

Título: Conservação dos Campos Gerais do Paraná: estudo de estratégias morfoecofisiológicas e do potencial químico das plantas

Equipe – Luiz Antonio de Souza – coordenador
Lindamir Hernandez Pastorini - pesquisadora
Mariza Barion Romagnolo - pesquisadora
Adriana Lenita Meyer Albiero - pesquisadora
Silvana Maria de Oliveira Santin - pesquisadora
Adrielle Tayrine Oliveira Froemming - doutoranda
Amanda Aparecida Oliveira do Carmo -doutoranda
Caroline Heinig Voltolini -doutoranda
Andressa Pelozo - doutoranda
Luana Martos - doutoranda
Luciane da Silva Santos - doutoranda
Raísa Gonçalves Silva de Araújo - doutoranda

1 – Introdução

O estado do Paraná originalmente era coberto por 83% da sua superfície por formações florestais, 15% por fisionomias campestres e em torno de 2% por vegetação litorânea e de várzeas (Maack, 2012). No entanto, em função principalmente da ocupação agrícola e variações demográficas, esta paisagem foi alterada drasticamente, refletindo profundamente sobre a estrutura do uso do solo, levando o estado a apresentar atualmente aproximadamente 11% da cobertura florestal, representada por numerosos fragmentos, em geral com dimensões restritas a poucos hectares (SOS Mata Atlântica & INPE, 2011). Neste cenário, as fisionomias campestres não foram diferentes e vêm sofrendo alterações desde o século XVIII com a colonização de paulistas e com a intensificação da imigração européia (Moro 2001).

No Paraná, o mapa fitogeográfico elaborado por Maack (1950) mostra as formações campestres distribuídas em três grandes conjuntos, localizadas principalmente nas regiões próximas à Curitiba, ao longo da chamada "Escarpa Devoniana", onde são conhecidos como "Campos Gerais", nas proximidades da cidade de Guarapuava, e daí em direção a Palmas, no sul do estado, onde fazem limite com o estado de Santa Catarina. A região dos Campos Gerais apresenta a maior área de vegetação campestre e foi definida por Maack (1948). Como zona fitogeográfica, os Campos Gerais estão localizados no reverso do degrau topográfico representado pela Escarpa Devoniana, com vegetação composta por um mosaico de campos limpos, relictos de cerrado e matas de galerias ou capões de Floresta com Araucária.

Até o início dos anos 1990, as fitofisionomias dos Campos Gerais eram consideradas junto com a Serra do Mar, as áreas mais conservadas do estado do Paraná (Troppmair, 1990). No entanto, depois de 25 anos os remanescentes campestres desta região totalizam menos de 10% da distribuição original (Ramos et al, 2007), os quais foram substituídos pelo ritmo acelerado de culturas de lavouras, além da pastagem e reflorestamentos com plantas exóticas (Moro & Carmo, 2007), tornando este ambiente altamente prioritário para a conservação (MMA, 2004).

Além disso, os Campos Gerais apresentam-se inseridos numa região de potencial cênico elevado e, por isso, tem despertado interesse turístico, o que aumenta ainda mais o risco de destruição de espécies peculiares destes locais (Melo & Meneguzzo, 2001). Assim, a intensificação do uso da paisagem regional e a baixa representatividade de áreas protegidas têm levado a uma substituição significativa da cobertura campestre, sendo que áreas de cultivo somadas a florestamentos (principalmente *Pinus* spp e *Eucaliptus* spp) e áreas urbanas, ocupam 60% de toda região (UEPG, 2003).

De acordo com Cervi et al. (2007) a degradação ambiental no estado do Paraná atingiu níveis alarmantes, muitas das áreas degradadas abrigavam espécies endêmicas e desconhecidas. Desta maneira, o pouco que restou da paisagem original paranaense proporciona valiosa oportunidade de estudo para o entendimento da vegetação e o conhecimento da biota dos remanescentes, na maioria das vezes, apenas encontradas sobre a forma de Unidades de Conservação.

Apesar de muitos modelos e propostas de restauração de vegetação florestal já terem sido estabelecidos (Engel & Parrota, 2008; Brancalion, 2010; Suganuma & Durigan, 2015), estudos sobre vegetação campestre são praticamente inexistentes no Brasil. A recuperação de áreas degradadas visa reparar a perda da diversidade e processos ecológicos, pois estas paisagens perdem a capacidade de recuperação natural, uma vez que fatores como chuva de sementes, capacidade de rebrota das espécies e o banco de sementes e de plântulas são também perdidos (Martins, 2001).

Desta maneira, é importante que informações sobre as adaptações destas espécies em relação aos diferentes ambientes sejam obtidas para compreender como se dá a dinâmica da regeneração nos campos. Assim, estas informações devem possibilitar o embasamento de uma proposta adequada para a recuperação de áreas degradadas, já que informações de manejo dos campos nativos brasileiros são extremamente incipientes.

Estudos básicos botânicos e ecológicos

Informações sobre a composição e/ou estrutura de comunidades em paisagem campestre (Carmo, 2006; Cervi et al., 2007; Dalazoana et al., 2007, Nanuncio & Moro, 2008; Andrade et al., 2011; Mioduski & Moro, 2011; Moro et al., 2012) têm confirmado as observações de Klein & Hatschbach (1971), que relataram que apesar do aspecto homogêneo, os campos apresentam diferentes zonações e, conseqüentemente, uma alta heterogeneidade, ditadas pela abundância e frequência das espécies, em função das condições do substrato. Estes estudos apontam uma alta diversidade de famílias e espécies de plantas que impressionam e que exigem medidas urgentes para sua conservação, uma vez que, das 593 espécies consideradas em situações mais críticas no Estado do Paraná, 29,34% (174 spp) têm ocorrência nos campos limpos e 10,29% (61 spp) nos campos cerrados (Paraná, 1995)

Quaisquer medidas de conservação ou preservação de vegetação necessitam de estudos de identificação das espécies (já amostradas por Cervi et al. (2007) e por Carmo (2006)), de investigações estruturais, fisiológicas e de desenvolvimento das plantas, bem como das relações das plantas com fatores bióticos e abióticos.

Germinação de sementes e estabelecimento de plântulas: conservação e mudanças climáticas

A germinação da semente é um processo complexo e depende de diversos fatores, como temperatura, luz, água e composição de gases na atmosfera (CABRAL et al., 2003). A embebição é um processo meramente físico, que em sementes viáveis constitui a primeira etapa da germinação, promovendo a reativação do metabolismo do tecido embrionário. A velocidade de absorção de água pela semente varia com a espécie, permeabilidade do tegumento, disponibilidade de água no solo, temperatura, pressão hidrostática, área de contato semente/água, forças intermoleculares, composição química dos tecidos de reserva e condição fisiológica (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1979; Popinigis, 1985).

O efeito da temperatura sobre a germinação tem especial importância para a ecologia de populações. Para os esporos e sementes serem capazes de germinar, a temperatura ambiental deve corresponder às condições ideais para o desenvolvimento das plantas jovens (Larcher, 2000). Além disso, o efeito da temperatura na germinação pode ser avaliado a partir de mudanças ocasionadas na porcentagem, velocidade e frequência relativa de germinação ao longo do tempo de incubação (Labouriau & Pacheco, 1978). A faixa de temperatura ótima é aquela onde acontece a germinabilidade máxima, registrando-se a maior porcentagem de germinação no menor tempo médio (Labouriau, 1983).

A disponibilidade de luz no ambiente de vegetação aberta ou fechada, como é o caso dos Parques Estaduais que mostram mosaico de vegetação, é fator que influencia o desenvolvimento das plantas. Em função da resposta das plantas a esse fator, as espécies podem ser agrupadas em dois grandes grupos: espécies pioneiras (heliófitas) que requerem radiação solar direta para a germinação e o crescimento satisfatório de suas plântulas, e espécies clímax (umbrófilas) que são tolerantes ao sombreamento inicial, podendo germinar, sobreviver e desenvolver-se sob dossel fechado, com pouca luz (Swaine & Whitmore, 1988). A quantidade e a qualidade espectral da luz, disponíveis para a germinação de sementes, são distintas nos diferentes tipos de vegetação. A luz tanto pode promover quanto inibir a germinação, até mesmo em sementes da mesma espécie (Zaia & Takaki, 1998).

As condições ambientais estão sendo profundamente modificadas pelas atividades humanas, que têm se intensificado nas últimas décadas, levando ao rompimento do equilíbrio e ameaça à sobrevivência de muitas espécies. Devido ao caráter direcional da intervenção humana (Gutschick & BassiriRad, 2003; Ives & Carpenter, 2007), o conhecimento de quais características influenciam na sobrevivência dos organismos diante

desse cenário, que pode subsidiar medidas de conservação mais eficazes, é um dos maiores desafios da ecologia atual (Nicotra et al., 2010).

Plantas são extremamente plásticas (Callaway et al., 2003) e respondem diferencialmente às variações ambientais de acordo com os traços funcionais que possuem (Violle et al., 2007). As mudanças globais, que incluem ações generalizadas e ações locais com efeitos globais, alteram diversas propriedades do ambiente (Matesanz et al., 2010), que interferem direta ou indiretamente na abundância dos recursos utilizados pelas plantas, na estabilidade e previsibilidade dos sistemas nos quais essas se encontram.

O regime de precipitação global tem sofrido alterações com intensidade e consequências indeterminadas (Oki et al., 2006). O aumento da precipitação em altas latitudes, o decréscimo da precipitação em regiões subtropicais e a intensificação de eventos climáticos extremos (Allan & Soden, 2008) são as principais tendências observadas.

Estrutura de frutos e sementes

O desenvolvimento, a estrutura e a dispersão de frutos e sementes compõem um capítulo primordial no conhecimento do processo reprodutivo das Angiospermas (Souza, 2006). Registra ainda o autor, que parte desse processo reprodutivo, representada pela formação, pelo crescimento, pela maturação e transporte por agentes bióticos e abióticos de frutos e sementes, constitui uma fase fundamental do ciclo biológico de uma planta. Finaliza o autor, o estudo de frutos e sementes, portanto, é essencial na preservação de espécies, na colonização de novos ambientes por espécies nativas ou exóticas, no controle de plantas invasoras em culturas vegetais, no reflorestamento, na silvicultura, na investigação de plantas medicinais e tóxicas e ainda em outros campos da aplicação botânica. Souza & Paoli (2009) consideram que a semente acompanha a evolução do homem desde os tempos imemoriais, principalmente como fonte direta ou indireta de alimentação e de produtos medicinais, nas culturas vegetais e na recomposição ou recuperação de diferentes tipos de vegetação.

