

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

LUCAS LUBKE

Trema micrantha (L.) BLUME: FENOLOGIA REPRODUTIVA,
GERMINAÇÃO E CITOGENÉTICA EM ÁREA DE RESTAURAÇÃO
FLORESTAL NO SUDOESTE DO PARANÁ

DOIS VIZINHOS

2016

LUCAS LUBKE

Trema micrantha (L.) BLUME: FENOLOGIA REPRODUTIVA,
GERMINAÇÃO E CITOGENÉTICA EM ÁREA DE RESTAURAÇÃO
FLORESTAL NO SUDOESTE DO PARANÁ

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à disciplina de Trabalho de
Conclusão de Curso II, do Curso Superior
de Engenharia Florestal da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR,
como requisito parcial para obtenção do
título de Engenheiro Florestal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marciele Felippi

Coorientador: Prof. Dr. Jean Carlos
Possenti

DOIS VIZINHOS

2016

L929t

Lubke, Lucas.

Trema micrantha (L.) BLUME: fenologia reprodutiva, germinação e citogenética em área de restauração florestal no sudoeste do Paraná – Dois Vizinhos: [s.n], 2016.

57f.:il.

Orientadora: Marciele Felippi

Coorientador: Jean Carlos Possenti

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Engenharia Florestal, Dois Vizinhos, 2016.

Bibliografia p.52-57

1. Reflorestamento 2. Sementes - Testes 3. Fenologia vegetal I. Felippi, Marciele, orient. II. Possenti, Jean Carlos, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos. IV. Título

CDD: 634.098162

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB: 9/1745

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



TERMO DE APROVAÇÃO

Trema micrantha (L.) BLUME: FENOLOGIA REPRODUTIVA, GERMINAÇÃO E CITOGENÉTICA EM ÁREA DE RESTAURAÇÃO FLORESTAL NO SUDOESTE DO PARANÁ

por

LUCAS LUBKE

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 07 de dezembro de 2016 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. (Jean Carlos Possenti)
Coorientador

Prof. Dr. (Joel Donazzolo)
Membro titular (UTFPR)

Prof. Dr. (Mauricio Romero Gorenstein)
Membro titular (UTFPR)

Prof. Dr. (Simone Neumann Wendt)
Membro titular (UTFPR)

Dedico este trabalho aos colegas e professores que me auxiliaram para que a sua realização fosse possível, principalmente a minha família, que esteve sempre ao meu lado, incentivando e apoiando em todos os momentos.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela minha família, que foi meu alicerce durante toda essa caminhada. Em especial, a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida.

A minha orientadora Prof. Dra. Marciele Felippi que através de sua experiência, carisma e vontade me auxiliou a concluir a este importante trabalho.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Jean Carlos Possenti que cedeu materiais de laboratório e auxiliou nas análises e metodologias empregadas neste trabalho.

A Prof. Dra. Kellen Regina Boldrini Tolomeotti, que através de sua experiência corroborou nas avaliações citogenéticas.

Agradecimento ao Prof. Phd. Fernando Campanhã Bechara por disponibilizar sua área de pesquisa para a realização do estudo.

Aos demais professores, que ao longo da minha formação compartilharam do seu conhecimento.

Não poderia deixar de agradecer ao meu irmão Marcos Lubke, pela colaboração e apoio durante essa jornada. Além de Edgar de Souza Vismara, Vinícius Florêncio Ribeiro, Jean Carlos Possenti, Bruno Jan Schramm Corrêa e Emanoele Cristina Weiss que colaboraram na estatística e coleta dos dados. Reconheço a importância de cada um e o quanto foram essenciais para mim.

Gostaria de deixar registrado o meu reconhecimento aos meus pais, Leonardo Lubke e Lurdes Goreti Berté Lubke, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer esse desafio.

Agradeço a Coordenação de Curso, pela cooperação.

Por fim, a todos os que em algum momento contribuíram para a realização desta pesquisa.

Obrigado!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e
persistência em se chegar a um objetivo.
Mesmo não atingindo o alvo, quem
busca e vence obstáculos,
no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

RESUMO

Atualmente, as espécies arbóreas nativas vêm sendo muito estudadas para o aperfeiçoamento de metodologias e para o desenvolvimento de novas tecnologias de recuperação dos ecossistemas florestais degradados. *Trema micrantha* (L.) BLUME, conhecida popularmente como grandiúva, apresenta grande importância para a recuperação de áreas degradadas e na recomposição de matas ciliares, sendo considerada uma espécie pioneira, de rápido crescimento, que produz grande quantidade de frutos para fauna, serapilheira e sombreamento. Nesse sentido, o presente estudo avaliou aspectos reprodutivos e citogenéticos da espécie em área de plantio. Foram acompanhadas 12 árvores matrizes do plantio sistemático 3 x 2 m, distribuídas em quatro parcelas da Unidade Experimental (UNEPE) “Restauração Ecológica de Matas Ciliares”, situada na fazenda da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, no Município de Dois Vizinhos. Observações fenológicas dos indivíduos foram realizadas quinzenalmente para análise quanto à floração e frutificação. Sementes foram coletadas para teste de germinação e botões florais para as análises citogenéticas. Com isso, a floração e frutificação de *T. micrantha* foram classificadas como anual estendida e de alta sincronia, persistindo de novembro a abril, exceto em período de geadas, onde ocorre também pouca brotação e alta queda foliar. O pico de maturação de frutos e dispersão de sementes concentra-se no mês de fevereiro, favorecidos pela elevação de fotoperíodo e temperatura. A retomada do crescimento vegetativo de *T. micrantha* ocorre a partir do mês de setembro. Observou-se que a espécie apresenta 288.989 sementes por quilograma e teor de água variando entre 7,1 a 8,9%. A germinação de sementes mostrou-se lenta e irregular, iniciando a partir do 12º dia após a semeadura, atingindo no máximo 32%. A determinação do número de cromossomos foi possível somente para uma matriz, sendo 10 cromossomos em associação bivalente ($2n=20$). E a viabilidade polínica foi elevada para todas as matrizes de *T. micrantha* analisadas.

Palavras-chave: Fenofases reprodutivas. Comportamento citogenético. Sementes. Áreas degradadas. Grandiúva.

ABSTRACT

Currently, the native tree species have been much studied for the development of methodologies and the development of new technologies for recovery of degraded forest ecosystems. *Trema micrantha* (L.) BLUME, popularly known as grandiúva, has great importance for the recovery of degraded areas and recovery of riparian forests and is considered a pioneer of fast-growing species, which produces large amount of fruits for fauna, burlap and shading. In this sense, the present study assessed reproductive and cytogenetic aspects of species in planting area. Were accompanied by 12 selected trees planting 3 x 2 m systematic, distributed in four installments of the Experimental unit (UNEPE) "Ecological Restoration of riparian forests", located on the farm of the Federal University of Paraná, in the municipality of Dois Vizinhos. Phenological observations of individuals were collected fortnightly for analysis as for flowering and fruiting. Seeds were collected for germination test and flower buds for cytogenetic analyses. With that, the flowering and fruiting of *T. micrantha* was classified as extended and high annual sync, persisting from November to April, except in times of frost, where also low and high fall leaf budding. The peak of ripeness of fruit and seed dispersal is concentrated in the month of February, favored by photoperiod and temperature elevation. The resumption of vegetative growth of *T. micrantha* occurs from the month of September. It was observed that the species presents 288,989 seeds per kilogram and water content ranging from 7.1 to 8.9%. The germination of seeds proved to be slow and erratic, starting from the 12th day after sowing, reaching a maximum of 32%. The determination of the number of chromosomes was possible only for an array, being 10 chromosomes in bivalent Association ($2n = 20$). And pollen viability was high for all of the arrays of *T. micrantha* analyzed.

Keywords: Reproductive Fenofazes. Cytogenetic behavior. Seeds. Degraded areas. Grandiúva.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Trema micrantha</i> (L.) Blume em plantio de recuperação de floresta subtropical no Sudoeste do Paraná.	15
Figura 2 - Localização geográfica da área de estudo. UNEPE Restauração Ecológica de Matas Ciliares, pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR-DV).....	25
Figura 3 - Fluxograma correspondente a análise de <i>T. micrantha</i>	26
Figura 4 - Caracterização morfológica utilizada para a identificação das fenofases de <i>T. micrantha</i> : (A) botão floral; (B) flor em antese; (C) frutos imaturos; (D) frutos maduros; (E) brotamento; (F) queda foliar.	27
Figura 5 - Frutos e sementes de <i>T. micrantha</i> . A) Sementes envolvidas pelo pericarpo; B) Sementes extraídas dos frutos.	29
Figura 6 – Determinação do teor de água de sementes de <i>T. micrantha</i> a partir de 12 árvores matrizes. A) Secagem das sementes em estufa; B) Pesagem de sementes em balança analítica de precisão.	29
Figura 7 - Quebra de dormência e montagem do teste de germinação. A) Imersão das sementes em ácido sulfúrico; B) Lavagem das sementes em água corrente; C) Distribuição uniforme das sementes no substrato umedecido.	30
Figura 8 - Teste de germinação com sementes de <i>T. micrantha</i> . A) Câmara germinadora com controle de temperatura e fotoperíodo; B) Tratamentos distribuídos nas prateleiras de forma aleatória.	31
Figura 9 - Procedimento de coleta de material botânico para análise citogenética de <i>T. micrantha</i> . A) Botões florais; B) Seleção dos botões florais estágio pré-antese; C) Fixação e armazenamento do material botânico.	34
Figura 10 - Comprimento astronômico do dia em horas, Dois Vizinhos, PR.....	36
Figura 11 - Variáveis meteorológicas: Total mensal de precipitação pluviométrica e temperaturas mínima, média e máxima durante o período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, Dois Vizinhos, PR.	37
Figura 12 - Porcentagem de brotamento e queda foliar, no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014 para <i>T. micrantha</i> . Dois Vizinhos, PR.	38
Figura 13 - Comportamento fenológico de <i>T. micrantha</i> durante o período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Dois Vizinhos, PR.	40
Figura 14 - Picos fenológicos de <i>T. micrantha</i> durante o ano.	41
Figura 15 - Teor de água em sementes de <i>T. micrantha</i> a partir de diferentes árvores matrizes, expresso em porcentagem (%). Janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.	43
Figura 16 - Sementes de <i>T. micrantha</i> no germinador. A) Sementes dispostas sobre o substrato umedecido; B) Protrusão da raiz primária. Janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.	43
Figura 17 - Germinação acumulada de sementes de <i>T. micrantha</i> , provenientes de diferentes matrizes, em janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.	47
Figura 18 - Microsporócitos em diacinese e grãos de pólen de <i>Trema micrantha</i> a) e b) Diacinese com 10 bivalentes; c) Grãos de pólen férteis e d) Grão de pólen inférteis.	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Correlação de Pearson (r) entre o Índice de Fournier para as fenofases vegetativas de <i>T. micrantha</i> e a temperatura mínima (T. mín), média (T. méd) e máxima (T. máx), precipitação pluviométrica (mm) e fotoperíodo durante o período de estudo. Dois Vizinhos, PR.	38
Tabela 2 - Correlação de Pearson (r) entre o Índice de Fournier para as fenofases reprodutivas de <i>T. micrantha</i> e a temperatura mínima (T. mín), média (T. méd) e máxima (T. máx), precipitação pluviométrica (mm) e fotoperíodo durante o período de estudo. Dois Vizinhos, PR.	41
Tabela 3 - Valores referentes a Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Velocidade Média de Germinação (VMG) de sementes de diferentes matrizes de <i>T. micrantha</i> , submetidos ao teste de Scott Knott; e ao Tempo médio de Germinação (TMG) submetido ao teste de Tukey, em janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.	44
Tabela 4 - Análise de viabilidade dos grãos de pólen observados nas 12 matrizes de <i>T. micrantha</i>	49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVO.....	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 A espécie em estudo	14
3.2 Biologia reprodutiva	16
3.2.1 <i>Fenologia Reprodutiva</i>	17
3.3 Germinação de sementes	18
3.4 Citogenética	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Área de estudo	24
4.2 Fenofases vegetativas e reprodutivas	26
4.3 Análise de semente de <i>T. micrantha</i>	28
4.4 Aspéctos citogenéticos	33
4.4.1 <i>Determinação do número de cromossomos, do comportamento meiótico e da viabilidade do pólen</i>	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 Fenologia	36
5.1.1 <i>Dados climáticos</i>	36
5.1.2 <i>Fenofases vegetativas</i>	37
5.1.3 <i>Fenofases reprodutivas</i>	40
5.2 Análise de sementes de <i>T. micrantha</i>	42
5.3 Citogenética	47
5.3.1 <i>Determinação do número de cromossomos, do comportamento meiótico e da viabilidade do pólen</i>	47
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1 INTRODUÇÃO

