



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

PROJETO DE PESQUISA

**ESTRATÉGIAS NO ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS
E POTENCIAL FITOQUÍMICO DA VEGETAÇÃO NATIVA
PRESENTE NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DE CAIUÁ,
PARANÁ**

Maringá, agosto de 2012

EQUIPE DE PESQUISA:

Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1D

Docente da Universidade Estadual de Maringá

Departamento de Biologia

Avenida Colombo, 5790, (87020-900) Maringá, Paraná; lasouza@uem.br

Káthia Socorro Mathias Mourão

Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal)

Docente, pesquisadora, Departamento de Biologia, UEM.

Área: Botânica/Morfologia vegetal

Participação no projeto: Auxiliará nas análises morfoanatômicas das plantas nativas.

Lindamir Hernandez Pastorini

Bióloga, Doutora em Ciências

Docente, pesquisadora, Departamento de Biologia, UEM

Área: Fisiologia vegetal

Participação no projeto: Responsável pelos bioensaios de germinação, crescimento inicial, bioensaios de alelopatia e análises fisiológicas das plantas.

Luiz Antonio de Souza

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1D

Docente da Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia

Área: Botânica/Morfologia vegetal

Participação no projeto: Auxiliará nas análises morfoanatômicas das plantas nativas.

Maria Aparecida Sert

Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal)

Docente, pesquisadora, Departamento de Biologia, UEM

Área: Fisiologia vegetal

Participação no projeto: Responsável pelos bioensaios de germinação, crescimento inicial, bioensaios de alelopatia e análises fisiológicas das plantas.

Maria Auxiliadora Milaneze Gutierre

Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal)

Docente, pesquisadora, Departamento de Biologia, UEM

Área: Morfologia vegetal

Participação no projeto: Auxiliará nas análises do crescimento das plantas nos diferentes substratos.

Mariza Barion Romagnolo

Bióloga, Doutora em Ecologia de ambientes aquáticos continentais.

Docente, pesquisadora, Departamento de Biologia, UEM

Área: Sistemática e ecologia vegetal

Participação no projeto: Responsável pela identificação das espécies nativas da Estação Ecológica de Caiuá e coleta do material vegetal.

Rosilaine Carrenho

Bióloga, Doutora em Biologia Vegetal

Docente, pesquisadora, Departamento de Biologia, UEM

Área: Taxonomia e ecologia de fungos micorrízicos.

Participação no projeto: Responsável pela avaliação da colonização radical por fungos micorrízicos arbusculares e da dependência micorrízica das plantas.

Silvana Maria de Oliveira Santin

Química, Doutora em Química Orgânica

Docente, pesquisadora, Departamento de Química, UEM

Área: Química orgânica.

Participação no projeto: Auxiliará nas análises fitoquímicas das plantas estudadas.

Luciane da Silva Santos

Bióloga

Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada/UEM

Caroline Barbeiro

Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas/UEM
Participante do Programa de Iniciação Científica/UEM

Caroline Fernandes Marques

Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas/UEM
Participante do Programa de Iniciação Científica/UEM

Priscila Marques da Costa

Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas/UEM
Participante do Programa de Iniciação Científica/UEM

Helen Carla Belan

Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas/UEM
Participante do Programa de Iniciação Científica/UEM

1 – INTRODUÇÃO:

Avanços nos desmatamentos no Estado do Paraná provocaram uma redução drástica das florestas nas regiões Norte e Noroeste do Estado, restando atualmente menos de 1% da cobertura vegetal original. Os fragmentos de florestas que restam nessas regiões estão, na sua maioria, limitados a áreas próximas ao leito do rio Paraná e no conjunto de ilhas que formam o arquipélago do Rio Paraná (CAMPOS e SOUZA, 1997).

As matas estacionais e suas espécies estão entre as mais ameaçadas, considerando que a América do Sul abriga cerca de 46% das florestas estacionais tropicais (deciduais e semi-deciduais) do mundo (SCARIOT e SEVILHA, 2000).

A região Noroeste do Paraná possui área de 35.108 km² dos quais, aproximadamente 26.400 km², constituem as formações de solos originados do Arenito Caiuá. Esta região teve sua colonização iniciada na década de 1940, quando agricultores de outros Estados brasileiros começaram a desbravá-la, atraídos pela fama da boa qualidade de seus solos, especialmente para a cultura do café (ciclo econômico dominante na época). A ocupação das terras da região foi rápida e pouco foi observado quanto à necessidade de se preservar um mínimo de cobertura vegetal (MAACK, 2002).

Com o objetivo de resguardar amostras significativas do ecossistema da região, em 1994 foi criada a Unidade de Conservação (UC) Estadual Estação Ecológica do Caiuá (E.E.Caiuá), no Município de Diamante do Norte, região noroeste do Estado do Paraná. Pertence à Bacia Hidrográfica do Baixo Rio Paranapanema, com parte da área ocupando as margens do Reservatório da Usina Hidroelétrica de Rosana (UHE Rosana), e parte o trecho lótico, remanescente do Rio Paranapanema, sendo considerada um dos maiores remanescentes da Floresta Estacional Semidecidual no Arenito Caiuá, com grande diversidade de flora e fauna (IAP, 2007).

Germinação e estabelecimento da plântula

O clima exerce 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 formações de floresta estacional (RAMOS et al., 2004). Entre as funções que contribuem para a permanência das espécies em seus habitats estão a reprodução, dispersão e a sobrevivência do germoplasma (FENNER, 1985).

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 e GOMEZ-POMPA, 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 e 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.

A germinação 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, promove 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 e 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 as 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 e 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 em ambientes florestais é o 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 e WHITMORE, 1988).

A quantidade e a qualidade espectral da luz, disponíveis para a germinação de sementes são distintas nas diferentes situações da floresta tropical natural. A luz tanto pode promover quanto inibir a germinação, até mesmo em sementes da mesma espécie (ZAIA e TAKAKI, 1998).

Experimentos de germinação em condições naturais têm mostrado que a luz difusa da floresta, filtrada pelo dossel, é inibidora para sementes fotossensíveis, pelo fato desta luz ser rica em vermelho-extremo (VE) (SMITH, 1973). Dessa forma, a luz filtrada pelo dossel, apresentando baixa relação V/VE mantém baixo fotoequilíbrio de fitocromo, inibindo a germinação de sementes de plantas heliófilas quando se disseminam sob o dossel da floresta (VAZQUES-YANES e OROZCO-SEGOVIA, 1993 apud ZAIA e TAKAKI, 1998; CASAL e SMITH, 1989).

Parâmetros fisiológicos do crescimento vegetal

As biomassas aérea e radicular são variáveis importantes na avaliação do desenvolvimento das plantas e na sua capacidade de aclimação a diferentes regimes de sombreamento e na tolerância a períodos secos. Para o estabelecimento de protocolos que permitam a utilização de espécies nativas em programas de recuperação de áreas degradadas, assim como para plantios comerciais, fazem-se necessários estudos de ecofisiologia em condições de campo, em condições controladas de laboratório e em condições semi-controladas em viveiros e casas de vegetação (RAMOS *et al.*, 2004).

