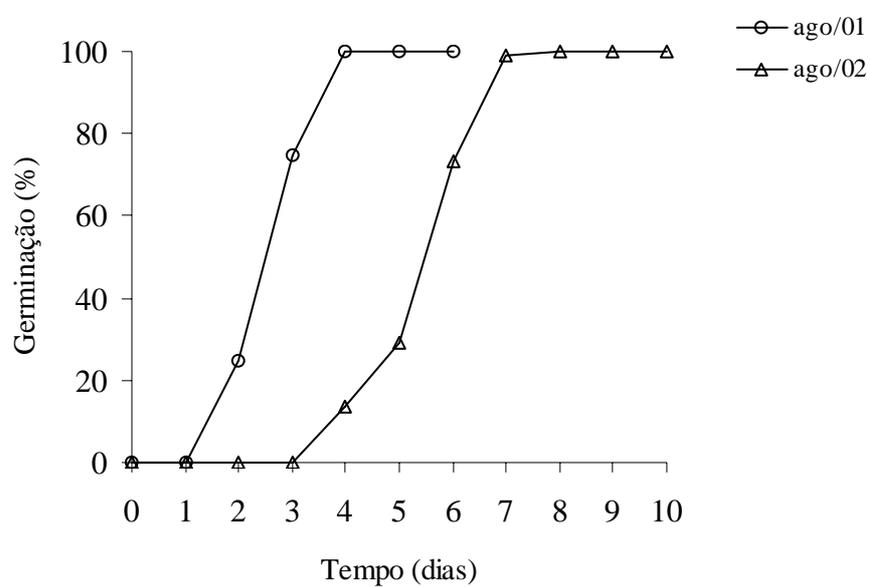


FIG. 5: Germinação de esporos recém-coletados de *Blechnum brasiliense* Desv. nos meses de agosto de 2001 e agosto de 2002, a 25°C e fotoperíodo de 12h.

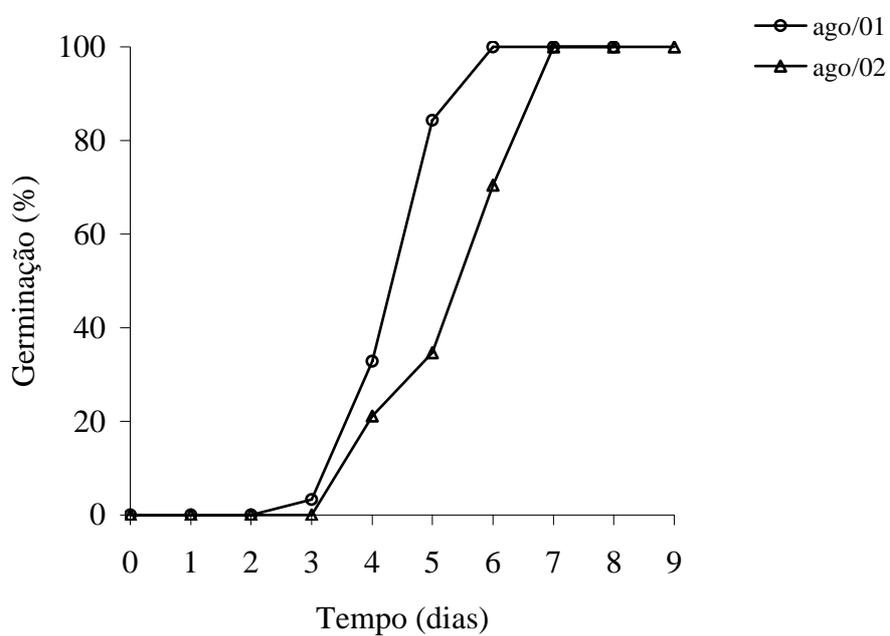


FIG. 6: Germinação de esporos recém-coletados de *Blechnum occidentale* L. nos meses agosto de 2001 e agosto de 2002, a 25°C e fotoperíodo de 12h.

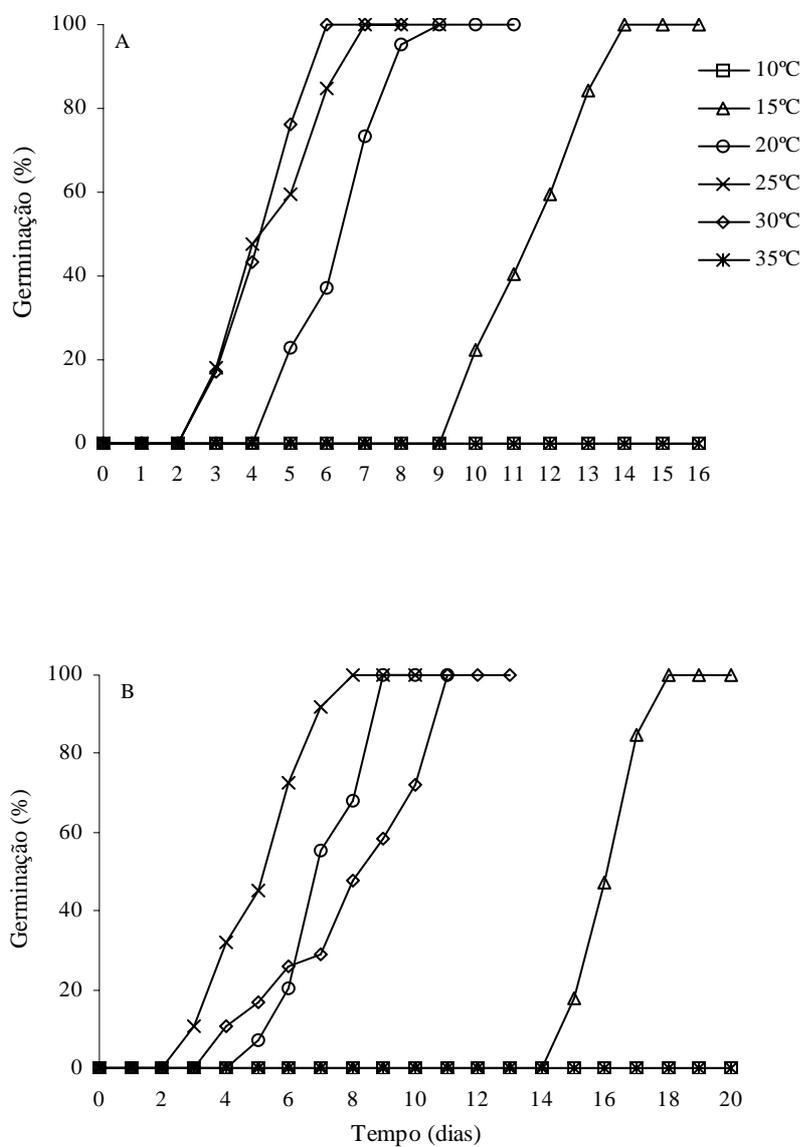


FIG. 7: Germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. (A) e *Blechnum occidentale* L. (B) mantidos em diferentes temperaturas e sob luz contínua.

Tabela 1: Velocidade e tempo médio de germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. submetidos a diferentes temperaturas e germinação sob luz contínua.

Temperatura (°C)	Velocidade de germinação	Tempo médio de germinação (dias)
15	0,0726	13,7740
20	0,1145	8,7269
25	0,1488	6,7189
30	0,1613	6,1977

Tabela 2: Velocidade e tempo médio de germinação de esporos de *Blechnum occidentale* L. submetidos a diferentes temperaturas e germinação sob luz contínua.

Temperatura (°C)	Velocidade de germinação	Tempo médio de germinação (dias)
15	0,0550	18,1512
20	0,1102	9,0717
25	0,1326	7,5384
30	0,0981	10,1847

germinação de 100% o que demonstrou a não ocorrência de danos nas células das espécies estudadas. Não foi observada germinação no escuro durante um mês de experimento, demonstrando que a temperatura não interfere no fotoblastismo.

Os estudos de pteridófitas no Brasil, com espécies de cerrado e mata, indicaram que a germinação dos esporos ocorreu a 25°C com alta velocidade e porcentagem final (Marcondes-Ferreira e Felipe, 1984; Esteves e Felipe, 1985; Randi e Felipe, 1988b; Felipe et al., 1992; Simabukuro et al., 1993). Em *Adiantopsis radiata* e *Polypodium pleopeltifolium*, por exemplo, o aumento da temperatura favoreceu a germinação (Ranal, 1999). A autora descreveu o favorecimento do desenvolvimento do gametófito nas temperaturas de 21,7 e 25,2°C.

Na Europa, esporos de *Cryptogramma cripa* apresentaram germinação favorecida a 20°C. A espécie quando exposta a temperatura de 10-15°C apresentou um atraso na germinação, mas não teve suas células alteradas (Pangua et al., 1999). Em esporos de *Onoclea sensibilis* expostos, na fase de indução, a uma temperatura de 30°C houve aumento do metabolismo e a espécie germinou no escuro (Towill, 1978; Chen e Ikuma, 1979). Esporos de *Matteuccia* e *Pteris* tiveram germinação significativa quando tratadas a um regime de temperatura de 18-24°C (Lloyd e Klekowski, 1970). Esse tipo de alteração no metabolismo não foi observado para as duas espécies estudadas no presente trabalho.

INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO MINERAL NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS – Quando submetidos a diferentes tratamentos de nutrição mineral, os esporos de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale*, apresentaram germinação no 4<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> dia, respectivamente (Fig. 8). A falta de nutrientes parece não afetar a germinação de esporos de pteridófitas, já que os mesmos possuem reservas para mantê-los em meios de cultivo que contenha apenas água (Dyer, 1979; Raghavan, 1989). A falta de nutrientes pode ocasionar a formação de gametófitos anormais ou favorecer apenas a forma vegetativa de reprodução, prejudicando assim a próxima fase, a esporofítica (Miller, 1968). Algumas diferenças puderam ser notadas entre os tratamentos nas duas espécies. Gametófitos que crescem apenas em água estão limitados a forma filamentosa. Esse tipo de desenvolvimento foi observado em *Dryopteris erythrosora*, *D. filix-mas* e *Pteridium aquilinum*. Em espécies como *Dryopteris pseudo-mas* houve formação apenas de rizóides (Dyer, 1979). Em água, os esporos de *B. brasiliense* e *B. occidentale* apenas germinaram e emitiram, juntamente com a célula rizoidal, uma única célula protalial. Em solução nutritiva 100% os gametófitos desenvolveram-se normalmente, ou seja, passaram por todos os estádios de desenvolvimento: gametófitos filamentosos, espatulado e, finalmente,

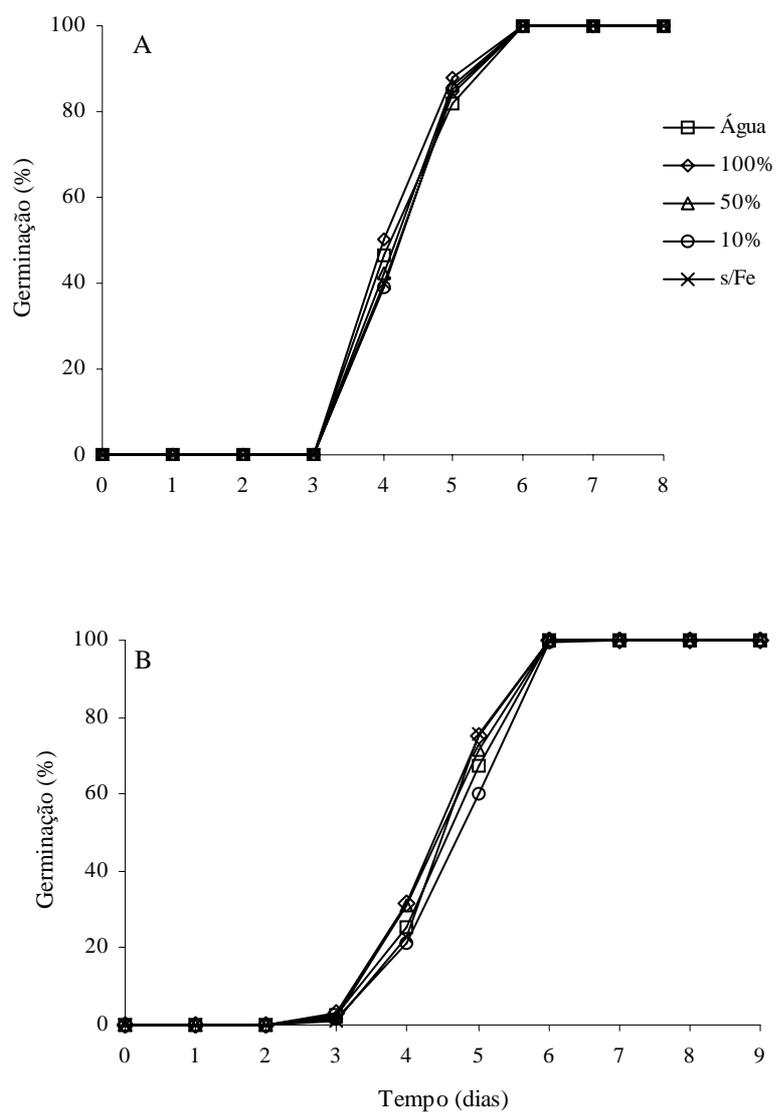


FIG. 8: Germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. (A) e *Blechnum occidentale* L. (B) mantidos em diferentes condições de nutrição mineral. Temperatura 25°C, luz branca e fotoperíodo de 12h.

cordiforme apresentando sempre a cor verde. Na solução nutritiva 50% os gametófitos se desenvolveram da mesma forma que os tratados na solução 100%. Já na solução 10% os gametófitos apresentaram-se na forma filamentosa, um estágio a mais que o apresentado em água. Na solução nutritiva com ausência de ferro, os gametófitos apresentaram-se na cor amarela, embora tenha havido desenvolvimento do gametófito.

INFLUÊNCIA DO ESTRESSE HÍDRICO NA GERMINAÇÃO DE ESPOROS – Nos experimentos com potenciais hídricos de -0,01 a -0,04 MPa, os esporos apresentaram 100% de germinabilidade. As diferentes concentrações de PEG 6000 utilizadas interferiram no padrão de germinação de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale*, resultando no atraso do início da germinação desde -0,04 MPa (Figs. 9 e 10). Nesta concentração já se pode observar o rompimento de algumas células. A partir de -0,05 MPa os esporos não germinaram ou germinaram e morreram em respeito ao estresse hídrico. A maioria dos esporos mostrou ausência de rizóides e, quando presentes, esses rizóides eram curtos.

*Blechnum occidentale* não apresentou germinação nos potenciais hídricos de -0,05 a -1,0 MPa. No entanto, esporos de *B. brasiliense* coletados em diferentes meses apresentaram pequena variação da germinação em potenciais hídricos de -0,05 a -1,0MPa (Fig. 9 e Tabela 3). Ao longo do tempo ocorre uma redução da germinação e, na maioria dos casos, observou-se a morte dos esporos.

Em sementes de algarobeira, tratados com manitol a um potencial osmótico de -0,6 MPa, foi observada uma redução da velocidade de germinação da espécie. Houve também redução da parte aérea da planta e um aumento da radícula (Perez e Tambelini, 1995). Plantas de *Sorghum* submetidas ao estresse hídrico tiveram seu desenvolvimento reduzido após o tratamento, ocorrendo uma diminuição da elasticidade dos seus tecidos. A falta de água fez com que a planta perdesse seu turgor (Jones e Turner, 1978). *Bidens biternata*, *Cnicus argyracanthus*, *Cynoglossum furcatum*, *Galinsoga ciliata*, *Oenothera rosea*, *Polygonum capitatum*, *Rumex hastatus*, *Stachys serricea* e *Viola serpens* tiveram sua taxa e germinação total diminuída à medida que aumentou o estresse hídrico. No potencial osmótico de -20 bars, exceto *Cnicus argyracanthus*, todas as espécies tiveram germinação inibida (Joshi et al., 1992). O mesmo ocorreu com a espécie *B. occidentale*, utilizada neste estudo, que teve sua germinação inibida em todos os potenciais osmóticos abaixo de -0,05MPa.