A utilização de espécies florestais nativas para recuperação de ecossistemas degradados, principalmente em função da contínua agressão oriunda da ação do homem às áreas de florestas tropicais, tem aumentando gradativamente. As atividades de mineração, setores industriais, construção de estradas e monoculturas agrícolas são algumas das ações antrópicas que mais impactam o meio ambiente, danificando os recursos hídricos e a biodiversidade da flora e fauna (MUNDIM, 2004).

Atualmente as ameaças à diversidade biológica são preocupantes em função do número elevado de espécies ameaçadas de extinção (PRIMACK e RODRIGUES, 2000). A conservação da diversidade biológica, traduzida como o total de genes, espécies e ecossistemas do planeta, assume enorme importância tanto pelo valor intrínseco dos seres vivos, como também por suas implicações econômicas e sociais (GARAY e DIAS, 2001).

Diante disso, estudos e pesquisas utilizando espécies florestais nativas apresentam enorme importância para a recuperação e preservação dos ecossistemas, contribuindo para o aperfeiçoamento de metodologias e ainda o desenvolvimento de novas tecnologias de restauração para Áreas de Preservação Permanente (APP).

Segundo Lieth (1974), estudos fenológicos apresentam importantes aplicações agronômicas, silviculturais e conservacionistas. O registro da variação das características fenológicas reúne informações sobre o estabelecimento e a dinâmica das espécies, sendo de fundamental importância para o estudo da ecologia e da evolução dos ecossistemas (NEWSTRON, 1994).

As informações sobre as épocas de floração e frutificação, dispersão de sementes e o estabelecimento das espécies ampliam o conhecimento sobre a disponibilidade de recursos para polinizadores e dispersores e para o desenvolvimento de estratégias de conservação e manejo (MORELLATO et al., 1989; TANNUS et al., 2006). De acordo com Felippi et al. (2015), estudos fenológicos em diferentes regiões e ambientes são complementares para o entendimento quanto ao comportamento da espécie em campo.

Além dos estudos fenológicos, a citogenética é de suma importância, sendo, para espécies nativas, incipiente no Brasil, principalmente tratando-se de espécies

florestais, o que se traduz pela dificuldade em encontrar estudos na área, e pela ausência de relatos em áreas de restauração. Tais estudos poderiam contribuir, através da caracterização cromossômica, meiótica e a viabilidade polínica, auxiliando no entendimento comportamental de espécies a campo.

Informações citogenéticas e reprodutivas constituem o conhecimento básico para a criação e manutenção das espécies em bancos de germoplasma, podendo, no futuro, de acordo com Moraes (2007), indicar os rumos a serem tomados dentro de um programa de melhoramento genético vegetal.

Aliado a isso, Zamith e Scarano (2004) destacam também a importância do entendimento sobre germinação de sementes nos processos de recuperação de áreas degradadas. Estudos sobre germinação têm sido importantes devido ao fato de que a propagação é um aspecto essencial para a conservação. Concomitantemente, a análise individual das plantas ofereceria informações quanto a procedência e qualidade das mudas implantadas em áreas de restauração.

Assim, estudos envolvendo espécies como *Trema micrantha* (L.) Blume., (grandiúva) contribuem para a obtenção de conhecimentos visando sua implantação a campo, uma vez que a espécie possui grande importância ecológica, principalmente à avifauna e para a composição de ambientes abertos e não inundados das florestas tropicais (CARVALHO, 1994).

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

O presente estudo teve por objetivo avaliar aspectos da fenologia reprodutiva, germinação e da citogenética de *Trema micrantha* (L.) Blume. em plantio de restauração de floresta subtropical do Sudoeste do Paraná.

2.2 Objetivos específicos

- a) Identificar o período e a intensidade da floração e frutificação de *T. micrantha*;
- b) Determinar o número de cromossomos e avaliar viabilidade polínica;
- c) Quantificar o número de sementes por quilograma, teor de água e a germinação de sementes para a espécie em estudo;
- d) Correlacionar as variáveis analisadas, comparando as matrizes.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A espécie em estudo

A família Cannabaceae possui distribuição cosmopolita, incluindo 11 gêneros e 170 espécies amplamente dispersas em regiões tropicais e temperadas, sendo que no Brasil ocorrem apenas dois gêneros e 15 espécies (SOUZA e LORENZI, 2008), dentre as quais, são encontradas tanto plantas herbáceas quanto lenhosas como *Trema micrantha* (L.) Blume (PEDERNEIRAS et al., 2011).

Conhecida popularmente como candiúba, grandiúva, crindiúva e pau pólvora, se distribui pelas matas secundárias da Floresta Ombrófila Densa Atlântica e Amazônica, Floresta Ombrófila Aberta, Estacional Semidecidual e Decidual, Cerrado e na Caatinga (PEDERNEIRAS et al., 2011).

A grandiúva é considerada uma planta de porte arbóreo, de comportamento pioneiro, altamente sombreadora e atrativa à fauna, ocorrendo amplamente em diversos ambientes. Isso explica a sua vasta ocorrência natural por toda a região que se estende desde o México e Sul da Flórida, passando pela América Central, até seu limite austral no norte do Rio Grande do Sul (RIBAS e KAGEYAMA, 2006).

Conforme Lorenzi (1998), *T. micrantha* é considerada uma espécie perenifólia ou semidecídua, atingindo de 5 à 12m de altura, com tronco de 20 a 40cm de diâmetro (Figura 01), contendo folhas ovaladas de base marcadamente assimétrica, bordo inteiramente serrado e face superior áspera.

Possui inflorescências de coloração branca e verde, as quais se abrem entre a estação da primavera e a do verão, sendo, conforme Villanueva (2002) e Yamamoto et al. (2006), polinizadas por abelhas, pequenos insetos e ocasionalmente pelo vento.

É interessante destacar a dificuldade ao se classificar *T. micrantha* quanto ao sistema de reprodução, visto o fato da existência de até três tipos de flores (femininas, masculinas e hermafroditas) na mesma planta, o que não é comum de ser observado numa espécie. Torres (1996) salienta que o desenvolvimento e a existência de flores dimórficas numa espécie pode estar associado a várias pressões seletivas, como a resposta ao comportamento dos polinizadores ou dispersores.

De qualquer forma, pode-se considerar o período de floração para a *T. micrantha* como amplo. As populações agregadas ao mesmo tempo em que investem no crescimento vegetativo produzem flores e frutos, sendo possível observar em algumas regiões, a presença de flores quase o ano todo, com exceção de um ou dois meses no final do outono ou início do inverno (TORRES, 1996).

Figura 1 - *Trema micrantha* (L.) Blume em plantio de recuperação de floresta subtropical no Sudoeste do Paraná.



Fonte: O autor (2016).

O fruto de grandíuva é simples, monocárpico, carnosos, indeiscentes, com forma globosa, ápice e base arredondada, classificado como drupa. Quando maduro possui coloração vermelha, com dimensão média de 2,61 mm de diâmetro por 3,2 mm de comprimento (LUBKE et al., 2015).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Florestas (2015), *T. micrantha* apresenta apenas uma semente por fruto, a qual, de acordo com Lubke et al. (2015) possui forma oval, ápice afilado e base arredondada, com coloração variando de cinza escuro à preto e dimensão média de 1,70 mm de comprimento, 1,84 mm de largura e 1,44 mm de espessura.

A dispersão das sementes é considerada zoocórica, sendo os frutos apreciados por uma grande diversidade de animais, como primatas, morcegos e principalmente aves (KINOSHITA et al., 2006; RIBAS e KAGEYAMA, 2006; WHEELWRIGHT et al., 1984).

Quanto a importância e utilização de *T. micrantha*, a presença de nódulos com bactérias fixadoras de nitrogênio no sistema radicular, somado a característica de sua madeira apodrecer com facilidade por ser leve e pouco resistente à umidade, auxiliam na melhoria das condições do solo à colonização das espécies mais exigentes em fertilidade (BRACK et. al., 2011).

A baixa densidade faz com que a madeira de *T. micrantha* seja utilizada para geração de produtos madeireiros, como celulose e papel, podendo ainda, ser aplicada na produção de carvão, lenha, carpintaria e marcenaria. Além de produtos não madeireiros, como alimentação animal (forragem), apícola, fibras, recurso para fauna, medicinal, resina, ou seja, possui recomendações tanto para projetos de restauração, como para arborização urbana e silvicultura (LORENZI 1998; CARVALHO 2003).

3.2 **Biologia reprodutiva**

A biologia floral é um termo muito amplo, que engloba diversas características das estruturas reprodutivas das plantas, que em sua maioria estão interligadas com a polinização (LENZI e ORTH, 2004). É através das estruturas florais que se pode identificar quais os tipos de insetos e visitantes, qual período de pré-antese, antese e pós-antese, o que pode auxiliar na identificação do tipo de polinização adotado pela espécie (SILVA et al., 2011).

Por isso, estes estudos são de grande importância para o desenvolvimento de programas de conservação e manejo de polinizadores nativos, sendo necessário para isso, conhecer as preferências alimentares e o modo como às espécies utilizam os recursos disponíveis (AGUIAR, 2003).

Portanto, conhecer e entender os sistemas reprodutivos de espécies florestais nativas propicia um conhecimento biológico e ecológico imprescindível na recuperação de áreas degradadas (KAGEYAMA e GANDARA, 2004).

3.2.1 *Fenologia Reprodutiva*

Existem várias abordagens que podem ser utilizadas para compreender a dinâmica reprodutiva nas comunidades vegetais, entre elas a fenologia (RAMÍREZ, 2002).

A fenologia tem por finalidade estudar as fases ou atividades do ciclo de vida das plantas e sua ocorrência temporal ao longo do ano, através dos eventos biológicos periódicos repetitivos relacionados às mudanças no meio abiótico e biótico, e a relação entre espécies (LEITH, 1974).

Segundo Fournier (1974), o conhecimento fenológico das espécies é importante para o entendimento da complexa dinâmica dos ecossistemas florestais, permitindo explicar muitas reações das plantas em seu ambiente climático e edáfico.

Os diferentes comportamentos fenológicos encontrados nas plantas são resultados de diversas forças seletivas que atuam em conjunto, como fatores climáticos, fuga de predadores ou doenças e a competição por dispersores e polinizadores (MORELLATO e LEITÃO-FILHO, 1992).

