

ASPECTOS DA GERMINAÇÃO DE ESPOROS E DESENVOLVIMENTO DA FASE GAMETOFÍTICA DE *ALSOPHILA SETOSA* KAULF. E *CYATHEA ATROVIRENS* (LANGSD. & FISCH.) DOMIN (CYATHEACEAE).

Fabiana Azevedo¹
Annette Droste²
Paulo Günter Windisch³

Abstract

Spore germination under different light conditions and the gametophytic development of *Alsophila setosa* Kaulf. and *Cyathea atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin were analyzed. Mature fertile fronds were collected in the municipalities of São Leopoldo and Novo Hamburgo (State of Rio Grande do Sul, Brazil) and kept in clear paper wrapping at room temperature to obtain the spores released during the first 48 hours. The spores were filtered through lens cleaning tissue. Samples of 20 mg were seeded on 20 ml of Meyer's medium (five repetitions for each condition), with the cultures kept in a BOD chamber, under 12 hours photoperiod, at 24±1°C. The cultures were kept under different irradiances in the growth chamber (different distances from the light source): 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 125 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 60 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 35 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, in addition to two samples kept in the dark (wrapped twice in aluminum foil). Germination was observed at three days intervals up to the formation of cordiform gametophytes. Germination was assincronous, with higher percentage for *C. atrovirens* (average of 90.10% at the twelfth day). *A. setosa* samples presented 65.97% germination after 12 days. *C. atrovirens* presented higher relative germination rates even under low irradiance level. Differences in the transition from the filamentous to the bidimensional thalus as well as to the cordiform phase were observed. *A. setosa* formed an apical notch becoming cordiform faster (35 days) than *C. atrovirens* (50 days). Tests for germination in the absence of light presented negative results.

Key words: tree ferns, luminosity, reproduction.

¹Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, CP 275, 93022-000 São Leopoldo, RS, Brasil. E-mail: fa.azevedo@hotmail.com

²Doutora, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, CP 275, 93022-000 São Leopoldo, RS, Brasil / Centro Universitário FEEVALE, RS-239 2755, 93352-000 Novo Hamburgo, RS, Brasil. E-mail: adroste@unisisinos.br

³Doutor, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Avenida Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: pteridos@gmail.com

Resumo

A germinação de esporos sob diferentes condições de irradiância luminosa e o desenvolvimento gametofítico de *Alsophila setosa* Kaulf. e *Cyathea atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domi. foram analisados. Frondes férteis maduras foram coletadas nos municípios de São Leopoldo e Novo Hamburgo (Estado do Rio Grande do Sul, Brasil), recolhendo-se os esporos liberados nas primeiras 48 horas de secagem à temperatura ambiente. Estes foram filtrados com o auxílio de papel para limpeza de lentes. Amostras de 20 mg foram colocadas para germinar em 20 ml de meio Meyer (cinco repetições para cada condição), sendo as culturas mantidas em câmara de germinação do tipo BOD, com fotoperíodo de 12 horas, e temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$. As culturas foram mantidas sob distintas intensidades de fluxo de fótons na câmara de germinação (diferentes distâncias em relação à fonte de luz): $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, $125 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, $60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e $35 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, além de amostras mantidas no escuro (duas camadas de papel alumínio). O acompanhamento da germinação foi feito a cada três dias, até a formação do protalo cordiforme. A germinação foi assíncrona, com maior porcentagem em *C. atrovirens* (média de 90,09% no décimo segundo dia). No caso de *A. setosa*, após 12 dias, registrou-se a média de 65,97% de germinação. As amostras de *C. atrovirens* rapidamente atingiram maiores taxas de germinação, mesmo em condições de baixa luminosidade. Foram observadas diferenças na passagem do desenvolvimento filamentoso (protonema) para o bidimensional (taloso) e formação do protalo cordiforme. *A. setosa* começou a se tornar cordiforme mais rapidamente (35 dias) em relação à *C. atrovirens* (50 dias). Testes de germinação na ausência de luz apresentaram resultados negativos.

Palavras-chave: filicíneas arborescentes, luminosidade, reprodução.

Introdução

A família Cyatheaceae apresenta 480 espécies com distribuição pantropical (Tryon & Tryon, 1982). Trata-se de um grupo de plantas predominantemente arborescentes que podem atingir 25 m de altura (Sporne, 1970). Apresentam alto efeito decorativo, estando sujeitas a extrativismo, sendo que algumas espécies já apresentam problemas de conservação (Windisch, 2002). Podem formar populações densas em regiões montanhosas, sendo dominantes na fisionomia da vegetação (Tryon & Tryon, 1982), ou podem ocorrer dispersas no interior de formações florestais, ou, ainda, dispersas em habitats mais abertos, entre vegetação de baixo porte (Fernandes, 1997).

São poucos os conhecimentos disponíveis sobre a germinação de esporos e as fases iniciais do desenvolvimento gametofítico em Cyatheaceae, especialmente para espécies neotropicais. No caso das espécies

paleotropicais, destaca-se recente trabalho de Chen *et al.* (2008), que apresentam uma resenha sobre estudos gametofíticos em Cyatheaceae, além de resultados comparativos sobre a morfologia e o desenvolvimento de sete espécies ocorrentes na China.