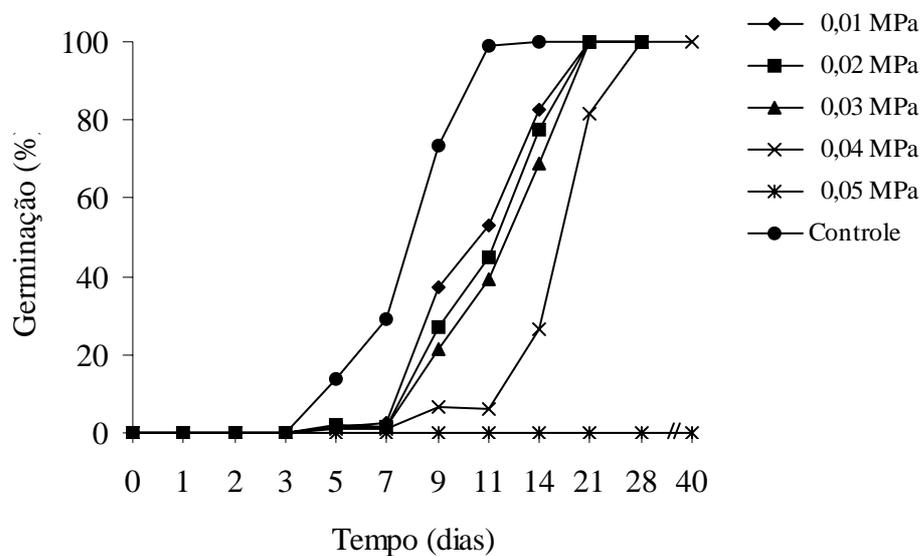


FIG. 9: Germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. mantidos em solução nutritiva de Mohr (controle) e em diferentes potenciais hídricos. Esporos do mês de agosto de 2002, a 25°C e fotoperíodo 12h.

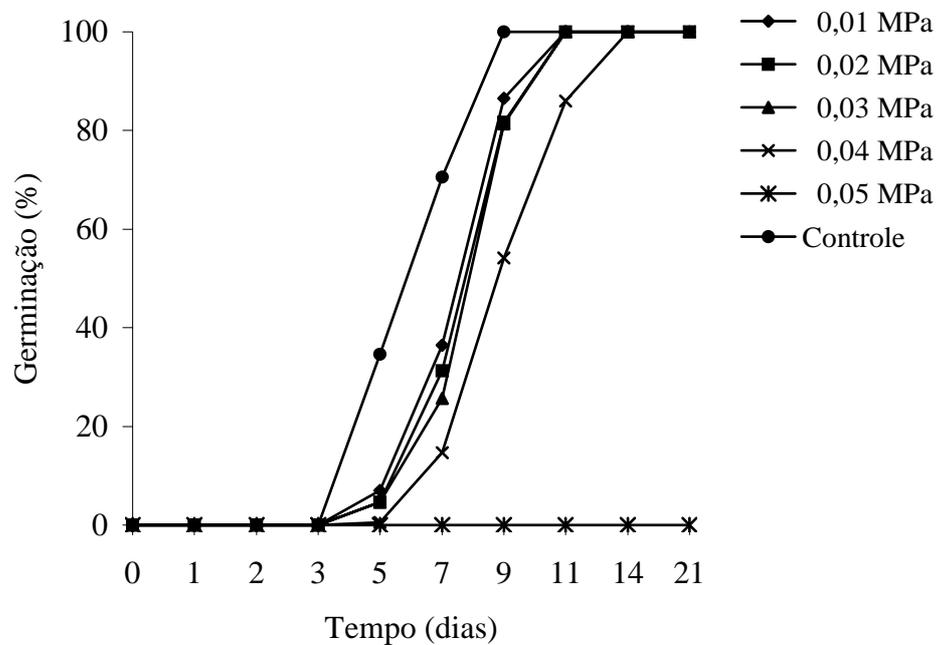


FIG. 10: Germinação de esporos de *Blechnum occidentale* L. mantidos em solução nutritiva de Mohr (controle) e em diferentes potenciais hídricos, a 25°C e fotoperíodo 12h.



VIABILIDADE DE ESPOROS ARMAZENADOS EM CONDIÇÕES CONTROLADAS E CONDIÇÕES AMBIENTAIS – Os esporos de *B. brasiliense* e *B. occidentale* armazenados no escuro a 5°C apresentaram alta viabilidade alcançando 100% de germinação nos 12 meses de armazenamento realizados (Figs. 11 e 12). Os esporos armazenados sob baixa temperatura apresentaram uma maior velocidade de germinação do que os esporos armazenados no campo (Tabelas 4 e 5).

Os esporos armazenados no campo tiveram sua viabilidade reduzida expressivamente entre os 3<sup>o</sup> e 6<sup>o</sup> meses. A perda total de viabilidade, no campo, em um ano caracteriza as espécies com potencial de formação de banco temporário. Os esporos de *B. brasiliense* enterrados no interior da mata estão sujeitos a menor oscilação térmica e hídrica, resultando na manutenção da viabilidade nos dois primeiros meses. Em *B. occidentale*, por outro lado, a viabilidade é reduzida, independente do local em que o esporo esteja no campo.

Esporos de *Polypodium vulgare* apresentaram perda de viabilidade após 7 anos de armazenamento a 4°C (Smith e Robinson, 1975). Neste caso, a viabilidade diminuiu apresentando apenas 20% de germinação. Randi (1996), estudando esporos de *Acrostichum danaeifolium* observou que após 3 anos a germinação desses esporos é lenta mas o armazenamento não interfere na viabilidade. Em *Platyserium bifurcatum*, o aumento do tempo de armazenamento não interferiu na viabilidade, influenciando apenas no número de rizóides e de células produzidas por gametófitos. Quintanilla et al. (2002), estudando *Culcia macrocarpa*, *Dryopteris aemula*, *D. corleyi*, *D. guanchica* e *Woodwardia radicans* observou que as espécies permaneciam viáveis por até 12 meses quando armazenadas a seco a 20°C.

Nos esporos de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale* foi observada uma redução do conteúdo celular nos esporos armazenados no campo. O desenvolvimento do gametófito foi normal apenas reduzido o número de esporos com conteúdo celular, porém sempre desprovidos de órgãos sexuais. Simabukuro et al. (1998) observou a redução de reservas lipídicas e aumento de número de corpúsculos em esporos de *Cyathea delgadii* durante o armazenamento e redução da germinação.

Alguns estudos indicam que o armazenamento de esporos de pteridófitas a baixa temperatura e umidade favorece manutenção da viabilidade (Dyer, 1979). Por exemplo, esporos de *Equisetum hyemale* congelados permaneceram viáveis até 16 meses de armazenamento (Whittier, 1996). Em *Tmesipteris*, a viabilidade foi mantida por 21 meses a -70°C (Whittier e Given, 1986).

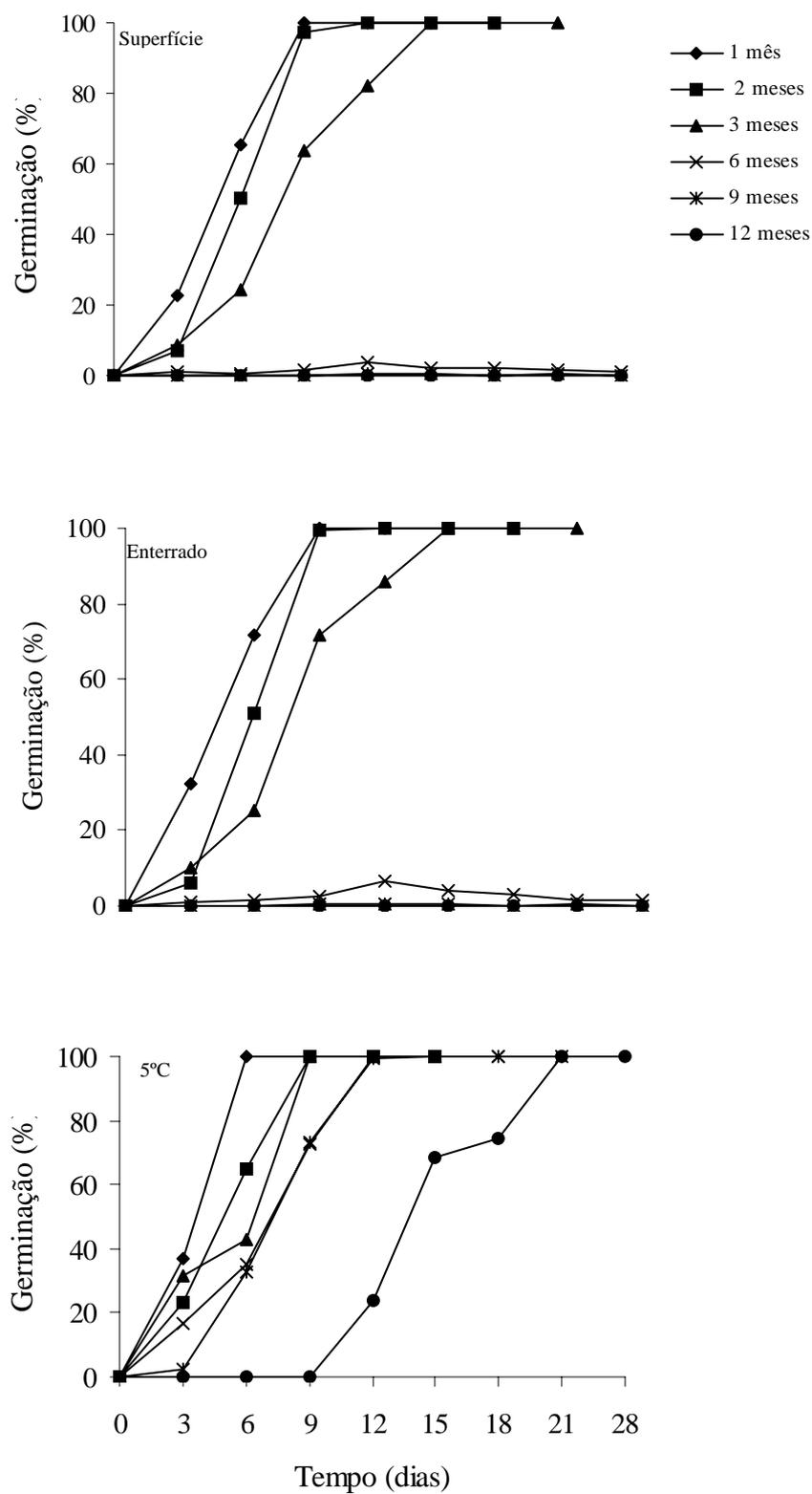


FIG. 11: Germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. armazenados no campo e no laboratório, a 25°C e fotoperíodo de 12h.

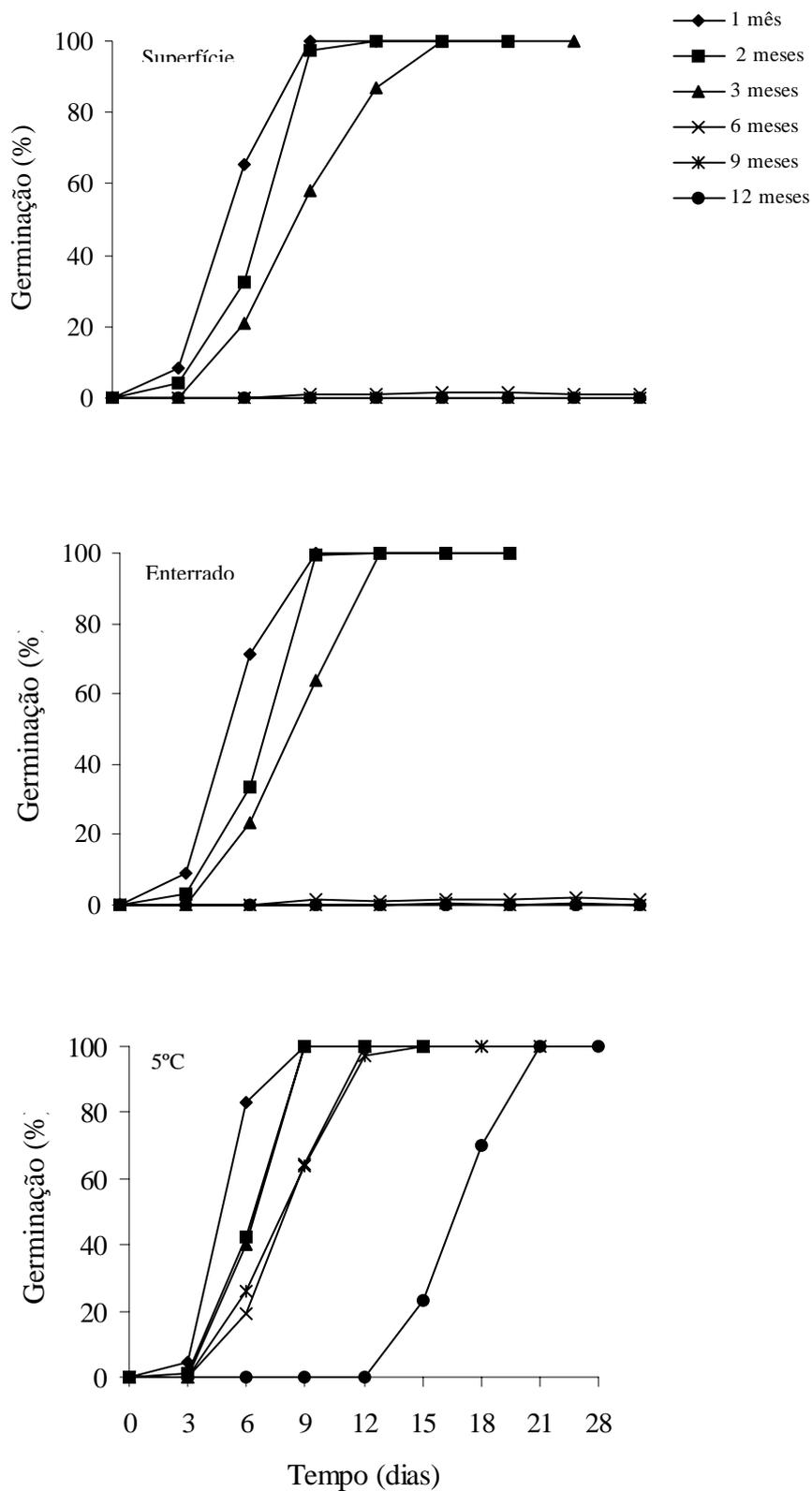


FIG. 12: Germinação de esporos de *Blechnum occidentale* L. armazenados no campo e em laboratório, a 25°C e fotoperíodo de 12h.

Tabela 4: Velocidade e tempo médio de germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. armazenados no campo e no laboratório, a 25°C e fotoperíodo de 12h.

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	Velocidade de germinação	Tempo médio de germinação (dias)
Superfície	1	0,1124	8,8922
	2	0,0909	10,9957
	3	0,0753	13,2987
	6	0,0697	14,3333
	9	0,0625	16,0000
	12	0,0000	0,0000
Enterrado	1	0,1157	8,6369
	2	0,0909	10,9976
	3	0,0761	13,1264
	6	0,0724	13,7936
	9	0,0666	15,0000
	12	0,0000	0,0000
5°C	1	0,1469	6,8028
	2	0,1126	8,8785
	3	0,1119	8,9344
	6	0,0896	11,1519
	9	0,0761	13,1395
	12	0,1356	7,3718

Tabela 5: Velocidade e tempo médio de germinação de esporos de *Blechnum occidentale* L. armazenados no campo e no laboratório, a 25°C e fotoperíodo de 12h.