Em ambientes tropicais, onde a sazonalidade na precipitação é pronunciada, a época seca comumente determina a fenologia, limitando o crescimento e reprodução das plantas neste período (MORELLATO et al., 2000).

No entanto, mesmo em regiões pouco sazonais, as plantas ainda exibem periodicidade em muitos eventos fenológicos, facilitando o entendimento da regeneração, reprodução das plantas e das interações planta-animal. Além da evolução da história de vida de alguns animais que dependem de plantas para alimentação, como herbívoros, polinizadores e dispersores (LEITH, 1974; MORELLATO et al., 2000). Entre os fatores abióticos, a precipitação, a temperatura e o comprimento do dia são considerados os mais importantes.

Segundo Dias e Oliveira Filho (1996), a precipitação, temperatura mínima e máxima, fotoperíodismo e a intensidade de radiação solar do ambiente estão articuladas com a floração, frutificação, queda e brotamento de folhas, sendo que, tais fatores abióticos atuam ativando as fenofases das plantas.

Em áreas de conservação o acompanhamento do comportamento vegetativo e reprodutivo de uma espécie permite estimar a quantidade, qualidade e o período de oferta de sementes, informação necessária para tomada de decisões sobre o manejo e utilização adequada destes recursos (MANTOVANI et al., 2004). Desta

forma, a fenologia caracteriza-se como um requisito básico para monitorar, gerir e conservar os ecossistemas (NEWSTRON et al., 1994).

No Brasil, estudos fenológicos em ecossistemas naturais ainda são relativamente recentes (BENCKE e MORELLATO, 2002; MARCHIORETTO, et al., 2007; TALORA e MORELLATO, 2000). Sendo realizados basicamente em dois níveis de abordagem: populações (espécies) ou comunidades (DIAS e OLIVEIRA FILHO, 1996).

Os estudos podem estar associados ao caráter qualitativo, onde são levantadas as épocas em que ocorrem as fenofases, ou ao quantitativo, onde as fenofases são quantificadas em termos de intensidade (FOURNIER, 1974).

Nas observações a campo, Fournier (1975), sugere dez indivíduos por espécie, como forma de amostragem e a ordem de aparição na vegetação estudada como critério de escolha. Entretanto, existem trabalhos na literatura utilizando outras intensidades, como Felippi et al. (2012), que utilizaram 20 indivíduos e Bianchini et al. (2006), que utilizaram 16 indivíduos como amostra mínima.

Nesta linha de pesquisa, trabalhos mais recentes abordam a necessidade de se estabelecer se as fenofases correlacionam-se ou não com os fatores climáticos (FELIPPI et al., 2012; FELIPPI et al., 2015; MARCHIORETTO, et al., 2007; SANTOS, 2007).

3.3 Germinação de sementes

A germinação é a capacidade da semente de produzir uma plântula e posteriormente uma planta normal em condições favoráveis de campo (POPINIGIS, 1977).

Aguiar et al. (1993), consideram a germinação como a retomada do crescimento do embrião, encerrando-se com o conseqüente rompimento do tegumento pela radícula, originando assim, a raiz primária. Contudo, Gui-Ferreira e Borghetti (2004), definem como sendo a protrusão de uma das partes do embrião de dentro dos envoltórios, associada a algum sinal de real crescimento, como a curvatura geotrópica da raiz ou a parte aérea, e a síntese de pigmentos.

Fisiologicamente, a germinação compreende quatro fases, iniciando-se com a embebição de água, o alongamento das células, a divisão celular e a diferenciação das células em tecidos (POPINIGIS, 1977).

Do ponto de vista tecnológico, a germinação é a emergência da planta ou a formação de uma plântula vigorosa em um substrato, incluindo o processo germinativo, a velocidade de crescimento e a profundidade da semente no solo (GUI-FERREIRA e BORGHETTI, 2004).

Considerando o processo fisiológico, para Aguiar et al. (1993), tendo uma semente viável em repouso, por aquiescência ou dormência, quando são fornecidas condições favoráveis à ela, ocorrerá o crescimento do embrião o qual conduzirá à germinação, portanto, germinar é sair do repouso e entrar em atividade metabólica.

O processo de germinação inicia-se com a embebição de água pela semente, aumento de tamanho, hidratação e rompimento do tegumento e diferenciação dos tecidos. A raiz primária emerge, as folhas começam a se formar aumentando o potencial fotossintético da plântula, iniciando a absorção de nutrientes do ambiente (HOPPE et al., 2004).

Durante a germinação, ocorrem alterações na composição química da semente e no consumo de substâncias de reservas, como carboidratos, lipídios e proteínas, os quais fornecem energia e material para o desenvolvimento do embrião. Todavia, a velocidade de utilização das reservas durante a germinação varia de acordo com a espécie e com o ambiente que a semente se encontra (AGUIAR et al., 1993).

Para que ocorra o processo de germinação, a semente deve estar viva e não apresentar dormência, portanto, o período que a semente pode viver é aquele determinado por suas características genéticas, e recebe o nome de longevidade. A viabilidade consiste no período em que a semente realmente metaboliza, determinada pela interação entre fatores ambientais e fatores genéticos (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Para Popinigis (1977), o aumento das atividades respiratórias da semente a um nível capaz de sustentar o crescimento do embrião, com fornecimento suficiente de energia e de substâncias orgânicas, depende do aumento do grau de hidratação dos seus tecidos.

Os fatores ambientais são essenciais e exercem influência direta sobre a germinação, onde a disponibilidade de água, a temperatura, o oxigênio e o tipo de substrato são considerados como os de maior importância (MARCOS FILHO, 2005).

Com a absorção de água por embebição pela semente, inicia-se o processo de germinação, tornando a umidade um fator fundamental para que tal processo

aconteça. A água influencia positivamente na germinação atuando no tegumento, amolecendo-o, contribuindo para a penetração do oxigênio, permitindo assim a transferência de nutrientes solúveis para as diversas partes da semente. Ainda, segundo Carvalho e Nakagawa (2000), com a absorção de água resulta a reidratação dos tecidos, intensificando a respiração e aumentando as atividades metabólicas, contribuindo para o fornecimento de nutrientes e energia para o crescimento do eixo embrionário.

A absorção de água pela semente varia de espécie para espécie, uma vez que o tecido tegumentar muda entre espécies, e entre indivíduos da mesma espécie, sendo influenciado pela procedência e pelas condições de umidade do solo onde as mesmas se encontram (AGUIAR et al., 1993).

A temperatura é um dos fatores que também influenciará na germinação, tanto por agir sobre a velocidade de absorção de água, como também sobre as reações bioquímicas que determinam todo o processo (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Esse fator apresenta comportamento variável, não havendo uma temperatura ótima e uniforme de germinação para todas as espécies.

Segundo Carvalho e Nakagawa (2000), a germinação só ocorrerá dentro de determinados limites de temperatura, acima ou abaixo dos limites superior e inferior, respectivamente, a germinação não irá acontecer. Dentro desses limites de temperatura, existe uma faixa de temperatura na qual o processo ocorre com máxima eficiência, cujos limites extremos de temperatura e a ótima, constituem-se nas chamadas temperaturas cardeais.

Para Lima Junior (2011), as temperaturas cardeais limitam a faixa de temperatura onde a germinação ocorre e, definem as condições ótimas do processo, sendo consideradas ótimas quando as sementes atingem sua maior germinabilidade em menor período de tempo. Para espécies subtropicais e tropicais, a faixa de 20°C a 30°C tem-se demonstrado adequada para a germinação de um grande número de sementes.

A luz é outro fator bastante variável conforme a espécie, havendo sementes cuja germinação é influenciada, positiva ou negativamente pela luz e também, sementes indiferentes a ela, sendo classificadas respectivamente como fotoblásticas positivas, fotoblásticas negativas e não-fotoblásticas (MARCO-FILHO, 2005).

A ativação das sementes pela luz está ligada a um sistema de pigmento denominado fitocromo, que absorve diferentes tipos de radiação luminosa. Ao

absorver determinado comprimento de onda, o pigmento modifica sua estrutura bioquímica e permite, ou não, a resposta fotomorfogenética. A resposta fotomorfogênica refere-se à formação de uma nova planta, pois dependendo da luz absorvida e da forma adquirida pelo fitocromo, muitas sementes germinarão ou não (AGUIAR et al., 1993).

O substrato tem a função de suprir a semente e prover o ambiente no qual pode germinar e se desenvolver. Os tipos de substratos mais utilizados descritos e prescritos nas Regras de Análises de Sementes - RAS são: papel-filtro, papel-toalha, papel mata-borrão, terra, areia e vermiculita (BRASIL, 2009).

Devido a sensibilidade e o tamanho das sementes, define-se o substrato que propicia melhor desenvolvimento das plântulas no decorrer do teste de germinação. No caso de sementes grandes, recomenda-se a utilização de vermiculita, pois o contato entre as sementes e o substrato é maior. Por outro lado, sementes de tamanho médio e pequeno associadas a formas achatadas, o substrato indicado é o papel (LIMA JUNIOR, 2011).

Dentre os trabalhos envolvendo a germinação de sementes de *T. micrantha*, pode-se citar que a porcentagem de germinação é maior para as sementes dos frutos maduros (em relação às dos frutos verdes totalmente desenvolvidos), em tratamento de embebição em água destilada e sob temperaturas alternadas de 20-30°C com luz contínua (TORRES, 1996).

Resultados estes, também obtidos por Castellani e Aguiar (1998), contudo, acrescentam que o despulpamento favoreceu a germinação das sementes e que a qualidade fisiológica das sementes provenientes de frutos avermelhados é superior à das provenientes de frutos de coloração verde.

Já outros autores citam que os frutos também podem ser colocados para germinação, sem nenhum tratamento, não havendo a necessidade de despulpá-los, entretanto caso deseje-se armazená-los é conveniente secá-los (LORENZI, 1998; INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS, 2015).

3.4 Citogenética

Esta área da ciência engloba estudos relacionados com o cromossomo, isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito à sua morfologia, organização, função e replicação, quanto à sua variação e evolução. É

uma das fontes geradoras de questionamentos que impulsionaram a genética molecular, a biotecnologia e a engenharia genética, permanecendo junto às mesmas, como um dos recursos de avaliação em várias pesquisas dessa natureza (SACCHET, 1999 citado por NOLASCO, 2011).

Conceitualmente, a citogenética é o estudo da genética por meio da citologia e seu caráter analítico pode descrever o comportamento dos cromossomos na mitose, meiose e fertilização, podendo ainda, fornecer um quadro geral quanto à transmissão, de geração à geração, das estruturas fundamentais responsáveis pela herança (BRAMMER et al., 2007).

Estes estudos citogenéticos em grupos vegetais de importância econômica podem proporcionar benefícios aplicáveis a curto, médio e longo prazo, solucionando questionamentos, tanto antes, quanto depois do melhoramento genético, a partir da identificação de alterações ou aberrações cromossômicas numéricas e/ou estruturais ou ainda, com descrição do comportamento meiótico. Promovendo assim informações, como taxa de fertilidade, problemas em relação ao pareamento ou reconhecimento dos cromossomos homólogos nos parentais e na progênie, além dos casos de não disjunção, ou seja, não segregação das cromátides nas anáfases (NOLASCO, 2011).

Na citogenética, técnicas convencionais de análise do cariótipo são utilizadas para obtenção de dados referentes à morfologia cromossômica, podendo ainda caracterizar individualmente os cromossomos do complemento (MORAES, 2007).