Fruto pode ser considerado como ovário ou ovários desenvolvidos e em estado de maturação, podendo se agregar a ele outras partes da flor ou mesmo de inflorescência (Souza, 2006, 2009a). A semente pode ser considerada como óvulo ou rudimento fecundado e amadurecido, podendo ocorrer nas angiospermas sementes que se desenvolvem de óvulos não fecundados, denominados partenogénéticos (Souza & Paoli, 2009).

A estrutura de frutos (pericarpos) e sementes de famílias que ocorrem em diferentes tipos de vegetação no Paraná foi investigada por grupo de pesquisa da Universidade Estadual de Maringá e tem registro na literatura, como Amaranthaceae (Oyama et al., 2010; Harthman & Souza, 2012), Apocynaceae (Asclepiadaceae) (Constantino, 1990; Souza & Moscheta, 1992; Souza et al., 2004), Asteraceae (Pallone & Souza, 2014), Bignoniaceae

(Souza et al., 2005, 2008, 2009), Boraginaceae (Souza, 2008), Cactaceae (Rosa & Souza, 2003), Fabaceae (Souza, 1981, 1984, 1988a, 1988b, 1993; Souza & Carneiro, 1984; Souza et al., 2008), Euphorbiaceae (Silva & Souza, 2009; Gagliardi et al., 2014), Lauraceae (Souza & Moscheta, 1999, 2000), Malvaceae (Muneratto & Souza, 2013), Meliaceae (Dias-Pinto et al., 2003), Moraceae (Souza & Rosa, 2005), Piperaceae (Rosa & Souza, 2004; Oliveira et al., 2005, 2008) e Rutaceae (Souza et al., 2005, 2008).

Desenvolvimento de plântulas

O período de desenvolvimento inicial de uma planta é considerado crítico no ciclo de vida de muitas espécies vegetais, e um fracasso no processo adaptativo neste estágio pode levar a espécie à extinção (Amo-Rodrigues, 1979). Em razão disso, muitos estudos sobre plântula têm merecido atenção dos pesquisadores, principalmente aqueles relacionados à sua morfologia e à germinação de sementes, as quais fornecem subsídios úteis para os trabalhos em viveiros, sobre armazenamento de sementes e regeneração de florestas (Souza & Oliveira, 2004).

A plântula é sensível, extremamente vulnerável a perturbações provocadas por fatores abióticos e bióticos tais como clima, competições intra e interespecífica além da ação antrópica (Ferreira et al., 2001). No início do desenvolvimento, as plântulas possuem limitado sistema radical e a capacidade de exploração do solo por água e nutrientes minerais é um fator que interfere na competitividade dos indivíduos, favorecendo ou dificultando o recrutamento das plantas co-ocorrentes. Este recrutamento está diretamente relacionado com o crescimento das raízes, estratégias de captação de nutrientes e com as condições (luminosidade, fertilidade do solo) do sítio onde a plântula se fixou.

O estudo da plântula tem grande valor para estabelecer a dinâmica de populações de uma floresta e também para o manejo silvícola (Souza et al., 2009). Pode servir, ainda, como índice para determinar se uma vegetação se encontra em estado sucessional ou clímax, de acordo com a diversidade de espécies de indivíduos que ocorrem no solo (Amo R., 1979). A plântula que se inicia com a germinação da semente e se estende até a expansão completa do primeiro eofilo, e o tirodendro, que é a fase posterior que se encerra com a expansão do primeiro metafilo, são quase sempre investigados morfológicamente, raramente sob o aspecto anatômico (Souza, 2009b).

Estrutura de folhas

Os Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá apresentam vegetação de cerrado e afloramentos rochosos onde ocorrem espécies que podem apresentar modificações morfológicas e anatômicas em decorrência de estresse hídrico. Dickison (2000) registra várias destas modificações, como redução do tamanho da folha, aumento da espessura das paredes das células epidérmicas, aumento da espessura da cutícula, incremento da densidade de tricomas, redução da área do poro estomático, estômatos em criptas ou

depressões na face abaxial da folha, aumento de células de tecidos mecânicos, lignificação de tecidos, aumento de suculência e capacidade de reserva de água, acúmulo de mucilagem e presença de hipoderme.

Caracteres xeromorfos também podem se diferenciar em folhas de plantas que se desenvolvem em ambientes que mostram deficiência de certos nutrientes no solo. Diversos estudos de anatomia foliar de espécies do cerrado mostram escleromorfismo foliar, ou seja, a presença de esclerênquima na folha, que pode ser atribuída ao oligomorfismo pela intensidade luminosa e deficiência de nitrogênio e fósforo (Somavilla & Ribeiro, 2011).

Duas famílias de plantas, Asteraceae e Melastomataceae, são frequentes nos Parques Estaduais e serão objetos de estudo no presente projeto. Metcalfe & Chalk (1957) descrevem como importantes caracteres taxonômicos as estruturas, como canais secretores, laticíferos, e variados tipos de tricomas tectores e secretores, que são encontradas expressivamente nas folhas. Estudos, como os de Melo-de-Pinna (2004), Castro et al. (1997) e Empinotti & Duarte (2008), têm utilizado esses caracteres para identificação das plantas.

A literatura aponta que características do indumento, bem como a presença de cristais, tipos de estômatos, vascularização do pecíolo, presença de esclereídes, entre outros caracteres, podem contribuir para a identificação e delimitação de espécies gêneros e tribos em Melastomataceae (Baas, 1981; Wurdack, 1986; Mentink & Baas, 1992; Guimarães & Martins, 1997). Características anatômicas de tecidos e células em vegetais podem evidenciar ou ainda esclarecer as relações evolutivas entre grupos, bem como ser utilizada na diferenciação de táxons e identificação de espécies (Dickison, 2000; Cutler et al., 2007).

Sistemas subterrâneos

No mosaico de tipos diferentes de vegetação dos dois Parques Estaduais ocorrem espécies com sistema subterrâneo que merece análise ontogênica e estrutural. Nos campos e cerrados destes parques podem ocorrer espécies com sistemas subterrâneos, que podem enquadrar-se nos tipos xilopódios, raízes gemíferas, raízes tuberosas, sóboles ou rizóforos, bem caracterizados morfologicamente por Appezzato-da-Glória (2003). Cerca de cinquenta por cento da vegetação herbácea e subarbustiva do bioma Cerrado apresentam órgão subterrâneo espessado, o que sugere a importância ecológica dessas estruturas (Mantovani & Martins, 1988).

O sistema subterrâneo das espécies de Asteraceae, família que será investigada no presente projeto, foi estudado em ambiente de Cerrado mostrando diversidade dos tipos existentes. Dentre os trabalhos sobre anatomia de sistemas subterrâneos no Brasil merecem destaque os de Menezes et al. (1969) Figueiredo (1972), Paviani (1972, 1977, 1978, 1987), Paviani & Haridasan (1988), Appezzato-da-Glória & Estelita (1995, 2000), Melo-de-Pina & Menezes (2003) e Vilhalva & Appezzato-da-Glória (2006). Estudos taxonômicos

com *Brasilia sickii* mostraram diferenças morfológicas no padrão de formação sistema subterrâneo tipo xilopódio, mas quanto à anatomia não foi possível diferenciá-lo (Paviani, 1977). Machado et al. (2004) verificaram o sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius*, que foi considerado de natureza mista, sendo constituído por rizóforos e raízes delgadas e tuberosas.

Os sistemas subterrâneos podem ser estruturas adaptativas contra o fogo e períodos de seca, podendo compreender um importante suprimento de gemas no ecossistema (Appezzato-da-Glória & Cury, 2011) e conter diferentes carboidratos de reserva com funções diversas. O ciclo de redução do carbono nas plantas resulta na formação de carboidratos com diferentes atribuições nos vegetais, como o armazenamento e translocação de carbono e proteção contra vários tipos de condições ambientais adversas, como a restrição hídrica, alta salinidade e temperaturas extremas (Souza et al., 2005). Espécies de Asteraceae apresentam órgãos subterrâneos que acumulam carboidratos, reforçando a estratégia adaptativa dessas plantas a diferentes condições ambientais (Appezzato-da-Glória & Cury, 2011). A sacarose é o principal açúcar de plantas vasculares e devido à sua natureza não redutora, pode ser translocado e armazenado nos vacúolos celulares, não sendo metabolizado até ser necessário, enquanto que o amido é o principal carboidrato de reserva das plantas. Já os frutanos constituem o terceiro grupo de carboidratos não-estruturais de maior ocorrência entre os vegetais (Carvalho & Figueiredo-Ribeiro, 2001). Os frutanos são polímeros de frutos e derivados da sacarose e consistem de séries homólogas de oligo e polissacarídeos não-redutores, sendo amplamente encontrados como carboidratos de reserva em Asteraceae e Poaceae (Souza et al., 2005).

Aspectos ecológicos

Os fatores abióticos exercem grande influência na dinâmica de populações vegetais, notadamente em relação aos ritmos fenológicos e ao estabelecimento de plantas. O estudo do desenvolvimento inicial das plantas e dos padrões de repartição de biomassa contribui para entender o funcionamento das diferentes formações vegetacionais (Ramos et al., 2004). Entre as funções que contribuem para a permanência das espécies em seus habitats estão a reprodução, a dispersão e a sobrevivência do germoplasma (Fenner, 1985).

A ecologia morfofuncional auxilia na compreensão das funções das estruturas morfológicas nos processos de desenvolvimento e estabelecimento das plantas. Sendo assim, as características morfológicas das plântulas associadas com outras características ecológicas, tais como: grupo sucessional, peso das sementes, sistema sexual, alocação da biomassa sistema subterrâneo/sistema aéreo, local de ocorrência, síndrome de dispersão e época de frutificação possibilitam a compreensão de como as plântulas respondem aos diferentes estágios sucessionais.

Estes parâmetros podem ser chamados de atributos funcionais de uma comunidade e estão relacionados com fatores ambientais, com a estrutura dos ecossistemas e com

funções e adaptações de cada espécie nos diferentes ambientes. De acordo com Cianciaruso et al. (2009) análises de variações intraespecíficas também devem ser consideradas nos estudos de diversidade funcional, uma vez que influenciam nos processos de estabelecimento das comunidades; os autores sugerem também que sejam consideradas as variações nos atributos que ocorrem entre os diferentes locais, assim como os que ocorrem dentro dos mesmos locais.

Para entender padrões de distribuição, abundância e coexistência de espécies em assembleias de plantas, a associação de atributos funcionais, como características morfo-fisio-fenológicas associadas ao sucesso reprodutivo e aos fatores ambientais, é apontada como a abordagem mais apropriada do que as abordagens convencionais, puramente estruturais e taxonômicas (McGill et al., 2006; Violle et al., 2007).

Estes dados são fundamentais para entender o processo de regeneração da vegetação e, desta maneira, subsidiar de maneira racional a escolha de espécies para projetos de recuperação, uma vez que a compreensão dos fatores que interferem na estabilidade de comunidades ecológicas é fundamental na atualidade, considerando a crescente perda de biodiversidade que está ocorrendo atualmente, a partir de práticas humanas.