Os pigmentos fotossintéticos são essenciais para o desenvolvimento das plantas, pois são responsáveis pela captura da energia solar incidente necessária para a fotossíntese e produção de biomassa. Desta forma a quantificação da clorofila pode determinar o estado fisiológico da planta e estimar a sua produtividade (FERRI *et al.*, 2004). Pouco são os estudos referentes à quantificação do teor de clorofila e partição de fotoassimilados em plantas nativas, havendo, portanto a necessidade da realização de pesquisas nessa área.

Características foliares são frequentemente citadas como principais indicadores no relacionamento do uso de recursos pelas plantas, biomassa e funcionamento do ecossistema por serem de fácil quantificação e estarem fortemente relacionadas à fisiologia das plantas (CRAINE *et al.*, 2001 e GARNIER *et al.*, 2001).

Interação entre as plantas

Além dos fatores abióticos citados acima para o estabelecimento de uma nova planta, tem-se também o efeito de compostos do metabolismo secundário produzidos pela própria planta ou por outras que se encontram próximas, processo esse conhecido como alelopatia.

Segundo Ferreira e Aquila (2000) a alelopatia é definida como o efeito direto ou indireto, danoso ou benéfico que uma planta exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente.

O possível efeito alelopático de espécies nativas têm sido estudado por diversos autores como Maraschin-Silva e Áquila (2006); Borella e Pastorini (2009); Gatti *et al.* (2010); Souza *et al.* (2010) e Lima *et al.* (2011), possibilitando maior conhecimento sobre a interação entre as plantas nativas e das implicações da coexistência entre as espécies e na sucessão florestal (PENG *et al.*, 2004). Alguns autores sugerem que os efeitos alelopáticos podem também contribuir para promover uma mudança na densidade e dominância espacial de populações de plantas (INDERJIT e CALLAWAY, 2003). No entanto, pesquisas sobre a ação alelopática de espécies nativas ainda é incipiente no Brasil, considerando-se a extensão territorial e a diversidade florística (MARASCHIN-SILVA e ÁQUILA, 2006).

Estudo morfoanatômico das plântulas e filogenia

A morfologia de plântulas tem papel relevante no estudo de uma vegetação, seja para compreender o ciclo de vida e processos de germinação e crescimento de suas espécies, seja para obtenção de mudas ou mesmo para classificar plântulas com finalidade taxonômica (COMPTON, 1912; DUKE, 1965; NG, 1973, 1978). A investigação morfológica de plântulas, todavia, geralmente não inclui a análise estrutural de seus órgãos, o que dificulta a compreensão do processo de estabelecimento de plântulas em uma determinada vegetação (SOUZA *et al.*, 2007).

O estudo morfológico e anatômico de plântulas de espécies nativas de matas é escasso, podendo ser mencionadas as investigações de algumas espécies de Bignoniaceae, Fabaceae, Malvaceae e Meliaceae (SOUZA *et al.*, 2009).

De acordo com Ng (1978), Amo Rodriguez e Gomez-Pompa (1979), Duke e Polhill (1981) e Parra (1984) a combinação de características da semente e do indivíduo adulto, representada na plântula, pode fornecer numerosos indícios para a identificação das espécies no campo ou em amostras de sementes. Neste contexto e, no caso da Região Noroeste do Estado do Paraná, que apresenta menos de 1% de cobertura vegetal nativa, a descrição morfológica e anatômica de plântulas que ocorrem em remanescentes é conhecimento fundamental para o entendimento da dinâmica sucessional e, podem auxiliar nas estratégias para revegetação de muitas áreas semelhantes.

Convém citar alguns estudos no Brasil sobre a morfologia de plântulas de espécies de mata realizados por Kuniyoshi (1983), Beltrati *et al.* (1985), Beltrati e Brunini (1988); Beltrati e Paoli (1989), Beltrati (1991); Souza e Moscheta (1992), Oliveira (1993), Moscheta (1995), Carmello-Guerreiro (1996), Oliveira (1999), Oliveira (2001) e Silva (2001).

Entretanto, estudos de anatomia são escassos, o que dificulta eventualmente a compreensão de todo o processo de desenvolvimento estrutural, fisiológico e ecológico de plantas florestais nos seus estágios iniciais (MOURÃO *et al.*, 2002).

O estudo da morfologia das plantas nas primeiras fases de desenvolvimento permite a observação de estruturas transitórias, as quais desaparecem com a passagem para a fase adulta (RICARDI *et al.* 1977). De acordo com Mourão *et al.* (2002), na literatura botânica brasileira encontram-se trabalhos de morfologia de plântulas de espécies nativas, porém são raros os trabalhos com estudos anatômicos. Isso dificulta a compreensão do processo de desenvolvimento estrutural, fisiológico e ecológico de plantas florestais nos seus estágios iniciais.

Pesquisas que comparam a fisiologia, anatomia e ecologia das espécies têm oferecido algumas das melhores apreciações sobre as limitações adaptativas e evolucionárias em plantas (HOFFMANN, et al., 2008).

A comparação dos aspectos morfoanatômicos, juntamente com os fatores que determinam o sucesso no estabelecimento das diferentes espécies nativas encontradas na Estação Ecológica de Caiuá, irá contribuir nas análises das possíveis relações filogenéticas das plantas a serem estudadas.

2 – QUALIFICAÇÃO DO PRINCIPAL PROBLEMA A SER ABORDADO:

Interesse ecológico e botânico

A E.E.Caiuá é um dos maiores patrimônios do noroeste do Paraná, apresentando grande diversidade de flora e fauna, sendo considerada como um dos últimos remanescentes da Floresta Estacional Semidecidual no Arenito Caiuá, porém, necessita de ações, embasadas em pesquisas para manutenção de sua diversidade (IAP, 1997).

Desta forma, estudos que investigam a composição florística e a ecologia das comunidades vegetais são fundamentais para embasar quaisquer iniciativas de preservação e conservação de remanescentes florestais, bem como para o desenvolvimento de modelos de recuperação de áreas degradadas. Estes dados tornam-se de maior valor se considerado que a Estação encontra-se na região de maior degradação florestal do Estado. Assim, muitas das informações acerca da maneira como se organizava e funcionava a floresta foram perdidas, dificultando, no presente, a elaboração de propostas de recuperação de áreas degradadas.

A necessidade de recomposição de ecossistemas degradados demanda o desenvolvimento de tecnologias de produção de mudas nativas, envolvendo a identificação botânica das espécies, métodos de colheita, beneficiamento e armazenamento das sementes,

conhecimento dos mecanismos de dormência e germinação das sementes, do melhor substrato e manejo de mudas.

A obtenção de sementes é a parte mais importante no processo de produção de mudas de essências nativas para reflorestamentos, sendo que o período juvenil pode ser considerado o mais crítico do ciclo de vida de muitas espécies. Os resultados sobre a velocidade de germinação de sementes, aliados aos dados de morfologia e desenvolvimento de plântulas são úteis no trabalho em viveiros e em pesquisas sobre armazenamento de sementes e regeneração de florestas.