Já com algumas técnicas mais complexas podem ser obtidos dados cariomorfológicos, tais como comprimento total cromossômico, posição do centrômero, presença de constrições, número de regiões organizadoras do nucléolo (NORs) e identificação de sequências repetitivas são caracteres úteis para diferenciar espécies ou até mesmo separar espécies (STACE, 2000).

Por outro lado, conforme Nolasco (2011), a caracterização citogenética detalhada, através do mapeamento físico cromossômico, possibilita a descrição clara da homologia cariotípica de uma determinada cultivar, variedade ou espécie. Permitindo com isso, a inclusão destes dados nos esquemas de cruzamentos, retrocruzamentos e contribuindo para minimizar possíveis erros de seleção de progênies.

Atualmente, com a implantação das técnicas de bandeamento, a citogenética permite a visualização de blocos de coloração diferenciada (bandas). E a

caracterização cromossômica foi melhorada significativamente, possibilitando o entendimento da evolução, genética e estabilidade cariotípica sobre os materiais estudados (BRASILEIRO-VIDAL e GUERRA, 2002).

O bandamento é uma técnica de grande importância para a construção de mapas físicos de cromossomos, diferencia longitudinalmente os cromossomos, permitindo identificá-los e caracterizá-los por meio da quantidade e/ou posição das bandas nos respectivos cromossomos (MORAES, 2007).

Com isso, tem-se então o comportamento meiótico, onde é possível evidenciar mutações envolvidas na produção de óvulos e na produção de pólen decorrentes da evolução genética das espécies e/ou adaptação ao ambiente (TORRES, 1996).

Moraes (2007) ao analisar a variação cromossômica de *Hypericum cordatum* e *Hypericum ternum* durante a meiose, observou uma distribuição desigual de cromossomos, que gerou tamanhos muito diferentes de grãos de pólen.

A avaliação da viabilidade do grão de pólen é dito como um pré-requisito necessário para que o pólen possa germinar no estigma da flor, sendo uma etapa decisiva no que se refere à fertilização (ARENAS-DE-SOUZA et al., 2014).

Torres (1996) estudando algumas características citogenéticas de *T. micrantha* em populações naturais no estado de São Paulo, observou que a viabilidade do pólen na região é alta (> 79,7%), e não difere significativamente entre as plantas hermafroditas crípticas e a masculina preferencial, sendo que em média possui cerca de 110.000 grãos de pólen por flor, podendo variar entre de 88.000 a 135.000 grãos de pólen por flor.

Souza et al. (2002) classifica os valores de viabilidade polínica em três categorias, sendo que acima de 70% são considerados como alta viabilidade polínica, entre 31 a 69% como média e como baixa percentagens até 30%. Sendo que os valores de baixa viabilidade polínica podem influenciar na presença de irregularidades na morfologia floral, desde formato, tamanho das pétalas e má formação de estames (ARENAS-DE-SOUZA et al., 2014).

Estas análises citogenéticas utilizam corantes como meio capaz de distinguir os polens viáveis dos inviáveis, mostrando que podem ser utilizados para estimar a viabilidade polínica das espécies, bem como variações da taxa de viabilidade polínica entre os indivíduos das espécies, associados a fatores bióticos e abióticos (ARENAS-DE-SOUZA et al., 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado durante o período de janeiro de 2013 a março de 2016.

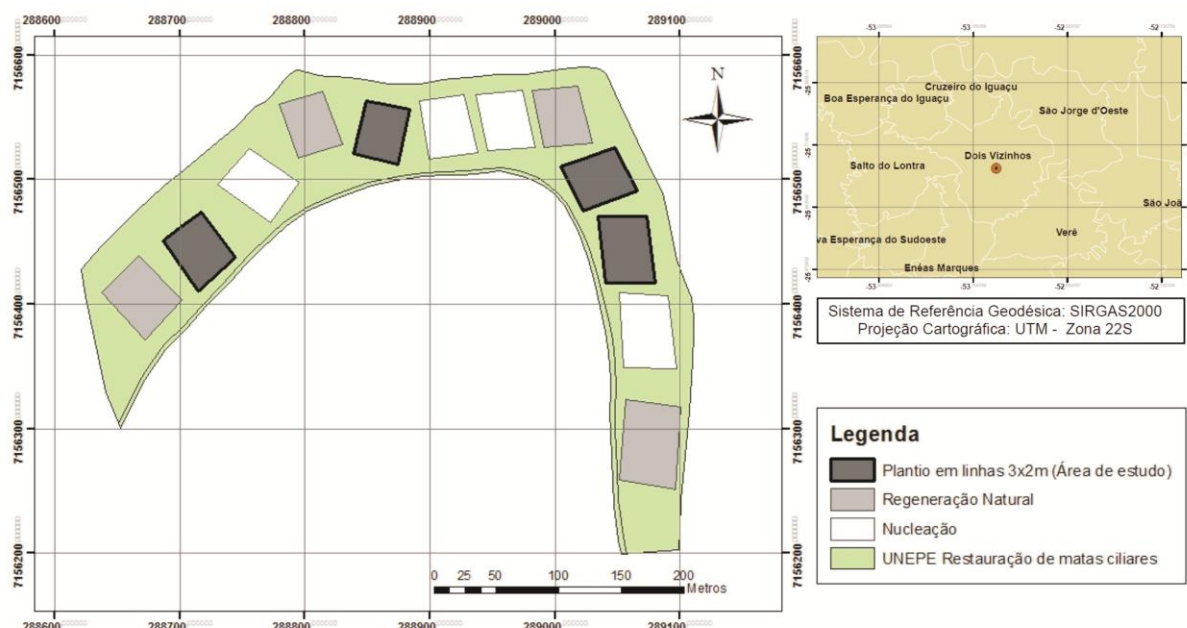
4.1 Área de estudo

As observações fenológicas e a coleta de material botânico foram realizadas em área experimental pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Dois Vizinhos, sendo a avaliação de sementes realizada no Laboratório de Análises de Sementes Florestais do mesmo campus, enquanto a análise citogenética foi conduzida no Laboratório de Citogenética Vegetal da Universidade Estadual do Centro Oeste do Paraná - UNICENTRO, Campus Guarapuava.

A área de estudo corresponde a quatro parcelas localizadas na Unidade Experimental (UNEPE) Restauração Ecológica de Matas Ciliares, pertencente a Estação Experimental da UTFPR, localizada entre as coordenadas geográficas "25°41'37" S e 53°06'07" W, com altitude variando de 495 a 504 m.

Cada parcela corresponde a 40 x 54 m (Figura 2), contendo 360 plantas de 70 espécies arbóreas nativas, com três anos de idade, distribuídas em plantio sistemático, sob espaçamento de 3 x 2 m. Do número total de plantas, 180 são espécies de preenchimento e 180 de diversidade, as quais estão dispostas alternadamente, de modo que as espécies pioneiras, como *T. micrantha*, sombreiem as espécies clímax.

Figura 2 - Localização geográfica da área de estudo. UNEPE Restauração Ecológica de Matas Ciliares, pertencente à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR-DV).



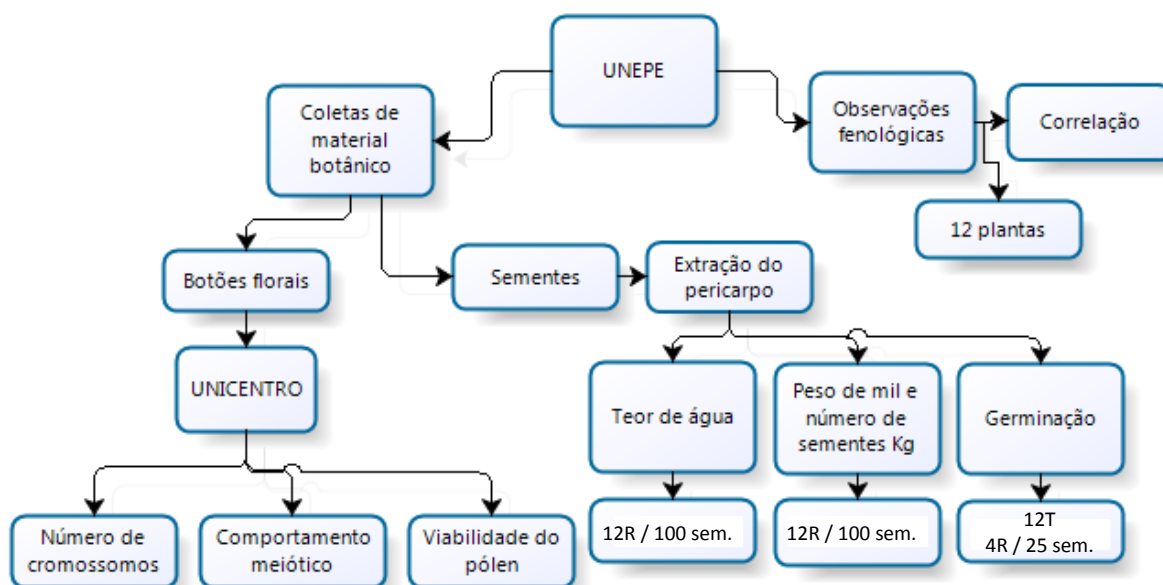
Fonte: O autor (2016).

A região possui classificação climática do tipo Cfa (classificação de Köppen), subtropical, sem estação seca, apresentando temperaturas médias anuais entre 19°C e 20°C, com frequentes ocorrências de geadas durante os meses de maio a junho (ALVARES et al., 2013). A precipitação média anual é de 2.044 mm, sendo agosto e março os meses mais secos do ano e outubro o mês mais chuvoso (POSSENTI et al., 2007).

A cobertura florestal da região é caracterizada como Floresta Ombrófila Mista e Floresta Estacional Semidecidual Sub-Montana (TRENTIN et al., 2011), sendo o solo caracterizado como Nitossolo Vermelho (CABREIRA, 2015).

As atividades realizadas a partir deste trabalho seguiram o fluxograma conforme Figura 3.

Figura 3 - Fluxograma correspondente a análise de *T. micrantha*.



Fonte: O autor (2016).

4.2 Fenofases vegetativas e reprodutivas

Na área de estudo foram acompanhadas três plantas por parcela, totalizando 12 árvores matrizes, as quais foram escolhidas ao acaso e identificadas com fita zebreada. Para a seleção, foram desconsideradas as matrizes compondo a linha de plantio da borda, a fim de evitar interferência nas amostragens.

As matrizes foram monitoradas quinzenalmente, durante o período de 24 meses, com auxílio de um binóculo para identificação das fenofases de floração, frutificação, queda foliar e brotação.