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	Velocidade de germinação	Tempo médio de germinação (dias)
Superfície	1	0,1086	9,2010
	2	0,0883	11,3236
	3	0,0732	13,6435
	6	0,0586	17,0487
	9	0,0000	0,0000
	12	0,0000	0,0000
Enterrado	1	0,1095	9,1250
	2	0,0883	11,3187
	3	0,0740	13,5106
	6	0,0585	17,0877
	9	0,0555	18,0000
	12	0,0000	0,0000
5°C	1	0,1101	9,0810
	2	0,1032	9,6842
	3	0,1026	9,7447
	6	0,0835	11,9665
	9	0,0841	11,8786
	12	0,1248	8,0103

## LITERATURA CITADA

- AYRES, M.; M. AYRES, Jr; D.L. AYRES E A.A.S. SANTOS. 2000. BioEstat 2.0 – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas, Sociedade Civil Mamirauá, Manaus, 193p.
- BARROS, I.C.L. 1997. Pteridófitas ocorrentes em Pernambuco: ensaio biogeográfico e análise numérica. Tese de doutorado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 577p.
- CAMLOH, M. 1999. Spore age and sterilization affects germination and early gametophyte development of *Platyserium bifurcatum*. Amer. Fern J. 89: 124-132.
- CHEN, C-Y. e H. IKUMA. H. 1979. Photocontrol of the germination of *Onoclea* spores. Plant Physiol. 63: 704-708.
- DYER, A.F. 1979. The experimental biology of ferns. Academic Press In (London) LTD, London, 657p.
- ESTEVEVES, L.M. e G.M. FELIPPE. 1985. Fotossensibilidade de esporos de pteridófitas dos cerrados. Revta. brasil. Bot. 8: 219-222.
- \_\_\_\_\_ e G.M. FELIPPE. 1988. Efeito de luz e temperatura na germinação de *Polypodium latipes*. In: V Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo. p.29-34.
- FELIPPE, G.M.; R.M. SASSAKI e S.M.G. AVEIRO. 1992. Germinação de esporos de *Polypodium pleopeltifolium*: resultados preliminares. Acta Bot. Brasil. 6: 49-54.
- FILIPPINI, E.C.P.; S.R. DUZ e A.M. RANDI. 1999. Light and storage on the germination of spores of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook., Dicksoniaceae. Revta. brasil. Bot. 22: 21-26.
- JONES, D.L. Encyclopaedia of ferns. 1987. Timber Press Inc (Portland), Oregon.

- JONES, M.M. e N.C. TURNER. 1978. Osmotic adjustment in leaves of *Sorghum* in response to water deficits. *Plant Physiol.* 61: 122-126.
- JOSHI, M.; H. JOSHI e S.P. SINGH. 1992. Response of water, temperature and light on germination behaviour of some successional species. *Tropical Ecology* 33: 54-62.
- LABOURIAU, L.G. 1987. A germinação de sementes. *Ciência Hoje* 34: 30-37.
- LARCHER, W. 2000. *Ecofisiologia vegetal*. RiMa Artes e Textos, São Carlos. p: 183-230.
- LLOYD, R.M. e E.J. KLEKOWSKI, Jr. 1970. Spore germination and viability in pteridophyta: evolutionary significance of chlorophyllous spores. *Biotropica* 2: 129-137.
- MARCONDES-FERREIRA, W. e G.M. FELIPPE. 1984. Effects of light and temperature on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. *Revta. brasil. Bot.* 7: 53-56.
- MILLER, J.H. 1968. Fern gametophytes: as experimental. *Bot. Rev.* 34: 361-440.
- NAYAR, B.K. e S. KAUR. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. *Bot. Rev.* 37: 295-396.
- PANGUA, E., L. GARCÍA-ÁLVAREZ and S. PAJARÓN. 1999. Studies on *Cryptogramma crispera* spore germination. *Amer. Fern J.* 89: 159-170.
- PEREZ, S.C.J.G.A. e M. TAMBELINI. 1995. Efeito dos estresses salino e hídricos envelhecimento precoce na germinação de algarobeira. *Pesq. agropec. bras.* 30: 1289-1295.
- QUINTANILLA, L.G.; J. AMIGO; E. PANGUA e S. PAJARÓN. 2002. Effect of storage method on spore viability in five globally threatened fern species. *Ann. Bot.* 99: 461-467.
- RAGHAVAN, V. 1989. *Development biology of fern gametophytes*. Cambridge University Press, Cambridge. 361p.

- RANAL, M.A. 1999. Effects of temperature on spore germination in some fern species from semideciduous mesophytic forest. *Amer. Fern J.* 89: 149-158.
- RANDI, A.M. 1996. Photosensitivity, viability and storage reserves in spores of *Acrostichum danaeifolium* Langsd. & Fisch. (Pteridaceae). *Revta. brasil. Bot.* 19: 105-108.
- \_\_\_\_\_ and G.M. FELIPPE. 1988a. Effects of red and far-red on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. *Revta. brasil. Bot.* 11: 41-45.
- \_\_\_\_\_ and G.M. FELIPPE. 1988b. Efeitos da temperatura durante a pré e pós-indução e do período de armazenamento na germinação de esporos de *Cyathea delgadii* Sternb. *Hoehnea* 15: 10-19.
- SANTARÉM, E.R.; J.S. ALMEIDA-CÓRTEZ; T.S. SILVEIRA and A.G. FERREIRA. 1996. Efeito do estresse hídrico na germinação e crescimento inicial de três espécies de leguminosas. *Acta bot. bras.* 10: 213-221.
- SILVA JÚNIOR, A.H.P. 2002. Germinação e formação de banco de esporos de *Cyathea pungens* (Willd.) Domin. Monografia de graduação, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. Brasil. 32p.
- SILVA, F.C.L. 2001. Ecofisiologia da germinação de esporos e desenvolvimento de gametófitos de *Nephrolepis biserrata* (Sw.) Schott (Pteridophyta) do Refúgio Ecológico Charles Darwin, Igarassu (PE). Monografia de graduação, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. Brasil. 52p.
- SILVA, M.R. 2000. Pteridófitas da Mata do Estado – Serra do Mascarenhas- município de São Vicente Férrer, estado de Pernambuco – Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 283p.
- SIMABUKURO, E.A; L.M. ESTEVES and G.M FELIPPE. 1993. Fotoblastismo de pteridófitas de mata ciliar. *Insula* 22: 177-186.

- \_\_\_\_\_; M.A.M. CARVALHO and G.M. FELIPPE. 1998. Reserve substances and storage of *Cyathea delgadii* Sternb. spores. *Revta. brasil. Bot.* 21: 149-152.
- SMITH, D.L. and P.M. ROBINSON. 1975. Effects of spore age on germination and gametophyte development in *Polypodium vulgare* L. *New Phytol.* 74: 101-108.
- TOWILL, L.R. 1978. Temperature and photocontrol of *Onoclea* spore germination. *Plant Physiol.* 62: 116-119.
- TRYON, R.M. and A.F. TRYON. 1982. Ferns and allied plants with special reference to Tropical America. Springer-Verlag, New York. 867p.
- VILLELA, F.A.; L. DONI FILHO and E.L. SEQUIEIRA. 1991. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26: 1957-1968.
- WHITTIER, D.P. 1996. Extending the viability of *Equisetum hyemale* spores. *Amer. Fern J.* 86: 114-118.
- \_\_\_\_ and D.R. Given. 1986. The germination of *Tmesipteris* spores. *Can. J. Bot.* 65: 1770-1772.
- YOUNG, J.E. 1985. Some effects of temperature on germination and protonemal growth in *Asplenium ruta-muraria* and *A. trichomanes*. Pp: 454-455. In: A.F. Dyer & C.N. Page (eds). *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B (Biology Sciences)*. vol 86. Published by The Royal Society of Edinburgh, Edinburgh.

---

**5. *Manuscrito II a ser enviado  
para Revista de Biología  
Tropical***

**Desenvolvimento de gametófitos de *Blechnum brasiliense* Desv. e *Blechnum occidentale* L. (Pteridophyta)**

Flávia Carolina Lins da Silva<sup>1</sup> e Eliana Akie Simabukuro<sup>2</sup>

Depto. de Botânica. Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n. Cidade Universitária. Recife (PE). Cep 50670-901. Brazil. Fax: (0xx81)3271-8348. e-mail: flaviacsilva@hotmail.com.

**Abstract:** Abiotic factors such as light, temperature, humidity and substrates influence the velocity of green gametophytes development of pteridophytes. Unfavorable conditions might give rise to branched gametophytes, permanence in the filamentous shape, formation of bud and/or no formation of gametes. Substrates with high humidity, low compactation and nutrient availability favor the development of rhizoids and, consequently, gametophytes. The objective of this work was study the germination and the development of *Blechnum brasiliense* Desv. and *B. occidentale* L. gametophytes in different substrates. Fertile fronds were collected in the Mata da Azuada and in Mata da Reserva Biológica Municipal, located in Bonito municipality (PE), Brazil. The spores were separated and stored at 5°C. In the experiments, spores were sterilized in calcium hypochlorite (0.5%) before distribution in liquid medium (Mohr's solution), semi-solid medium (nutritive solution and agar 0.7%) and solid medium (sand, soil and litter). All treatments were maintained in growth chamber at 25°C and 12h photoperiod. The humidity of solid medium was maintained by adding sterile distilled water. Weekly observations were conducted and the collected gametophytes were fixed in 70% alcohol. Slides were prepared for analyses and documentation. In Mohr's solution, the *B. brasiliense* and *B. occidentale* fresh spores had the germination started in the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> day, respectively. After germination, lateral growth and subsequent gametes formation were observed. The germination was *Vittaria* type and gametophyte development was *Aspidium* type. The rhizoids were similar in both species: hyaline, without chlorophyll and with long cells. Glandular trichomes were observed in both species from 15<sup>th</sup> day of culture. Archegonia presented one aperture with 4 cells and were form subsequently to the antheridia, that

presented globose form and consisted of 3 cells (basal, opercular and annular). Although the germination on sand was similar to Mohr's solution, this substrate was considered unfavorable since gametophytes were remained in the filamentous stage with death on 30<sup>th</sup> day of culture. Spores on litter had the germination delayed with the same gametophyte development pattern. Germination and gametophyte development pattern was similar for spores in other substrates following the filamentous stage, biplanar and cordiform for both species.

**Key word:** *Blechnum brasiliense* Desv., *Blechnum occidentale* L., gametophyte, pteridophyte, substrates.

Fatores bióticos e abióticos podem influenciar na morfologia do gametófito das pteridófitas. O sucesso em cultura vai depender do meio utilizado. Esporos de *Dryopteris filix-mas*, por exemplo, permanecem filamentosos quando cultivados em meio líquido. Em condições ideais de cultura os gametófitos podem apresentar margens lisas ou enrugadas, amplas, alas com ou sem dobras ou serem ornamentados com tricomas (Atkinson e Stokey, 1964; Nayar *et al.*, 1966; Miller, 1968; Nayar e Kaur, 1971).

A fase filamentosa ou uni-dimensional dos gametófitos pode ser mantida quando alguns fatores como luz, temperatura ou nutrição mineral são alterados (Nayar *et al.*, 1966; Miller, 1968; Nayar e Kaur, 1971; Rashid, 1976; Dyer, 1979; Durán e Anton, 1996; Chiou e Farrar, 1997). Esporos de *Pteridium aquilinum* e *Dryopteris filix-mas*, quando germinados no escuro, apresentaram seus gametófitos na forma filamentosa de desenvolvimento (Rashid, 1976).

A biologia de gametófitos de pteridófitas pode variar intraespecificamente nas populações, de acordo com a densidade de esporos, quando cultivadas em laboratório (Cousens, 1979). Em *Blechnum spicant*, além da variação morfológica dos gametófitos há diferença no padrão de expressão sexual da espécie que passa de hermafrodita para unissexual (Cousens, 1979).

A morfologia de gametófitos de pteridófitas é pouco estudada e, a maioria dos trabalhos têm dado preferência a estudos taxonômicos e filéticos (Nayar e Kaur, 1971; Durán e Anton, 1996). Alguns trabalhos a respeito da morfologia e desenvolvimento de gametófitos têm sido realizados com espécies dos gêneros *Blechnum* e *Woodwardia*.

Blechnaceae é uma família homosporada composta por nove gêneros e aproximadamente 175 espécies. Dentre os gêneros pode-se destacar *Blechnum* como o maior deles com cerca de 150 espécies em todo o mundo e 50 espécies na América (Tryon e Tryon, 1982). *Blechnum* é considerado um dos gêneros mais primitivos da família (Nayar *et al.*, 1966). A família, em geral, apresenta esporos monoletes, de cor marrom, simetricamente bilateral e heteropolar, com perina presente (Large e Braggins, 1991). A respeito da fase sexual do gênero *Blechnum*, são descritos gametófitos cordiformes, simétricos e providos de tricomas por toda a superfície (Klekowski, 1969; Nayar e Kaur, 1971; Durán e Anton, 1995).

As espécies *Blechnum brasiliense* Desv. e *Blechnum occidentale* L. são terrestres, de distribuição geográfica tropical e subtropical (Tryon e Tryon, 1982). *Blechnum brasiliense* apresenta porte subarborescente, rizoma ereto e frondes de 60 a 150cm de comprimento. *Blechnum occidentale* apresenta porte herbáceo, rizoma horizontal e frondes de 30 a 60 cm (Jones, 1987; Silva, 2000). No Brasil, ambas ocorrem nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Em Pernambuco, encontram-se distribuídas desde a restinga até o agreste (Jones, 1987; Barros, 1997; Silva, 2000).

Este trabalho teve por objetivo descrever o desenvolvimento dos gametófitos de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale* em diferentes substratos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. e *Blechnum occidentale* L. foram obtidos de frondes férteis coletadas no período de março de 2001 a agosto de 2002 nas Matas da Azuada (08°03'02,5" S e 34°56'53,2" W) e da Reserva Biológica Municipal (08°30'27" S e 35°43'25" W), município de Bonito (PE), Brasil. Os espécimes identificados foram depositados no herbário UFP da Universidade Federal de Pernambuco (UFP 32993 e 32998). As frondes foram secas em casa de vegetação por um período de 5 dias. Os esporos foram obtidos através de filtração em tecido de náilon com malha de 50 $\mu$ m, armazenados a seco e mantidos em frascos plástico, no escuro, a 5°C.

Os esporos foram desinfestados em solução de hipoclorito de cálcio (0,5%) por dois minutos e distribuídos nos meios contendo solução fungicida de nistatina (100U.mL<sup>-1</sup>) (Simabukuro *et al.*, 1998). Foram utilizados meio líquido (água e solução nutritiva), semi-

sólido (solução nutritiva acrescida de ágar 0,7%) e três meio sólido (areia, solo da mata e folheto). A solução nutritiva de Mohr foi preparada segundo modificação de Dyer (1979). O tratamento com meio líquido foi distribuído em 3 erlenmeyers de 125mL contendo 25mL da solução nutritiva. Os demais tratamentos foram conduzidos em placas de Petri de 5cm de diâmetro. Em todos os tratamentos foram utilizados materiais autoclavados durante 40min, a 120°C e 1kg.cm<sup>-2</sup>. Todos os tratamentos foram mantidos em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12h.

O estudo da morfologia do gametófito foi feito a partir de experimentos em meio líquido. Lâminas foram montadas, com material fresco, em água destilada. Fotografias foram obtidas em fotomicroscópio Leica DM-RB acoplado a uma câmara de vídeo digital Leica DC 300F.

Os tipos de germinação e desenvolvimento foram classificados segundo Raghavan (1989) e Nayar e Kaur (1971), respectivamente.

## RESULTADOS

### **Solução nutritiva**

**Esporos e germinação:** Os esporos de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale* são monoletes, aclorofilados, plano-convexo e apresentam uma tênue perina de cor marrom e de fácil remoção. A germinação dos esporos, de ambas as espécies, inicia-se entre o 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> dias após a embebição, com a protusão da célula rizoidal. Após um dia do início da germinação surge a primeira célula protalial contendo cloroplastos (Figs 1 e 2). A germinação corresponde ao tipo *Vittaria*.

**Fase filamentosa:** Entre 10 e 12 dias as células passam por divisões transversais formando gametófitos filamentosos contendo de 3 a 6 células globulosas e clorofiladas em ambas espécies (Figs. 1 e 2).