Nas últimas décadas houve um grande aumento de pesquisas na área de análise de sementes florestais, devido ao crescente interesse econômico e conservacionista, no entanto, as espécies florestais nativas representam menos de 0,1% das recomendações contidas nas Regras para Análise de Sementes (RAS), o que ilustra a falta de informações sobre estas espécies. Entretanto, faltam informações sobre o estabelecimento das plântulas no ambiente e estudos sobre pigmentos fotossintéticos e partição de fotoassimilados, sendo necessário maior estudo sobre o crescimento inicial das plantas nativas.

Estudos dos processos fisiológicos da semente e posterior estabelecimento de plântulas nativas são efetivamente o ponto de partida para recuperação de áreas degradadas e manutenção dos ecossistemas florestais. Além disso, apesar da relevância dos pigmentos fotossintéticos para a atividade fotossintética das folhas, ainda faltam trabalhos que relacionem as variações sazonais e suas concentrações nas espécies vegetais e padrões fenológicos.

As florestas tropicais são conhecidas por sua alta diversidade e interações de todos os organismos com os fatores bióticos e abióticos nestas florestas, sendo responsáveis pelos complexos processos de organização da comunidade. Entre os fatores bióticos que determinam a estrutura e dinâmica da comunidade estão as interações positivas e negativas entre as plantas, devido a presença de compostos provenientes do metabolismo secundário, (SOUZA *et al.*, 2010), que são denominadas de alelopatia.

Muitos estudos sobre alelopatia têm sido focados em espécies invasoras e plantas de interesse agrônomo, principalmente no que se refere ao possível potencial herbicida das plantas produtoras de compostos alelopáticos. Pouco é conhecido sobre a interferência alelopática em biomas brasileiros e a sucessão de espécies (GATTI *et al.*, 2010), sendo necessário maior conhecimento sobre essas interações planta-planta entre espécies nativas, especialmente em florestas estacionais presentes no Noroeste do Paraná.

A partir dos dados botânicos será possível o melhor manejo das espécies, contribuindo para a obtenção de mudas de melhor qualidade. Neste projeto será utilizado o pó de MDF como substrato, o que pode se tornar uma alternativa no cultivo de plantas e produção de mudas nativas. Estas informações servirão de apoio para viveiristas, produtores rurais e órgãos governamentais.

Além disso, pouco se conhece sobre o potencial fitoquímico e medicinal da vegetação nativa do Brasil, inclusive da flora nativa da Estação Ecológica de Caiuá, sendo uma Floresta Estacional Semidecidual. O estudo dos compostos químicos contribuirá para determinar as espécies com possível potencial medicinal ou fitotóxico.

3– OBJETIVOS E METAS A SEREM ALCANÇADOS:

Objetivo geral:

Gerar informações sobre a flora da Estação Ecológica de Caiuá, ao analisar o estabelecimento de espécies florestais nativas do Paraná, considerando a germinação das sementes, crescimento e morfologia das plântulas, bem como os aspectos relacionados ao estudo fitoquímico e possível potencial medicinal.

Objetivos específicos e Metas a serem alcançadas:

- Identificar as plantas coletas quanto à espécie, gênero e família e incorporar ao Herbário da UEM.

Meta: Obter a identificação das espécies florestais nativas, o que é essencial para posterior publicação dos resultados, estando as plantas mantidas no HUEM. Além disso, o levantamento das espécies e famílias existentes contribuirá para as análises de relações filogenéticas.

- Analisar a capacidade de germinação de espécies florestais nativas, bem como os fatores abióticos ideais para a germinação.

Meta: Obter informações sobre os fatores que influenciam a germinação das diferentes espécies florestais nativas da Estação Ecológica de Caiuá.

- Avaliar o crescimento de espécies florestais nativas, obtidas a partir da germinação das sementes e mantidas em casa de vegetação, a partir da obtenção da massa fresca e seca da parte aérea e raízes e área foliar;

Meta: Estabelecer os parâmetros necessários no crescimento das espécies nativas a serem estudadas.

- Determinar o potencial germinativo das sementes nas diferentes espécies arbóreas, sob diferentes níveis de fósforo no solo e associação micorrízica;

Meta: Estabelecer a influência dos níveis de fósforo na associação micorrízica e destes fatores sobre a germinação das sementes.

- Verificar a relação de dependência e responsividade das plântulas à associação micorrízica;

Meta: Verificar a necessidade e a dependência, no estabelecimento das plantas nativas, à associação micorrízica.

- Determinar a capacidade fotossintética e quantificar os pigmentos fotossintéticos durante o crescimento das plantas em estudo;

Meta: Considerando as condições em casa de vegetação, procura-se obter informações sobre os parâmetros fotossintéticos durante o crescimento das plantas.

- Realizar estudo morfoanatômico das plântulas obtidas a partir da germinação das espécies florestais;

Meta: Obter informações sobre a morfologia e anatomia das plântulas, oriundas da germinação em placas de Petri e casa de vegetação, estabelecendo relações entre as diferentes espécies florestais nativas e respectivas famílias botânicas da Estação Ecológica de Caiuá.

- Verificar a interação planta-planta, especialmente em relação efeito alelopático das espécies nativas da Estação Ecológica de Caiuá;

Meta: Obter informações sobre interação planta-planta diferentes espécies florestais nativas da Estação Ecológica de Caiuá e como isto interfere no estabelecimento das plantas, regeneração das espécies e na sua distribuição na comunidade.

- Analisar alterações anatômicas das plântulas obtidas a partir de sementes submetidas aos extratos vegetais com possível ação alelopática.

Meta: Espera-se obter informações sobre as alterações anatômicas das plântulas obtidas dos testes alelopáticos e a interferência dos extratos utilizados na morfogênese das plantas.

- Determinar os compostos químicos presentes em algumas das espécies estudadas;

Meta: Observar os principais compostos químicos presentes nas espécies a serem estudadas e como estes compostos, interferem na dinâmica populacional, principalmente nas interações planta-planta.

- Analisar o possível potencial medicinal das espécies nativas em estudo, a partir dos dados fitoquímicos obtidos;

Meta: Os resultados fitoquímicos, possibilitarão verificar o potencial medicinal das espécies nativas

3 – METODOLOGIA A SER EMPREGADA:

3.1- Área de estudo

A Estação Ecológica de Caiuá, com uma área de 1.427,30 ha, localiza-se na região noroeste do Estado do Paraná, no município de Diamante do Norte, com coordenadas aproximadas entre 52° 49' a 52° 53' W e 22° 34' a 22° 37' S (Fig. 1) e altitude que varia de 240 a 380 m. (IAP, 1997). Pertence à Bacia Hidrográfica do Baixo Rio Paranapanema, com parte da área ocupando as margens do Reservatório da Usina Hidroelétrica de Rosana (UHE Rosana), e parte o trecho lótico, remanescente do Rio Paranapanema (IAP, 2007).