As fenofases foram quantificadas por matriz, através das categorias propostas por FOURNIER (1974), para diferentes intensidades dos eventos, ou seja, graus de cobertura em uma escala que varia de 0 a 4, onde: 0) corresponde a ausência da característica; 1) a presença em nível de 1-25%; 2) à presença da característica em nível de 26-50%; 3) a presença da característica em nível de 51-75%; e 4) a presença da característica em nível de 76-100%. O Índice de Fournier (IF) foi calculado a partir da seguinte fórmula:

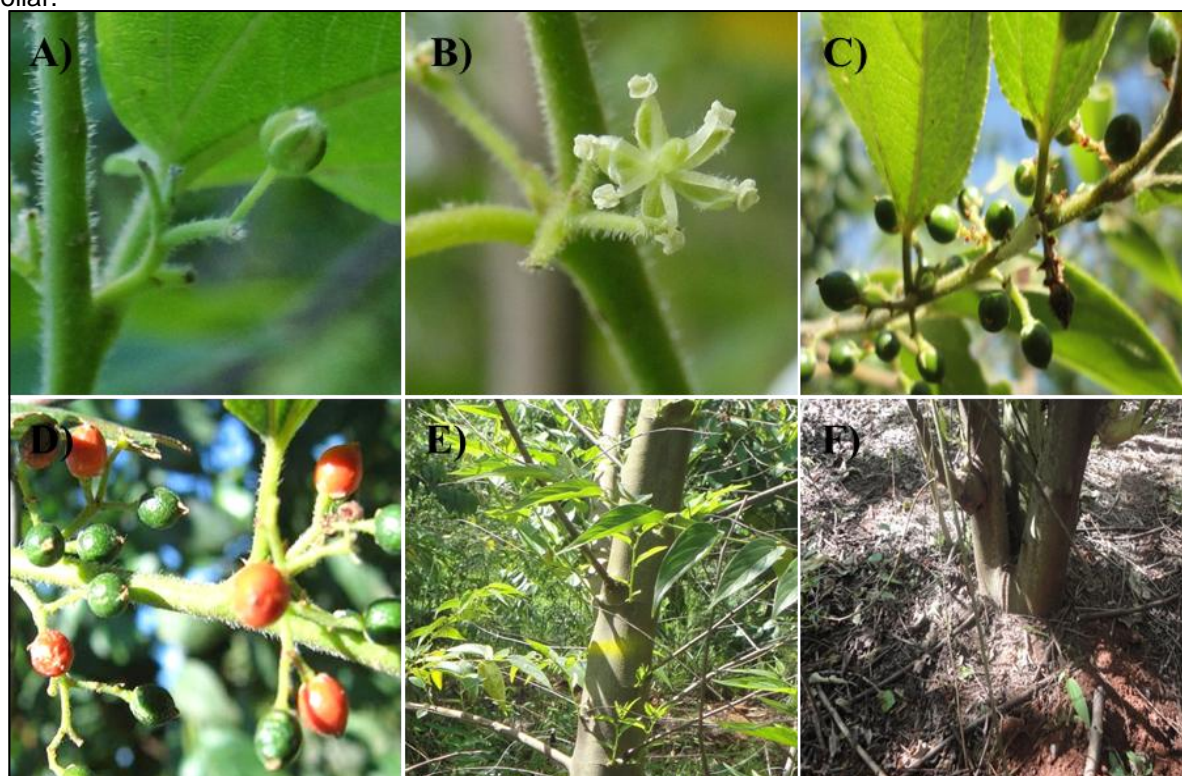
$$F = \frac{(\sum F \cdot 100)}{4 \cdot N}$$

Onde: F = nota da categoria;

N = número de unidades amostrais;

Para a fenofase floração foi considerado o período em que as matrizes estavam com botões em pré-antese e flores abertas (Figura 4 – A; B), enquanto que a frutificação foi considerada a presença de frutos em desenvolvimento e maduros, utilizando o critério de coloração de vermelho-alaranjado (Figura 4 – C; D). No brotamento considerou-se o período de aparecimento de pequenas folhas de coloração verde clara, com aspecto brilhante (Figura 4 - E) com tamanho inferior a 3/4 da folha adulta. A queda foliar foi considerada a partir da mudança de coloração nas folhas, de amarelo claro ou cinza-claro; da facilidade de queda em função do vento e da presença de folhas no solo, próximo à planta (Figura 4 - F).

Figura 4 – Caracterização morfológica utilizada para a caracterização das fenofases de *T. micrantha*: (A) botão floral; (B) flor em antese; (C) frutos imaturos; (D) frutos maduros; (E) brotamento; (F) queda foliar.



Fonte: O autor (2016).

A partir dos dados coletados, verificou-se a sincronia das fenofases entre os indivíduos da população amostrada, conforme Bencke e Morellato (2002), considerando-se para cada fenofase, evento assíncrono a ocorrência de menos de 20% de indivíduos; baixa sincronia de 20% a 60% e acima de 60% definiu-se como alta sincronia.

A periodicidade dos eventos reprodutivos foi classificada em anual, sub-anual ou supra-anual, sendo o padrão anual o mais comum em plantas tropicais, e geralmente ocorre na mesma época a cada ano, podendo ser dividido em anual breve, com duração máxima de quatro semanas; anual intermediário; anual sazonal, com duração de dois a três meses; e anual estendido, com duração acima de três meses (NEWSTROM et al., 1994).

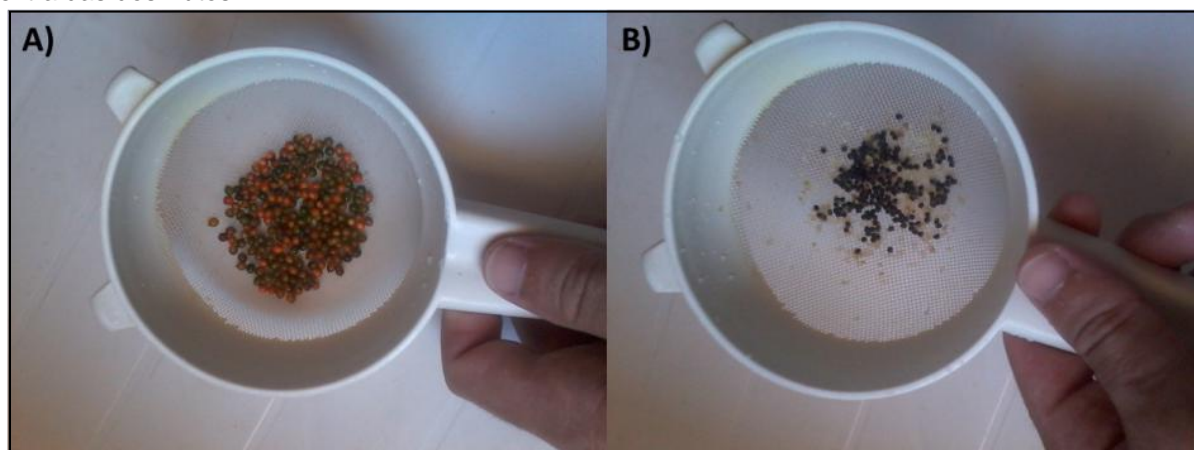
O comprimento astronômico do dia (fotoperíodo) foi calculado de acordo com a declinação solar para o município de Dois Vizinhos e os dados climáticos referentes ao período de estudo (temperatura média, máxima e mínima e precipitação), foram obtidos junto a Estação Meteorológica da UTFPR-DV.

Para a tabulação dos dados foi utilizado o Software Excel, e para verificar a relação das fenofases com o fotoperíodo e as variáveis climáticas, utilizou-se a correlação de Pearson (r) com o auxílio Software R. Foi realizado o teste de normalidade com os dados e para as variáveis que não apresentaram este pressuposto foi executada a transformação de *boxcox*.

4.3 Análise de semente de *T. micrantha*

Durante o ápice da fenofase frutificação e a partir da mudança de coloração de verde para vermelho-alaranjado foram realizadas coletas de frutos diretamente na copa de cada uma das 12 matrizes, tendo auxílio de podão. Em seguida as sementes de cada matriz foram beneficiadas separadamente, com a extração do pericarpo utilizando maceração dos frutos sob uma peneira em água corrente (Figura 5), de onde foram obtidas as amostras de trabalho para posterior análise.

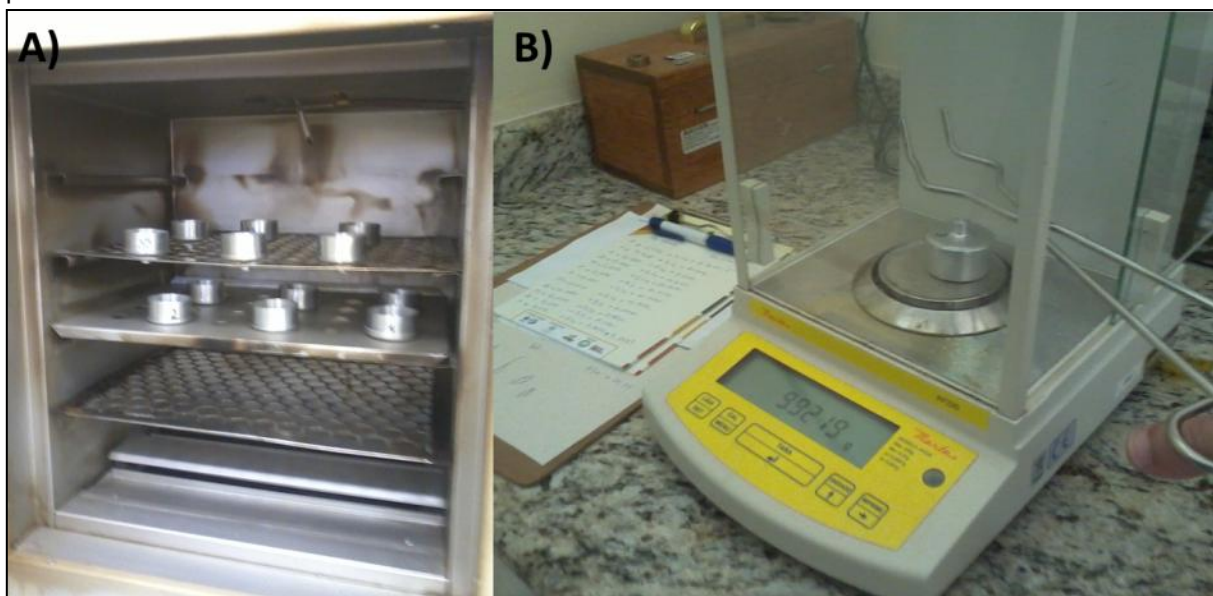
Figura 5 - Frutos e sementes de *T. micrantha*. A) Sementes envolvidas pelo pericarpo; B) Sementes extraídas dos frutos.



Fonte: O autor (2016).

O teor de água foi avaliado com amostras das 12 matrizes, compondo assim, um lote representativo para a espécie. As amostras contendo 100 sementes cada, foram secadas pelo método de estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas e pesadas em balança analítica (Figura 6).

Figura 6 - Determinação do teor de água de sementes de *T. micrantha* a partir de 12 árvores matrizes. A) Secagem das sementes em estufa; B) Pesagem de sementes em balança analítica de precisão.



Fonte: O autor (2016).

Após, a obtenção dos dados os resultados foram expressos em porcentagem, através da fórmula:

$$\% \text{ de } \acute{\text{a}}\text{gua } (T_a) = 100 \frac{(P_u - P_s)}{P_u - t}$$

Onde: P_u = peso inicial do recipiente e a tampa mais o peso da semente úmida;

P_s = peso final, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente seca;

t = tara, peso do recipiente com sua tampa.

O peso de mil sementes foi determinado utilizando sementes puras da amostra (espécie) segundo as RAS (BRASIL, 2009) e contou com doze repetições com 100 sementes cada, contadas manualmente. O resultado da determinação do peso de mil sementes se deu pela multiplicação por 10, do peso médio obtido das doze repetições de 100 sementes, onde o coeficiente de variação não excedeu a 6%.

O número de sementes por quilograma foi determinado utilizando o resultado do peso de mil sementes, calculado anteriormente, de acordo com as RAS (BRASIL, 2009).

Para o teste de germinação, foram avaliadas 12 matrizes, individualmente. A escarificação química das sementes com auxílio de ácido sulfúrico (Figura 7 - A) foi utilizada como método pré-germinativo, onde as sementes foram imersas por 2,5 minutos a fim de realizar a quebra da dormência tegumentar e submetidas a lavagem em água corrente (Figura 7 - B).