**Fase laminar:** Sucessivas divisões ocorrem em todas as células do filamento até formar um gametófito espatulado (15-17 dias). O desenvolvimento do gametófito é do tipo *Aspidium* com a atividade do meristema apical de forma desigual e formação de uma das alas do

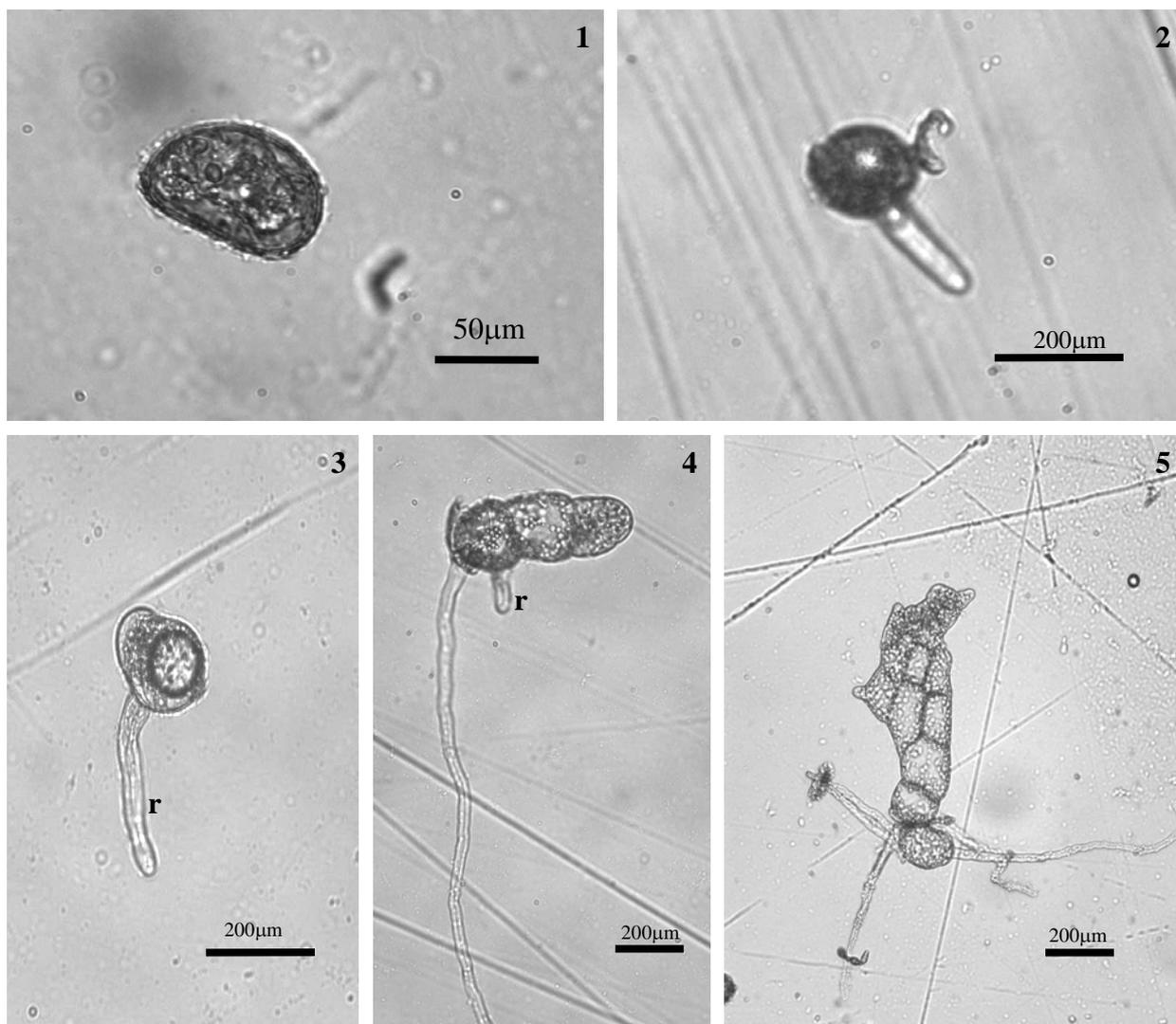


Fig. 1. Padrão de germinação e desenvolvimento protalial de *Blechnum brasiliense* Desv. 1. Esporo fresco. 2. Início da germinação. 3. Célula protalial. 4. Fase filamentosa. 5. Gametófito espatulado (15 dias). (r = rizóide, c.p. = célula protalial)

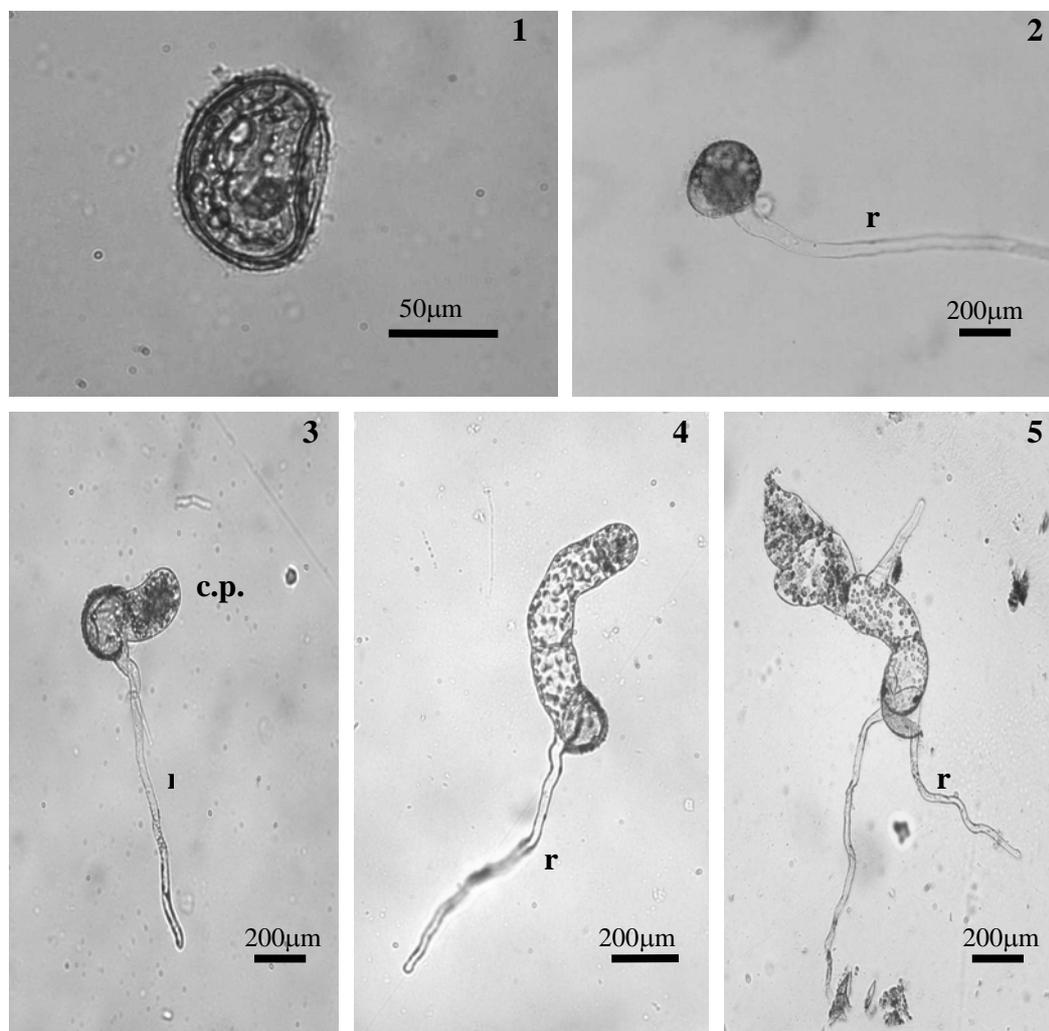


Fig. 2. Padrão de germinação e desenvolvimento protalial de *Blechnum occidentale* L. 1. Esporo fresco. 2. Início da germinação. 3. Célula protalial. 4. Fase filamentososa. 5. Gametófito espatulado (15 dias). (r = rizóide, c.p. = célula protalial)

gametófito. A segunda ala começa seu desenvolvimento após o término do desenvolvimento da primeira ala.

**Gametófito adulto:** Gametófitos de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale* com 30 dias de idade apresentam-se cordiformes com alas isodiamétricas e possuem tricomas glandulares por toda a margem e superfície ventral. Nesta fase as espécies apresentam muitos rizóides de cor parda.

**Gametângios:** Os anterídios e arquegônios surgem 45-55 dias após o início da germinação nas espécies estudadas. Estão localizados na região ventral e parte inferior dos gametófitos (Fig. 3). Nas duas espécies, os arquegônios apresentam uma abertura com 4 células. Os anterídios têm a forma globosa e estão constituídos de uma célula basal, uma opercular e uma anular.

**Germinação de esporos em diferentes substratos:** A germinação de esporos de *B. brasiliense* e *B. occidentale* ocorreu em todos os substratos (Fig. 4), sendo mais rápida na solução nutritiva. *Blechnum brasiliense* apresentou o início da germinação no 7<sup>o</sup> dia de cultura nos substratos areia, ágar e solo. Apenas no substrato folhede a germinação ocorreu no 14<sup>o</sup> dia. Já *B. occidentale* apresentou início da germinação no 7<sup>o</sup> dia nos substratos ágar e areia; no solo, a germinação teve início no 14<sup>o</sup> dia. Um atraso maior foi observado no substrato folhede que apenas germinou no 28<sup>o</sup> dia de cultivo.

**Gametófitos em diferentes substratos** - Em todos os tratamentos foi observado o desenvolvimento dos gametófitos filamentosos aos 7 dias. Os gametófitos, após 30 dias de cultivo, apresentavam a forma cordiforme nos substratos ágar, solo e folhede (Figs. 5 e 6). Nos diferentes substratos utilizados, os gametófitos apresentaram tricomas glandulares, de cor hialina, com pequena diferença no tamanho da célula basal. Foi observada a morte dos gametófitos filamentosos no substrato areia no primeiro mês de cultivo. Apesar do cultivo em diferentes substratos, não foi observada nenhuma anomalia nas células dos gametófitos cultivados.

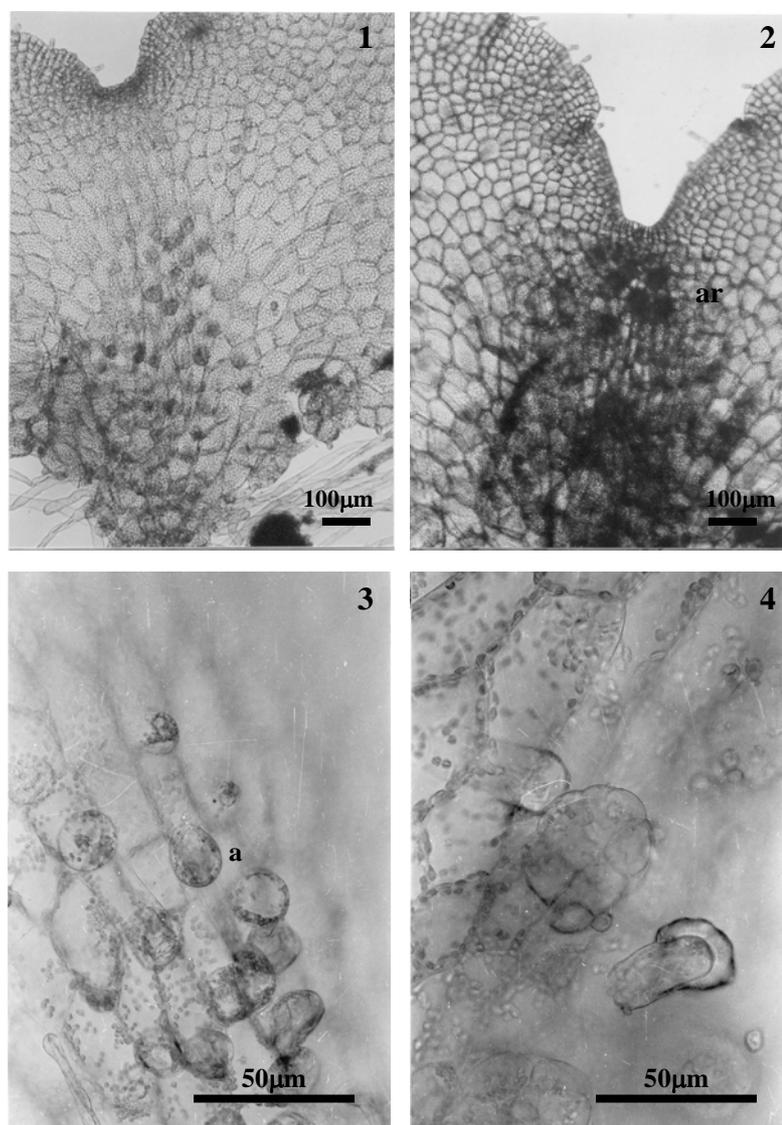


Fig. 3. Gametófito de *Blechnum brasiliense*, com 45 dias.  
1. e 2. Gametófitos adultos. 3. Anterídio. 4. Arquegônio.  
(a = anterídio, ar = arquegônio)

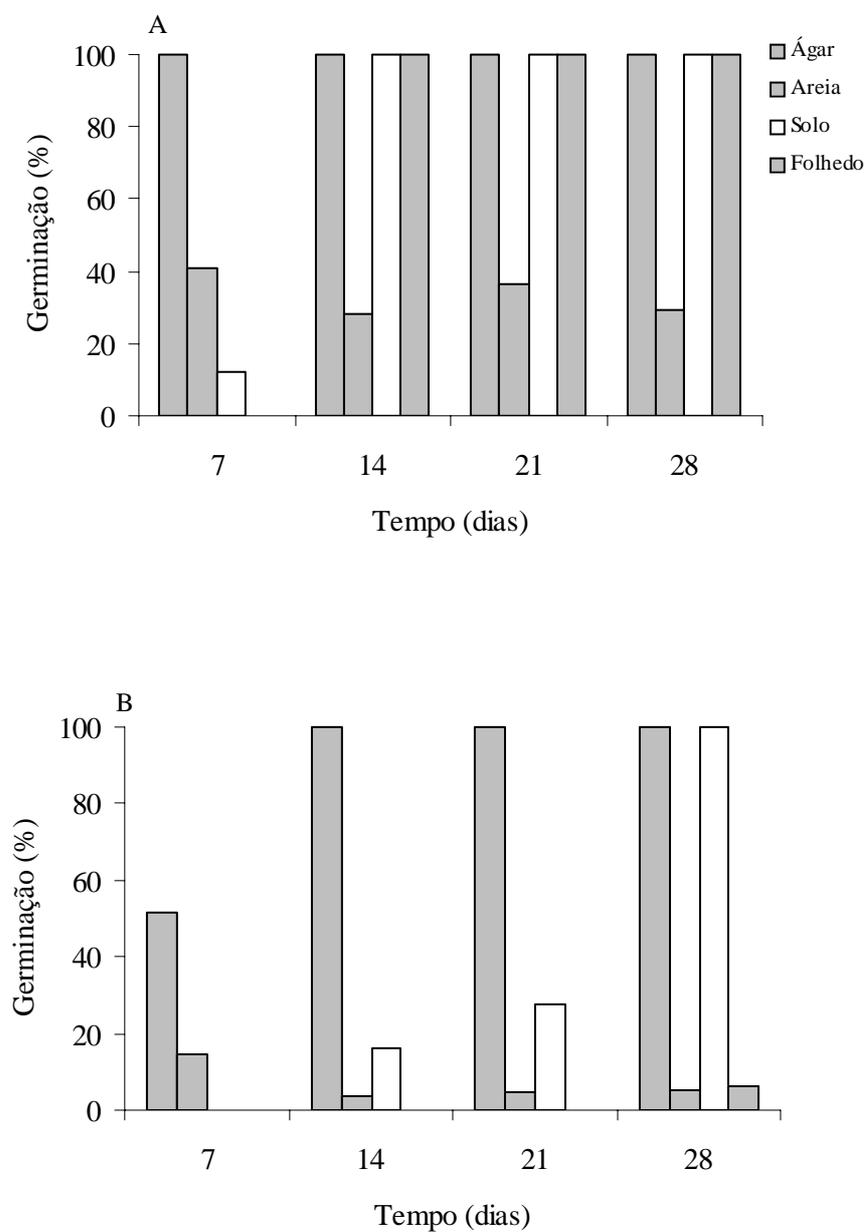


Fig. 4: Germinação de esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. (A) e *B. occidentale* L. (B) em função dos tratamentos com diferentes substratos, a 25°C e fotoperíodo de 12h.