Segundo a classificação climática de Koeppen, a região Noroeste do estado do Paraná apresenta clima do tipo Cfa - mesotérmico, úmido, sem estação seca e com verões quentes. A temperatura média do mês mais frio é abaixo de 18°C e a temperatura média do mês mais quente é acima dos 22°C (MAACK, 2002). A precipitação média anual é de 1.200-1.400 mm, sendo o trimestre mais chuvoso, dezembro, janeiro e fevereiro. A temperatura média anual está entre 21 e 22°C, sendo a média do mês mais quente (fevereiro), 24 a 25°C, e do mês mais frio (julho), 17 a 18°C. A umidade relativa do ar (média anual) é de 75%. (IAPAR, 2009).

A formação da maioria dos solos da E.E.Caiuá, está representada pelo Arenito Caiuá-série São Bento-Cretáceo; ocorrem também solos derivados de sedimentos fluviais nas porções adjacentes ao Rio Paranapanema, ocorrendo predominância de Latossolos Vermelhos, Argissolos Vermelhos, Argissolos Vermelhos-Amarelos e Neossolos Quartzarenicos, respectivamente (IAP,1997; EMBRAPA, 1999).

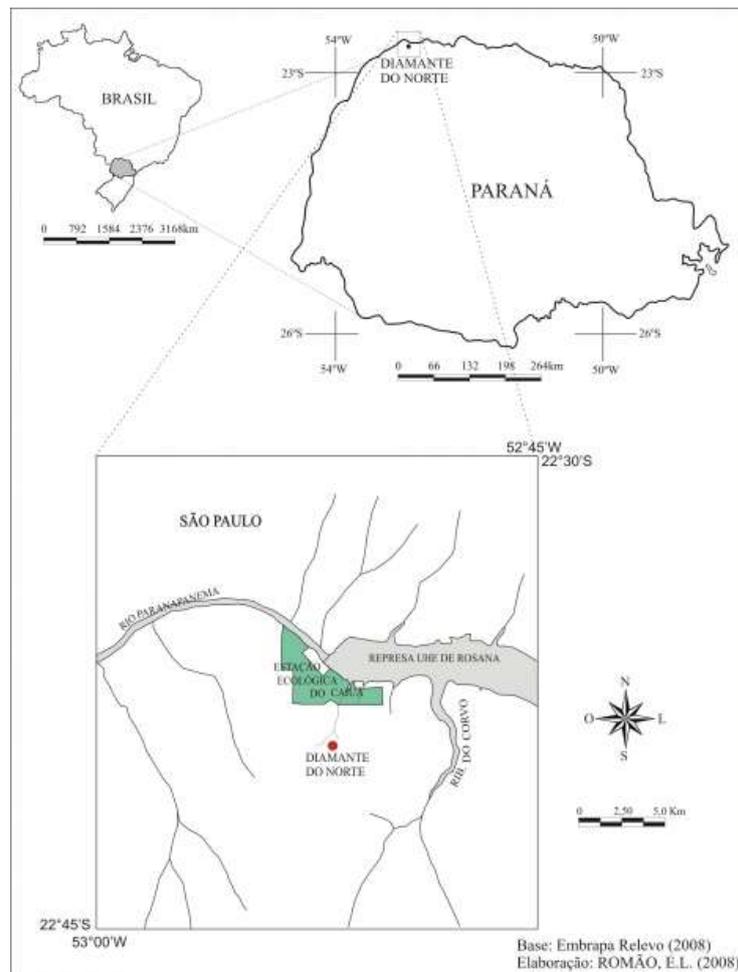


Figura 1. Localização da Estação Ecológica do Caiuá, Município de Diamante do Norte, Estado do Paraná – Fonte: IAP (1997).

3.2- Procedimentos de Campo e Laboratório

3.2.1. Coleta do Material Botânico

Para coleta e identificação do material vegetal, que serão utilizados nos experimentos a campo e laboratório, serão escolhidos alguns trechos com cobertura florestal mais preservada, incluindo as áreas ripárias do reservatório da Hidrelétrica de Rosana (Rio Paranapanema) do ribeirão Diamante e ribeirão Conceição. O material botânico será coletado em campanhas mensais. As coletas serão realizadas através de embarcações motorizadas para vegetação marginal e caminhadas aleatórias dentro da mata. Serão coletadas partes reprodutivas do material botânico, com ajuda de tesoura de poda manual e tesoura de poda alta. Estas amostras serão levadas para os laboratórios de Botânica da E.E.Caiuá e Universidade Estadual de Maringá, onde serão herborizadas de acordo com técnicas usuais (FIDALGO; BONONI, 1989) e depositados no HUEM (Herbário da Universidade Estadual de Maringá).

A identificação em família, gêneros e espécies seguirá padrões da taxonomia clássica, feita com base em caracteres morfológicos, utilizando-se sempre que possível vários exemplares, com auxílio de literatura específica.

Os dados das identificações serão organizados por categorias taxonômicas e elaborada uma lista das espécies, organizadas em famílias, gêneros e espécies e listadas em ordem alfabética. Sempre que possível serão listados também o nome popular, porte (FONT QUER, 1985), além do número de registro no herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM).

As saídas de campos ocorrerão uma vez por mês, em que folhas, frutos e sementes maduros serão coletados e transportados para o Laboratório de Botânica e de Fisiologia Vegetal da UEM para os procedimentos de análises laboratoriais e em casa de vegetação.

3.2.3. Germinação

- 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 frutos maduros para a coleta das sementes 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 e Diniz (2003). Quando não houver ampla disponibilidade de sementes, a amostragem será reduzida, utilizando-se no mínimo cinco sementes 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. As sementes permanecerão nestas condições e examinadas sob luz verde de segurança. Após será verificada a germinabilidade das sementes sob as temperaturas de 18°C, 20°C, 28°C e 30°C, procedendo-se como acima descrito.

A germinação será avaliada diariamente sendo consideradas germinadas as sementes que apresentarem 3mm 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 e Borghetti, 2004 e coeficiente de uniformidade da germinação (CUG), de acordo com Santana e Ranal (2004).

A partir desta primeira avaliação, as sementes que apresentarem dormência serão submetidas a testes químicos e físicos: escarificação, submissão à ácido giberélico e estratificação. As sementes com dormência imposta serão escarificadas quimicamente com a utilização de ácido sulfúrico ou mecanicamente com a utilização de lixa. Para as sementes 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, as sementes serão colocadas em contato com o ácido giberélico, durante 10 minutos, 30 minutos e 1 hora. Após as sementes serão colocadas em placas de Petri e a germinação avaliada diariamente. As sementes que necessitarem de pré-resfriamento serão colocadas em geladeira e após observada a germinação na temperatura-teste.

3.2.4. Crescimento das plantas em casa de vegetação :

- Delineamento Experimental

Fatores – Dois fatores serão avaliados neste ensaio: substrato de crescimento das plantas (vermiculita, areia, substrato orgânico e pó de MDF) e período de desenvolvimento, com quatro níveis (30, 90, 180 e 360 dias após o transplante).