Figura 7 - Quebra de dormência e montagem do teste de germinação. A) Imersão das sementes em ácido sulfúrico; B) Lavagem das sementes em água corrente; C) Distribuição uniforme das sementes no substrato umedecido.



Fonte: O autor (2016).

Posteriormente, as amostras foram conduzidas em um delineamento experimental unifatorial casualizado, com quatro repetições, sendo considerado

como fator, as matrizes. Foram analisados 12 indivíduos (árvores matrizes), constituindo-se então 12 tratamentos e um fator qualitativo.

Para o teste, foram utilizadas caixas de acrílico com tampa (11 x 11 x 3,5 cm), do tipo gerbox, com 4 repetições de 25 sementes colocadas, com espaçamento uniforme, sobre papel germitest duplo umedecido com água (Figura 7 – C) e fungicida (Triazol a 2%), com 60% de capacidade de retenção de água. As amostras foram colocadas em câmara germinadora (Mangelsdorf - De Leo) (Figura 8) regulada à temperatura constante de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas sem luz, conforme Castellani e Aguiar (1998). Foi considerada como germinada, a semente com protrusão de 2 mm de raiz primária, seguindo o critério botânico proposto por Gui-Ferreira e Borghetti (2004), durante 60 dias.

Figura 8 - Teste de germinação com sementes de *T. micrantha*. A) Câmara germinadora com controle de temperatura e fotoperíodo; B) Tratamentos distribuídos nas prateleiras de forma aleatória.



Fonte: O autor (2016).

A fim de analisar o vigor de sementes de *T. micrantha* foi avaliada a porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG). O IVG foi obtido a partir da fórmula proposta por Maguirre (1992), a qual consiste na divisão do número de plântulas normais germinadas retiradas a cada dia, pelo número de dias após o início do teste e a seguir, os valores obtidos foram somados para cada repetição.

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \frac{(\dots)}{(\dots)} \cdot \frac{G_n}{N_n}$$

Onde: IVG = índice de velocidade de germinação.

G_1, G_2, G_n = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na enésima contagem.

N_1, N_2, N_n = número de dias de semeadura na primeira, segunda e última contagem.

O TMG foi obtido pela fórmula proposta por Labouriau (1983), que consiste em contagens diárias das sementes germinadas após a semeadura, sendo os resultados expressos em dias e calculado através da fórmula abaixo:

$$TMG = \frac{\sum(n_i \cdot t_i)}{\sum n_i}$$

Onde: TMG = tempo médio de germinação (dias).

n_i = número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem.

t_i = tempo decorrido entre o início da germinação e a enésima contagem.

A porcentagem de germinação (%G) e a velocidade média de germinação (VMG) foram calculadas de acordo com as fórmulas apresentadas a seguir:

$$G = \frac{N}{A} \cdot 100$$

Onde: G = germinação.

N = número total de sementes germinadas.

A = número total de sementes colocadas para germinar.

$$VMG = \frac{1}{t}$$

Onde: VMG = velocidade média de germinação (dias⁻¹).

t = tempo médio de germinação.

Os resultados primeiramente foram submetidos à análise de pressuposições básicas de normalidade e homogeneidade da variância utilizando os testes de Shapiro-Wilk e Bartlett. Cumprindo os pressupostos do modelo, o conjunto de dados foi submetido a análise de variância (ANOVA), através do teste Scott-Knott, ao nível de 5% de significância, exceto os dados de TMG que foram submetidos a transformação *boxcox* e posteriormente ao teste de Tukey ao nível de 5%. As análises foram realizadas com o auxílio do software R.

4.4 Aspectos citogenéticos

4.4.1 *Determinação do número de cromossomos, do comportamento meiótico e da viabilidade do pólen*

Foram coletados, aleatoriamente, na copa de cada uma das 12 matrizes de *T. micrantha*, botões florais em estágio pré-antese (Figura 9 – A e B). Posteriormente, o material botânico foi armazenado em fixador Carnoy (etanol-ácido acético 3:1) por 24 h, e em seguida transferido para álcool 70%, sendo então, mantidos sob refrigeração (6 a 10°C) até realização da análise (Figura 9 – C).

Figura 9 - Procedimento de coleta de material botânico para análise citogenética de *T. micrantha*. A) Botões florais; B) Seleção dos botões florais em estágio pré-antese; C) Fixação e armazenamento do material botânico.



Fonte: O autor (2016).

Inicialmente o material botânico foi dissecado para extração dos microsporócitos, os quais foram preparados utilizando o método de esmagamento e corados com carmim propiônico a 1%, segundo Guerra (2002).

A observação do material foi realizada em microscópio Olympus X31TM com aumento de até 1000 X. A contagem dos cromossomos foi realizada a partir da fase de diacinese, podendo ser observada em metáfase I, anáfase I e prófase II. Foram analisadas no mínimo 20 células de cada procedência para determinação do número de cromossomos.

Para a análise do comportamento meiótico todas as fases da meiose, a partir da diacinese, foram consideradas. Sendo contados no mínimo 500 microsporócitos por procedência. As anormalidades meióticas mais significativas foram fotografadas em microscópio Olympus X31TM de captura de imagem, utilizando a objetiva de 40 X. As imagens foram capturadas pelo programa Pixelview station v5. 23 TV e digitalizadas pelo Corel Photo-Paint X6.

O índice meiótico (IM) foi calculado de acordo com Love (1951): $IM = \frac{\text{número de tétrades normais}}{\text{número total de tétrades}} \times 100$. As células mães de pólen (CMP) com quatro micrósporos foram consideradas tétrades normais e como anormais aquelas com números de micrósporos diferentes de quatro: díades, tríades, políades (Corrêa et al., 2005).

Para a contagem e análise dos grãos de pólen foram utilizados no mínimo 1000 células por procedência e coradas com o corante lugol 1%. A viabilidade foi determinada pela capacidade de coloração dos grãos de pólen, onde foram considerados viáveis os pólenes que apresentaram tonalidades mais escuras com muito material genético e inviáveis aqueles que apresentaram tonalidade mais clara com pouco e ou nenhum material genético (Guerra, 2002).

Os dados foram submetidos à estatística descritiva para análise da percentagem de pólenes viáveis.

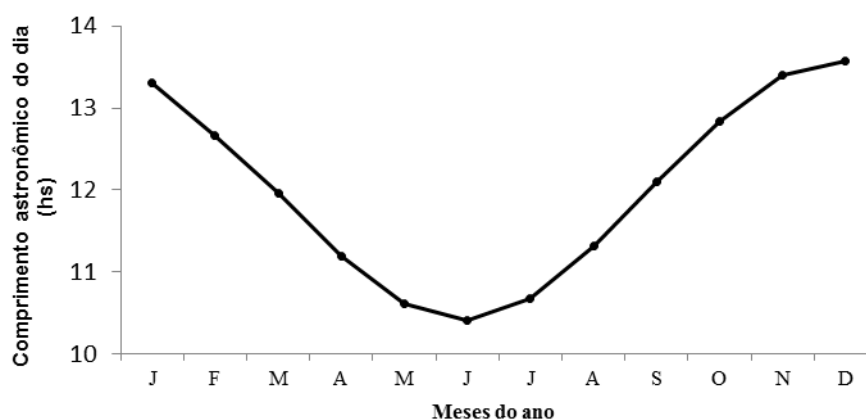
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Fenologia

5.1.1 Dados climáticos

A partir do comprimento astronômico do dia (fotoperíodo), observou-se que o número de horas sol de cada dia no município de Dois Vizinhos, durante o período de estudo, variou conforme o mês (Figura 10), tendo pico em dezembro, com média diária de 13,56 horas, sendo a menor média ocorrente no mês de junho (10,8 horas).

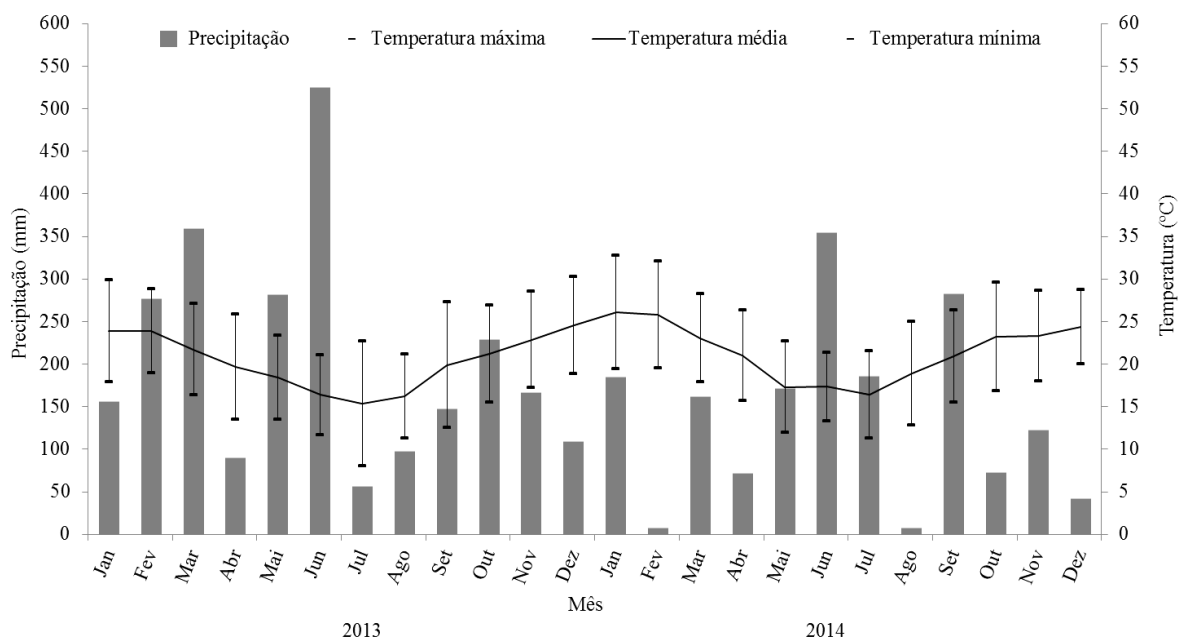
Figura 10 - Comprimento astronômico do dia em horas, Dois Vizinhos, PR.



Fonte: O autor (2016).

A partir da tabulação dos dados climáticos (Figura 11), observou-se que a menor e maior média mensal das temperaturas mínimas foram 10,8°C e 21,4°C, respectivamente, nos meses de julho/2013 e dezembro/2014, sendo que, nos meses de julho e agosto/2013 foram observadas formações de geada. A média mensal para a menor e maior temperatura máxima registrada foi de 19,6°C e 30,1°C, respectivamente, durante os meses de junho/2013 e janeiro/2014.

Figura 11 - Variáveis meteorológicas: total mensal de precipitação pluviométrica e temperaturas mínima, média e máxima durante o período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, Dois Vizinhos, PR.



Fonte: Estação meteorológica do INMET – UTFPR, Dois Vizinhos, PR, 2016.