Em um ecossistema, a ocorrência e a distribuição dos esporófitos das pteridófitas dependem do estabelecimento e desenvolvimento de seus gametófitos. Sendo assim, o conhecimento de todos os estágios de seu ciclo biológico, bem como do seu comportamento em função de diversos fatores ambientais, torna-se uma necessidade básica para melhor compreender a biologia destas plantas. Contudo, poucos trabalhos descritivos foram desenvolvidos, dificultando qualquer estudo comparativo mais amplo (Ranal, 1983). Por outro lado, as informações ligadas à estrutura do gametófito também são importantes para estudos filogenéticos e taxonômicos, conforme destacado por Zhang *et al.* (2008) em uma análise de seis espécies do gênero *Pteris* L., apresentando resenha com citação de trabalhos relevantes.

Alsophila setosa Kaulf. e *Cyathea atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin, estudadas no presente trabalho, pertencem à divisão Polypodiophyta, classe Polypodiopsida, ordem Cyatheales, família Cyatheaceae seguindo sistema apresentado por Smith (2006). No Rio Grande do Sul, ocorrem cinco espécies de Cyatheaceae: *Alsophila capensis* J. Sm., *A. setosa* Kaulf.), *Cyathea atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Domin, *C. corcovadensis* (Raddi) Domin e *C. delgadii* Sternb. (Fernandes, 1997; Schmitt, 2005).

No Brasil, estudos sobre a fisiologia da germinação em esporos de Cyatheaceae foram realizados com *Cyathea delgadii* e *C. corcovadensis*. Ferreira & Felipe (1982) estudaram a influência da temperatura na germinação de esporos de *C. delgadii*. Ferreira & Felipe (1984) e Randi & Felipe (1988 a, b, c) realizaram estudos quanto à germinação de esporos de *C. delgadii* considerando efeitos do armazenamento, pré-embebição e presença de DCMU no meio de cultura, conteúdo de lípidios nos esporos e aspectos da fotobiologia. Felipe *et al.* (1989) analisaram nutrientes encontrados em esporos de *C. delgadii* e *C. corcovadensis* (esta última considerada no gênero *Trichipteris*). Hiendlmayer (2004) analisou aspectos da germinação e desenvolvimento gametofítico nessas duas espécies, especialmente quanto a substratos e condições de luminosidade.

Diante da importância do conhecimento da fase gametofítica para uma melhor compreensão da biologia das filicíneas arborescentes, bem como considerando o extrativismo e o desaparecimento de populações locais, torna-se oportuno o estudo do processo reprodutivo nas suas diferentes etapas.

Material e Métodos

Frondes férteis de esporófitos de *Alsophila setosa* e de *Cyathea atrovirens* foram coletadas, respectivamente, nos municípios de São Leopoldo e Novo Hamburgo, estado do Rio Grande do Sul. As frondes foram

aconditionadas em sacos de papel liso, em temperatura ambiente, por 48 horas, para recolher os esporos liberados. Os esporos foram filtrados com o auxílio de papel para limpeza de lentes e armazenados em placas de Petri para posterior cultura. Não foram utilizadas substâncias para a esterilização dos esporos, procurando manter as condições experimentais o mais próximo das condições naturais.

Amostras de 20 mg de esporos foram colocadas para germinar em 20 ml de meio Meyer (Dyer, 1979) em frascos com capacidade de 100 ml, em câmara para germinação e cultura. Para cada tratamento, foram preparadas cinco repetições. Foi utilizada uma câmara tipo BOD, com fotoperíodo de 12h luz, temperatura de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, com fonte de luz constituída por lâmpadas "Gro-lux" de 20W. A câmara de germinação apresenta cinco prateleiras que recebem diferentes intensidades de fluxo de fótons, permitindo os tratamentos utilizados no trabalho, a saber: tratamento 1: $35\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; tratamento 2: $60\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; tratamento 3: $100\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; tratamento 4: $125\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e tratamento 5: $150\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. O acompanhamento das culturas foi feito nos terceiro, sexto, nono e 12º dias após a inoculação dos esporos. Foram preparadas imagens digitalizadas de amostras representativas em cada fase de desenvolvimento, com câmara acoplada ao microscópio.

Para verificar a capacidade de germinação dos esporos no escuro, placas de Petri com meio de cultura foram acondicionadas em câmara de germinação e cultura tipo BOD. Cada placa (duas para cada espécie) foi envolvida em papel alumínio (duas camadas) e mantida nas mesmas condições de temperatura que as demais culturas do experimento, com avaliação ao 15º dia (primeira placa) e ao 49º dia (segunda placa) após o início do experimento.

Após o 12º dia, o acompanhamento passou a ser semanal até o 50º dia, variando a posição das placas, sob irradiância nominal média de $93,6\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, nas mesmas condições anteriores de fotoperíodo e temperatura.