Potencial fitoquímico

A nossa grande biodiversidade, ainda pouco explorada, pode ser considerada um potencial reservatório de novas classes de substâncias bioativas de valor medicinal. A ameaça contínua a nossa reserva natural intensifica a importância de expandir as investigações na descoberta de novas drogas nos diferentes biomas do nosso país. Neste contexto encontra-se o comprovado papel dos Produtos Naturais que busca identificar novos agentes ativos para o desenvolvimento de drogas eficazes. Além da importância na descoberta de novos fármacos, os produtos naturais têm seu grande papel no entendimento dos processos biológicos envolvidos nos mecanismos de funcionamento da natureza (Newman & Cragg, 2012).

Estudos químicos em espécies de Asteraceae, foco de estudo neste projeto, indicam a presença de constituintes das classes dos flavonoides, terpenoides, cumarinas e poliacetilenos. Várias espécies desta família são utilizadas na medicina popular, o que justifica a busca de substâncias bioativas em estudos químicos e biológicos. Como exemplo, podemos considerar algumas espécies do gênero *Mikania*, conhecidas popularmente como “guaco”, que são utilizadas na medicina tradicional pelas suas propriedades antisséptica, expectorante, antiasmática e antirreumática, diurética, anti-inflamatória (Lorenzi & Matos, 2008; Kissman & Groth, 1999). Apesar de várias espécies serem consagradas como medicinais, existem poucos estudos químicos e farmacológicos do gênero *Mikania*. Na literatura é relatada a presença de vários constituintes como taninos,

saponinas, cumarinas, etc, sendo seus óleos essenciais ricos em diterpenose sesquiterpenos (Baratto et al., 2008), ácidos hidroxicinâmico e derivados do ácido caurenóico. Cumarinas presentes são responsáveis pelo aroma do xarope de guaco.

Baccharis trimera e *Baccharis uncinella* são também exemplos de Asteraceae; ambas as espécies possuem dentre outros nomes populares, o mesmo nome de “carqueja” e possuem as mesmas características e propriedades medicinais. Estas plantas são amplamente utilizadas no Brasil na medicina tradicional, pelas propriedades tônica, febrífugas, estomáquicas e hepáticas. Em estudos farmacológicos foram validadas suas propriedades hepáticas e estomáquicas. Apesar de o gênero *Baccharis* possuir mais de 500 espécies, apenas cerca de 120 espécies foram estudadas quimicamente e cerca de 30 foram biologicamente avaliadas. Nestes estudos são relatadas a presença de flavonoides e os terpenoides e ainda as atividades analgésica, antidiabética, antifúngica, anti-inflamatória, antileucêmica, antimicrobiana, antimutagênica, antioxidante, antiviral, citotóxica, espasmolítica, alelopática e inseticida. (Karam et al., 2013)

Melastomataceae apresenta várias espécies ornamentais e algumas de uso medicinal, tendo como exemplos as plantas do gênero *Tibouchina*, as conhecidas quaresmeiras e manacás, muito utilizadas em paisagismo e a buscopan de uso popular para dores em geral. Apesar de muito conhecidas, ainda poucos estudos fitoquímicos e farmacológicos são relatados em literatura (Cruz & Kaplan, 2004). Estudos fitoquímicos de algumas espécies da família relatam a presença de triterpenoides, flavonoides como principais constituintes, e alguns compostos fenólicos como ácido gálico e elágico, etc. (Joffry et al., 2012; Susanti, 2008).

A carência de estudos químicos e biológicos de Asteraceae e Melastomataceae justifica a importância deste projeto. Sendo assim, estes estudos são de fundamental importância para a ampliação do conhecimento químico e biológico, contribuindo para a quimiotaxonomia destas famílias e ainda fornecem subsídios científicos para o emprego das espécies ou de suas substâncias no desenvolvimento de novos fitofármacos, promovendo a preservação da biodiversidade das regiões pelo uso sustentável dos recursos naturais.

2 – Justificativas

Apesar das formações campestres ocuparem uma das maiores áreas do planeta, com uma cobertura estimada em 39 milhões de Km², o que equivale a cerca de uma quarta parte da superfície terrestre, formações campestres da América do Sul, situadas abaixo do trópico de Capricórnio, apresentam nível de proteção de menos de 0,3%, formando uma das áreas mais ameaçadas do Continente (Bilenca & Miñarro, 2004). Os campos oferecem uma importante contribuição à manutenção da composição de gases na atmosfera, pela absorção do dióxido de carbono, ajudam no controle da erosão dos solos, e são fonte de

material genético para uma grande quantidade de espécies vegetais e animais que constituem a base da alimentação mundial (Bilenca & Miñarro, 2004).

A preservação da vegetação exige estudos botânicos básicos, que envolvem a identificação, crescimento, reprodução, dispersão e germinação de diásporos das plantas. Somente estudos morfológicos, taxonômicos e fisiológicos não são suficientes para entender o ciclo de vida dessas plantas, porque elas estão sujeitas aos fatores bióticos e abióticos do ambiente onde elas vicejam. É imperativo, portanto, investigação dos fenômenos vitais que acometem uma determinada planta, mas sempre inserida no contexto ecológico, ou seja, na sua relação com outras plantas, com outros seres vivos e com todos os fatores abióticos, como luz, água, ar e solo.

Preservar e conhecer profundamente uma planta ou vegetação não impedem que o homem não possa aproveitar os recursos que encerram esta planta ou vegetação. Sabiamente, o homem deve praticar o ato de preservar, mas deve também aproveitar o potencial daquela planta ou vegetação de modo sustentado, ou seja, aproveitar sem destruir ou extinguir o recurso natural. Neste contexto, é importante pesquisar o potencial fitoquímico e medicinal de espécies de uma vegetação ainda tão pouco estudada, como a dos Campos Gerais do Paraná.

Além disso, acredita-se que as mudanças climáticas trarão impacto direto no desempenho das plantas, com consequências ainda imprevisíveis sobre os ecossistemas naturais. Assim, é necessário entender como as plantas se comportam diante de condições extremas dos fatores abióticos, como temperatura e disponibilidade hídrica, tentando prever como as plantas podem se comportar diante dos cenários previstos para as próximas décadas.

Diante disto, os estudos previstos no presente projeto visam identificar estratégias para a conservação das espécies vegetais dos Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá.

3 - Objetivos

Objetivo geral

O projeto visa fornecer informações morfoecofisiológicas e fitoquímicas de espécies da vegetação dos Campos Gerais do Paraná, como contribuição ao seu uso e manejo sustentado.

Objetivos específicos e metas a serem alcançadas

Objetivo específico - Analisar a capacidade de germinação de espécies nativas campestres, bem como os fatores abióticos ideais para a germinação e sob condições ambientais extremas.

Meta – Identificar os fatores que influenciam a germinação de diferentes espécies campestres.

Objetivo específico – Avaliar a emergência e o crescimento de espécies nativas campestres, sob diferentes condições de luz e disponibilidade hídrica.

Meta – Observar a sobrevivência das plantas e seu desempenho sob luz plena e sombreamento, e condições de disponibilidade hídrica.

Objetivo específico – Investigar a ontogenia de frutos e sementes de espécies campestres de Asteraceae e Melastomataceae, como contribuição à taxonomia e filogenia das famílias.

Meta – Descrever o desenvolvimento estrutural dos frutos (pericarpos) e das sementes de 10 espécies de Asteraceae e 10 de Melastomataceae.

Objetivo específico – Analisar a morfologia e anatomia de plântulas de espécies de Asteraceae, desde a germinação da semente até a formação do eófilo.

Meta – Descrever estruturalmente as plântulas de 10 espécies de Asteraceae.

Objetivo específico – Estudar a estrutura dos nomofilos (pecíolo e limbo) de espécies de Asteraceae e de Melastomataceae, como contribuição à aclimação destas plantas ao ambiente de campo e cerrado, e à taxonomia das famílias.

Meta – Descrever a estrutura foliar de 10 espécies de Asteraceae e 8 de Melastomataceae.

Objetivo específico – Caracterizar o tipo, a estrutura e a origem de sistemas subterrâneos de espécies de Asteraceae, relacionando, sempre que possível, com as condições ambientais da planta.

Meta – Descrever os sistemas subterrâneos de pelo menos 3 espécies de Asteraceae, coletados in loco e a partir do desenvolvimento das plântulas.

Objetivo específico – Quantificar os carboidratos de reserva dos órgãos subterrâneos de espécies de Asteraceae, relacionando com os fatores ambientais.

Meta – Analisar a presença de carboidratos de reserva em órgãos subterrâneos de pelo menos cinco espécies de Asteraceae, coletados in loco e a partir do desenvolvimento das plantas.

Objetivo específico – Compreender como a morfologia das plântulas está relacionada com características ecológicas e desta maneira orientar a escolha de espécies para projetos de recuperação.

Meta - Verificar como se dá o estabelecimento e influência da morfologia funcional das plantas para entender o processo de regeneração dos campos.

Objetivo específico – Determinar os compostos químicos presentes em espécies ocorrentes em ambos os parques, interpretando sua possível interferência na dinâmica populacional, especialmente nas interações planta-planta.

Meta – Selecionar 5 espécies de uma ou mais famílias que apresentem possível potencial fitoquímico para triagem fitoquímica, isolamento e caracterização de substâncias bioativas.

Objetivo específico – Analisar estruturas das plantas com potencial medicinal e identificar grupos de compostos químicos com possíveis propriedades farmacológicas.

Meta – Identificar 2 famílias de plantas, preferencialmente endêmicas dos parques estaduais, para seleção e investigação das espécies.

Objetivo específico – Elaborar catálogo ilustrado (fotos) de plantas de ambos os parques estaduais, contendo informações botânicas, ecológicas e com potencial fitoquímico e medicinal.

Meta – Selecionar 50 espécies, pertencentes às famílias mais representativas dos dois parques, para compor o catálogo.

4 – Metodologia

Áreas de estudo

Os estudos serão desenvolvidos nas duas Unidades de Conservação mais importantes da região dos Campos Gerais do Paraná, o Parque Estadual de Vila Velha e o Parque Estadual do Guartelá, como descritos a seguir:

De acordo com Cervi et al. (2007), o “Parque Estadual de Vila Velha localiza-se no município de Ponta Grossa, na região dos Campos Gerais, Estado do Paraná, com área de 3.122,11 ha, sob as seguintes coordenadas geográficas: 25° 14' 09" de latitude Sul, e 50° 00' 17" de longitude Oeste e com uma altitude máxima de 1.068m na área denominada Fortaleza. De acordo com a classificação de Köppen, a região apresenta um tipo climático Cfb e apresenta um total anual médio de 1554 mm de precipitação”.