Distribuição – Inteiramente ao acaso.

Repetições – 10 unidades amostrais (vasos). Cada vaso receberá uma plântula.

Para análise do crescimento, as sementes serão postas para germinar em bandejas contendo substrato (vermiculita ou areia) e após desenvolvimento da plântula serão transferidas para vasos plásticos individuais de 15x30 cm. Cada vaso plástico conterá o substrato correspondente para a análise do crescimento das plantas. O crescimento das plantas será avaliado em diferentes substratos: vermiculita, areia, substrato comercial e pó de MDF. Após 30, 90, 180 e 360 dias ou após esgotamento das reservas da semente, serão obtidos a massa fresca e seca da parte aérea e raízes, altura da plântula, número de folhas e ramos e comprimento da raiz. Para obtenção da massa fresca, as plântulas serão retiradas do substrato e separadas a parte aérea da raiz. A massa seca será obtida através da secagem da parte aérea e raiz em estufa a 70°C até obtenção do valor constante de massa após pesagem em balança analítica.

As plantas serão mantidas em casa de vegetação e irrigadas manualmente duas vezes por semana. Caso se observe sintomas de deficiência nutricional será adicionada solução de Hoagland.

Também será obtida a área foliar das plantas amostradas.

3.2.5 Parâmetros fisiológicos:

A condutância estomática, a assimilação líquida de carbono, a concentração intracelular de CO₂, a fluorescência e a transpiração serão avaliados através do aparelho portátil LCPro, utilizando-se sempre uma folha totalmente expandida do segundo nó a partir do ápice de cada planta, com aproximadamente 25 segundos de leitura em cada folha. Para a realização de tais medidas, serão utilizadas 10 plantas cultivadas nos substratos descritos anteriormente, todas no mesmo dia.

Para análise dos teores dos pigmentos das folhas, indivíduos de cada espécie, sendo 10 repetições, coletados sempre no mesmo horário de acordo com metodologia descrita por Carvalho et al. (2007). A quantificação dos teores de clorofila *a* e *b* será de acordo com Arnon (1949), sendo que a extração de clorofila ocorrerá com acetona 80% e a leitura em espectrofotômetro a 645 e 663 nm.

3.2.6 Avaliação da colonização radical por fungos micorrízicos arbusculares

- Delineamento Experimental

Fatores – Três fatores serão avaliados neste ensaio: micorrização, com dois níveis (plantas cultivadas em solo natural e plantas cultivadas em solo estéril), disponibilidade de fósforo, com quatro níveis (solução de Hoagland acrescida de 0, 0,002, 0,02 ou 0,2 mg.L⁻¹ de P), e período de desenvolvimento, com três níveis (imediatamente após a diferenciação do primeiro eófilo, 30 e 60 dias seguidos).

Distribuição – Inteiramente ao acaso.

Repetições – Cinco unidades amostrais (vasos). Em cada vaso serão depositadas 10 sementes, para determinação da porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação. Após emergência das plântulas, realizar-se-á desbaste, mantendo-se apenas três plântulas, que serão retiradas sucessivamente, ao atingirem os estádios discriminados no item anterior.

Inicialmente o solo será preparado para o cultivo das plantas. Este será peneirado e dividido em duas partes, uma que será esterelizada por autoclavagem, e a outra que ficará com as comunidades de microrganismos do solo. Com estes dois grupos de solo, vasos de 5 L de capacidade de volume serão preenchidos e receberão sementes das espécies de plantas em

separado. Sendo que serão analisadas no mínimo seis espécies. Os vasos com solo estéril receberão um filtrado do solo natural, para recomposição da microbiota, excluindo-se propágulos de fungos micorrízicos arbusculares. Em cada vaso serão mantidas três plantas, que serão retiradas em três momentos (após completa diferenciação do primeiro eofilo, 30 e 60 dias sucessivos), com auxílio de pá de jardineiro.

Condução - Durante o período de cultivo, as plantas serão regadas com água destilada deionizada (sempre que necessário) ou solução nutritiva de Hoagland (duas vezes na semana), com diferentes concentrações de fósforo, como discriminado anteriormente. Controle de possíveis ataques de formigas ou insetos predadores será feito manualmente, se necessário.

- Avaliação do crescimento das plântulas

Crescimento das plântulas – Medidas das variáveis de comprimento dos eixos epicótilo e hipocótilo e da raiz primária, massa seca da parte aérea, massa seca do sistema radical, massa seca total (plântula), massa seca dos cotilédones, e relação massa seca dos cotilédones x massa seca total⁻¹ serão feitas em três momentos: imediatamente após a completa diferenciação do primeiro eofilo, 30 e 60 dias seguidos.

- Avaliação morfológica das raízes

Comprimento da raiz primária, que será determinado utilizando-se régua micrometrada, o diâmetro da raiz primária, o comprimento total, como descritos por Tennant (1975), o comprimento específico, o diâmetro médio e a incidência de pelos absorventes, de acordo com ZANGARO *et al.*, 2005; 2007.

- Avaliação da colonização radical por fungos micorrízicos arbusculares

Clareamento e coloração das raízes – Sessenta dias após a completa diferenciação do primeiro eofilo, será avaliada a colonização micorrízica. Para isso, as raízes serão lavadas em água corrente, e posteriormente levadas ao banho-maria em tubos preenchidos com KOH 10%, para clareamento do córtex. Depois serão novamente lavadas em água corrente e acidificadas com HCl 5%. Então, serão coradas com azul de tripano, em banho-maria (PHILLIPS; HAYMAN, 1970). *Avaliação da colonização radical por FMA* - Inicialmente, a avaliação da colonização radical será realizada sob microscópio estereoscópio, segundo metodologia descrita por Giovannetti e Mosse (1980). Caso o clareamento seja insuficiente para a observação do córtex radical, as raízes serão montadas em lâminas e observadas em microscópio óptico, e a quantificação da colonização seguirá os critérios estabelecidos por Trouvelot, Kough e Gianinazzi-Pearson (1986).

- Determinação da dependência e da responsividade micorrízica

Dependência e responsividade - Serão determinadas utilizando-se as equações propostas por Janos (2007), abaixo discriminadas.

$D = (-1.S^{-1}) \times \ln (0,9AI).(0,1A^2-0,1AI)^{-1}$, onde A = assíntota; I = intercepto do crescimento mínimo; S = tangente do ponto de inflexão.

$R_{[P]} = M-NC$, onde M corresponde aos dados obtidos no tratamento micorrizado e NC ao tratamento não colonizado (solo estéril).

3.2.7. Potencial Alelopático:

- Delineamento Experimental

Fatores – Serão avaliados neste ensaio a concentração dos extratos (1%, 2%, 4% e 8% e água como controle) sobre a germinação sementes e crescimento inicial de plantas bioindicadoras e de plantas nativas.

Distribuição – Inteiramente ao acaso.

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

- Bioensaios

Para avaliação do possível efeito alelopático das plantas em estudo sobre plantas bioindicadoras, serão realizados testes descritos a seguir.