Para a análise estatística, foram considerados os dados coletados nos sexto, nono e 12º dias após a inoculação dos esporos. Os dados referentes à germinação dos esporos de ambas as espécies foram transformados em porcentagens. Para verificar a influência das diferentes intensidades luminosas (fluxo de fótons), foi aplicado o teste de Anova e a diferença entre as médias foi verificada pelo teste de Tukey ao nível de significância de 0,05 (Santana & Ranal, 2004). O programa estatístico utilizado foi o BioEstat, versão 4.0.

Espécimes testemunho foram depositados no Herbarium Anchieta (PACA) do Instituto Anchieta de Pesquisas, da Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo (RS).

Resultados e Discussão

Em microscopia óptica, os esporos de *Alsophila setosa* (Figura 1A) e *Cyathea atrovirens* (Figura 1B) apresentam-se tetraédricos globosos (triletos), com cerca de 33-47 μm . Esporos ocios ou preenchidos com poucas gotículas de substâncias de reserva revelaram-se inviáveis. De acordo com Tryon & Lugardon (1991), os esporos de Cyatheaceae apresentam exosporo de duas camadas, *Alsophila* apresenta perisporo complexo, de três camadas, enquanto que em *Cyathea* o perisporo é mais fino, geralmente com duas camadas. Os esporos conferem com as descrições e imagens apresentadas por Lorscheitter *et al.* (1999), para as duas espécies.

Os esporos das espécies estudadas, *Alsophila setosa* e *Cyathea atrovirens*, começaram a germinar a partir do sexto dia, embora o processo de germinação tenha sido assíncrono entre esporos dentro de cada tratamento. Este intervalo está dentro dos limites observados para a germinação na maioria das espécies de filicíneas leptosporangiadas, em que os esporos germinam de um a 14 dias após a embebição em meio de cultura (Howland & Edwards, 1979).

Felippe *et al.* (1989) verificaram o início da germinação em *Cyathea corcovadensis* (considerada no gênero *Trichipteris*) a partir do sexto dia da inoculação dos esporos, atingindo aproximadamente 20% de germinação. Hiendlmayer (2004) observou nesta espécie o início da germinação em quatro dias após a inoculação dos esporos, atingindo 31,25% de esporos germinados. Em *Cyathea delgadii*, Randi & Felippe (1988a) observaram o início da germinação a partir do segundo dia e Hiendlmayer (2004) a partir do quarto dia de cultura. Essas diferenças podem estar relacionadas à metodologia adotada pelos diferentes autores.

As duas espécies estudadas no presente trabalho não germinaram no escuro. Em geral, poucas espécies de filicíneas germinam sem qualquer estímulo luminoso (Miller, 1968). Ranal (1983) constatou que 6,31% dos esporos de *Polypodium hirsutissimum* Raddi germinaram no escuro. Este aspecto da biologia dessas espécies é extremamente interessante, viabilizando o estabelecimento de plantas através da germinação e do desenvolvimento inicial de gametófitos em situações de luminosidade ausente ou extremamente baixa, como pode ser encontrado no substrato terrestre no interior de florestas. No caso das espécies estudadas, os resultados indicam que apenas esporos expostos na superfície do solo teriam condições de germinar. De fato, na natureza plantas jovens são observadas em barrancos, iniciando seu desenvolvimento em situações sombreadas, porém, em solo exposto, e não no solo coberto por serrapilheira.

As amostras das duas espécies apresentaram diferentes germinabilidades máxima: 70,13% em *Alsophila setosa* e 92,39% em *Cyathea atrovirens*. Ainda faltam estudos sobre a capacidade de germinação dos

esporos produzidos em diferentes espécies, sendo que diferenças podem ter causas relativas à qualidade das amostras (grau de maturação natural no momento da coleta do material), bem como biológicas.

As porcentagens médias de germinação dos esporos de *Alsophila setosa* e *Cyathea atrovirens* nas diferentes intensidades luminosas encontram-se, respectivamente, nas Figuras 2 e 3. Pode-se observar que as duas espécies apresentam um comportamento distinto.

As amostras de *Cyathea atrovirens* rapidamente atingiram maiores taxas de germinação, mesmo em condições de baixa luminosidade. O tratamento 4 ($125 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) apresentou resultados significativamente melhores no sexto dia de cultura ($F=10,6385$, $gl=4$, $p=0,0002$). No nono e no 12º dia, não houve diferenças significativas entre os tratamentos (respectivamente, $F=1,651$, $gl=4$, $p=0,2002$ e $F=2,0736$, $gl=4$, $p=0,1219$).

Em *Alsophila setosa*, no sexto dia, a germinação foi maior no tratamento 3 ($100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), embora não diferindo significativamente do tratamento 1 ($35 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Apenas no 12º dia de cultura, foi atingida a maior taxa de germinação, tanto nas condições de luminosidade do tratamento 3 ($100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), como do tratamento 4 ($125 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ($F=12,846$, $gl=4$, $p<0,0001$). Os dois tratamentos já haviam apresentado maiores porcentagens de germinação aos nove dias de cultura ($F=12,5745$, $gl=4$, $p<0,0001$) e no décimo segundo dia de cultura. Especialmente em *Alsophila setosa*, pôde ser observada restrição de germinação no nível de maior irradiância ($150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Os resultados indicam que em condições de luminosidade semelhantes, *Alsophila setosa*, estaria em desvantagem competitiva na velocidade da ocupação de novos nichos disponíveis para germinação de esporos e conseqüente estabelecimento de gametófitos. A maior taxa de germinação obtida em *Cyathea atrovirens* em condições com maior luminosidade é interessante, considerando que esta espécie por vezes ocorre em formações mais abertas, enquanto que *A. setosa* é uma espécie que na região Sul é típica do sub-bosque de florestas ombrófilas.