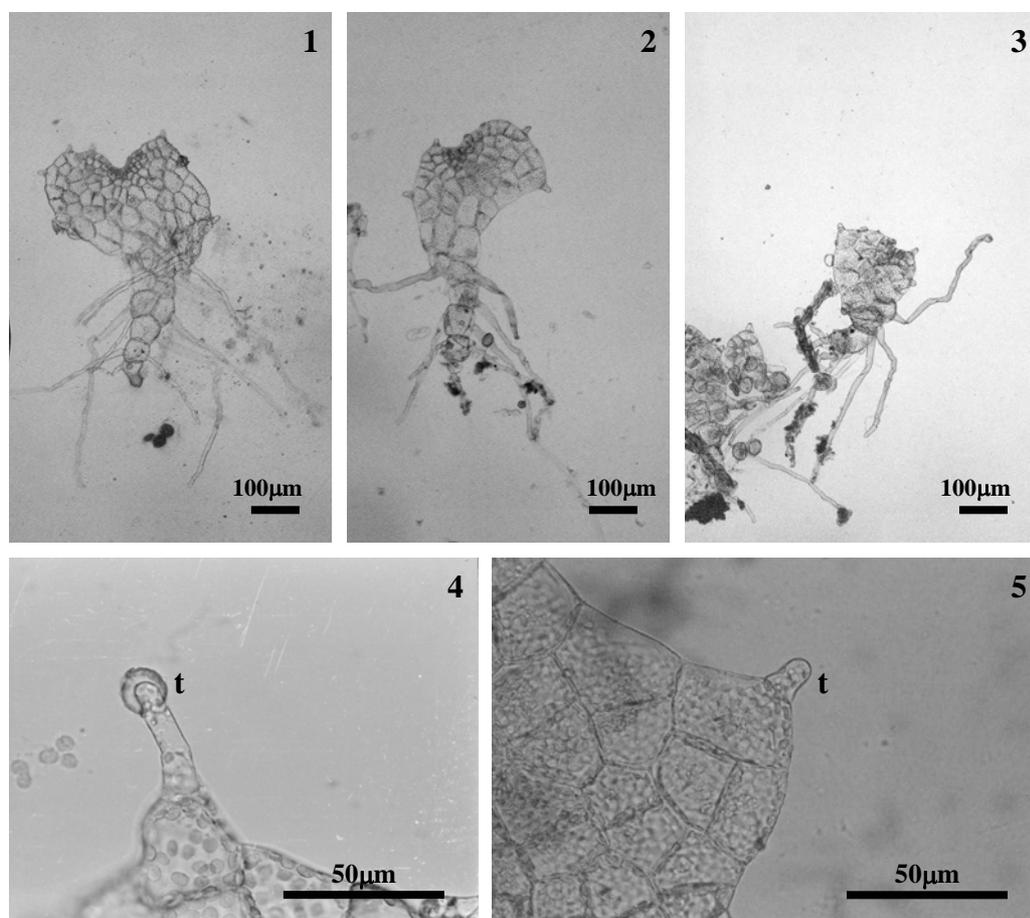


Fig. 5. Gametófito de *Blechnum brasiliense*, com 21 dias, cultivados em diferentes substratos. 1. Gametófito em ágar. 2. Gametófito no solo. 3. Gametófito no folheto. 4. e 5. Tricoma (t).

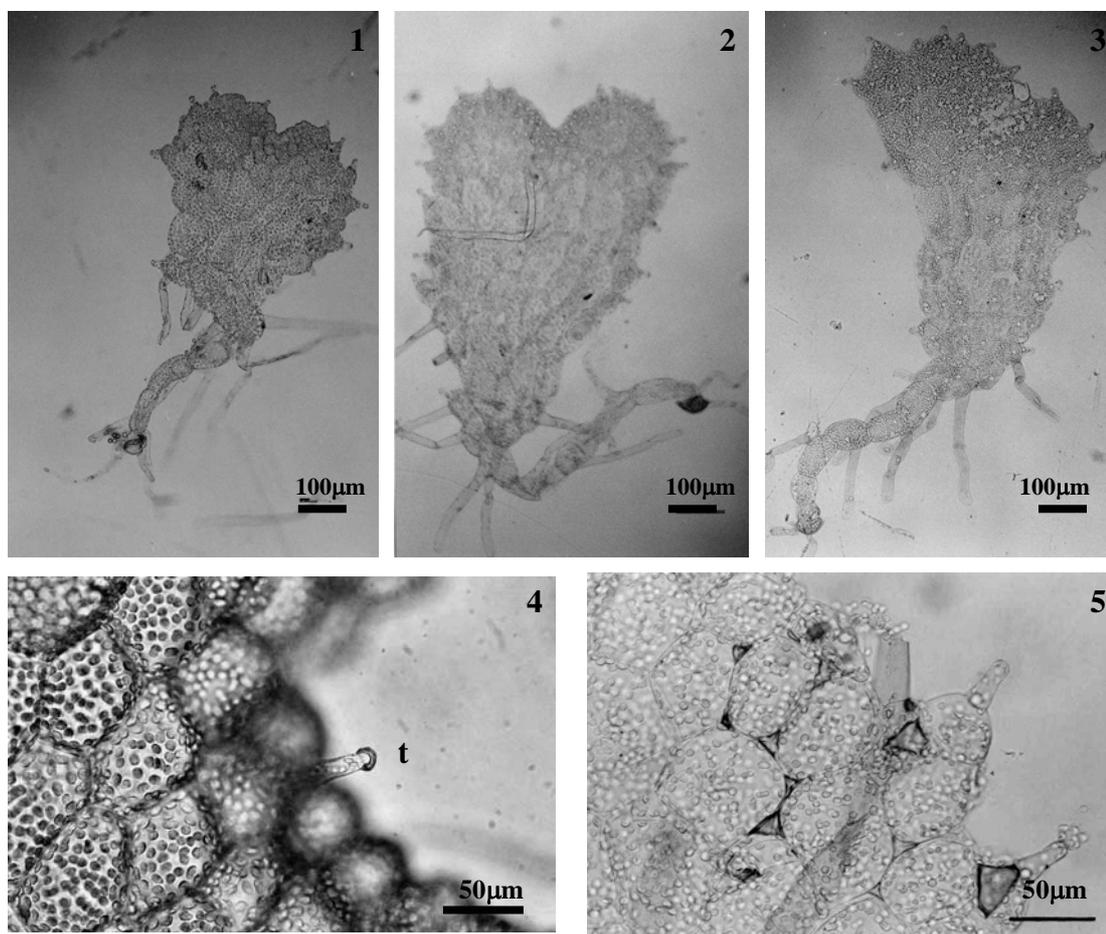


Fig. 6. Gametófito de *Blechnum occidentale*, com 21 dias, cultivados em diferentes substratos. 1. Gametófito em ágar. 2. Gametófito no solo. 3. Gametófito no folheto. 4. e 5. Tricoma (t).

## DISCUSSÃO

O desenvolvimento dos gametófitos de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale* tem como seqüência o crescimento filamentosos, espatulado e cordiforme, apresentando tricomas e muitos rizóides. A germinação dos esporos é do tipo *Vittaria* e o desenvolvimento protalial é do tipo *Aspidium*, segundo Nayar e Kaur (1971). Durán e Anton (1995) observaram a presença de ramificações em gametófitos de *Blechnum australe* subsp. *auriculatum*, *B. laevigatum* crescidos em ágar, o que não foi encontrado em *B. brasiliense* e *B. occidentale* no presente estudo. Chiou e Farrar (1997) também encontraram ramificações em *Phematosorus scolopendria*, *Campyloneurum angustifolium*, *C. phyllitidis*, *Lepisorus thubergianus* e *Microgramma heterophylla*. Pray (1971) relacionou ramificações com a hibridização, em gametófitos do gênero *Pellaea*. Apesar de Klekowski (1969) citar que *B. occidentale* pode apresentar muitos híbridos com ramificações, no presente estudo não foram observados estes tipos de anomalias.

Muitos rizóides foram encontrados nas duas espécies estudadas, porém um maior número pode ser observado no substrato solo. Em todos os substratos, os rizóides encontrados apresentaram-se hialinos, sem clorofila e com célula bastante longa.

*Blechnum brasiliense* e *B. occidentale* apresentaram numerosos tricomas de forma glandular em toda margem e superfície ventral do gametófito. Ocorreu apenas uma pequena variação da célula basal do tricoma passando de plano a prismático, mas sem relação com os substratos. Pérez-García *et al.* (1996) observaram a presença de tricomas papilados e unicelulares em *Blechnum chilense* e *B. cycadifolium*. A presença de tricomas unicelulares no gênero *Blechnum* é um caráter constante e a abundância varia de espécie para espécie (Nayar e Kaur, 1971; Rodríguez-Ríos, 1973). Outras espécies como *Woodwardia martinezii*, *W. spinulosa*, *Thelypteris patens*, *T. puberula*, *Microgramma nitida* e *Nephrolepis biserrata* apresentaram tricomas unicelulares e glandulares assim como as espécies do estudo (Jaramillo e Pérez-García, 1991; Pérez-García e Riba, 1993; Ramírez e Pérez-García, 1998, Silva, 2001). Tricomas multicelulares foram encontrados em gametófitos de *Campyloneurum phyllitidis* e *Microgramma heterophylla* (Chiou e Farrar, 1997). Vale ressaltar que assim como existem espécies com tricomas, existem aquelas que não os possui a exemplo de *Lygodium heterodoxum*, *L. venustum*, *Llavea cordifolia*, *Metaxya rostrata* e *Dydimochlaena trunculata* (Pérez-García *et al.*, 1994; Mendoza *et al.*, 1999a,b; Jaramillo *et al.*, 2000).

Os anterídios e os arquegônios foram formados independente dos substratos quando os gametófitos estavam na fase cordiforme. Apesar da formação de gametófitos bissexuais, não

foi observada fertilização dos gametas e posterior formação do esporófito em *B. brasiliense* e *B. occidentale*.

Dentre os nove gêneros da família Blechnaceae, *Blechnum* é considerado o gênero mais primitivo. Anomalias do tipo gametófito anão podem ser encontradas em seus protalos se os mesmos não tiverem em condições adequadas ao seu desenvolvimento como, por exemplo, mudanças de temperatura e de substratos (Klekowski, 1969; Nayar e Kaur, 1971). Esse tipo de anomalia não foi encontrado em *B. brasiliense* e *B. occidentale* mesmo quando cultivados em diferentes substratos.

A areia foi um substrato em que os gametófitos das duas espécies não se estabeleceram, sendo o desenvolvimento restrito à forma filamentosa. Segundo Durán e Anton (1995), a falta de nutrientes pode induzir o gametófito a permanecer na forma filamentosa, com conseqüente morte. No presente trabalho, a permanência da fase filamentosa foi observada em esporos cultivados em água, como em *Onoclea sensibilis* (Hart, 1925). Em ágar, solo e folhedo, o desenvolvimento dos gametófitos foi normal (fase filamentosa, espatulada e cordiforme). A densidade populacional pode levar a um desenvolvimento anormal e a uma mudança de hábito (Durán e Anton, 1996). Os gametófitos de *B. brasiliense* e *B. occidentale* apresentaram o hábito ereto em todos os substratos, como descrito para *Blechnum laevigatum* quando cultivado em ágar apresentou o hábito ereto de crescimento (Durán e Anton, 1996). Alguns autores relacionam o hábito ereto a facilidade do gametófito obter a água e assim realizar a fecundação.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos ao primeiro autor, e ao Dr. Marcelo Guerra, pelo auxílio nas fotografias.

## REFERÊNCIAS

Atkinson, L. & Stokey, A.G. 1964. Comparative morphology of the gametophyte of the homosporous ferns. *Phytomorphology* 14: 51-70.

Barros, I.C.L. 1997. Pteridófitas ocorrentes em Pernambuco: ensaio biogeográfico e análise numérica. Tese de doutorado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 577p.

Chiou, W.L. & Farrar, D.R. 1997. Comparative gametophyte morphology of selected species of the family Polypodiaceae. *Am. Fern J.* 87: 77-86.

Cousens, M.I. 1979. Gametophyte ontogeny, sex expression, and genetic load as measures of population divergence in *Blechnum spicant*. *Amer. J. Bot.* 66: 116-132.

Durán, M. & Anton, A.M. 1996. Erect gametophytes in *Blechnum laevigatum* in axenic cultures. *Phytomorphology* 46: 59-64.

Durán, M. & Anton, A.M. 1995. Sobre la presencia de ramificaciones en gametófitos de *Blechnum* (Blechnaceae-Pteridophyta). *Darwiniana* 33: 27-34.

Dyer, A.F. 1979. The experimental biology of ferns. Academic Press In (London) LTD, London, 657p.

Hart, C.E. 1925. Conditions for germination of spores of *Onoclea sensibilis*. *Bot. Gaz.* 79: 427-441.

Jaramillo, I.R. & Pérez-García, B. 1991. Desarrollo de los gametofitos de *Thelypteris patens* (Swartz) Small y de *Thelypteris puberula* (Baker) Morton var. *puberula*. Acta Bot. Mex. 16: 7-13.

Jaramillo, I.R., Pérez-García, B. & Mendoza, A. 2000. Fase gametofítica del helecho *Llavea cordifolia* (Pteridaceae). Rev. Biol. Trop. 48: 19-23.

Jones, D.L. 1987. Encyclopaedia of ferns. Timber Press Inc (Portland), Oregon.

Klekowski, E.J., Jr. 1969. Reproductive biology of the Pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. Bot. J. Linn. Soc. 62: 361-377.

Large, M.F. & Braggins, J.E. 1991. Spore atlas of New Zealand ferns & ferns allies. SIR Publishing (Wellington), New Zealand.

Mendoza, A., Pérez-García, B. & Riba, R. 1999a. Desarrollo protálico de *Lygodium heterodoxum* y *Lygodium venustum* (Schizaeaceae). Rev. Biol. Trop. 47: 83-92.

Mendoza, A., Pérez-García, B. & Riba, R. 1999b. Morfología y anatomía del gametofito de *Didymochlaena truncatula* (Dryopteridaceae). Rev. Biol. Trop. 47: 99.

Miller, J.H. 1968. Fern gametophytes as experimental material. Bot. Rev. 34: 361-440.

Nayar, B.K. & Kaur, S. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. Bot. Rev. 37: 295-396.

Nayar, B.K., Bajpai, N. & Raza, F. 1966. Morphological studies on some species of *Blechnum*, *Doodia*, *Woodwardia* and *Stenochlaena*: I. The gametophytes and the juvenile sporophytes. Bot. J. Linn. Soc. 59: 405-423.

Pérez-García, B. & Riba, R. 1993. Observaciones sobre los gametofitos de *Woodwardia martinezii* Maxon ex Weatherby y *W. spinulosa* Mart. & Gal. (Blechnaceae). Acta Bot. Mex. 21: 7-14.

Pérez-García, B.; Mendoza, A. & Riba, R. 1994. Desarrollo gametofítico de *Metaxya rostrata* (Filicales: Metaxyaceae). Rev. Biol. Trop. 42: 455-460.

Pérez-García, B.; Mendoza, A. & Ricci, M. 1996. Morfogénesis de la fase sexual de *Blechnum chilense* y *Blechnum cycadifolium* (Pterophyta: Blechnaceae). Rev. Biol. Trop 44. Disponível em <[www.ots.ac.cr/tropiweb.shtml](http://www.ots.ac.cr/tropiweb.shtml)> Acesso em: junho de 2002.