O estudo também será realizado no Parque Estadual do Guartelá (PEG) que se localiza no município de Tibagi, nas coordenadas 24°39'10"S e 50°15'25"W, totalizando uma área de 789,97 hectares. Tem como limite Norte e Leste o rio Iapó, ao Sudeste o riacho do Pedregulho e ao Noroeste, propriedades particulares. O PEG é uma das importantes Unidades de Conservação da região dos Campos Gerais, estando inserido na Área de Preservação Ambiental (APA) da Escarpa Devoniana.

Germinação de sementes

Delineamento experimental

Fatores – Dois fatores serão avaliados neste ensaio: temperatura (18°C, 20°C, 25°C, 28°C e 30°C) e luminosidade (escuro constante e fotoperíodo de 12h).

Distribuição – Inteiramente ao acaso.

Repetições – Cinco unidades amostrais (Placas de Petri). Em cada placa serão depositadas 20 sementes, para determinação da porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação e coeficiente de uniformidade de germinação.

Bioensaios

Durante as saídas de campo será observada a presença de diásporos maduros para coleta e posterior análise. Os experimentos de germinação serão realizados em câmaras de germinação com temperatura e fotoperíodo controlados. As sementes serão colocadas em placas de Petri contendo duas folhas de papel Germitest, umedecidas com água destilada, sendo utilizadas amostras de 100 sementes por tratamento, distribuídas em cinco repetições de 20 sementes de acordo com Oliveira et al. (1989) e Garcia & Diniz (2003). Quando não houver ampla disponibilidade de diásporos, a amostragem será reduzida, utilizando-se no mínimo cinco diásporos por repetição. Os testes serão realizados, inicialmente, em temperatura de 25°C, sob fotoperíodo de 12h e escuro contínuo. O tratamento de escuro será obtido envolvendo-se as placas de Petri em alumínio. Os diásporos permanecerão nestas condições e examinados sob luz verde de segurança. Após será verificada a germinabilidade dos diásporos sob as temperaturas de 18°C, 20°C, 28°C e 30°C, procedendo-se como acima descrito.

A germinação será avaliada diariamente sendo considerados germinados os diásporos que apresentarem 3 mm de protrusão da raiz primária. Com os resultados obtidos serão calculados a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação segundo Ferreira & Borghetti (2004) e coeficiente de uniformidade da germinação (CUG), de acordo com Santana & Ranal (2004).

A partir desta primeira avaliação, os diásporos que apresentarem dormência serão submetidos a testes químicos e físicos: escarificação, submissão a ácido giberélico e estratificação. Os diásporos com dormência imposta serão escarificados quimicamente com a utilização de ácido sulfúrico ou mecanicamente com a utilização de lixa. Para os diásporos com dormência fisiológica será utilizado o ácido giberélico é um hormônio de reconhecida função na quebra de dormência, utilizando concentrações de 50, 100 e 200 mg.L⁻¹. Neste caso, os diásporos serão colocados em contato com o ácido giberélico, durante 10 minutos, 30 minutos e 1 hora. Após, os diásporos serão colocados em placas de Petri e a germinação avaliada diariamente. Os diásporos que necessitarem de pré-resfriamento serão colocados em geladeira e, após, observada a germinação na temperatura-teste.

Emergência e estabelecimento de plântulas

Delineamento experimental

Fatores – Dois fatores serão avaliados neste ensaio: Luz (sol pleno, 50 e 80% sombreamento) e disponibilidade hídrica (plantas irrigadas diariamente; plantas irrigadas duas vezes por semana; alternância entre plantas mantidas na capacidade de campo e sob déficit hídrico).

Distribuição – Inteiramente ao acaso.

Repetições – Para cada tratamento serão utilizadas 100 sementes

Número de espécies a serem estudadas - No mínimo serão analisadas cinco espécies.

Bioensaios

Durante as saídas de campo será observada a presença de diásporos maduros para coleta e posterior análise. As sementes serão semeadas em vasos de 1L, mantidos em casa de vegetação, sob diferentes tratamentos de incidência de luz e disponibilidade hídrica, sendo observados a emergência das plântulas e o tipo morfofuncional dos cotilédones. O crescimento das plantas será avaliado através da análise do comprimento da parte aérea e da raiz, obtenção da massa seca da raiz, parte aérea e total. Também será observada a sobrevivência das plantas em cada época de análise.

Estrutura de frutos e sementes

Será investigada a ontogenia de frutos e sementes de espécies de Asteraceae e Melastomataceae ocorrentes em ambos os parques estaduais.

Coleta e fixação de material botânico

Serão coletados ramos com flores para montagem de exsiccatas e identificação das espécies, e botões florais, flores e frutos em diferentes fases de desenvolvimento para análise da ontogenia dos frutos/sementes.

O material botânico que será usado para estudo estrutural de flores e frutos será colocado em bomba de vácuo para retirada do ar dos tecidos e, posteriormente, fixado em FAA 50 e/ou glutaraldeído. Esse material fixado será em seguida conservado em frascos de vidro com álcool 70% (Johansen, 1940).

Análise anatômica

O estudo anatômico dos frutos e sementes em desenvolvimento será feito em seções executadas em diversos planos dos órgãos vegetais, realizadas à mão livre ou então obtidas em micrótomo de rotação.

Com as seções manuais serão montadas lâminas temporárias e lâminas semipermanentes. As seções, após coloração em safranina e azul de astra ou outro corante, serão montadas entre lâmina e lamínula, em água (lâminas temporárias) ou em glicerina a 33%, e lutadas posteriormente, com esmalte incolor (lâminas semipermanentes).

As lâminas permanentes serão confeccionadas com as peças botânicas fixadas, já submetidas à desidratação em série alcoólica etílica, incluídas em glicol-metacrilato (historresina Leica), conforme orientações especificadas no produto, e seccionadas em micrótomo de rotação. As seções assim obtidas serão coradas com azul de toluidina (O'Brien et al., 1964) e/ou fucsina básica 0,0125% e azul de astra 1% (Brito & Alquini, 1996). O material botânico também poderá ser emblocado em parafina, seccionado em

micrótomo de rotação e corado em hematoxilina de Erlich e safranina, segundo técnica descrita em Johansen (1940).

Testes histoquímicos

Serão realizados testes histoquímicos para determinadas substâncias contidas nas paredes celulares ou no protoplasta das flores, frutos, sementes e plântulas de Asteraceae, como:

Polissacarídeos ácidos (pectinas) – Vermelho de rutênio a 1000ppm (Johansen, 1940), em seções em parafina ou historresina (lâminas temporárias com água destilada);

Amido – Lugol (iodeto de potássio 1,5% e iodo 0,3%) (Johansen, 1940), em seções frescas ou com parafina (lâminas temporárias com lugol);

Mucilagens – Ácido tânico a 5% e cloreto férrico a 3% (Pizzolato & Lillie, 1973), seções em historresina (lâminas semipermanentes); controle com ácido tânico;

Lipídios totais – Sudan Black B 1% em etano 70% (Jensen, 1962), seções em historresina (lâminas semipermanentes); controle com metanol/clorofórmio/água/ácido clorídrico (MCAA) (66:33:4:1), antes da fixação;

Substâncias lipofílicas – Sudan III ou sudan IV 1% em etanol 70% (Jensen, 1962), seções em historresina (lâminas semipermanentes); controle MCAA;

Compostos fenólicos totais – Sulfato ferroso 2% em formalina 4% (Johansen, 1940), seções em historresina (lâminas permanentes); controle com metanol, antes da fixação;

Taninos (compostos fenólicos) – Vanilina 0,5% em ácido clorídrico 9% (Mace & Howel, 1974), seções em historresina (lâminas temporárias montadas com ácido clorídrico a 9%); controle vanilina clorídrica;

Lignina (composto fenólico) – Floroglucinol 1% em ácido clorídrico 20% (Johansen, 1940), seções em parafina ou historresina (lâminas temporárias com água destilada).

Ilustração

As seções anatômicas dos frutos (pericarpos) e sementes em desenvolvimento serão ilustradas mediante fotomicrografias obtidas por captura de imagem por câmera digital acoplada a microscópio Leica EZ4D. As imagens serão processadas mediante software Leica Application Suite Versão 1.8. As escalas referentes às ilustrações serão obtidas com lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

Desenvolvimento de plântulas

Plântulas de espécies de Asteraceae serão analisadas morfológica e anatomicamente. Plântulas de espécies de Melastomataceae poderão também ser investigadas se houver a) tempo disponível durante a execução do projeto e b) estudante de pós-graduação ou graduação interessado em desenvolver este tema.

Obtenção de plântulas de Asteraceae

As cipselas serão lavadas em solução de hipoclorito de sódio e água corrente e colocadas para germinar em caixas do tipo gerbox, sobre papel umedecido com água destilada. A germinação das cipselas ocorrerá em câmara de germinação TE 400 Tecnal, à temperatura constante e sob iluminação fluorescente branca contínua.

As cipselas germinadas, caracterizadas pela protrusão da raiz principal, serão transferidas para solo (mistura de solo e substrato orgânico em igual proporção) contido em sacos plásticos. Os sacos com as plântulas serão mantidos em casa de vegetação coberta com sombrite 50%.

O desenvolvimento inicial das espécies será feito sob duas fases, a de plântula e de tirodendro. Essas fases são definidas conforme Souza (2009a) e Souza et al. (2009): plântula é considerada a fase que abrange o vegetal, desde a germinação consumada da semente até a formação da primeira folha ou eofilo; a fase seguinte, denominada de tirodendro, se estende até o momento em que aparece o primeiro metafile.

Análise morfológica da plântula

As plântulas serão descritas e classificadas morfológicamente conforme Vogel (1980), Garwood (1996) e Souza et al. (2009). A descrição morfológica da folha obedecerá Rizzini (1977) e Hickey (1979).

Análise anatômica da plântula

O estudo anatômico da plântula será feito na raiz, colo ou coleto, hipocótilo, nó cotiledonar, cotilédones, epicótilo e eofilo(s). As técnicas de fixação, emblocamento, corte em micrótomo, coloração e montagem dos cortes será semelhante ao descrito para o estudo dos frutos e sementes.

Estrutura de folhas

Serão analisadas folhas de espécies de Asteraceae e Melastomataceae.

Coleta de folhas

As folhas serão obtidas em herbário (exsicatas) em espécimes de campo (material fresco ou fixado). No caso das folhas de herbário, elas serão reidratadas através de fervura em água destilada com gotas de glicerina e, posteriormente, armazenadas em álcool 70% (Johansen, 1940). Também poderá ser utilizada a técnica de Smith & Smith (1942) para reversão das folhas herborizadas, que consiste em ferver as amostras em água destilada, mantendo-as de molho em KOH 5% por duas horas, seguindo com lavagens em água e desidratação até álcool 70%.