Serão utilizadas folhas frescas e secas das plantas nativas, que serão trituradas em liquidificador industrial, na proporção de 8g para 100mL de água destilada por 5min em temperatura ambiente. O extrato bruto obtido permanecerá 24h em repouso, no escuro e sob refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$), decorrido este período, será filtrado em gaze. O sobrenadante será utilizado como extrato de maior concentração (8% – m/v). Com diluições em água destilada serão obtidos os extratos nas concentrações de 4%, 2% e 1% (m/v). Como tratamento controle utilizar-se-á somente água destilada, a fim de comparar com os efeitos das quatro concentrações. Para obtenção das folhas secas, as mesmas serão secas em estufa a 45° até massa constante, de acordo com Borela et al (2009). Os extratos das folhas serão avaliados individualmente quanto ao pH, aferindo-se com pHmetro (Tecnal), e potencial osmótico, estimado pelo método de Chardakov (Salisbury e Ross, 1992).

Os experimentos conterão 5 repetições de 20 sementes para cada tratamento, distribuídas aleatoriamente em placas de Petri esterilizadas de 9cm de diâmetro contendo duas folhas de papel germitest umedecidas com 6mL de extrato aquoso, de modo que a solução esteja bem distribuída. As placas contendo, devidamente, suas sementes e extratos, permanecerão em câmara de germinação tipo BOD, a temperatura constante igual a 25°, sob fotoperíodo de 12h. Serão testadas todas as concentrações dos extratos para cada planta alvo.

A avaliação da germinação será realizada em intervalos de 24h durante 7 dias, considerando-se como critério de germinação a protusão da raiz primária (FERREIRA e AQUILA, 2000).

Para o efeito fitotóxico das plantas sobre o crescimento inicial, as sementes de plantas bioindicadoras serão germinadas em água destiladas e ao atingirem 3mm de radícula, as mesmas serão transferidas para placas contendo os extratos, procedendo-se como acima descrito.

3.2.8. Análise morfoanatômica das plântulas:

A análise morfológica das plântulas será feita nas plântulas obtidas em casa de vegetação e após germinadas em placas de Petri. As plântulas serão descritas com base em terminologia adotada por Rizzini (1977), Vogel (1980) e Souza et al. (2009). Serão observados também caracteres como malformações e/ou oxidação de raízes, necrose dos cotilédones, variação na cor, espessamento das raízes e cotilédones.

A análise anatômica será feita na raiz, hipocótilo, cotilédones, epicótilo e eofilo. Este material botânico será coletado e, após a retirada do ar dos tecidos, o material será fixado em Glutaraldeído, FAA 50 e/ou FPA 50, e armazenado em álcool 70% (Johansen, 1940). O estudo anatômico do material botânico será feito em seções executadas em diversos planos, principalmente o transversal, 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 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.*, 1965). O material botânico também poderá ser emblocado em parafina, seccionado em micrótomo de rotação e corado em hematoxilina de Erhlich e safranina, segundo técnica descrita em Johansen (1940). Serão

realizados testes histoquímicos para diferentes substâncias que ocorrem na parede celular ou no protoplasto, utilizando-se corantes e reagentes específicos (Johansen, 1940; Rawlins e Takahashi, 1952; Berlyn e Mikshe, 1976). As fases de desenvolvimento das plântulas das diferentes espécies serão ilustradas mediante desenhos e/ou fotografias digitais. A ilustração das plântulas também poderá ser feita em microscópio estereoscópico Leica EZ4D com câmera digital embutida, e posterior captação de imagem em computador. A ilustração anatômica será feita mediante desenhos elaborados ao microscópio binocular Willd., com auxílio de câmara clara ou fotomicrografias. Estas serão obtidas por captura de imagem por câmera digital Canon Power Shot A95 (Zoom Browser EX 4.6). As escalas referentes às ilustrações serão obtidas com lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

3.2.9. Análise fitoquímica:

- **Coleta das plantas e Preparações dos extratos brutos:** As plantas nativas da Estação Ecológica de Caiuá, após serem coletadas, serão levadas ao Laboratório de Botânica/UEM, identificadas e incorporadas ao Herbário da UEM. Outros ramos destas plantas serão levados ao Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Química da UEM, onde a parte aérea dessas plantas será seca em estufa. Seus extratos brutos 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:** Será feita com base na análise de dados espectroscópicos de UV, IV, EM, RMN¹H e RMN¹³C.

3.2.10. Análise dos resultados:

Os resultados obtidos durante todos os bioensaios em laboratório e experimentos em casa de vegetação serão submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, analisando-se os fatores principais e os desdobramentos dos graus de liberdade para as interações significativas.

4 – PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES DA PROJETO

O objetivo do projeto é obter informações sobre quais estratégias utilizadas pelas diferentes espécies nativas no seu estabelecimento e dispersão no ambiente e do seu potencial fitoquímico, considerando a área de estudo da Estação Ecológica de Caiuá. A contribuição científica deste projeto se refere ao conhecimento botânico das espécies, em que para muitas faltam informações básicas sobre a germinação, crescimento e fisiologia das plantas, a necessidade de associação micorrízica e características morfoanatômicas, bem como de seus componentes químicos.

Esse trabalho será de grande relevância, não somente associadas ao conhecimento botânico, mas ecológico, contribuindo para o conhecimento dos diferentes aspectos biológicos e químicos das plantas que serão estudadas

Além disso, o estudo do estabelecimento das plantas e as estratégias de manutenção no ambiente possibilitam a utilização dessa informação na produção de mudas de alta qualidade, que poderão ser utilizadas em áreas que precisam ser reflorestadas, e ainda será e ainda a possível a transferência dessa tecnologia para viveiristas e órgãos governamentais.

Espera-se com o desenvolvimento deste projeto, uma contribuição científica relevante, gerado a partir da divulgação dos resultados obtidos em eventos nacionais e internacionais, publicação de resumos e de artigos em periódicos da área de conhecimento nacionais e estrangeiros.

5- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLSOPP, N.; STOCK, W.D. 1995. Relationship between seed reserves, seedling growth and micorrhizal responses in 14 related shrubs (Rosidae) from a low- nutrient environment. **Functional Ecology**, v.9, p.248-254.

AMO-RODRIGUES, S; GOMEZ-POMPA. 1979.Clave para plântulas y estados juveniles de espécies primárias de una selva alta perinnifolia en Veracruz, México. *Biotropica*, St. Louis, v. 4, n.2, p. 58-108.

ARNON, D.I. 1949.Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**. 24:1-15.

BELTRATI, C. M. *et al.* 1985. Estudo morfo-anatômico das sementes e plântulas de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae). **R. brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 45, no.4, p. 499-506.

BELTRATI, C. M.; BRUNINI, J. 1988. Morfologia, anatomia e desenvolvimento das sementes e plântula de *Trichilia pallida* Swartz. (Meliaceae). **R. brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 48, no.4, p. 673-681.