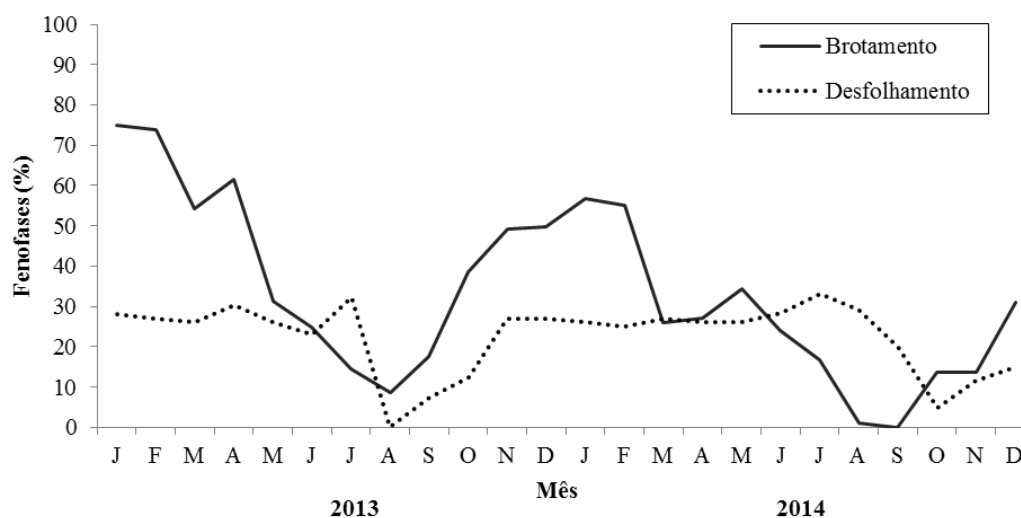
Conforme Figura 13, os meses com maiores totais mensais de precipitação pluviométrica foram junho/2013 (525 mm) e junho/2014 (354 mm), enquanto que em fevereiro e agosto de 2014 ocorreram os menores totais (7 mm).

5.1.2 Fenofases vegetativas

Durante os 12 meses de cada ano (Figura 12), o surgimento de brotações nos indivíduos de *T. micrantha* manteve-se presente (salvo exceção), porém irregular conforme o mês, tendo início em setembro, com maior intensidade de dezembro a fevereiro (acima de 50%) para os anos de 2013 e 2014. As menores porcentagens ocorreram durante os meses de julho e agosto (abaixo de 15%) para o ano de 2013, sendo em julho de 2014 menor que 10%, chegando a 0% em agosto, e permanecendo assim até meados de setembro.

A queda foliar, conforme Figura 5, manteve-se acima de 25% durante nove meses de cada ano, decaindo no mês de julho, chegando a 0% em agosto de 2013, e a 5% em outubro de 2014, momento em que se percebe o comportamento semidecíduo da espécie citado por Lorenzi (1998). A partir de meados de outubro é possível observar o aumento da intensidade da fenofase.

Figura 12 - Fenofases vegetativas de *T. micrantha* durante o período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Dois Vizinhos, PR.



Fonte: O autor (2016).

Conforme tabela 1 pode-se observar correlação não significativa entre as fenofases brotamento e queda foliar em relação a precipitação e temperatura. Somente brotamento teve correlação significativa ($r = 0,29629$) em relação ao fotoperíodo, uma vez que o alto índice de brotação está associado aos dias mais longos.

Tabela 1 - Correlação de Pearson (r) entre o Índice de Fournier para as fenofases vegetativas de *T. micrantha* e a temperatura mínima (T. mín), média (T. méd) e máxima (T. máx), precipitação pluviométrica (mm) e fotoperíodo durante o período de estudo. Dois Vizinhos, PR.

Fenofases	T. mín. (°C)	T. méd. (°C)	T. máx. (°C)	Precipitação	Fotoperíodo	
Vegetativas	Brotamento	0,21668 p (0,1793)	0,20677 p (0,2005)	0,18681 p (0,2484)	0,14756 p (0,3169)	0,29629 p (0,0408)
	Desfolhamento	-0,12462 p (0,4436)	-0,11293 p (0,4878)	-0,09396 p (0,5641)	0,07095 p (0,6318)	-0,24746 p (0,0899)

Fonte: O autor (2016).

Este incremento na taxa de emissão de folhas de *T. micrantha* inicia a partir do mês de setembro, com a chegada da estação da primavera. Período que favorece a renovação de folhas desta espécie sombreadora e do dossel da área de plantio, permitindo que durante a elevação da temperatura durante o período de verão, as folhas sirvam de proteção contra os raios solares, permitindo que o banco

de plântulas das espécies consideradas secundárias possa se desenvolver em áreas de restauração.

Da mesma forma, durante a estação fria, o acúmulo de serapilheira, poderia estar auxiliando na manutenção e proteção do solo, banco de plântulas e de sementes de espécies mais exigentes em fertilidade ou sensíveis a baixas temperaturas.

Segundo Morellato et al. (2000) em função da diminuição ou aumento da atividade metabólica das espécies arbóreas, as situações ambientais do meio interferem nos eventos fenológicos das ao longo do ano, desencadeando o surgimento ou queda de folhas, por exemplo. Com isso, percebe-se também a importância da observação comportamental desta espécie em ambiente subtropical.

Conforme Vieira et al. (2010) de maneira similar à luz, a temperatura afeta as reações fotoquímicas, fazendo com que ocorra declínio da taxa fotossintética da planta e principalmente diminuição da atividade nas regiões meristemáticas, o que explicaria as correlações da luminosidade e da temperatura sobre as fenofases. Esta relação se observa pelo baixo índice do brotamento de *T. micrantha* no mês de agosto de 2014, onde houve a menor taxa mensal de precipitação pluviométrica e temperatura média elevada.

Portanto, temperaturas elevadas associadas à falta de chuva, podem desencadear a perda ou o retardo no crescimento de *T. micrantha* se observarmos suas fenofases vegetativas durante os meses de outubro e novembro de 2014, quando comparado ao ano de 2013. No mesmo período, porém em anos diferentes, o incremento na intensidade das fenofases vegetativas foi menor durante 2014, provavelmente desencadeado pela ocorrência de temperaturas com médias superiores a 35°C e taxas pluviométricas abaixo de 50mm, como observado no mês de agosto.

Segundo Torres (1996) o aparato fotossintético eficiente de *T. micrantha* lhe confere uma alta plasticidade fenotípica, isso porque ela apresenta altas taxas de fotossíntese, respiração, transpiração, condutâncias e de conteúdo de nitrogênio adaptados para a produção de folhas continuamente. Porém, na existência de alguma sazonalidade ambiental a fenologia sofre alterações concomitantemente a redução das taxas fotossintéticas.

Desta forma, percebe-se que os estudos comportamentais de espécies em diferentes regiões e condições que predispõem as plantas, tendem a gerar

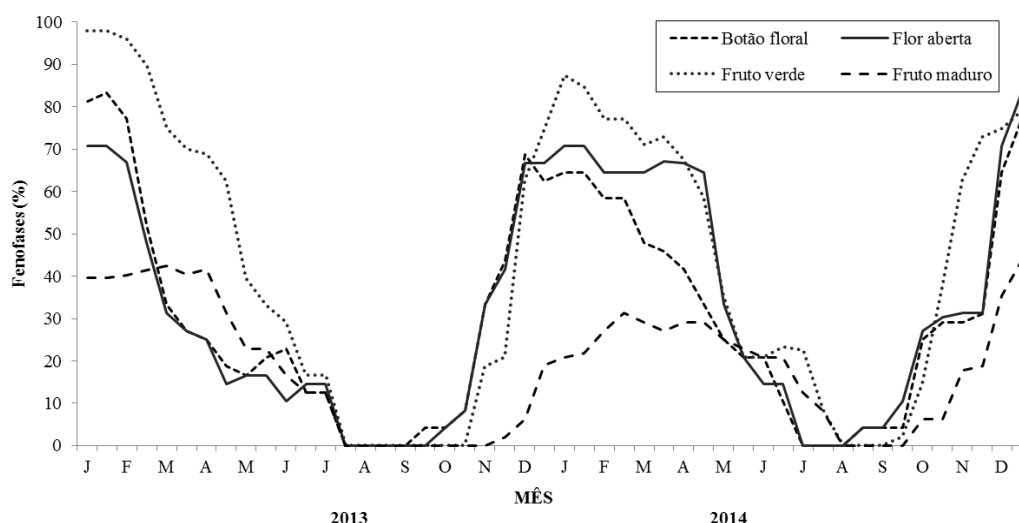
informações que poderão ser aplicadas, propiciando melhores resultados em projetos de plantio florestal.

5.1.3 Fenofases reprodutivas

O comportamento fenológico reprodutivo para *T. micrantha* foi classificado como anual estendida e de alta sincronia, tendo variações temporais nas fenofases ao longo das estações do ano, mas eventos ocorrendo ao mesmo tempo em 60% dos indivíduos.

A presença de botões florais ocorreu de novembro a julho (Figura 13), com pico de intensidade prolongado, de janeiro a março (Figura 14). Observa-se através das correlações de Pearson (Tabela 2), que o surgimento de gemas reprodutivas foi afetado pela diminuição de temperatura e fotoperíodo, ocorrente, principalmente, durante o mês de julho. Destaca-se o mês de julho de 2013, no qual foi registrada a menor média mensal de temperatura (10,8°C), com mínima de -1,8°C (Figura 13), e formação de geada, o que possivelmente tenha afetado a fenofase a partir do mês de agosto.

FIGURA 13: Comportamento fenológico de *T. micrantha* durante o período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Dois Vizinhos, PR.



Fonte: O autor (2016).

Percebe-se que a alta precipitação pluviométrica (525 mm) gerada durante o mês de junho de 2013 não foi fator suficiente para auxiliar o surgimento de botões e

a queda na temperatura e fotoperíodo inferiu negativamente nas fenofases reprodutivas, conforme as correlações positivas observadas na Tabela 2.

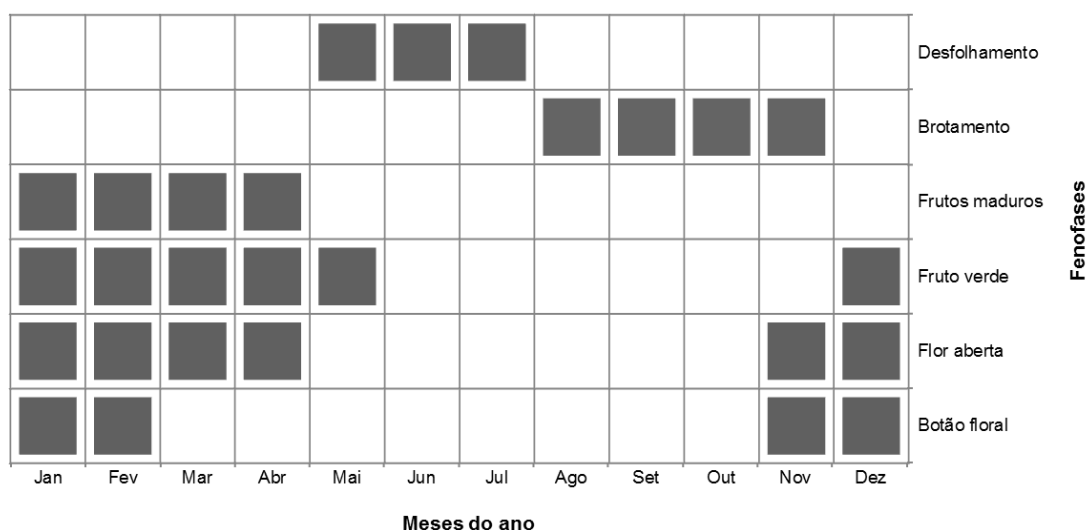
Tabela 2 - Correlação de Pearson (r) entre o Índice de Fournier para as fenofases reprodutivas de *T. micrantha* e a temperatura mínima (T. mín), média (T. méd) e máxima (T. máx), precipitação pluviométrica (mm) e fotoperíodo durante o período de estudo. Dois Vizinhos, PR.