No caso das folhas obtidas no campo, elas serão coletadas de ramos de espécimes do Parque Estadual da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), e Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá (Paraná, Brasil). O material vegetal fresco será colocado em fixador FAA (Formalina, Ácido Acético e Álcool Etílico) 50% (Karnovsky, 1965) e trazido à Universidade Estadual de Maringá, onde o material será submetido à bateria de álcoois, de concentrações de 50% e 60% e posteriormente ao álcool 70%, no qual será armazenado durante tempo indeterminado.

Análise anatômica em microscópio de luz e ilustração

Para cada folha serão analisados, quando possível, o pecíolo (regiões basal, média e apical) e o limbo (base, meio, ápice, nervura central e bordo). As técnicas de fixação, emblocamento, corte em micrótomo das folhas, coloração e montagem dos cortes serão semelhantes ao descrito para o estudo dos frutos e sementes. Da mesma forma que os frutos e sementes, as seções das folhas serão ilustradas com fotomicrografias em microscópio Leica.

Dissociação da epiderme

A epiderme de ambas as faces dos nomofilos também serão analisadas mediante a retirada de amostras de aproximadamente 4 cm² entre a margem e a nervura principal na porção mediana da folha, sendo colocadas em solução aquosa contendo álcool etílico a 70%, até serem processadas em laboratório. A dissociação da epiderme foliar será realizada colocando cada amostra coletada num frasco contendo solução 1:1 de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio (modificado de Franklin, 1945). O frasco será mantido em estufa à temperatura de 60°C por 12 horas, ou pelo tempo necessário para a total dissociação da epiderme. Após este processo a epiderme dissociada será lavada em água destilada, colocada em lâmina e corada com safranina.

Padrão de nervação/venação

Para a análise do padrão de venação, as folhas das espécies serão submetidas à diafanização em hipoclorito de sódio (NaOH), como descrito em Souza et al. (2005). As folhas diafanizadas serão coradas com fucsina e montadas entre lâminas com gelatina glicerina. Serão obtidas imagens dessas folhas através de microscópio estereoscópico Leica EZ4D com câmera digital embutida, e posterior captação de imagem em computador.

Análise de sistemas subterrâneos

Coleta e fixação de material botânico

Serão coletados sistemas subterrâneos e cipselas de 8-10 espécies de Asteraceae nos Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá. As amostras de sistemas subterrâneos

serão obtidas através de escavações a partir do broto mais novo até o mais antigo, visando observar a disposição do sistema sem retirá-lo por completo do solo. As cipselas servirão para obtenção das plântulas, conforme técnica já descrita no item desenvolvimento de plântulas. Frisa-se que as plântulas se desenvolverão em solo coletado no ambiente de ambos os parques. Este solo deverá ser previamente analisado física e quimicamente pelo Laboratório de Solos da Universidade Estadual de Maringá.

As amostras coletadas do sistema subterrâneo e das fases de plântulas serão fixadas em FAA 50%, solução de Karnovsky ou Bouin, desidratados em série etílica e armazenadas em etanol 70%.

Análise de carboidratos de reserva

A partir do procedimento inicial indicado no item anterior, serão coletados sistemas subterrâneos e cipselas de 5 espécies de Asteraceae nos Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá. As amostras de sistemas subterrâneos serão obtidas através de escavações a partir do broto mais novo até o mais antigo. As cipselas servirão para obtenção das plântulas, utilizando solo coletado no ambiente de ambos os parques.

Para análise dos carboidratos de reserva, serão realizados dois procedimentos:

a) Identificação de frutanos: amostras de órgãos subterrâneos serão fixadas em etanol a 70% e seccionadas. Os cristais de inulina serão visualizados sob luz polarizada e a presença destes cristais será confirmada por reação com reagente timol-ácido sulfúrico (Johansen, 1940).

b) Quantificação dos carboidratos não estruturais: para a avaliação dos carboidratos não estruturais, serão quantificados os teores de amido, carboidratos solúveis totais e sacarose. Dessa forma, as amostras coletadas serão trituradas e centrifugadas para a obtenção do extrato alcoólico, o qual será evaporado e adicionado água destilada, obtendo-se o extrato aquoso, a partir do qual serão determinados os teores dos compostos solúveis. Ao resíduo da centrifugação será realizada hidrólise ácida para determinação dos teores de amido, segundo o método descrito por McCready et al. (1950). Os teores de carboidratos solúveis totais serão determinados através de reações com antrona (Clegg, 1956). A sacarose será determinada através da reação de antrona fria, após a adição de KOH quente (Passos, 1996).

Análise morfológica

As plântulas serão descritas morfológicamente de acordo com terminologia já mencionada no item desenvolvimento de plântulas. Para a descrição da morfologia dos sistemas subterrâneos dos indivíduos adultos será adotada terminologia de Appezato-da-Glória (2003). A investigação da morfologia do sistema subterrâneo será analisada quanto à presença de protuberância, textura, suculência, rigidez e formato dos órgãos. Os sistemas serão ilustrados mediante fotografias e/ou desenhos.

Análise anatômica

Serão analisadas todas as partes das plântulas (raiz, coleto, hipocótilo, cotilédones, epicótilo e eófilo) e as regiões da base, meio e ápice dos sistemas subterrâneos. As técnicas de emblocamento, corte em micrótomo (rotação ou deslize), coloração e montagem dos cortes serão semelhantes ao descrito para o estudo dos frutos e sementes. Da mesma forma que os frutos e sementes, as seções das plântulas e sistemas subterrâneos serão ilustradas com fotomicrografias em microscópio Leica.

Aspectos ecológicos

O estudo será realizado para espécies campestres de Asteraceae e Melastomataceae, que serão coletadas nos Parques de Vila Velha e Guartelá. Todos os espécimes coletados serão classificados quanto à forma de vida de acordo com o sistema de Raunkiaer (1934), adaptado por Mueller-Dombois & Ellenberg (1974), sendo eles: caméfitas, geófitas, hemicriptófitas, lianas, parasitas, terófitas e fanerófitas.

A classificação das características morfofuncionais das plântulas será feita a partir de observações diretas das plântulas no habitat natural ou com plântulas resultantes da germinação das cipselas em câmara de germinação TE 400 Tecnal, à temperatura constante e sob iluminação fluorescente branca contínua, como descrita anteriormente. Para a classificação seguirá o sistema de Vogel (1980), Garwood (1996) e Souza et al. (2009). As características morfológicas das plântulas serão associadas com outras características morfológicas e ecológicas de cada espécie, tais como: grupo sucessional, peso das cipselas, sistema sexual, alocação da biomassa, raiz/parte aérea, local de ocorrência, síndrome de dispersão e época de frutificação.

A caracterização das espécies em grupos sucessionais seguirá a proposta da Resolução do CONAMA (2007). O peso das cipselas será obtido através de balanças analíticas, onde serão propostas classes de peso em gramas. A estimativa de alocação de biomassa sistema subterrâneo/parte aérea será realizada através da coleta de cinco plântulas de cada espécie, um mês após a data de emergência. As plântulas serão lavadas e separadas em parte aérea e sistema subterrâneo, secadas em estufa a 70 °C por, aproximadamente, 48 h e pesadas até atingir peso constante. Os pesos secos serão analisados para definir a razão sistema subterrâneo/parte aérea. As espécies serão separadas quanto ao local de ocorrência em: campo seco, campo úmido e campo com afloramento rochoso.

As síndromes de dispersão serão obtidas a partir da análise da morfologia dos diásporos coletados, que serão classificadas de acordo com Pijl (1982), como anemocóricas (dispersão pelo vento), quando apresentarem estruturas ou formas que facilitam a planação ou voo; zoocóricas, com características de dispersão por animais, e

autocóricas para aquelas cujos diásporos são dispersos por gravidade ou deiscência explosiva.

A coleta de dados fenológicos será obtida pelo trabalho de Silva (2014), enquanto os dados sobre sistemas sexuais serão obtidos de literatura especializada.

Para avaliar as possíveis relações da morfologia das plântulas com as características ecológicas, serão utilizadas análises de qui-quadrado de contingência e os resultados de biomassa com a morfologia das plântulas e em relação aos locais de ocorrência, serão realizadas análises de variância (Sokal & Rohlf, 1981).

Potencial fitoquímico

Coleta das plantas e preparação dos extratos brutos

As plantas coletadas nos Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá serão identificadas por especialistas botânicos e incorporadas ao Herbário da UEM. Parte do material vegetal coletado será levada ao Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Química da UEM, onde as partes aéreas dessas plantas serão secas em estufa e/ou levadas a hidrodestilação para extração de óleo essencial. Do material seco serão obtidos os extratos brutos que serão preparados pela extração a frio, com metanol.

Fracionamento dos extratos brutos

Os extratos brutos serão fracionados por partição em solventes de diferentes polaridades e/ou por fracionamento em coluna cromatográfica, utilizando-se adsorventes adequados aos tipos de compostos presentes em cada planta.

Caracterização dos compostos isolados e do óleo essencial

Será feita com base na análise de dados espectroscópicos de UV, IV, EM, RMN¹H e RMN¹³C.

Potencial medicinal das plantas

Em relação ao estudo histoquímico, os testes serão realizados de acordo com as recomendações propostas por Ascensão (2003), no material vegetal fresco, em seções transversais, longitudinais e paradérmicas.

Para identificação de substâncias apolares serão utilizados:

Sudan III para lipídios totais (Johansen, 1940); Sulfato Azul do Nilo para diferenciação de lipídios ácidos e neutros (Cain, 1947); Tetróxido de ósmio para a identificação de lipídios insaturados (Ganter & Jollés, 1969, 1970); reagente de NADI para identificação de óleos essenciais e oleoresinas (David & Carde, 1964) e para identificação de esteroides, tricloreto de antimônio (Hardman & Sofowora, 1972; Mace et al., 1974). Para

lactonas sesquiterpênicas será utilizada solução de ácido sulfúrico com inclusão em glicerina a 50% (Geissman & Griffin, 1971) e para identificação de terpenoides com grupo carbonila, a 2,4-dinitrofenilhidrazina (Ganter & Jollés, 1969, 1970).

Para substâncias polares serão empregados testes:

Solução de cloreto férrico (Johansen, 1940) e dicromato de potássio (Gabe, 1968) para a identificação de compostos fenólicos totais; vanilina clorídrica (Mace & Howell, 1974) para a identificação de taninos, reagente de Dragendorff (Svendsen & Verpoorte, 1983), para identificação de alcaloides; PAS (McManus, 1948) para identificação de polissacarídeos totais; lugol (Jensen, 1962) para a identificação de amido; vermelho de rutênio (Johansen, 1940) para identificar pectinas e azul brilhante de Comassie (Fischer, 1968) para identificar proteínas totais.