BELTRATI, C. M.; PAOLI, A. A. S. 1989. Morfologia, anatomia e desenvolvimento das sementes e plântulas de *Bauhinia forficata* Link. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **R. bras. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 49, no.2, p. 583-590.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. 1976. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Iowa: The Iowa State University Press.

CARMELLO-GUERREIRO, S. M. 1996. **Morfologia, anatomia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem. e *Astronium graveolens* Jacq. (Anacardiaceae)**. 1996. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

BORELLA, J.; PASTORINI, L.H. 2009. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Biotemas**, 22 (3): 67-75.

BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; BONATTI, L.C.; PASTORINI, L.H. 2009. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Persea Americana* Mill. Sobre *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 7. n.3. p. 260-265.

BERLYN, G.P.; MIKSCHE, J. P. 1976. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Iowa: The Iowa State University Press.

CABRAL, E.L.; BARBOSA, D.C.A.; SIMABUKURO, E.A. 2003. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. F. ex. S. Moore. **Acta Botânica Brasilica**, Porto Alegre, v.17, n.4, p.609-617.

CAMPOS, J.B. & SOUZA, M.C. (1997). Vegetação. In: VAZZOLER, A. E. A. M.; AGOSTINHO, A. A. & HAHN, N. S. (Eds). **A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos**. Maringá: EDUEM: Nupélia. p. 331-342.

CARVALHO, A.P.F.; BUSTAMANTE, M.M.C.; KOZOVITS, A.R. e ASNER, G.P. 2007. Variações sazonais nas concentrações de pigmentos e nutrientes em folhas de espécies do cerrado com diferentes estratégias fenológicas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n.1, p. 19-27.

CASAL, J.J.; SMITH, H. 1989. The function, action and adaptive significance of phytochrome in light-grown plants. **Plant Cell and Environment**. 12:855-862.

CAVALCANTE, U.M.T.; MAIA, L.C.; COSTA, C.M.C.; CAVALCANTE, A.T.; SANTOS, V.F. 2002. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares, da adubação fosfatada e da esterilização do solo no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.1099-1106.

- COMPTON, R.H. 1912. Investigation of the seedling structure in the Leguminosae. **Journal of Linnean Society (Botany)** v. 41, p. 1-122.
- CRAINE, J.M., FROEHLE, J., TILMAN, D.C., WEDIN, D.A. & CHAPIN, F.S. 2001. The relationships among root and leaf traits of 76 grassland species and relative abundance along fertility and disturbance gradients. **Oikos**. 93:274-285.
- DUKE, J.A. & POLHILL, R.M. 1981. Seedlings of Leguminosae. *In* Advances in legume systematics (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Royal Botanic Gardens, Kew, p.941-949.
- EMBRAPA. 1999. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: **Embrapa-SPI**. 412 p.
- FENNER, M. 1985. **Seed ecology**. New York: Chapman and Hall. 151p.
- FERREIRA, A.G. & AQUILA, M.E.A. 2000. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.12, p.175-204. Suplemento.
- FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. 2004. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Arned.
- FERREIRA, R.A.; ALVARENGA, B.S.; CLÁUDIO, D.A.; MATOS, M.M. 2001. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. – favaveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). São Paulo, **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.3, p.303-309.
- FERRI, C.P. 2004. Narrow band spectral indexes for chlorophyll determination in soybean canopies. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. 16(3):131-136.
- FIDALGO, O.; BONONI, V.L.R. (org.) 1989. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, Governo do Estado de São Paulo, Secretaria de Meio Ambiente, 62 p. il.
- FONT QUER, P. 1985. **Diccionario de Botánica**. Barcelona: Editorial Labor S.A.
- GARCIA, Q.S.; DINIZ, I.S.S. 2003. Comportamento germinativo de *Vellozia* da Serra do Cipó-MG. **Acta Botânica Brasílica**. 17(4):487-484.
- GARNIER, E., LAURENT, G., BELLMANN, A., DEBAIN, S., BERTHELIER, P., DUCOUT, B., ROUMET, C. & NAVAS, M.L. 2001. Consistency of species ranking based on functional leaf traits. **New Phytologist**. 152:69-83.
- GATTI, A.B.; FERREIRA, A.G.; ARDUIN, M.; PEREZ, S.C.G. de A. 2010. Allelopathic effects of aqueous extracts of *Aristolochia esperanzae* O.Kuntze on development of *Sesamum indicum* L. seedlings. **Acta Botanica Brasílica**, v.24, p.454-461.

GERDEMANN, J.W. 1975. Vesicular–arbuscular mycorrhizae. In: Torrey J.G., Clarkson D.T. (eds). **The development and function of roots**. Academic Press, London, p 575–591.

GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular–arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytologist** v.84, p.489–500.

HOFFMANN, W.A.; FRANCO, A.C. 2008. The importance of evolutionary history in studies of plant physiological ecology: examples from Cerrados and orests of Central Brazil. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. V. 20, n.3, p. 247-256.

IAP – INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. 1997. **Plano de manejo da Estação Ecológica do Caiuá, Diamante do Norte-PR**. Paranavaí: IAP. 154p.

IAPAR – INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. 2009. **Monitoramento Agroclimático do Paraná**. Disponível em: <<http://200.201.27.14/Site/Sma/index.html>> Acesso em: 20/08/2009.

ILLENSEER, R. & M.T.S. PAULILO. 2002. Crescimento e eficiência na utilização de nutrientes em plantas jovens de *Euterpe edulis* Mart. sob dois níveis de irradiância, nitrogênio e fósforo. **Acta Botanica Brasilica**, 16:385-394.

INDERJIT AND CALLAWAY, R. M. (2003), Experimental designs for the study of allelopathy. **Plant and soil**,256, 1-11.

JANOS, D. P. 2007. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. **Mycorrhiza**, v.17, p.75–91.

JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company.

KUNIYOSHI, H. S. 1983. **Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com Araucária**. 1983. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LABOURIAU, L.G. 1983. **A germinação de sementes**. Secretaria Geral de Organização dos Estados Americanos, Washington.

LABOURIAU, L.G. & PACHECO, A. 1978. On the frequency of isothermal germination in seeds of *Dolichos biflorus* L. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v.19, n.3, p.507-512,

LARCHER, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. Rima Artes e Textos, São Carlos.

LIMA, C.P. DE.; CUNICO, M.M.; , TREVISAN, R.R.; PHILIPPSEN, A.F.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. 2011. Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. **Acta Botanica Brasilica** 25(2): 331-336.

MAACK, R. 2002. **Geografia física do Estado do Paraná**. 3a ed., Curitiba: Imprensa Oficial do Paraná.

MARASCHIN-SILVA, F. & AQUILA, M.E.A. 2006, Contribuição ao estudo do potencial alelopático de espécies nativas. **Revista Árvore** 30: 547-555.

MAYER, A .M.; POLJAKOFF-MAYBER, A . 1979. **The germination of seeds**. Pergamon Press. Oxford.

MOSCHETA, I. S. **Morfologia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., *Guarea kunthiana* A. Juss. e *Trichilia catigua* A. Juss. (Meliaceae- Melioideae)**. 1995. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1995.