Renner & Randi (2004), trabalhando com *Dicksonia sellowiana* Hook. em condições ambientais externas, não observaram diferenças significativas entre as porcentagens de germinação de esporos sob cinco, 20, 36 e 50% de luz solar (utilizando diferentes tipos de tela sombreadora), que variaram de 85,5 a 91,5%. Deve-se observar que na metodologia empregada, não houve controle de temperatura.

Hiendlmayer (2004) verificou o efeito de diferentes irradiâncias na germinação de *Cyathea delgadii*, testando uma maior variação de intensidades, que foram de 5 a 100% de luz solar, consistindo em cinco tratamentos: 5% ($46,30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 22% ($203,70 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 42% ($388,89 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 62% ($563,70 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e 100% ($925,92 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (luz solar plena), utilizando

metodologia semelhante à de Renner & Randi (2004). Segundo Hiendlmayer (2004), as maiores porcentagens de germinação ocorreram a 22% (203,70 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e 5% (46,30 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de irradiância, ocorrendo uma forte inibição de germinação a 100, 62 e 42% de irradiância, para ambas as espécies estudadas.

Viviani (2007) observou a influência de diferentes níveis de luz na germinação dos esporos de *Polypodium lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) Kunze. Para isto, testou quatro níveis de intensidade solar: 8, 22, 38 e 54%, utilizando metodologia semelhante à de Renner & Randi (2004), registrando os maiores percentuais de germinação sob os menores níveis de luz aplicados.

Ranal (1983) testou o efeito de seis diferentes intensidades luminosas (800-850, 250-300, 120, 55-60, 30-35 e 15 lux), no desenvolvimento de gametófitos em seis espécies de Polypodiaceae e duas de Pteridaceae, observando que para algumas espécies, a baixa intensidade luminosa foi um fator restritivo, como no caso de *P. squamulosum* Kaulf. (hoje gênero *Microgramma*) em que a germinação não ocorreu quando as culturas foram mantidas em intensidades abaixo de 120 lux; por outro lado, esporos de *Polypodium hirsutissimum* Raddi (hoje *Pleopeltis*) germinaram em todas as intensidades luminosas, inclusive no escuro.

Os gametófitos das duas espécies estudadas, *Alsophila setosa* e *Cyathea atrovirens*, na fase adulta são cordiformes, podendo ser evidenciada a região meristemática e a presença de estruturas reprodutivas em ambas as espécies (Figuras 4F e 5F).

As Figuras 4 e 5 mostram fases de desenvolvimento de gametófitos de *Alsophila setosa* e *Cyathea atrovirens*, respectivamente. Aos seis dias de cultivo, observam-se esporos com emergência de rizóide e clorócito (Figuras 4A e 5A). Aos nove dias de cultivo, os gametófitos são filamentosos (fase protonemática), apresentam um rizóide (Figura 5B), aclorofilado, e quatro a sete células protálicas, clorofiladas. Nesse período, já é possível observar as primeiras divisões laterais do filamento vegetativo (Figuras 4B-C e 5C-D). Aos 35 dias de cultivo, a fase laminar espatulada (fase talosa) está mais nítida, evidenciando-se o meristema apical central (Figuras 4D e 5E). Em *Alsophila setosa*, também aos 35 dias de cultivo, a fase laminar cordiforme é evidente, os rizóides são abundantes, localizados em posição basal, sendo possível a observação de estruturas reprodutivas, os gametângios (Figura 4E-F). Em *Cyathea atrovirens*, protalos cordiformes foram observados a partir do 50º dia de cultivo (Figura 5F). Nas condições de trabalho disponíveis, não foi possível determinar de maneira consistente o tipo de gametângio, se anterídio (masculino) ou arquegônio (feminino). Em geral, neste tipo de protalo, os gametângios femininos estão na região do enseio da estrutura cordiforme, enquanto que os masculinos se encontram mais difusos, estando especialmente entre os rizóides na parte basal da estrutura cordiforme, sendo que a produção inicial tende a ser de anterídios (Chen *et al.*, 2008).

O processo de germinação corresponde ao tipo ciateáceo, descrito por Chen *et al.* (2008). De uma maneira geral, resultados obtidos são comparáveis aos obtidos por esses autores trabalhando com *Sphaeropteris brunoniana* (Hook.) R.M.Tryon, *Alsophila spinulosa* (Wall. ex Hook.) R.M.Tryon e *A. khasyana* T. Moore ex Kuhn quanto ao início da germinação. Quanto ao início da formação do enseio apical no gametófito espatulado, também há semelhanças com estas espécies, bem como com *A. costularis* Baker, *A. latebrosa* Wall. ex Hook., *A. gigantea* Wall. ex Hook. e *A. austro-yunnanensis* S.G.Lu (Chen *et al.* 2008).