Pray, T.R. 1971. The gametophytes of natural hybrids in the fern genus *Pellaea*. Am. Fern J. 61: 128-136.

Raghavan, V. 1989. Development biology of ferns. Cambridge University Press, New York, p.361.

Rashid, A. 1976. An introduction to pteridophyta (Diversity and differentiation). Vikas Publishing House PUT LTD, New Delhi, 283p.

Ramírez, M.R. & Pérez-García, B. 1998. Fase gametofítica del helecho *Microgramma nitida* (Polypodiaceae). Rev. Biol. Trop. 46: 587-593.

Rodríguez-Ríos, R. 1973. Morfología de los protalos y esporófitos jóvenes de algunas especies chilenas de *Blechnum* (Polypodiaceae s.l.). Gayana 22: 1-30.

Silva, F.C.L. 2001. Ecofisiologia da germinação de esporos e desenvolvimento de gametófitos de *Nephrolepis biserrata* (Sw.) Schott (Pteridophyta) do Refúgio Ecológico Charles Darwin, Igarassu (PE). Monografia do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 52p.

Silva, M.R. 2000. Pteridófitas da Mata do Estado – Serra do Mascarenhas- município de São Vicente Férrer, estado de Pernambuco – Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 283p.

Simabukuro, E.A., Carvalho, M.A.M. & Felipe, G.M. 1998. Reserve substances and storage of *Cyathea delgadii* Sternb. spores. Revta. brasil. Bot. 21: 149-152.

Tryon, R.M. & Tryon, A.F. 1982. Ferns and allied plants with special reference to Tropical America. Springer-Verlag, New York. 867p.

---

**6. *Manuscrito III a ser enviado  
para Revista Brasileira de  
Biologia***

**BANCO DE ESPOROS DE PTERIDÓFITAS DE MATAS DE ALTITUDE DO  
MUNICÍPIO DE BONITO (PE)**

Flávia Carolina Lins da Silva e Eliana Akie Simabukuro

Departamento de Botânica, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes  
Rego, s/n. Cidade Universitária. Cep 50670-901. Recife (PE). Brasil.

(Com 9 figuras)

**ABSTRACT**

**Fern Spore bank from "Matas de Altitude", Bonito municipality (PE)**

Spore bank of ferns, generally, is temporary and formed by spore rain from local species or species from other vegetations. The objective of this work was to compare the spore bank in the soil of two Atlantic Forest fragments in Bonito municipality, Pernambuco state (Mata da Azuada and Mata da Reserva Biológica Municipal). Soil samples were collected in the August of 2001 (rainy season) and January of 2002 (dry season). In each place, ten points were selected and soil 0-5cm depth was collected. Each soil sample was distributed in five Petri dishes of 6cm diameter and maintained at 25°C and 12h photoperiod. The assessment was during six months. The total number of gametophytes was classified in morpho-types, type of development and with or without trichomes. It was observed gametophytes in the first month of experiment. Rapid gametophyte development and higher density occurred in Reserva Biológica Forest soil what resulted in early sporophytes formation. Thirteen gametophyte types were identified and the majority was with trichomes. The higher diversity of gametophytes was found in samples from Mata da Reserva, in the rainy season. In both

places, there were more gametophytes in rainy season soil sample. Sporophytes appeared after the three month of culture.

Key words: Pteridophyta, spore bank, Atlantic forest

## RESUMO

O banco de esporos de pteridófitas, geralmente, apresenta-se na forma temporária e constituída por esporos de espécies ocorrentes ou não na vegetação local. O objetivo deste trabalho foi comparar o banco de esporos no solo de dois fragmentos de mata atlântica no município de Bonito, Pernambuco (matas da Azuada e da Reserva Biológica Municipal). Amostras foram coletadas em agosto de 2001 (estação chuvosa) e janeiro de 2002 (estação seca). Em cada local, foram coletados solos 0-5cm de profundidade em dez pontos. O solo de cada ponto foi distribuído em placas de Petri de 6cm de diâmetro e mantidos a 25°C e fotoperíodo de 12h. A avaliação foi feita durante seis meses através da contagem total de gametófitos e classificação dos morfotipos, com a caracterização do tipo de desenvolvimento, formato e tricomas. O surgimento dos gametófitos ocorreu a partir do primeiro mês de cultivo. Ao comparar as matas, observa-se rápido desenvolvimento de gametófitos no solo da mata da Reserva que resultou em alta densidade e antecipação da formação dos esporófitos. Foram identificados 13 morfotipos de gametófitos no solo das duas matas, havendo uma predominância da forma tricomadas. A maior diversidade de gametófitos foi encontrada nas amostras da mata da Reserva na estação chuvosa. Nos dois locais, houve maior número de gametófitos durante a estação chuvosa. Esporófitos surgiram a partir do 3<sup>o</sup> mês de cultivo.

Palavras-chave: pteridófitas, banco de esporos, mata atlântica

## INTRODUÇÃO

O estudo do banco natural de esporos no solo é muito importante para a criação de uma nova linha de conservação, incluindo a restauração de populações, pois traz informações a respeito das estratégias reprodutivas de espécies de pteridófitas. Através do banco de esporos é possível verificar tanto a promoção da germinação de esporos armazenados no solo, como conhecer a vegetação original, considerados materiais potenciais para a conservação (Dyer, 1994).

As espécies encontradas no banco podem ou não compor a flora local, uma vez que os esporos têm a capacidade de serem dispersos a longas distâncias. Grupos de espécies homosporadas têm a habilidade de dispersar e migrar para locais completamente diferentes do local de origem (Peck *et al.*, 1990). Banco de esporos de pteridófitas, geralmente, apresenta-se na forma temporária e constituído por esporos de espécies ocorrentes ou não na vegetação local.

O banco de sementes e/ou esporos permanece dormente no solo até que as condições estejam favoráveis à germinação e ao crescimento da espécie (Quintana-Ascencio *et al.*, 1996). A maioria das espécies de pteridófitas é fotossensível, sendo assim a luz um dos fatores primordiais para desencadear a germinação (Miller, 1968). Além da luz, a temperatura é um outro fator que estimula a quebra de dormência de esporos armazenados no solo. Existem esporos que submetidos a altas temperaturas ativam seu metabolismo e germinam (Miller, 1968; Dyer, 1979). Esporos de *Cyathea delgadii* e *Polypodium latipes* quando tratados com temperaturas alternadas apresentam a capacidade de germinar mesmo no escuro (Marcondes-Ferreira & Felipe, 1984; Esteves & Felipe, 1988).

A viabilidade é um fator de grande importância para o estudo do banco, seja de esporos ou sementes. O número de esporos viáveis no banco decresce de acordo com a profundidade do solo (Dyer & Lindsay, 1992). Esporos aclorofilados apresentam alta capacidade de manterem-se viáveis por mais tempo no banco de esporos no solo. Alguns esporos apresentam capacidade de germinar rapidamente e, conseqüentemente, apresentam alta taxa de crescimento de gametófitos (Lloyd & Klekowski, 1970).

O objetivo deste trabalho foi verificar a formação de banco de esporos no solo e acompanhar o desenvolvimento dos tipos morfológicos de gametófitos e esporófitos em fragmentos de floresta tropical.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nas matas da Azuada e da Reserva Biológica Municipal, localizadas no município de Bonito-PE, a 08°29'40'' S e 30°41'45'' W (Fig. 1). O Município situa-se cerca de 140km da cidade do Recife, estando inserido entre o Agreste Meridional e a Zona da Mata. O local é um brejo de altitude, com o relevo ondulado e altitude média de 800m (Sales *et al.*, 1998).

Foram demarcados 10 pontos em cada mata onde foram coletados solos da superfície com o uso de um cilindro metálico de 5cm de diâmetro. As coletas foram feitas nos meses de agosto de 2001 e janeiro de 2002, final da estação chuvosa e seca, respectivamente. O solo superficial (0-5cm de profundidade) coletado em cada ponto foi distribuído em 5 placas de Petri de 6cm de diâmetro contendo na base uma fina camada de areia lavada com gelatina (Simabukuro *et al.*, 1998) e mantido em câmara BOD (NT 708), a 25°C e fotoperíodo de 12h para observar a germinação do banco de esporos e a formação de esporófitos. A avaliação foi quinzenal durante seis meses. Foram contados os gametófitos formados agrupando-os em morfotipos.

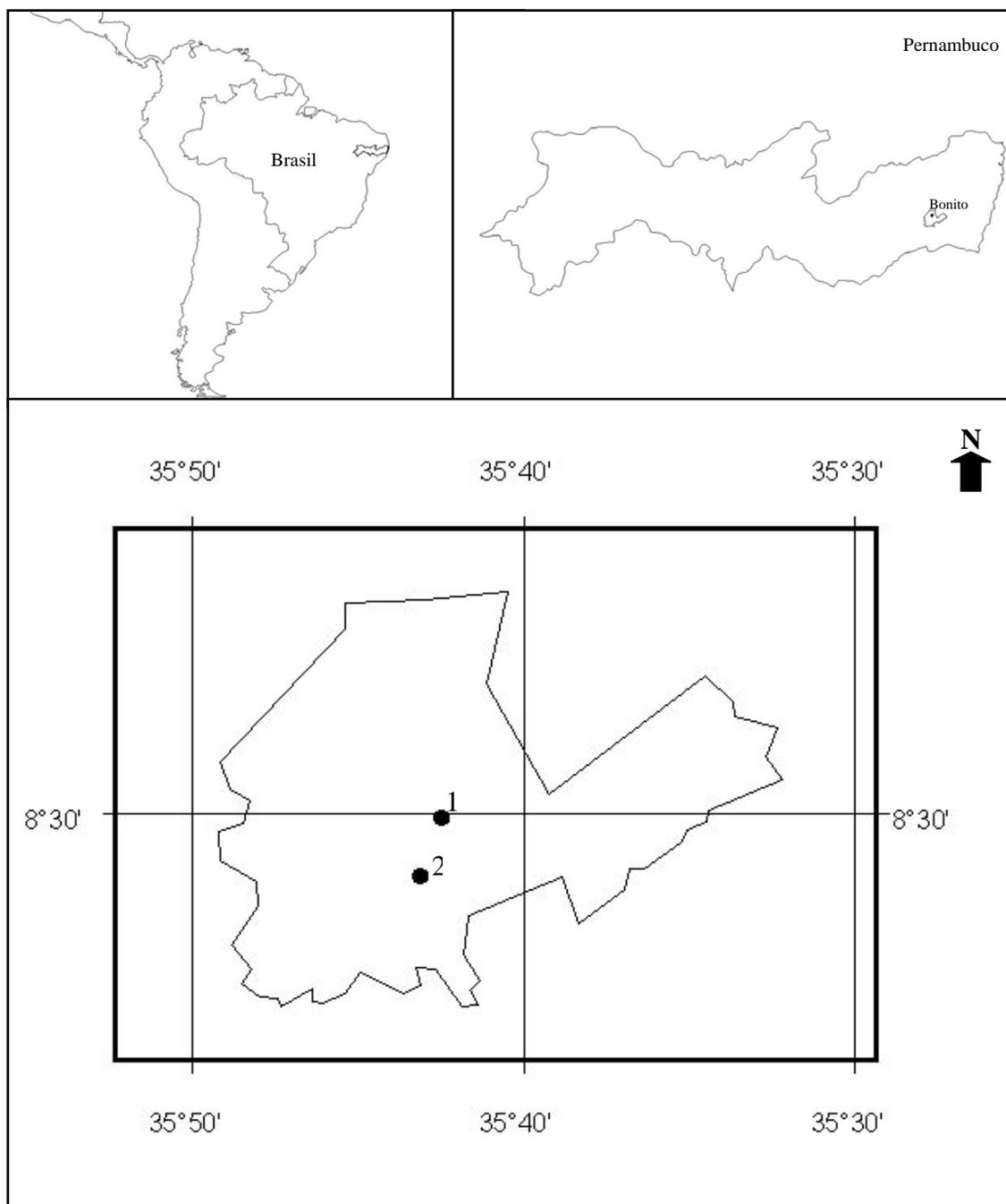


Fig. 1: Localização das áreas de estudo no município de Bonito (PE), Brasil. Mata da Reserva (1) e Mata da Azuada (2).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A rápida germinação de esporos e a formação de gametófitos foram observadas nas amostras coletadas na estação chuvosa, a partir do 1º mês. Observou-se ainda que a germinação não tem sincronismo, independente da estação de coleta. Os números totais de gametófitos encontrados nas amostras das matas da Azuada e da Reserva foram superiores na estação chuvosa em relação a estação seca, embora excepcionalmente, em janeiro foi observado alto índice de pluviosidade (Fig. 2).

. Apesar da mata da Reserva ser mais aberta e reter menos umidade, o número de gametófitos foi superior ao encontrado na mata da Azuada (Figs. 3 e 4). Com o passar do tempo, houve aumento do número total de gametófitos. No entanto, foi observada uma queda brusca no 6º mês de acompanhamento nas amostras da mata da Azuada (Fig. 3), podendo ser consequência do aparecimento de esporófitos (Fig. 8). Apesar da elevada densidade de gametófitos nas placas, a mortalidade de gametófitos foi inferior a natalidade. O mesmo resultado não foi observado por Silva Júnior (2002), nas amostras coletadas na mata da Azuada, onde o número total de gametófitos foi aumentando ao longo dos 6 meses de experimento. A presença de gametófitos em todos materiais indica que parte do banco de esporos no solo está sendo mantido. A reposição dos esporos através da chuva polínica e/ou manutenção parcial da viabilidade dos esporos dispersos anteriormente são responsáveis pela existência de germinação.

Foram encontrados 13 morfotipos de gametófitos nas estações chuvosa e seca durante os 12 meses de contagem (Fig. 5, Tabelas 1 e 2). O Tipo L é exclusivo para Mata da Azuada. Os Tipos L, M e N não ocorreram na mata da Reserva na estação chuvosa. Segundo Santiago (2002), 53 espécies de pteridófitas estão presentes na mata da Reserva, enquanto 50 espécies foram encontradas na mata da Azuada por Lira (comunicação pessoal). O número de morfotipos não corresponde ao número das espécies encontradas no local, indicando que nem todas as espécies tiveram seus esporos dispersos e/ou mantidos viáveis nos locais estudados. Silva Júnior (2002) estudou a presença de banco de esporos em uma área alagável no interior da mata da Azuada. O presente trabalho foi realizado nas proximidades, porém separado pelo riacho da Azuada e em área não alagável, mudanças suficientes para alterar o tipo de banco de esporos. Onze morfotipos foram comuns aos dois estudos.