Como controle para identificação de substâncias apolares, as seções serão tratadas por 5 minutos em cada passagem da série etanólica 25%, 50%, 75% e 100% e cetônica, seguida de reidratação gradual (Lewinsohn et al., 1998). Como controle para identificação de substâncias polares, as seções serão tratadas com solução comercial de hipoclorito de sódio (máximo 2%) por 15 minutos, seguidas de 3 lavagens consecutivas em solução de água destilada:ácido acético (1:500).

De acordo com Kraus & Arduin (1997), os testes usados nos estudos anatômicos para o reconhecimento de metabólitos celulares, em geral, reagem com mais de uma substância; em razão dessa recomendação, serão realizadas de uma a três repetições para cada grupo de substâncias testadas.

A caracterização da superfície dos órgãos de interesse será complementada com análise do material em microscópio eletrônico de varredura, segundo a técnica descrita por Robbards (1978). Para isso as amostras de material fresco serão tratadas com solução de glutaraldeído a 2,5% e em tampão fosfato 0,1M, pH 7,3 e desidratadas em acetona, seguidas por ponto crítico. Em seguida, as peças serão fixadas com fita adesiva dupla face em suporte de alumínio e recobertas com ouro, formando uma camada com aproximadamente 20nm de espessura e analisadas em microscópio eletrônico de varredura.

5 - Resultados Esperados

Preservação ambiental

Os Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá, no Paraná, são ambientes ameaçados por ação antrópica, o que torna vulnerável todo o patrimônio genético e a biodiversidade lá existentes. É urgente, portanto, o incentivo de agências financiadoras, públicas e privadas, na realização de estudos botânicos, ecológicos e fitoquímicos, que são fundamentais para qualquer ação de preservação ou de aproveitamento sustentado da vegetação dos referidos parques.

Conhecimento científico

O conhecimento científico gerado nos estudos botânicos, ecológicos e fitoquímicos da vegetação auxiliarão no entendimento das estratégias morfoecofisiológicas que são utilizadas pelas plantas endêmicas ou espontâneas que se desenvolvem nos ambientes dos parques. É essencial que este conhecimento obtido nos estudos seja divulgado no meio científico, mediante apresentação de trabalhos em eventos técnico-científicos e publicação em revistas especializadas e não especializadas.

Educação ambiental

Todo conhecimento científico gerado e divulgado contribuirá enormemente com a educação popular. Só preserva o ambiente quem conhece e valoriza a importância dos seres vivos e sua interação com fatores físico-químicos daquele ambiente. A divulgação do catálogo detalhado de parte das plantas que vivem nestes parques também contribuirá na educação ambiental do povo.

Geração de monografias, dissertações e teses

No projeto participarão estudantes de graduação (trabalhos de conclusão de curso e de iniciação científica) e pós-graduação (dissertação de mestrado e tese de doutorado) que usarão a vegetação dos parques como objeto de seus estudos. Desta forma, o projeto estará contribuindo com a formação de futuros cientistas, professores e pesquisadores brasileiros.

Levantamento de potencial fitoquímico

Nos parques há inúmeras espécies vegetais endêmicas, pouco conhecidas, que devem apresentar potencial químico que pode contribuir com compostos de importância medicinal, alimentícia, cosmética, herbicida, inseticida ou de outro interesse humano.

6 - Referências (Conforme Normas da ABNT)

- ALLAN, R.P.; SODEN, B.J. Atmospheric warming and the amplification of precipitation extremes. **Science** v.321, n.5895, 1481-1484, 2008.
- AMO-RODRIGUEZ, S. Clave para plântulas y estados juveniles de especies primarias de una Selva Alta Perennifolia en Veracruz, México. **Biotica** v. 4, p. 59-108, 1979.
- ANDRADE, B.O., KOZERA C., CURCIO, G.R. & GALVÃO, F. Vascular grassland plants of Tibagi River Spring, Ponta Grossa, Brazil. **Check List** v. 7, n. 3, p. 257-262, 2011.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. **Morfologia de sistemas subterrâneos: histórico e evolução do conhecimento no Brasil**. Piracicaba: Ed. A. S. Pinto, 2003.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CURY, G. Morpho-anatomical features of underground systems in six Asteraceae species from the Brazilian Cerrado. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences** v. 83, n. 3, p. 981-991, 2011.

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M.E.M. Caracteres anatômicos da propagação vegetativa de *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e de *M. velutina* (Mart. ex Stedelm.) Woodson - Apocynaceae. In: Anais do IX Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Ilha Solteira, 1995. Pp. 5-13.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M.E.M. The developmental anatomy of the subterranean system in *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson and *M. velutina* (Mart. ex Stedelm.) Woodson (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** v. 23, p. 7-35, 2000.
- ASCENSÃO, L. **Técnicas histoquímicas convencionais de microscopia de fluorescência aplicadas em espécies de Cerrado**. Botucatu: IB-UNESP, 2003.
- BARATTO, L.; LANG, K.L.; VANZ, D.C.; REGINATTO, F.H.; OLIVEIRA, J.B.; FALKENBERG, M. Investigação das atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtidas de cultivos hidropônico e tradicional; **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 18, n. 4, p. 577-582, 2008.
- BAAS, P. A note on stomatal types and crystals in the leaves of Melastomataceae. **Blumea** v. 27, n. 2, p. 475-479, 1981.
- BILENCA, D. & MIÑARRO, F. **Identificación de áreas valiosas de Pastizal (AVPs) - en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y Sur de Brasil**. Buenos Aires: J.M. Kaplan Fund, 2004.
- BRANCALION, P.H.S.; RODRIGUES, R.R.; GANDOLFI, S.; KAGEYAMA, P.Y.; NAVE, A.G.; GANDARA, F.B.; BARBOSA, L.M.; TABARELLI, M. Instrumentos legais podem contribuir para a restauração de florestas tropicais biodiversas. **Revista Árvore** v. 34, n. 3, p. 455-470, 2010.
- BRITO, C.J.F.; ALQUINI, Y. A new method for staining botanical material embedded in glycol methacrylate (GMA). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** v. 39, n. 4, p. 949-951, 1996.
- CAIN, A. J. The use of Nile Blue in the examination of lipids. **Q. J. Microsc. Sci.** v. 88, p. 383-392, 1947.
- CALLAWAY, R. M.; PENNINGS, S. C.; RICHARDS, C. L. Phenotypic plasticity and interactions among plants. **Ecology** v.84, n. 5, p.1115-1128, 2003.
- CARVALHO, M.A.M.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Frutanos: ocorrência, estrutura e utilização, com ênfase em plantas do cerrado brasileiro. In: LAJOLO, F.M.; SAURACALIXTO, F.; PENNA, E.W.; MENEZES, E.W. (Eds.). **Fibra dietética en Iberoamérica: tecnología y salud**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. Pp. 78-89.
- CASTRO, M. M.; LEITÃO-FILHO, H. F.; MONTEIRO, W. R. Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica** v. 20, n. 2, p.163-174, 1997.

- CERVI, A. C.; LINSINGEN, L.; HATSCHBACH, G.; RIBAS, O. S. A vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. **Boletim do Museu Botânico Municipal** v. 69, p. 1-52, 2007.
- CIANCIARUSO, M.V.; SILVA, I.A.; BATALHA, M.A. Diversidades filogenética e funcional: novas abordagens para a ecologia. **Biota Neotropical** v. 9. n. 3 <http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/en/abstract>. 2009.
- CLEGG, K.M. The application of the anthrone reagent to the estimation of starch in cereals. **Journal of Science Food Agricultural**. v. 3, p. 40-44, 1956.
- CONSTANTINO, R. **Morfo-anatomia do desenvolvimento da semente de *Aspidosperma polyneuron* Muller Argoviensis (peroba-rosa), Apocynaceae**. Dissertação de mestrado. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1990.
- CRUZ, A.V.M.; KAPLAN, M.A.C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e Ambiente** v. 11, p. 47-52, 2004.
- CUTLER D.R.; EDWARDS Jr, T.C.; BEARD, K.H. et al. Random forests for classification in ecology. **Ecology** v. 88, p. 2783–2792, 2007.
- DALAZOANA, K.; SILVA, M.A.; MORO, R.S. Comparação de Três Fisionomias de Campo natural no Parque Estadual de Vila Velha, Ponta Grossa, PR. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 675-677, 2007.
- DAVID, R.; CARDE, J.P. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l' Academie des Sciences Paris, Série D**, v. 258, p. 1338-1340, 1964.
- DIAS-PINTO, D.; MOURÃO, K. S. M.; SOUZA, L. A.; MOSCHETA, I. S. Morfo-anatomia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Guarea macrophylla* Vahl. (Meliaceae). **Acta Científica Venezolana** v. 54, p. 238-246, 2003.
- DICKINSON, W. C. **Integrative plant anatomy**. San Diego: Harcourt Academic Press, 2000.
- EMPINOTTI, C. B.; DUARTE, M. R. Estudo anatômico de folha e caule de *Elephantopus mollis* Kunth (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 18, n. 1, p. 108-116, 2008.
- ENGEL, V.L.; PARROTTA, J.A. Definindo a restauração ecológica: tendências e perspectivas mundiais. In: KAGEYAMA, P.Y.; OLIVEIRA, R.E.; MORAES, L.F. D.; ENGEL, V.L.; GANDARA, F.B. (Eds.). **Restauração Ecológica de Ecossistemas Naturais**. Botucatu: FEPAF, 2008. Pp. 01-26.
- FENNER, M. **Seed ecology**. New York: Chapman and Hall, 1985.
- FIGUEIREDO, R.C.L. Sobre a anatomia dos órgãos vegetativos de *Ocimum nudicaule* Benth. (Labiatae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências** v. 44, p. 549-570, 1972.