Hiendlmayer (2004), estudando o crescimento inicial de *Cyathea corcovadensis* (105 dias de cultivo) e *C. delgadii* (133 dias de cultivo) observou o desenvolvimento de gametófitos cordiformes, com tricomas uni ou bicelulares dispostos nas margens e sobre as lâminas, em ambas as faces.

Viviani (2007), estudando a fase gametofítica de *Polypodium lepidopteris* observou que, depois de 15 dias de cultivo, os gametófitos são filamentosos, apresentando uma célula rizoidal alongada, aclorofilada e uma fileira de quatro a sete células clorofiladas, sendo a fase laminar espatulada observada mais nitidamente aos 30 dias de cultivo e a fase laminar cordiforme aos 45 dias de cultivo.

Além das diferenças na capacidade de germinação, o desenvolvimento dos gametófitos na mesma câmara apresentou diferenças marcantes. Em *Alsophila setosa*, aos 15 dias de cultivo, 63,76% dos gametófitos, em média, se apresentavam na fase laminar espatulada, enquanto que, em *Cyathea atrovirens*, 57,41% dos gametófitos se encontravam na fase laminar espatulada. Em *Alsophila setosa*, aos 35 dias, em média 28,66% dos gametófitos já se encontravam na fase laminar cordiforme, através da formação do enseio apical com tecido meristemático, enquanto que, em *Cyathea atrovirens*, apenas aos 50 dias em cultura começaram a aparecer protalos cordiformes.

Seriam necessários experimentos com amostras coletadas em diversas situações para verificar se as duas espécies apresentam diferenças biológicas quanto à viabilidade de seus esporos. As diferenças tanto no processo da germinação dos esporos quanto no desenvolvimento dos gametófitos indicam que apesar da potencial similaridade na dispersão dos esporos, a ocorrência de esporófitos na natureza depende em larga escala de características biológicas do processo de germinação e do desenvolvimento da fase gametofítica.

Agradecimentos: Os autores registram seu reconhecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Centro Universitário FEEVALE, que tornaram possível a realização do presente trabalho. O Dr. Jairo Lizandro Schmitt gentilmente revisou o manuscrito.

Referências Bibliográficas

- CHEN, G.; CHENG, X.; LIU, B.; JIAO, Y. 2008. Comparative studies on gametophyte morphology and development of seven species of Cyatheaceae. *American Fern Journal* 98(2): 83-95.
- DYER, A. F. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. In: DYER, A. F., Ed. – *The experimental biology of ferns*. London. Academic Press: 253-291.
- FELIPPE, G. M.; ESTEVES, L. M. & RANDI, A. M. 1989. Lipids, proteins and sugars in spores of *Cyathea delgadii* Sternb., *Polypodium latipes* Langs. & Fisch. and *Trichipteris corcovadensis* (Raddi) Copel. *Insula* 19: 3-12.
- FERNANDES, I. 1997. *Taxonomia e fitogeografia de Cyatheaceae e Dicksoniaceae nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil*. Tese de Doutorado, São Paulo, Universidade de São Paulo – Instituto de Biociências.
- FERREIRA, W. M. & FELIPPE, G. M. 1982. Efeito de temperatura na germinação de esporos de *Cyathea delgadii* Sternb. *Ciência e Cultura* Suplemento 34(7): 826-827.
- FERREIRA, W. & FELIPPE, G. M. 1984. Effects of light and temperature on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. *Revista Brasileira de Botânica* 7: 53-56.
- HIENDELMAYER, R. 2004. *Estudo da Viabilidade de Esporos e do Crescimento Inicial de Quatro Espécies Nativas de Pteridófitas da Floresta Ombrófila Densa Atlântica*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.
- HOWLAND, G. P. & EDWARDS, M. E. 1979. Photomorphogenesis of ferns gametophytes. In: DYER, A. F., Ed. – *The experimental biology of ferns*. London. Academic Press: 393-434.
- LORSCHUITTER, M.L.; ASHRAF, A. R.; WINDISCH, P. G. & MOSBRUGGER, V. 1999. Pteridophyte spores of Rio Grande do Sul flora, Brazil. Part II. *Palaeontographica* 251(1): 71-235.
- MILLER, J.H. 1968. Fern gametophytes as experimental material. *Botanical Review* 34: 361-440.
- RANAL, M. A. 1983. *Efeito da temperatura e da intensidade luminosa no desenvolvimento de gametófitos de pteridófitas*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências. São Paulo.