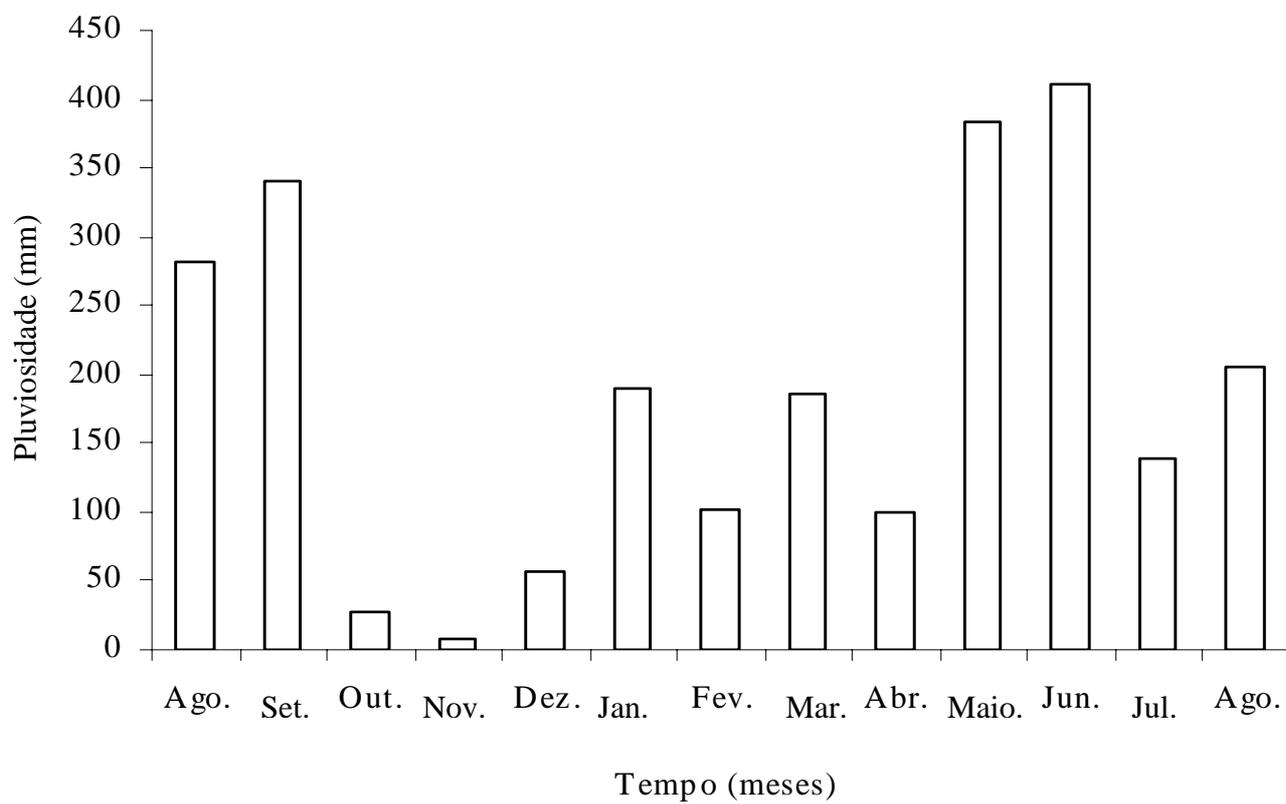


Fig. 2: Pluviosidade (mm) entre agosto de 2001 e agosto de 2002, no município de Bonito (PE). Fonte: Fábrica Bonsuco.

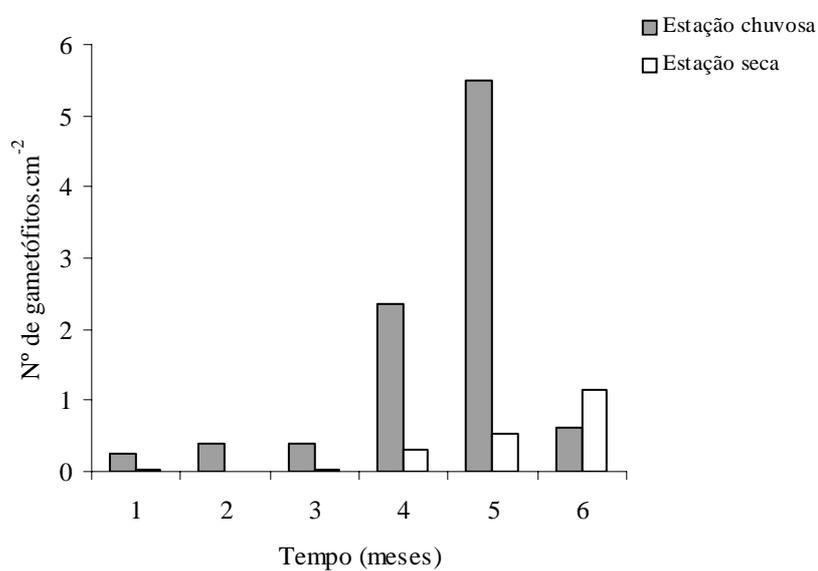


Fig. 3: Número de gametófitos formados em solos coletados na Mata da Azuada, município de Bonito (PE) na estação chuvosa (agosto de 2001) e seca (janeiro de 2002). Experimentos mantidos por seis meses a 25°C e fotoperíodo de 12h.

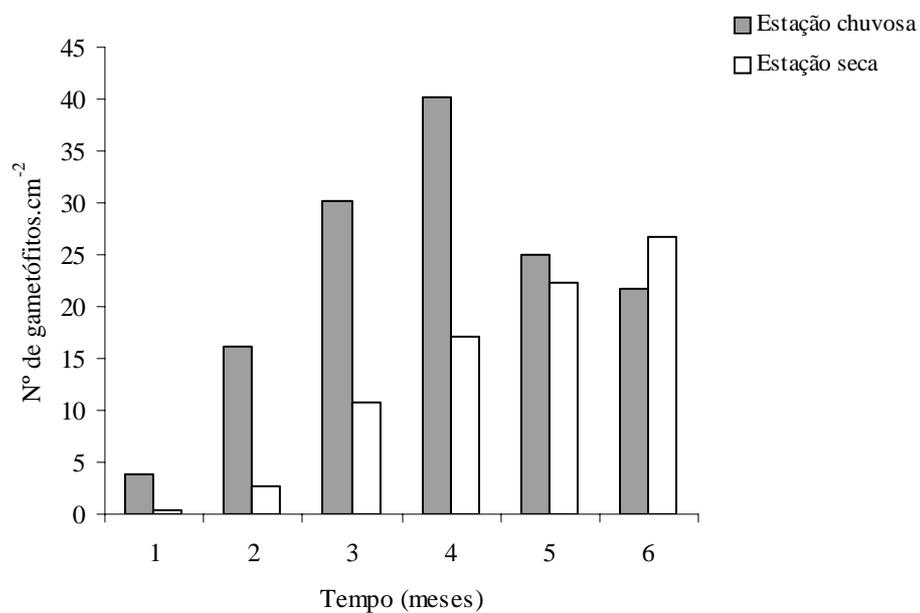


Fig. 4: Número de gametófitos formados em solos coletados na Mata da Reserva, município de Bonito (PE) na estação chuvosa (agosto de 2001) e seca (janeiro de 2002). Experimentos mantidos por seis meses a 25°C e fotoperíodo de 12h.

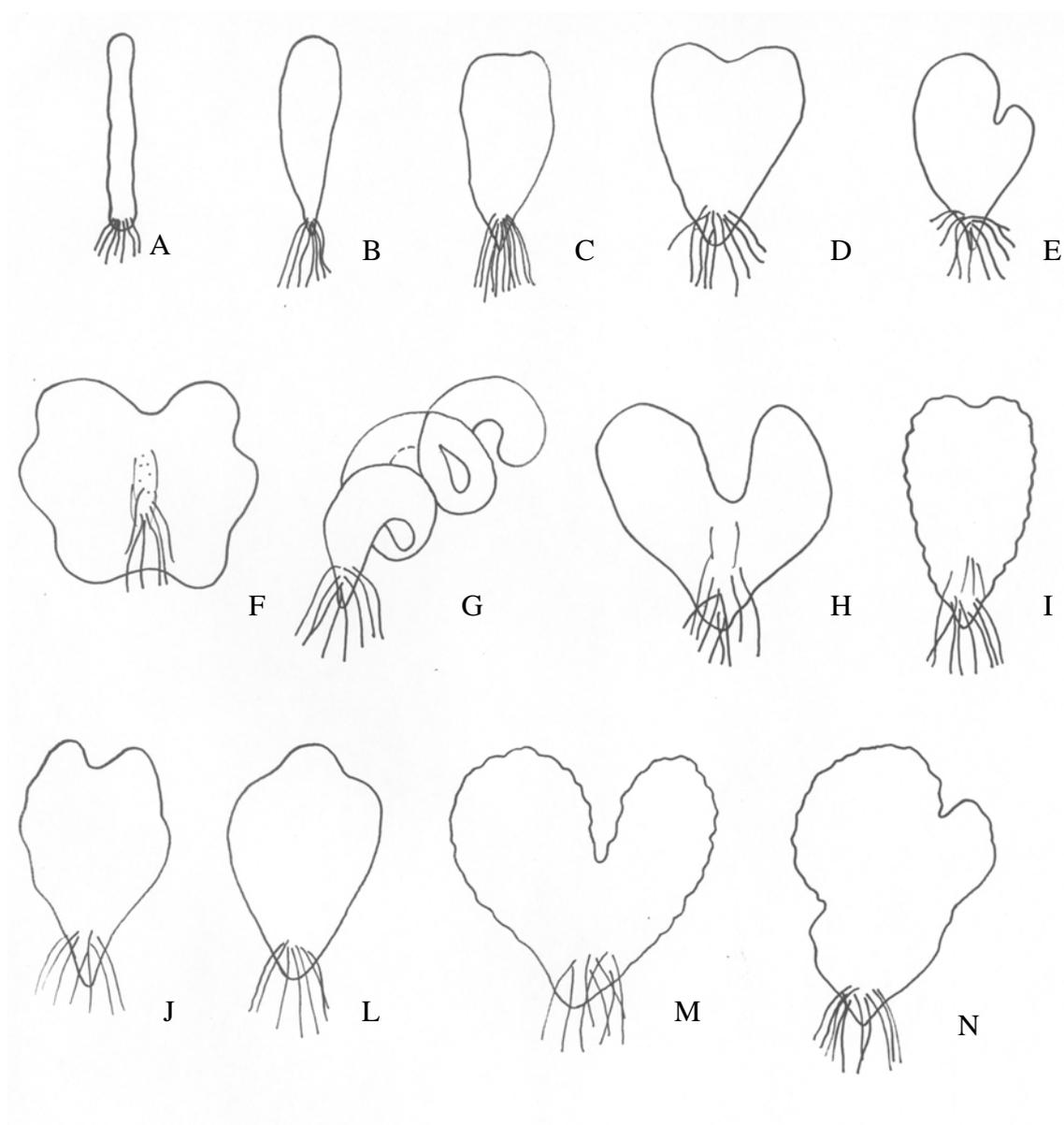


Fig. 5: Morfotipos de gametófitos presentes em solos da superfície das matas da Azuada e da Reserva, no município de Bonito (PE).

Tabela 1: Número total de morfotipos gametofíticos encontrados nas amostras da estação chuvosa nas matas da Azuada e da Reserva.

Morfotipo	Nº total de morfotipos/meses											
	Mata da Azuada						Mata da Reserva					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
A	9	5	0	2	0	0	0	132	2	0	0	1
B	22	15	2	30	18	1	521	534	302	283	106	10
C	1	12	3	3	12	1	11	138	30	51	0	0
D	1	7	34	35	206	4	4	1212	1960	622	140	0
E	0	14	7	21	23	6	0	167	255	26	1053	492
F	0	0	6	40	112	117	0	75	1253	538	11	70
G	0	2	0	30	89	69	0	19	453	0	572	577
H	0	0	5	153	162	244	0	0	0	2720	0	0
I	0	0	0	3	0	1	0	0	0	5	0	0
J	0	0	0	5	1	0	0	0	0	1430	0	0
L	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
M	0	0	0	4	145	453	0	0	0	0	0	0
N	0	0	0	7	10	3	0	0	0	0	0	0
Número total	33	55	57	334	778	899	536	2277	4255	5675	1882	1150

Tabela 2: Número total de morfotipos gametofíticos encontrados nas amostras da estação seca nas matas da Azuada e da Reserva.

Morfotipo	Nº total de morfotipos/meses											
	Mata da Azuada						Mata da Reserva					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
A	5	1	4	1	0	1	20	176	216	60	13	0
B	0	0	1	5	4	3	23	158	196	441	140	0
C	0	0	2	0	16	0	2	2	95	98	318	0
D	0	0	0	8	23	18	0	105	540	324	380	83
E	0	0	0	2	0	0	0	5	74	80	954	1016
F	0	0	0	0	4	20	0	0	126	33	771	179
G	0	0	0	11	11	8	0	5	162	53	11	3
H	0	0	0	11	16	63	0	43	0	341	53	125
I	0	0	0	7	0	0	0	0	0	5	3	0
J	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	0	0	0	0	2	49	0	0	106	735	1651	2374
N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Número total	5	1	7	45	76	162	45	494	1515	2172	4294	3780

Devido a difícil identificação, no presente trabalho, os gametófitos foram classificados quanto a presença ou ausência de tricomas. Segundo Dyer (1994), a presença ou ausência de tricomas é um caráter importante para identificação de espécies. Neste estudo, tanto estação chuvosa quanto a seca, foi encontrado um maior número de gametófitos tricomados (Figs. 6 e 7). O mesmo padrão foi encontrado em banco de esporos de mata ciliar e cerrado por Simabukuro *et al.* (1998).

A formação de esporófitos foi observada nas amostras de solo das estações chuvosa e seca, a partir do 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> mês na mata da Reserva e da Azuada, respectivamente (Figs. 8 e 9). Simabukuro *et al.* (1998) observou a formação de esporófitos apenas nas amostras coletadas na estação seca.

Finalmente, observou-se que ocorre reserva de esporos natural no solo e que esta pode ser utilizada para a preservação de áreas. Os esporos que compõem um banco podem não pertencer ao local de onde foi coletado o solo devido a capacidade de dispersão. Neste caso o banco de esporos pode ser diferente da vegetação local.

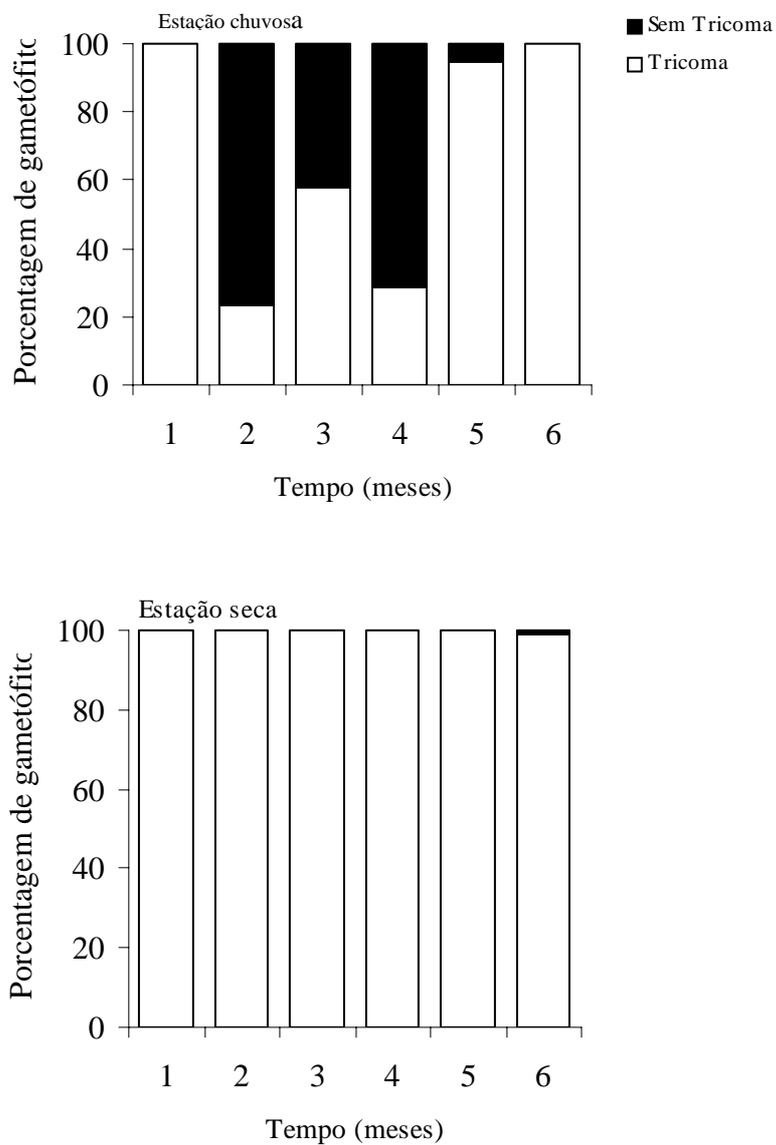


Fig. 6: Porcentagem de gametófitos com e sem tricoma amostrados nas estações chuvosa e seca na Mata da Azuada. Município de Bonito - PE.