- FISCHER, D.B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie** v. 16, p. 92-96, 1968.
- FRANKLIN, G.L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature** v. 155, p. 51, 1945.
- GABE, M. **Techniques histologiques**. Paris: Masson e Cie, 1968.
- GAGLIARDI, K.B.; SOUZA, L.A.; ALBIERO, A.L.M. Comparative fruit development in some Euphorbiaceae and Phyllantaceae. **Plant Systematics and Evolution** v. 300, n. 5, p. 775-782, 2014.
- GANTER, P.; JOLLÉS, G. **Histochimie normale et pathologique**. Gauthier – Paris: Villars, 1969-1970.
- GARWOOD, N. C. Functional morphology of tropical tree seedlings. In: SWAINE, M. D. (ed.). **The ecology of tropical forest tree seedlings**. Paris: Unesco, 1996. Pp. 59-129.
- GEISSMAN, T.A.; GRIFFIN, T.S. Sesquiterpene lactones: acid-catalyzed color reactions as an aid structure determination. **Phytochemistry** v. 10, p. 2475-2485, 1971.
- GERLACH, G. **Botanische microtechnik, eine einföhrung**. Stuttgart: Georg. Thiem Verlag, 1969.
- GUIMARÃES, P.J.F.; MARTINS, A.B. *Tibouchina* sect. *Pleroma* (D. Don) Cogn. (Melastomataceae) no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica** v. 20, n. 1, p.11-33, 1997.
- GUTSCHICK, V.P.; BASSIRIRAD, H. Extreme events as shaping physiology, ecology, and evolution of plants: toward a unified definition and evaluation of their consequences. **New Phytologist** v.160, n. 1, p. 21-42, 2003.
- HARDMAN, R.; SOFOWORA, E.A. Antimony trichloride as test reagents for steroids, especially diosgenin and yamogenin, in plant tissues. **Stain Technology** v. 47, p. 205-208, 1972.
- HARTHMAN, V.C.; SOUZA, L.A. Ontogenia do fruto em desenvolvimento de *Alternanthera tenella* Colla e *Amaranthus blitum* Linnaeus (Amaranthaceae). **Acta Botanica Brasilica** v. 26, n. 3, p. 642-650, 2012.
- HERZ, W. Constituents of *Mikania* species. **New Trends in Natural Products Chemistry** v. 26, p. 143- 154, 1986.
- HICKEY, L.J. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. In: METCALFE, C.R.; CHALK, L. (Eds.) **Anatomy of the dicotyledons (systematic anatomy of leaf and stem, with brief history of the subject)**. Oxford: Clarendon Press, 1979.
- IVES, A.R.; CARPENTER, S.R. Stability and diversity of ecosystems. **Science** v. 317, n. 5834, p. 58-62, 2007.
- JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. San Francisco: WH Freeman, 1962.

- JOFFRY S.M.; YOB, N.J.; ROFIEE, M.S.; AFFANDI, M.M.R.; MEOR, M.; SUHAILI, Z.; OTHMAN, F.; AKIM, A.M.D.; DESA, M.N.M.; ZAKARIA, Z.A. *Melastoma malabathricum* (L.) Smith ethnomedicinal uses, chemical constituents and pharmacological properties: a review. **Evid Based Complement Altern Med.** v. 2012, p. 1–48, 2012.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. NewYork: McGraw-Hill Book, 1940.
- KARAM, T.K.; DALPOSSO, L.M.; CASA, D.M.; DE FREITAS, G.B.L. Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v. 15, n. 2, p. 280-286, 2013.
- KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in eletron microscopy. **Journal of Cellular Biology** v. 27, p. 137-138, 1965.
- KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Bernardo do Campo: BASF, 1999.
- KLEIN, R.M. & HATSCHBACH, G. Fitofisionomia e notas complementares sobre o mapa fitogeográfico de Quero-Quero (Paraná). **Boletim Paranaense de Geociências** v. 28-29, p. 159-188, 1970/71.
- KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997.
- LEWINSOHN, E.; DUDAI, N.; TADMOR, Y.; KATZIR I.; RAVID U.; PUTIEVSKY E.; JOEL, D.M. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus*(DC.) Stapf., Poaceae). **Annals of Botany** v. 81, p. 35-39, 1998.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil- nativas e exóticas**. 2ª ed, Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.
- MAACK, R. Notas preliminares sobre clima, solo e vegetação do Estado do Paraná. **Arquivos de Biologia e Tecnologia** v. 2, p. 102-200, 1948.
- MAACK, R. **Geografia física do Estado do Paraná**. 4ª Ed. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2012.
- MACE, M.E.; BELL, A.A.; STIPANOVIC, R.D. Histochemistry and isolation of gossypol and related terpenoids in roots of cotton seedlings. **Phytopathology** v. 64, p. 1297-1302, 1974.
- MACE, M.E.; HOWELL, C.R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Phytopathology** v. 64, p. 1297-1302, 1974.
- MACHADO, S.R. et al. Morfoanatomia do sistema subterrâneo de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica** v. 27, n. 1, p. 115-123, 2004.
- MANTOVANI, W.; MARTINS, F.R. Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji Guaçu, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica** v. 11, n. ½, p. 101-112, 1988.
- McMANUS, J.F.A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology** v. 23, p. 99-108, 1948.

- MARTINS, S.V. **Recuperação de matas ciliares**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2001. 143p.
- MATESANZ, S.; GIANOLI, E.; VALLADARES, F. Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annals of the New York Academy of Sciences** v. 1206, s/n, p. 35–55, 2010.
- McCREADY, R.M.; GUGGOLZ, J.; WENS, H.S. Determination of starch and amylases in vegetables. **Analytical Chemistry** v. 22, p. 1156-1158, 1950.
- McGILL, B.J., ENQUIST, B., WEIHER, E.; WESTOBY, M. Rebuilding community ecology from functional traits. **Trends in Ecology & Evolution** v. 21, p. 178–185, 2006.
- MELO-DE-PINNA, G.F.A. Anatomia foliar de *Richtero* Kuntze (Mutisieae, Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica** v. 18, n. 3, 2004. (Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010233062004000300017&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 14 de Maio 2013).
- MELO-DE-PINNA, G.F.A.; MENEZES, N.L. Meristematic endodermis and secretory structures in adventitious roots of *Richtero* Kuntze (Mutisieae-Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica** v. 26, p. 1-10, 2003.
- MENEZES, N.L.; HANDRO, W.; MELLO CAMPOS, J.F.B. Estudos anatômicos em *Pfaffia jubata* Mart. **Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo** v. 331, n. 24, p. 197-237, 1969.
- MENTINCK, H.; BAAS, P. Leaf anatomy of the Melastomataceae, Memecylaceae and Crypteroniaceae. **Blumea** v. 37, n. 1, p. 189-225, 1992.
- METCALFE C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in taxonomy with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon Press, 1957.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. Brasília: MMA/SBF, 2004.
- MIODUSKI, J.; MORO, R.S. Grupos funcionais da vegetação campestre de Alagados, Ponta Grossa, Paraná. **Iheringia, Série Botânica** v. 66, p. 241-256, 2011.
- MORO, R.S.; CARMO, M.R.B. A vegetação campestre nos Campos Gerais. In: MELO, M.S., MORO, R.S.; GUIMARÃES, G.B. (Eds.) **Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná**. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2007. Pp. 93-98, 2007.
- MORO, R.S.; NOGUEIRA, M.K.F.S.; MILAN, E.; MIODUSKI, J.; PEREIRA, T.K.; MORO, R.F. Grassland vegetation of Pitangui River Valley, Southern Brazil. **International Journal of Ecosystem** v. 2, n. 6, p. 161-170, 2012.
- MUNERATTO, J.C.; SOUZA, L.A. Fruit (pericarp and seed) ontogeny of *Sida* species. **Gayana Botanica** v. 70, n. 1, p. 44-56, 2013.
- NANUNCIO, V.M. & MORO, R.S. O mosaico de vegetação remanescente em Piraí da Serra, Campos Gerais do Paraná: uma abordagem preliminar da fragmentação natural da paisagem. **Terra Plural** v. 2, n. 1, p. 155-168, 2008.

- NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.J. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal Nat. Prod.** vol. **75**, p. 311–335, 2012.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N., McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **O Protoplasma** v. 59, p. 368-373, 1964.
- O'BRIEN, J.; WILSON, I.; ORTON, T.; POGNAN, F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. **Enr. J. Biochem.** v. 267, p. 5421-5426, 2000.
- OKI, T. et al. Global hydrological cycles and world water resources. **Science** v. 313, n. 1068, 1068-1072, 2006.
- OLIVEIRA, J. H. G.; SOUZA, L. A.; IWAZAKI, M. C. Estruturas de reprodução de *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae). **Hoehnea** v. 32, n.1, p. 59-66, 2005.
- OLIVEIRA, J.H.G.; SOUZA, L.A.; IWAZAKI, M.C. Estruturas de reprodução de *Peperomia parnassifolia* Miq. (Piperaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** v. 30, n. 1, p. 1-7, 2008.
- OYAMA, S.O.; SOUZA, L.A.; MUNERATTO, J.C.; ALBIERO, A.L.M. Morphological and anatomical fetures of the flowers and fruits during the development of *Chamissoa altissima* (Jacq.) Kunth (Amaranthaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 53, n. 6, p. 1425-1432, 2010.
- PALLONE, S.F.; SOUZA, L. . Pappus and cypsela ontogeny in Asteraceae: structural considerations of the tribal category. **Revista Mexicana de Biodiversidad** v. 85, p. 62-77, 2014.
- PARANÁ. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Lista vermelha de plantas ameaçadas de extinção no estado do Paraná. Curitiba: SEMA/GTZ, 1995.
- PASSOS, L.P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996.
- PAVIANI, T.I. Estudo morfológico e anatômico de *Brasília sickii* G.M. Barroso: I. **Revista Brasileira de Biologia** v. 32, p. 451-472, 1972.
- PAVIANI, T.I. Estudo morfológico e anatômico de *Brasília sickii* G. M. Barroso. II: Anatomia da raiz, do xilopódio e do caule. **Revista Brasileira de Biologia** v. 37, p. 307-324, 1977.
- PAVIANI, T.I. Anatomia vegetal e cerrado. **Ciência e Cultura** v. 30, p. 1076-1086, 1978.
- PAVIANI, T.I. Anatomia do desenvolvimento do xilopódio de *Brasília sickii* G. M. Barroso - estágio inicial. **Ciência e Cultura** v. 39, p. 399-405, 1987.
- PAVIANI, T.I.; HARIDASAN, M. Tuberosidade em *Vochysia thyrsoidea* Pohl (Vochysiaceae). **Ciência e Cultura** v. 40, p. 998-1003, 1988.
- PIJL, L. van der. 1982. Principles of dispersal in higher plants. Ed.: Springer-Verlag, New York. 161pp.
- RAMOS, A. F.; SANTANA, A. C.; PRIETO, C. C.; MATIAS, L. F. Mapeamento do uso da terra nos Campos Gerais. In: MELO, M.S.; MORO, R.S.; GUIMARÃES, G.B. (Eds.)