- RANDI, A. M. & FELIPPE, G. M. 1988a. Efeito do armazenamento de esporos, da aplicação de DCMU e da pré-embebição em PEG na germinação de *Cyathea delgadii*. *Ciência e Cultura* 40: 484-489.
- RANDI, A. M. & FELIPPE, G. M. 1988b. Lipid content during germination of spores of the fern *Cyathea delgadii*. *Revista Brasileira de Botânica* 11: 37-39.
- RANDI, A. M. & FELIPPE, G. M. 1988c. Effect of red light and far-red on the germination of spores of *Cyathea delgadii*. *Revista Brasileira de Botânica* 11: 41-45.
- RENNER, G. D. R & RANDI, A. M. 2004. Effects of sucrose and irradiance on germination and early gametophyte growth of the endangered tree fern *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook (Dicksoniaceae). *Acta Botanica Brasílica* 18: 375-380.
- SANTANA, D. G. & RANAL, M. A. 2004. *Análise da germinação. Um enfoque estatístico*. Editora UNB.
- SCHMITT, J. L. 2005. *Estudos florísticos, ecológicos e do desenvolvimento em Cyatheaceae (Pteridophyta) no Rio Grande do Sul, Brasil*. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- SMITH, R. A.; PRYER, K. M.; SCHUETTPELZ, E.; KORALL, P.; SCHNEIDER, H. & WOLF, P. G. 2006. A classification for extant ferns. *Taxon* 55(3): 705–731.
- SPORNE, K. R. 1970. *The morphology of pteridophytes. The structure of ferns and allied plants*. 3th ed. London. Hutchinson University Library.
- TRYON, A. F.; LUGARDON, B. 1991. *Spores of the Pteridophyta: surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies*. Springer-Verlag. New York.
- TRYON, R. M. & TRYON, A. F. 1982. *Ferns and allied plants with special reference to Tropical America*. Springer-Verlag. New York.
- VIVIANI, D. 2007. *Desenvolvimento Inicial de Polypodium lepidopteris (Langsd. & Fisch.) Kunze (POLYPODIACEAE): Germinação de Esporos e Morfoanatomia de Gametófitos e Esporófitos*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.
- WINDISCH, P. G. 2002. Fern Conservaton in Brazil. *Fern Gazette* 16(6): 295-300.
- ZHANG, K. M.; SHI, L.; ZHANG, C.; JIANG, C. D. & TIM-CHUN, W. L. 2008. Gametophyte morphology and development of six Chinese species of *Pteris* (Pteridaceae). *American Fern Journal* 98(1): 33-41.

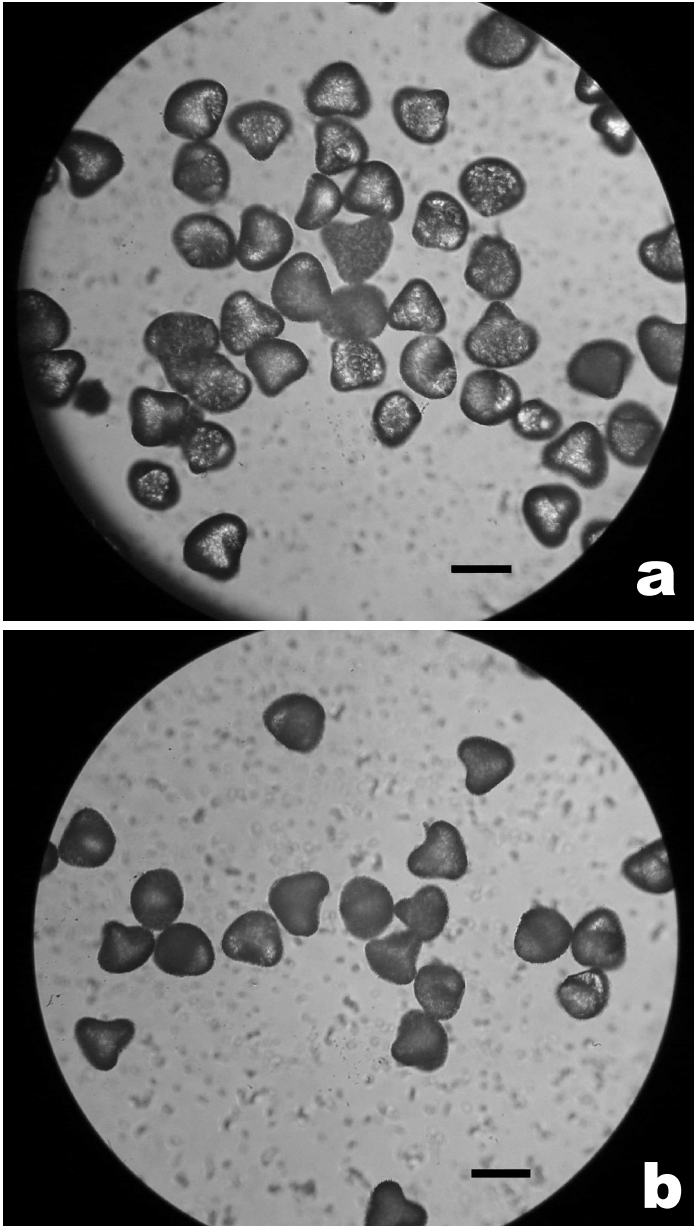


Figura 1: a. Esporos de *Alsophula setosa*. b. Esporos de *Cyathea atrovirens* em microscopia ótica.