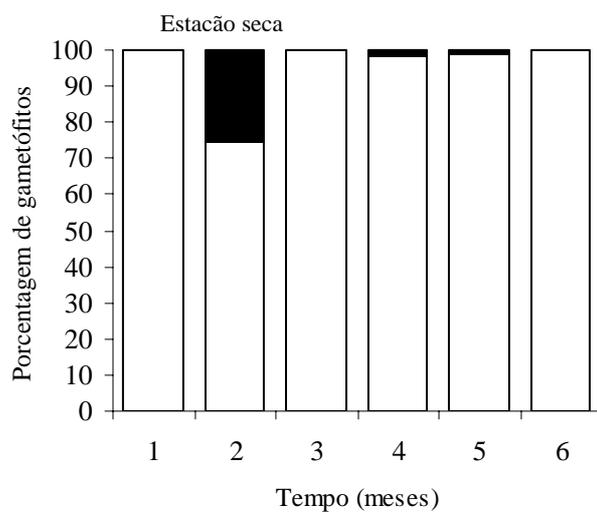
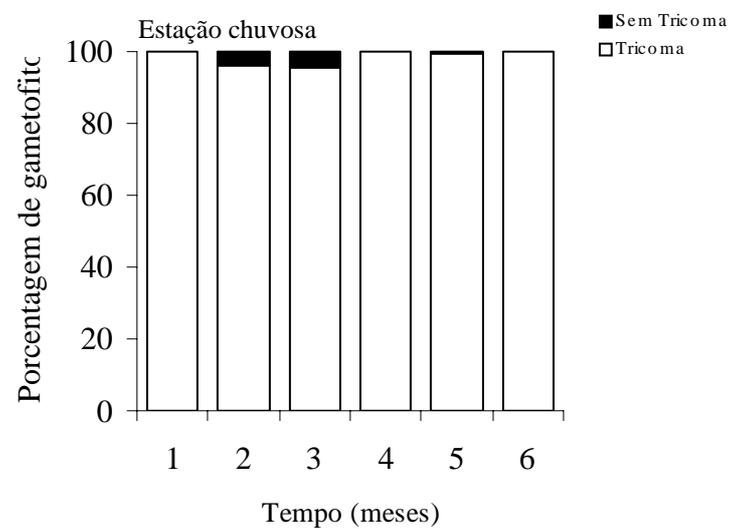


Fig. 7: Porcentagem de gametófitos com e sem tricoma amostrados nas estações chuvosa e seca na Mata da Reserva. Município de Bonito - PE.

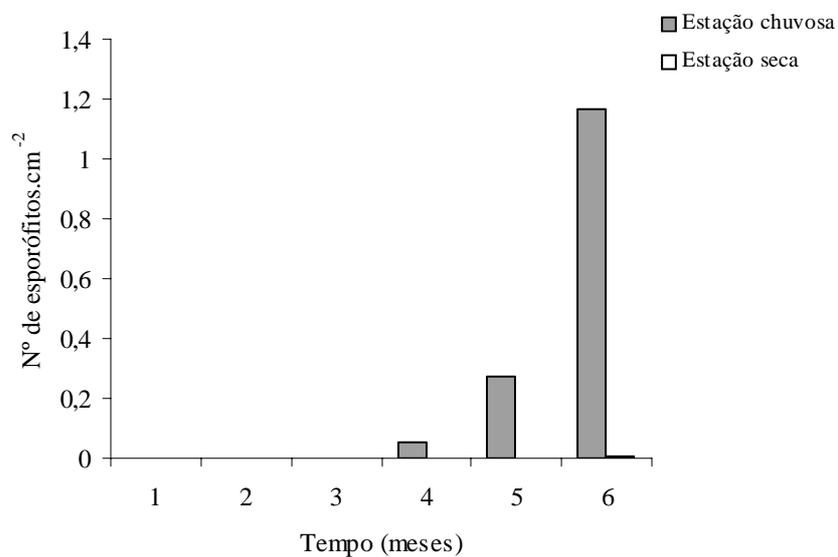


Fig. 8: Número de esporófitos formados em solos coletados na Mata da Azuada, município de Bonito (PE) na estação chuvosa (agosto de 2001) e seca (janeiro de 2002). Experimentos mantidos por seis meses a 25°C e fotoperíodo de 12h.

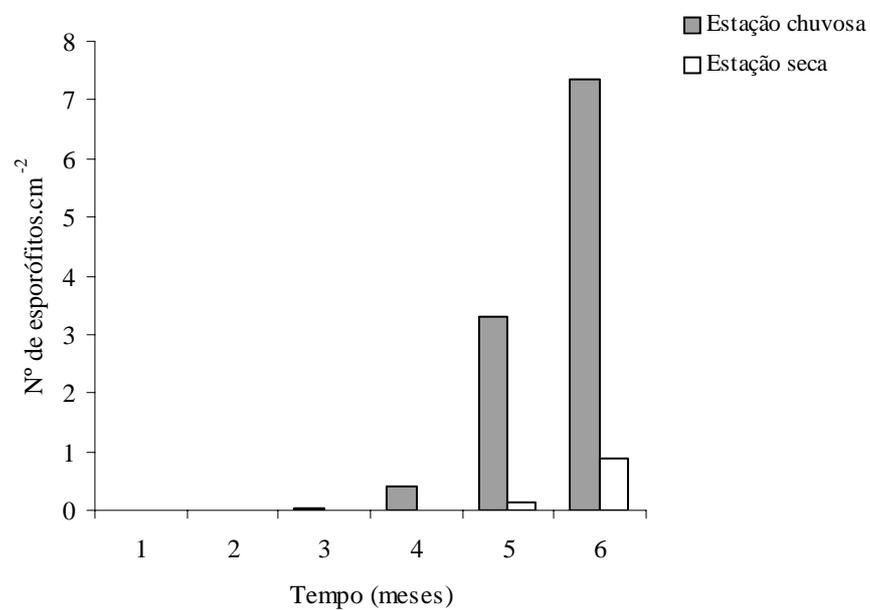


Fig. 9: Número de esporófitos formados em solos coletados na Mata da Reserva, município de Bonito (PE) na estação chuvosa (agosto de 2001) e seca (janeiro de 2002). Experimentos mantidos por seis meses a 25°C e fotoperíodo de 12h.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DYER, A.F. 1979. The experimental biology of ferns. Academic Press In (London) LTD, London, 657p.

DYER, A.F. 1994. Natural soil spore banks – can they be used to retrieve lost ferns? *Biodiversity and Conservation* 3: 160-175.

DYER, A.F. & LINDSAY, S. 1992. Soil spore banks of temperate ferns. *Am. Fern J.* 82: 89-112.

ESTEVEZ, L.M. & FELIPPE, G.M. 1988. Efeitos da luz e temperatura na germinação de *Polypodium latipes*. In: Anais do Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo 5: 29-34.

LLOYD, R.M. & E.J. KLEKOWSKI, Jr. 1970. Spore germination and viability in pteridophyta: evolutionary significance of chlorophyllous spores. *Biotropica* 2: 129-137.

MARCONDES-FERREIRA, W. & G.M. FELIPPE. 1984. Effects of light and temperature on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. *Revta. brasil. Bot.* 7: 53-56.

MILLER, J.H. 1968. Fern gametophytes: as experimental. *Bot. Rev.* 34: 361-440.

PECK, J.H., PECK, C.J. & FARRAR, D.R. 1990. Influences of life history attributes on formation of local and distant fern populations. *Am. Fern J.* 80: 126-142.

QUINTANA-ASCENCIO, P.F., GONZÁLEZ-ESPINOSA, M., RAMÍREZ-MARCIAL, N., DOMINGUEZ-VÁSQUEZ, G. & MARTÍNEZ-ICÓ, M. 1996. Soil seed banks and regeneration of tropical rain forest from milpa fields at the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Biotropica* 28: 192-209.

SALES, M.F., MAYO, S.J. & RODAL, M.J.N. 1998. Plantas vasculares das florestas serranas de Pernambuco: um checklist da flora ameaçada dos Brejos de Altitude, Pernambuco, Brasil. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Imprensa Universitária-UFRPE. 130p.

SANTIAGO, A.C.P. 2002. Pteridófitas ocorrentes em três fragmentos florestais de um Brejo de Altitude (Bonito-Pernambuco-Brasil). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 80p.

SILVA JÚNIOR, A.H.P. 2002. Germinação e formação de banco de esporos de *Cyathea pungens* (Willd.) Domin. Monografia do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 32p.

SIMABUKURO, E.A., ESTEVES, L.M. & FELIPPE, G.M. 1998. Analysis of a fern bank in southeast Brazil. *Hoehnea* 25: 45-57.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os esporos de *Blechnum brasiliense* Desv. e *B. occidentale* L. são produzidos por todo o ano e apresentam rápida velocidade de germinação e alto valor final. A água foi o principal fator limitante para as espécies estudadas interferindo na qualidade dos esporos formados e reduzindo ou inibindo a germinação. As espécies poderiam desaparecer nas áreas de estudos caso seca muito severa venha a acontecer. Por outro lado, a germinação entre 20 e 30°C, demonstra a capacidade das espécies ocuparem vários locais na presença de água.
- A qualidade do substrato e a disponibilidade nutricional foram importantes no desenvolvimento dos gametófitos. Não formação dos gametas e a morte prematura foram as principais respostas às condições desfavoráveis.
- A redução da viabilidade dos esporos de *Blechnum brasiliense* e *B. occidentale* mantidos no campo e o maior número de gametófitos encontrados na estação chuvosa indicam que as oscilações térmicas e hídricas são importantes fatores controladores para a formação e manutenção do banco de esporos de pteridófitas. Os solos estudados apresentaram banco do tipo temporário.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar duas populações de *Blechnum brasiliense* Desv. e *B. occidentale* L. quanto a viabilidade e a germinação dos esporos, o desenvolvimento dos gametófitos e, a formação do banco de esporos. *Blechnum brasiliense* está presente em áreas alagadas, sombreadas e distribuídas de forma agregada, enquanto *B. occidentale* cresce em margens e barrancos, áreas iluminadas formando um tapete resultado de reprodução por rizomas. As espécies foram coletadas nas matas da Azuada e da Reserva Biológica Municipal, localizadas no município de Bonito (PE). Frondes férteis foram coletadas e mantidas em temperatura ambiente por cinco dias para a liberação dos esporos. O armazenamento foi feito sob condições de 5°C e escuro contínuo ou condições ambientais. Experimentos foram montados para a avaliação da: 1) *germinação de esporos recém coletados*: esporos mantidos em solução nutritiva, a 25°C e 12h de luz; 2) *germinação sob diferentes temperaturas*: esporos mantidos em câmara tipo BOD sob as temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C e tratamentos de luz e escuro constantes; 3) *nutrição mineral na germinação*: esporos mantidos em água destilada, solução de Mohr a 10, 50, 100% e solução com ausência de ferro, a 25°C e 12h de luz; 4) *estresse hídrico na germinação*: esporos mantidos em solução nutritiva nos potenciais hídricos de -0,01 a -1,0 MPa obtidos com adição de PEG 6000; 5) *armazenamento e viabilidade*: esporos armazenados por 1, 2, 3, 6, 9 e 12 meses em condições controladas (5°C e escuro constante) e no campo (200mg de esporos foram misturadas a 10g de solo, acondicionados em sacos de náilon que ficaram expostos na superfície ou enterrado a 5cm de profundidade); 6) *desenvolvimento de gametófitos em diferentes substratos*: os esporos foram distribuídos sobre ágar, areia, solo e solo com folhedo e a avaliação morfológica foi semanal; 7) *banco de esporos no solo*: coleta de solo superficial nos meses de agosto/2001 e janeiro/2002 em dez pontos. O material coletado foi distribuído em placas de Petri e mantido em câmara de germinação durante 6 meses com acompanhamento quinzenal. A germinação dos esporos recém coletados de *B. brasiliense* e *B. occidentale* iniciou no 3º e 4º dias, respectivamente. Esporos, de ambas espécies, sob diferentes temperaturas apresentaram germinabilidade de 100%, exceto a 10 e 35°C, que não germinaram. Nos experimentos de nutrição mineral, apenas a água não foi favorável ao desenvolvimento de gametófitos. Quando submetidas ao estresse hídrico, as duas espécies, apresentaram 100% de germinabilidade nos potenciais hídricos de -0,01 a -0,04 MPa. Baixos valores de germinação foram encontrados apenas em *B. brasiliense* nos tratamentos de -0,05 a -1,0 MPa. Houve perda total da viabilidade dos esporos armazenados no campo entre o 6º e o 9º mês, enquanto

os esporos armazenados em condições controladas mantiveram 100% de germinabilidade por 12 meses. Embora a germinação tenha sido semelhante à solução nutritiva, a areia foi considerada como substrato menos favorável, pois apresentou permanência da fase filamentosa e morte aos 30 dias de cultivo. Nos demais substratos, o desenvolvimento inicial dos gametófitos foi semelhante, seguindo a seqüência do desenvolvimento filamentoso, espatulado e cordiforme nas duas espécies. Estruturas reprodutivas foram observadas com 45 dias de cultivo. O banco de esporos no solo apresentou, em sua maioria, gametófitos tricomados. Foram encontrados 13 morfotipos de gametófitos. A maior diversidade de gametófitos foi encontrada nas amostras da mata da Reserva na estação chuvosa. Nos dois locais, houve maior número de gametófitos durante a estação chuvosa. Esporófitos surgiram a partir do 3<sup>o</sup> mês de cultivo.

## ABSTRACT

The objective of this work was to observe the viability and the spore germination, the development of gametophytes and, the formation spore bank in two population of *Blechnum brasiliense* Desv. and *B. occidentale* L. *Blechnum brasiliense* grows in flood and shaded areas and distributed in aggregate array, while *B. occidentale* grows in edge and bank areas give rise to a carpet as a result of rhizome reproduction. The species were collected in Mata da Azuada and Mata da Reserva Biológica Municipal, Bonito municipality (Pernambuco state). Fertile fronds were collected and maintained in environment temperature for 5 days to spore liberation. Experiments were conducted to observe: 1) *germination of fresh spores*: spores maintained in nutritive solution, at 25°C and 12h photoperiod; 2) *influence of temperature on the germination*: spores were maintained in BOD chamber under temperatures of 10, 15, 20, 25, 30 and 35°C and light under darkness constant treatments; 3) *mineral nutrition in germination*: spores were maintained in distilled water, 10, 50 100% Mohr's solution and Mohr's solution without iron, at 25°C and 12h photoperiod; 4) *water stress in germination*: spores were maintained in nutritive solution in the water potentials of  $-0.01$  at  $-1.0$ MPa obtained with addition of PEG 6000; 5) *storage and viability*: spores were stored for 1, 2, 3, 6, 9 and 12 months in controlled conditions (5°C and constant darkness) and environment (200mg of spores were mixed to 10g of soil, package in nylon bag and stored in the field at surface or at 5cm of depth); 6) *gametophytes development in different substrates*: spores were distributed on agar, sand, soil and soil with litter and weekly observed; 7) *spore bank*: soil surface was collected in the August/2001 and January/2002, in ten points. The collected soil was distributed in Petri dishes and maintained in growth chamber during 6 months with attendance two weeks. The *B. brasiliense* and *B. occidentale* fresh spores had the germination started in the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> day, respectively. In both species, the final germination value was 100%. In both species, there was not germination just in 10 and 35°C treatments. In the mineral nutrition experiment, only water was unfavorable to the gametophytes development. Although *B. brasiliense* had low germination rate in water potentials from  $-0.05$  to  $-1.0$ MPa, 100% germination was observed in water potentials from  $-0.01$  to  $-0.04$  MPa in both species. Spores stored at 25°C in darkness maintained 100% germination for 12 months. On the other hand, environment condition reduced the spore germinability and there was no germination after 9 months of storage. Although the germination on sand was similar to Mohr's solution, sand was considered unfavorable substrate since the gametophytes remained in the filamentous stage with death on 30<sup>th</sup> days of culture. Spores in the other substrates had

germination and gametophyte development pattern similar as filamentous stage to biplanar form and, finally, cordiform. Reproductive structures were observed with 45 days of culture. In the spore bank study, thirteen gametophyte types were identified and the majority showed trichomes. The higher diversity of gametophytes was found in samples from Mata da Reserva, in the rainy season. In both places, there were more gametophytes in the rainy season soil sample.