MOURÃO, K.S.M.; DIAS-PINTO, D.; SOUZA, L.A.; MOSCHETA, I.S. Morfo-anatomia da plântula e do tirodendro de *Trichilia catigua* A. Juss., *T. elegans* A. Juss. e *T. pallida* Sw. (Meliaceae). 2002. **Acta Scientiarum** 24: 601-610

NG, F.S.P. 1978. Strategies of establishment in Malayan forest trees. **In** Tropical trees as living systems (P.B. Tomlinson & M.H. Zimmermann, eds.). University Press, Cambridge, p.129-162.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** v. 59, p. 368-373.

OLIVEIRA, E.C.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. 1989. Propostas para padronização de metodologias em análise florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.11, n.123, p. 1-42.

OLIVEIRA, E. C. Morfologia de plântulas. *In*: AGUIAR, I. B. *et al.* **Sementes florestais tropicais**. Brasília: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1993. Cap. 5, p. 175-213.

OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia de plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de Leguminosae. **Act. bot. bras.**, São Paulo, v. 13, no.3, p. 263-269, 1999.

OLIVEIRA, D. M. T. 2001. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. **Revista Brasileira de Botânica** 24 (1): 85-97.

PARRA, P. 1984. Estudio de la morfologia externa de plântulas de *Calliandra gracilis*, *Mimosa albida*, *Mimosa arenosa*, *Mimosa camporum* y *Mimosa tenuiflora*. **Revista de la Facultad de Agronomia** (Maracay) 13:311-350.

PENG, S.L.; CHEN, Z.Q.; WEN, J. & SHAO, H. 2004. Is allelopathy a driving force in forest succession? **Allelopathy Journal** 14: 197-204.

PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **New Phytologist** v.124, p.481-488.

PINÃ-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. 1989. Propostas para a padronização de metodologias em análise de sementes florestais. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, DF, p.1-42.

POPINIGIS, F. 1985. Fisiologia de sementes. Ministério da Agricultura-AGIPLAN, Brasília.

RAMOS, K.M.O.; FELFILI, J.M.; SOUZA-SILVA, J.C.; FRANCO, A.C. 2004. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. **Acta Botânica Brasilica**. São Paulo. 18 (2): 351-358.

RANIERI, B.D. et al., 2003. Germinação de sementes de *Lavoisiera cordata* Cogn, e *Lavoisiera francavillana* Cogn. (Melastomataceae), espécies simpátricas da Serra do Cipó, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**. 17(4):523-530.

RAWLINS, T. E.; TAKAHASHI, W. N. 1952. **Tecnicas of plant histochemistry and virology**. Millbrae, The National Press.

RIZZINI, C. T. 1977. Sistematização terminológica da folha. **Rodriguésia**, v. 29, n.42, p. 103-125.

RUZIN, S.E. 1999. **Plant microtechnique and microscopy**. New York, Oxford University Press.

SCARIOT, A.; SEVILHA, A. C. 2000. Diversidade, estrutura e manejo de florestas decíduais e as estratégias para a conservação. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 51. Brasília. **Tópicos Atuais em Botânica**. Brasília: 2000. p. 183-188.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C. 1992. **Plant Physiology**. Belmont, Ed. Wadsworth.

SILVA, L. L. 2001. **Morfologia, anatomia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam., *Esenbeckia grandiflora* Mart., *Dictyoloma vandellianum* Adr. Juss. e *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler (Rutaceae)**. 2001. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

SIQUEIRA, J.O.; CARNEIRO, M.A.C.; CURI, N.; SILVA, S.C. DA; DAVIDE, A.C. 1998. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in southeastern Brasil. **Forest Ecology and Management**, v. 107, p.241-252.

SMITH, H. 1973. Light quality and germination: ecological implications. Pp. 219-231. In W. Heydecker (ed). *Seed Ecology*. Butterworths, London.

SANTANA, D.G.; RANAL, M.A. 2004. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. 1.ed. Brasília:UnB, 248p.

SOUZA, F.M.; GANDOLFI, S.; PEREZ, S.C.J.G. de A.; RODRIGUES, R.R. 2010. Allelopathic potential of bark and leaves of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae). **Acta Botanica Brasilica**. 24 (1): 169-174.

SOUZA, L.A.; LOPES, W.A.A.; Almeida, O.J.G. 2007. Morfoanatomia da plântula e do tirodendro de *Arrabidaea mutabilis* Bureau & K. Schum. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** v. 29, n. 2, p. 131-136.

SOUZA, L. A.; MOSCHETA, I. S. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). *R. bras. Biol.*, Rio de Janeiro, v. 52, no.3, p. 439-447, 1992.

SOUZA, L.A.; MOSCHETA, I.S.; MOURÃO, K.S.M.; ALBIERO, A.L.M.; MONTANHER, D.R.; PAOLI, A.A.S. 2009. Morfologia da plântula e do tirodendro. In: SOUZA, L.A. (org.) 2009. **Sementes e plântulas – germinação, estrutura e adaptação**. Ponta Grossa, Todapalavra Editora.

SOUZA, L.A.; OLIVEIRA, J.H.G. 2004. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellanadae* Lor. ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. ex Dc.) Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** v. 26, no. 2, p. 217-226.

SMITH, S.E.; READ, D.J. 1997. **Mycorrhizal symbiosis**. London, Academic Press.

SWAINE, M.D.; WHITMORE, T.C. 1988. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. **Vegetatio**, Dordrecht, v.75, p. 81-86.

TENNANT D. 1975. A test of a modified line intercept method of estimating root length. **Journal of Ecology**, v. 63, p. 995–1001.

TROUVELOT, A.; KOUGH, J. L.; GIANINAZZI PEARSON, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire: recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: GIANINAZZI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. (Ed.). **Mycorrhizes: physiologie et génétique**. Dijon: Inra. p. 217-220.

ZAIA, J.E.; TAKAKI, M. 1998. Estudo da germinação de sementes de espécies arbóreas pioneiras: *Tibouchina pulchra* Cogn. E *Tibouchina granulosa* Cogn. (Melastomataceae). **Acta Botânica Brasilica**. 12(3):221-229.

ZAMITH, L.R.; SCARANO, L.R. 2004. Produção de mudas de espécies da Restinga do Município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. 18(1):161-176.

ZANGARO, W.; BONONI, V.L.R.; TRUFEM, S.F.B. 2000. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.16, p.603-622.

ZANGARO, W.; NISHIDATE, F.R.; CAMARGO, F.R.S.; ROMAGNOLI, G.G.; VANDRESEN, J. 2005. Relationships among arbuscular mycorrhizas, root morphology and seedling growth of tropical native woody species in southern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.21, p.529-540.

VÁSQUES-YANES, C.; OROZEO-SEGOVIA, A. 1993. Pattern of seed longevity and germination in the tropical rain forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 24:69-87.

VOGEL, E. F. 1980. **Seedlings of dicotyledons (structure, development, types)**. Wageningen, Pudoc/Centre for Agricultural Publishing and Documentation.