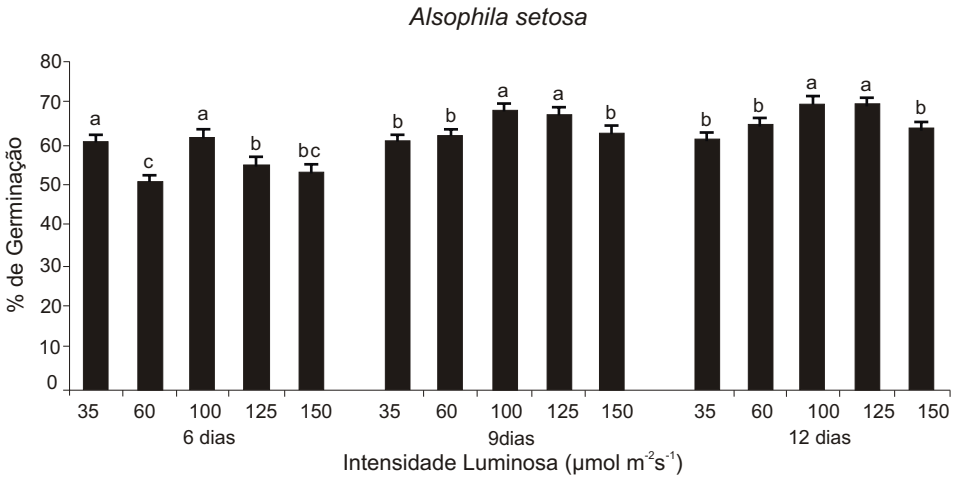


Figura 2. Porcentagem médias de germinação dos esporos de *Alsophila setosa*.

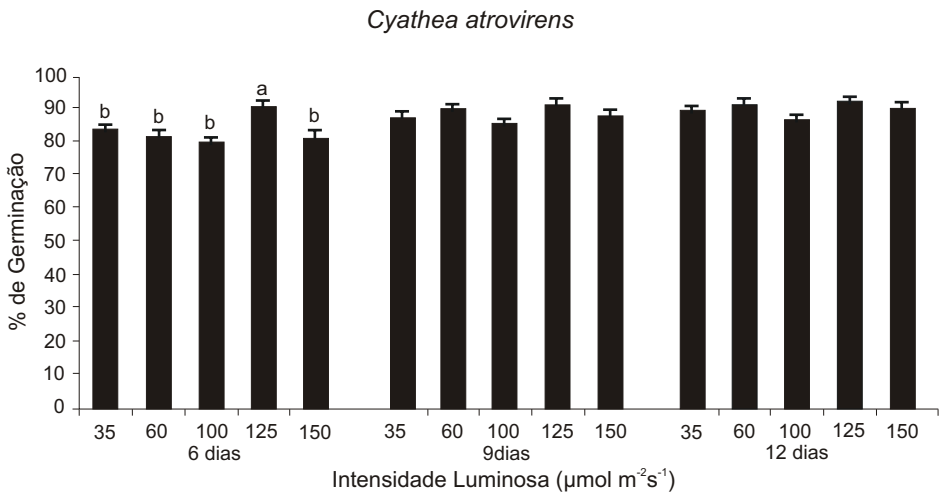


Figura 3. Porcentagem médias de germinação dos esporos de *Cyathea atrovirens*.