- Patrimônio Natural dos Campos Gerais do Paraná.** Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2004. Pp. 85-92.
- RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; SOUZA-SILVA, J.C.; FRANCO, A.C. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. **Acta Botanica Brasilica** v. 18, n. 2, p. 351-358, 2004.
- RIZZINI, C.T. Sistematização terminológica da folha. **Rodriguésia** v. 29, n. 42, p. 103-125, 1977.
- ROBBARDS, A.W. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: **Electron microscopy and cytochemistry of plant cells**. New York: Elsevier, 1978. Pp. 343-444.
- ROSA, S.M.; SOUZA, L.A. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum** v. 25, n.2, p. 415-428, 2003.
- ROSA, S.M.; SOUZA, L.A. Estruturas de reprodução de *Piper amalago* var. *medium* Linnaeus (Piperaceae). **Acta Científica Venezuelana** v. 55, p. 27-34, 2004.
- SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. 2nd.ed. Iowa: State College Press, 1951.
- SILVA, A.R. **Florística, fitossociologia e fenologia de três fitofisionomias campestres no Parque Estadual de Vila Velha, Ponta Grossa**. Dissertação de Mestrado. Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2014.
- SILVA, A. C.; SOUZA, L.A. Morphology and anatomy of the developing fruit and seed of *Dalechampia stipulacea* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** v. 31, n. 4, p. 425-432, 2009.
- SMITH, F.H.; SMITH, E.C. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. **American Journal of Botany** v. 29, p. 464-471, 1942.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, J.E. **Biometry**. San Francisco: Freeman, 1981
- SOMAVILLA, N.S.; RIBEIRO, D.G. Análise comparativa da anatomia foliar de Melastomataceae em ambiente de vereda e cerrado *sensu stricto*. **Acta Botanica Brasilica** v. 25, n. 4, p. 764-775, 2011.
- SOS Mata Atlântica & INPE. **Evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados do domínio da Mata Atlântica**. São Paulo: SOS Mata Atlântica, 2011.
- SOUZA, L.A. Estrutura do tegumento das sementes de *Cassia cathartica* Mart. (Leguminosae). **Ciência e Cultura** v. 34, n.1, p. 71-74, 1981.
- SOUZA, L.A. Anatomia de estádios de desenvolvimento da semente de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Leguminosae – Faboideae). **Garcia de Orta, Série Botânica** v. 10, n.1/2, p. 1-9, 1988.
- SOUZA, L.A. Morfo-anatomia do desenvolvimento do fruto de *Acacia paniculata* Willd. (Leguminosae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** v. 36, n.4, p. 851-871, 1993.

- SOUZA, L.A. Fruto. In: SOUZA, L.A. (org.) **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa: Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2006.
- SOUZA, L.A. Morphology and anatomy of the *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. Ex I. M. Johnst diaspore (Boraginaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 51, n.4, p. 761-768, 2008.
- SOUZA, L.A. **Morfologia e anatomia vegetal (célula, tecidos, órgãos e plântulas)**. Ponta Grossa: Editora Universidade de Ponta Grossa, 2009a.
- SOUZA, L.A. Anatomia da plântula e do tirodendro. In: SOUZA, L.A. (org.) **Sementes e plântulas – germinação, estrutura e adaptação**. Ponta Grossa: Todapalavra Editora, 2009b. Pp. 191-252.
- SOUZA, L.A.; CARNEIRO, J.W.P. Desenvolvimento morfoanatômico do fruto de *Macroptilium atropurpureum* (D. C.) Urb. (Leguminosae). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia** v. 13, n. 3, p. 409-417, 1984.
- SOUZA, L.A.; IWAZAKI, M.C.; MOSCHETA, I.S. Morphology of the pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 48, n. 3, p. 407-418, 2005.
- SOUZA, L.A.; IWAZAKI, M.C.; OLIVEIRA, R.C. Morfo-anatomia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae). **Insula** v. 33, n. 33, p. 39-49, 2004.
- SOUZA, A.; MORAES, M.G.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos. **Acta Botanica Brasilica** v. 19, n. 1, p. 81-90, 2005.
- SOUZA, A.; MOURÃO, K.S.M.; SOUZA, L.A. Morfologia e anatomia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Botânica** v. 28, n. 4, p. 745-754, 2005.
- SOUZA, L.A.; MOSCHETA, I.S. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Biologia** v. 52, n. 3, p. 439-447, 1992.
- SOUZA, L. A.; MOSCHETA, I. S. Morfo-anatomia da flor de *Ocotea puberula* (Rich.) Nees (Lauraceae). **Acta Scientiarum** v. 21, n.2, p. 343-348, 1999.
- SOUZA, L.A.; MOSCHETA, I.S. Morfo-anatomia do desenvolvimento do fruto de *Ocotea puberula* (Rich.) Nees e de *Nectandra megapotamica* (spreng.) Mez (Lauraceae). **Acta Científica Venezolana** v. 51, p. 84-89, 2000.
- SOUZA, L.A.; MOSCHETA, I.S.; MOURÃO, K.S.M.; ALBIERO, A.L.M.; MONTANHER, D.R.; PAOLI, A.A.S. Morfologia da plântula e do tirodendro. In: SOUZA, L.A. (org.) **Sementes e plântulas – germinação, estrutura e adaptação**. Ponta Grossa: Todapalavra Editora, 2009. Pp. 119-190.

- SOUZA, L.A.; MUNERATTO, J.C.; OYAMA, S.O. Pericarp structure of *Arrabidaea mutabilis* Bureau & K. Schum. and *Tynanthus micranthus* Corr. Mello ex K. Schum. (Bignoniaceae). **Acta Científica Venezolana** v. 60, n. 1-2, p. 1-4, 2009.
- SOUZA, L.A.; OLIVEIRA, J.H.G. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellaneae* Lor. ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum** v. 26, p. 217-226, 2004.
- SOUZA, L.A.; OYAMA, S.O.; MUNERATTO, J.C. Morphology and anatomy of the developing fruit of *Macfadyena unguis-cati* (L.) A. H. Gentry, Bignoniaceae. **Acta Botanica Venezuelica** v. 31, n. 1, p. 1-14, 2008.
- SOUZA, L.A.; PAOLI, A.A.S. Estrutura da semente. In: SOUZA, L.A. (org.) **Sementes e plântulas – germinação, estrutura e adaptação**. Ponta Grossa: Todapalavra Editora, 2009. Pp. 15-87.
- SOUZA, L.A.; ROSA, R.M. Morfo-anatomia do fruto em desenvolvimento de *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burger, Lanjaw & Boer (Moraceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** v. 27, n.4, p. 423-428, 2005.
- SOUZA, L.A.; ROSA, S.M.; MOSCHETA, I.S. Anatomy of the development fruit of *Metrodorea nigra* A. St.-Hill. (Rutaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 51, n. 6, p. 1171-1179, 2008.
- SOUZA, L.A.; ROSA, S.M.; MOSCHETA, I.S.; MOURÃO, K.S.M.; RODELLA, R.A.; ROCHA, D.C.; LOLIS, M.I.G.A. **Morfologia e anatomia vegetal – técnicas e práticas**. Ponta Grossa: Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2005.
- SUGANUMA, M; DURIGAN, G. Indicators of restoration success in riparian tropical forests using multiple reference ecosystem. **Restoration Ecology** v. 23, n. 3, p. 238–251, 2015.
- SUSANTI, D.; SIRAT, H.M.; AHMAD, F.; ALI, RASADAH M. Bioactive constituents from the leaves of *Melastoma malabathricum* L. **Jurnal Ilmiah Farmasi** v. 5, p. 01, 2008.
- SVENDSEN, A.B.; VERPOORTE, R. Chromatography of alkaloids. New York: Elsevier Scientific Publishing, 1983.
- TROPPEMAIR, H. Perfil fitoecológico do estado do Paraná. **Boletim de Geografia**, n.1, 1990.
- VILHALVA, D.A.A.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA B. Morfo-anatomia do sistema subterrâneo de *Calea verticillata* (Klatt) Pruski e *Isostigma megapotamicum* (Spreng.) Sherff – Asteraceae. **Revista Brasileira de Botânica** v. 29, p. 39–47, 2006.
- VIOLE, C., NAVAS, M-L., VILE, D., KAZAKOU, E., FORTUNEL, C., HUMMEL, I., GARNIER, E. Let the concept of trait be functional! **Oikos** v. 116, p. 882–892, 2007.
- VOGEL, E. F. **Seedlings of dicotyledons (structure, development, types)**. Wageningen: Pudoc/Centre for Agricultural Publishing and Documentation, 1980.
- WURDACK, J.J. Atlas of hair for Neotropical Melastomataceae. **Smithsonian Contributions to Botany** s. v., n. 63, 83, 1986.

CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO (SET/2017 A SET/2020)

ATIVIDADES	1º ANO 2017	2º ANO 2018	3º ANO 2019	4º ANO 2020
1. Revisão bibliográfica	X	X	X	X
2. Coleta de material botânico	X	X	X	X
3. Herborização e identificação/espécies	X	X	X	X
6. Germinação de sementes	X	X	X	
7. Emergência e estabelecimento de plântulas		X	X	
8. Estrutura de frutos e sementes	X	X	X	X
9. Morfoanatomia de plântulas		X	X	
10. Estrutura de folhas		X	X	
11. Análise de sistemas subterrâneos		X	X	
12. Aspectos ecológicos	X	X	X	X
13. Potencial fitoquímico das plantas		X	X	
14. Potencial medicinal das plantas		X	X	
15. Redação de resumos/eventos e artigos		X	X	X
16. Redação do relatório final				X

7 - Orçamento

7.1 Despesas com Material de Consumo

Especificação	Qtde.	Valor Unitário	Valor Total
1) Historresina Leica para confecção de lâminas	2 kits	1500,00	3000,00
2) Reagentes diversos (clorofórmio, acetato de etila, hexano, ácido perclórico, acetona, álcool etílico, KOH, ácido acético glacial, peróxido de hidrogênio, formalina)	30 frascos	169,84	5095,30
Total			8095,30

7.2 Equipamentos e Material Permanente

Especificação	Qtde.	Valor Unitário	Valor Total
Total			

7.3 Serviços de Terceiros – Pessoa Física e Pessoa Jurídica

Especificação	Qtde.	Valor Unitário	Valor Total
Diárias para coleta material botânico em Vila Velha (Ponta Grossa) e Guartelá (Tibagi)	90	187,83	16904,70
Total			16904,70

7.4 Fontes de Recursos

Discriminação	UEM/Depto.	Outra fonte	Total
Material de Consumo	2000,00*		2000,00
Equipamentos e Material Permanente	200000,00**		200000,00

Serviços de Terceiros e Encargos Diversos			
Total			202000,00

* Proap/Capes; **Equipamentos existentes (MEV, microscópios fotográficos, estufas, câmeras de germinação)

7.5 Cronograma de Desembolso

Elementos de Despesas/Fontes de Recursos	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Total
UEM/Departamento				
Material de Consumo	1000,00	1000,00		2000,00
Equipamentos e Material Permanente	200000,00			200000,00
Serviços de Terceiros e Encargos Diversos				
<i>Sub-total</i>	201000,00	1000,00		202000,00
Outras fontes				
Material de Consumo	5095,30	3000,00		8095,30
Equipamentos e Material Permanente				
Serviços de Terceiros e Encargos Diversos	8452,35	8452,35		16904,70
<i>Sub-total</i>	214547,65	12452,35		25000,00
TOTAL				227000,00