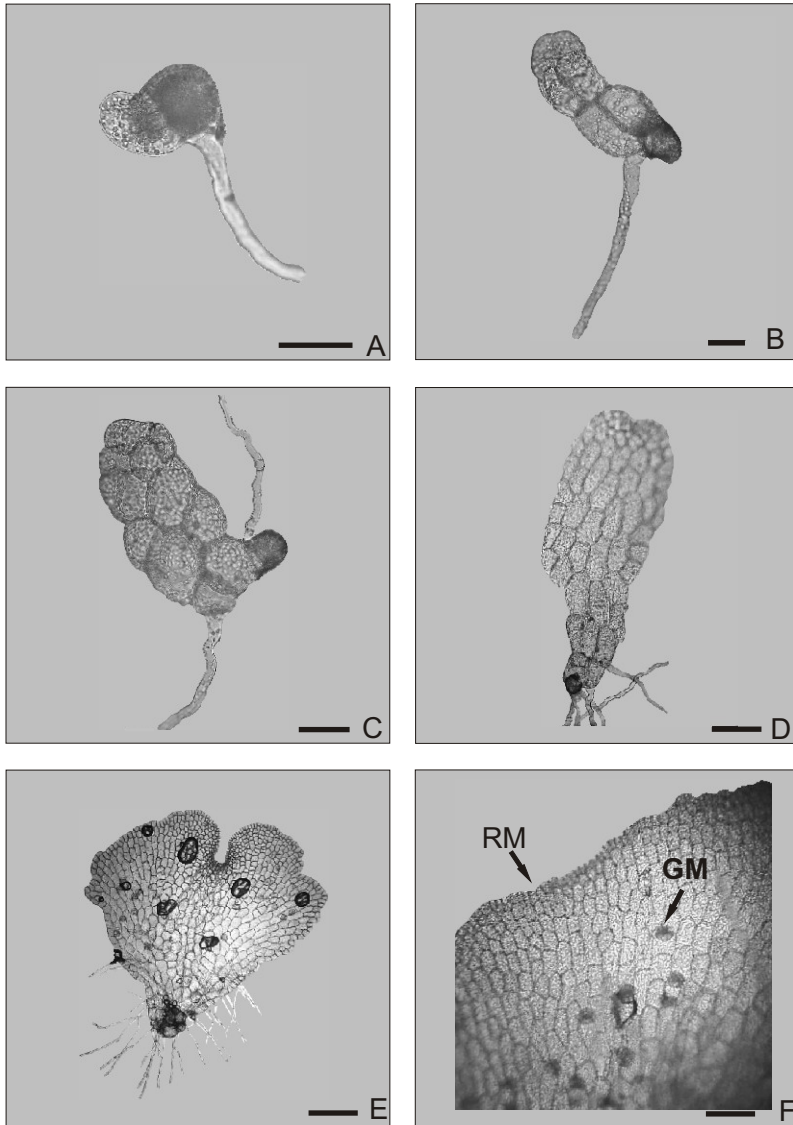


Figura 4. Gametófitos de *Alsophila setosa*. A. Esporo com emergência de rizóide e clorócito (6 dias de cultivo) (400x). Barra: 40m; B-C. Primeiras divisões laterais do filamento vegetativo (9 dias) (400x). Barra: 40m; D. Fase laminar espatulada (20 dias) (100x). Barra: 80m; E. Fase laminar cordiforme, a seta indica bolhas de ar (35 dias) (100x). Barra: 80m; F. Região meristemática (RM) e presença de gametângios (GM) (35 dias) (400x). Barra: 40m.

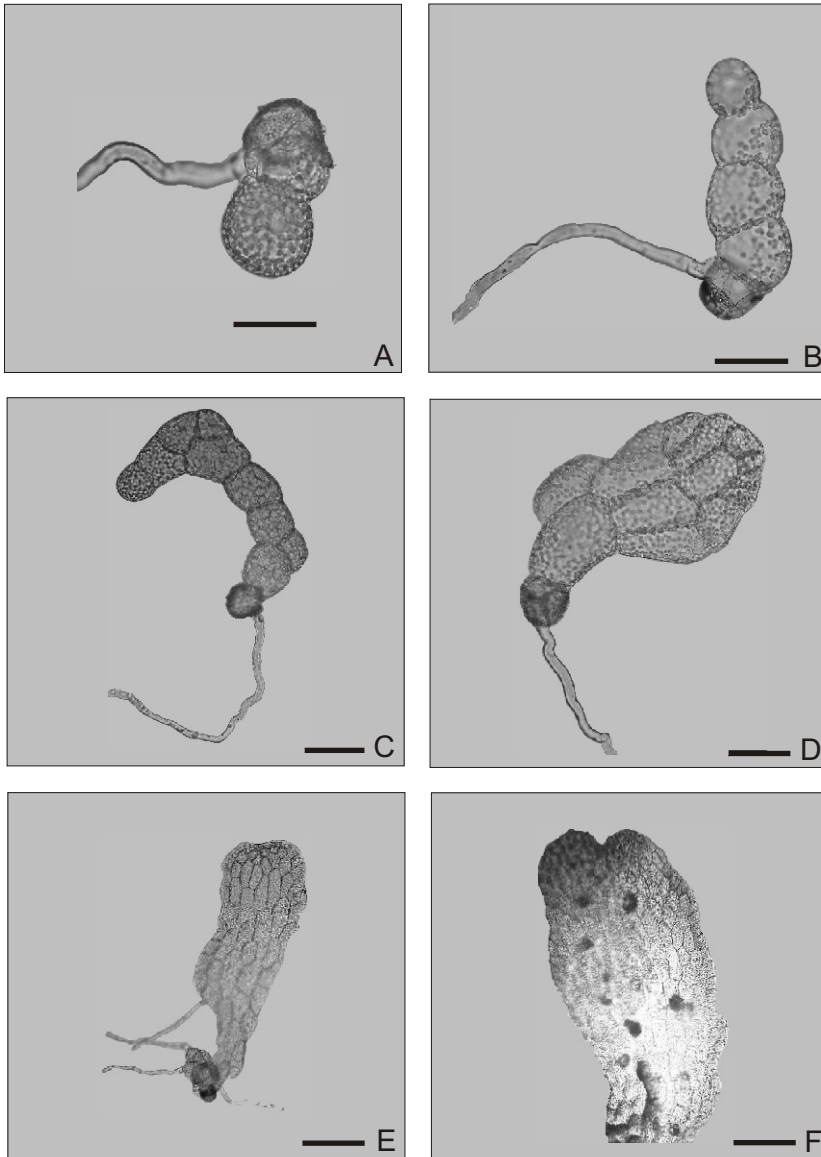


Figura 5. Gametófitos de *Cyathea atrovirens*. A. Esporo com emergência de rizóide e clorócito (6 dias de cultivo), barra=40m; B. Fase laminar (9 dias), barra=40m; C-D. Primeiras divisões laterais do filamento vegetativo (9 dias), barra=40m; E. Fase laminar espatulada (35 dias), barra=80m; F. Fase laminar cordiforme, a seta indica presença de gametângios (50 dias), barra=80m.