Fenofases	T. mín. (°C)	T. méd. (°C)	T. máx. (°C)	Precipitação	Fotoperíodo	
Reprodutivas	Botão floral	0,73308 p (<0,0001)	0,70094 p (<0,0001)	0,62753 p (<0,0001)	-0,07948 p (0,5912)	0,61051 p (<0,0001)
	Flor aberta	0,77049 p (<0,0001)	0,72041 p (<0,0001)	0,63007 p (<0,0001)	-0,10693 p (0,4694)	0,5350 p (<0,0001)
	Fruto verde	0,67551 p (<0,0001)	0,64808 p (<0,0001)	0,58175 p (<0,0001)	-0,08821 p (0,551)	0,4521 p (0,0012)
	Fruto maduro	0,42192 p (0,0066)	0,33897 p (0,0323)	0,24719 p (0,1241)	-0,07057 p (0,6336)	0,02019 p (0,8916)

Fonte: O autor (2016).

O período de floração assemelha-se ao descrito por Torres (1996) em Campinas - São Paulo, que destaca a ocorrência do declínio da floração em um ou dois meses no final do outono ou início do inverno, com a diminuição do fotoperíodo e a temperatura. Contudo, é possível observar também que os picos de floração ocorrem de novembro a abril com intensidade média superior a 50% (Figura 16).

FIGURA 14: Picos fenológicos de *T. micrantha* durante o ano.



Fonte: O autor (2016).

A maturação dos frutos de *T. micrantha* inicia-se em novembro e vai até junho, contudo, pode se observar que o pico de maturação ocorre no período entre janeiro e abril (Figura 12 e 14), podendo observar-se que esta maturação é estendida e, intensificada no mês de fevereiro, onde se percebe momento ideal para a obtenção de sementes para a propagação da espécie. Durante essa fase é possível encontrar 90% dos indivíduos com intensidade de frutos maduros acima de 30%. Em termos silviculturais estas informações indicam que em caso de coleta de sementes, este período é o mais indicado para a obtenção de lotes de sementes homogêneos e representativos a partir de um grupo de matrizes da espécie.

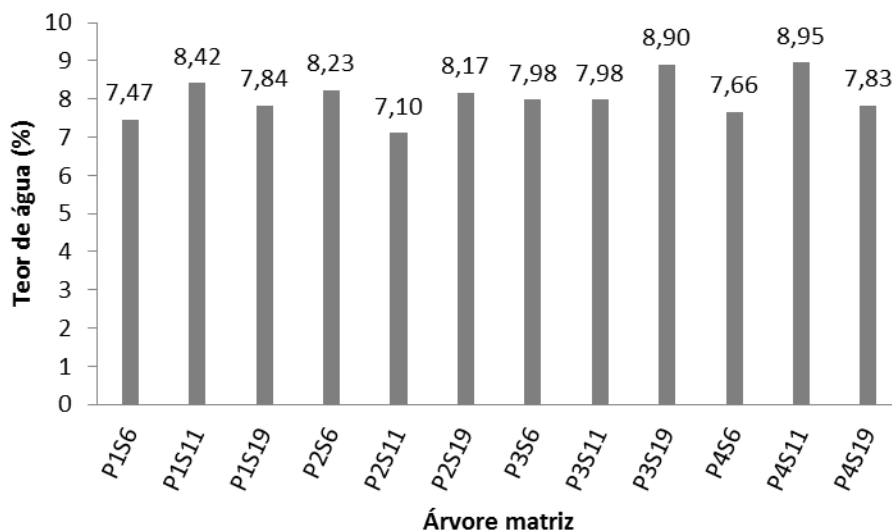
O comportamento fenológico dos indivíduos de *T. micrantha* na área de restauração, propiciando a produção de frutos e sementes, contribuindo à formação do banco de sementes e de plântulas, torna a espécie extremamente importante, justificando sua inserção em plantios de restauração ecológica de florestas subtropicais do Brasil.

Por fim, observa-se ainda que nos meses anteriores a este período, o aumento gradativo da disponibilidade de frutos maduros ao final da estação de inverno, permanecendo até a primeira quinzena de julho, haja a temperatura se mantém elevada.

5.2 Análise de sementes de *T. micrantha*

A quantidade média de sementes de *T. micrantha* por quilograma foi de 288.989, com coeficiente de variação de 4,8%, classificado como apropriado conforme Brasil (2009), indicando pouca variação do material obtido. O teor de água médio foi 8,04%, variando de 7,1 a 8,9% conforme a árvore matriz (Figura 15), cujos valores foram semelhantes, quando comparados aos trabalhos de Castellani e Aguiar (1997) (9,3%), Oliveira et al. (2009) (6,3%) e Locatelli e Silva (2012) (7,53% e 10,67%).

Figura 15 - Teor de água em sementes de *T. micrantha* a partir de diferentes árvores matrizes, expresso em porcentagem (%). Janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.

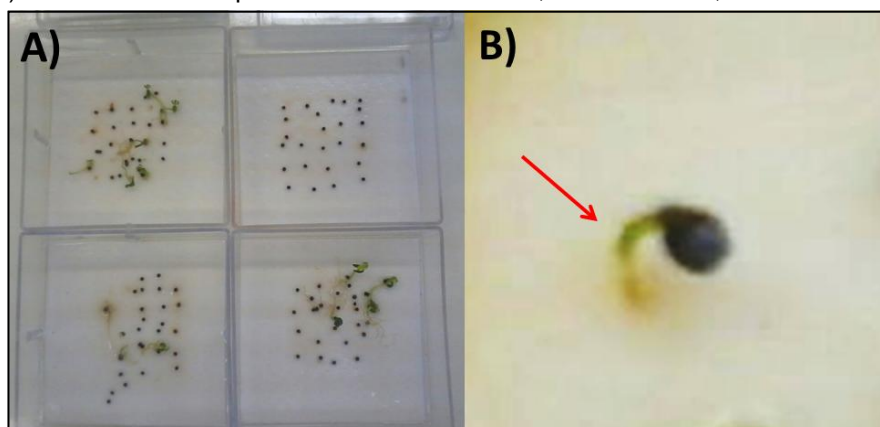


Fonte: O autor (2016).

Possivelmente, os percentuais de água abaixo de 10% estão associados à característica ortodoxa das sementes de *T. micrantha*, pois segundo Wielewicki et al. (2006), grande número de espécies da floresta atlântica apresentam características ortodoxas, que desidratam e diminuem seu metabolismo ao ponto de permanecerem viáveis por longos períodos à medida que ocorre a maturação. Já a variação entre uma matriz e outra Felippi et al. (2015) associa ao grau de maturação das sementes.

Para a germinação, as primeiras manifestações ocorreram no 12º dia após a semeadura, com o intumescimento da semente, ruptura do tegumento e protrusão de 2 mm da raiz primária com coloração branca a verde (Figura 16 - B).

Figura 16 - Sementes de *T. micrantha* no germinador. A) Sementes dispostas sobre o substrato umedecido; B) Protrusão da raiz primária. Janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.



Fonte: O autor (2016).

A captação de água representa o passo inicial do processo de germinação, onde as diferenças de potencial hídrico dos tecidos da semente e do substrato provocam a embebição das sementes (MARCOS-FILHO, 2015).

Embora a porcentagem e a velocidade de germinação tenham sido baixas (Tabela 3), foi possível observar que o papel de filtro permitiu adequado contato com a superfície das sementes e facilitou a contagem de germinação, evidenciando vantagens de ordem prática (Figura 16 – A). Esta observação concorda com Marcos-Filho (2015), que indica o uso do papel de filtro como substrato para a condução dos testes de germinação com sementes de pequenas dimensões.

Conforme Tabela 3, as matrizes P4S6, P4S19, P2S11, P3S6 e P1S19 manifestaram maior porcentagem de germinação (32, 27, 26, 24 e 20%, respectivamente) em relação às demais (menor que 8 %).

Tabela 3 – Valores referentes a Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Velocidade Média de Germinação (VMG) de sementes de diferentes matrizes de *T. micrantha*, submetidos ao teste de Scott Knott; e ao Tempo médio de Germinação (TMG) submetido ao teste de Tukey, em janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.

Matrizes	G (%)	TMG (dias)	IVG (plantas/dia)	VMG (dias)
P4S6	32 a	31,69 ab	0,35375 a	0,03234 a
P4S19	27 a	23,56 ab	0,35562 a	0,04529 a
P2S11	26 a	24,99 ab	0,30917 a	0,04201 a
P3S6	24 a	21,23 ab	0,37122 a	0,04788 a
P1S19	20 a	39,06 ab	0,17527 b	0,02628 a
P3S19	8 b	27,21 ab	0,06040 c	0,03303 a
P2S6	7 b	50,5 a	0,03595 c	0,01988 a
P1S11	5 b	23,83 ab	0,02665 c	0,01049 a
P1S6	4 b	24,62 ab	0,04195 c	0,02839 a
P4S11	3 b	14,88 ab	0,03712 c	0,01820 a
P2S19	2 b	12,5 b	0,02597 c	0,02598 a
P3S11	1 b	2,75 b	0,02272 c	0,02272 a

Em cada coluna, médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.
Fonte: O autor (2016).

Se compararmos o percentual germinativo observado neste estudo (1 a 32%), com dados já descritos para a espécie, 32,98% (OLIVEIRA, 2009) e 64,5% (CASTELLANI e AGUIAR, 1997), tem-se dados semelhantes, quando analisada somente a matriz P2S6, com 32%, no entanto, se levarmos em consideração as demais matrizes, o índice é relativamente inferior.

É importante destacar, que nos trabalhos de Oliveira (2009) e Castellani e Aguiar (1997) o tempo de permanência das sementes em ácido sulfúrico, tratamento pré-germinativo utilizado, foi superior, variando de 10 a 30 min, enquanto que neste trabalho, foi de apenas 2,5 min. Assim, percebe-se que o fator tempo nem sempre é o responsável pelo número de sementes germinadas.

Possivelmente as sementes de *T. micrantha* possuem dormência do tipo tegumentar ou exógena que segundo Marcos-Filho (2015) está relacionada com a impermeabilidade do tegumento à passagem de água ou oxigênio até o embrião para o processo de reativação do seu crescimento, rompimento do tegumento e o aparecimento de uma nova planta.

O valor médio de porcentagem de germinação obtido neste trabalho foi muito baixo, pois foi de 13,3% até 60 dias após a sementeira. Seghese et al. (1992) também encontraram valores baixos, variando de 30 a 34%, confirmando a afirmação feita por Lorenzi (1998) e Oliveira et al. (2009) de que a germinação das sementes de *T. micrantha* é apenas moderada. De fato, Castellani e Aguiar (1997) também afirmam que tem sido constatado que a germinação das sementes de *T. micrantha* ocorre em baixa porcentagem e de maneira lenta e irregular.

É possível que, em condições naturais, a permeabilidade à água seja aumentada pela ação de ácidos, por ocasião da passagem das sementes no trato digestivo desses dispersores, entretanto a utilização do ácido sulfúrico por tempos prolongados, segundo Castellani e Aguiar (1997) embebem algumas sementes de ácido, causa corrosão do endocarpo e conseqüentemente a morte das mesmas.

A discordância entre os resultados obtidos nos diferentes trabalhos pode ser devida às variações genético-ambientais existentes entre as populações utilizadas e ao método de quebra de dormência. Espécies com ampla distribuição geográfica, como é o caso da grandióva, podem responder de maneira diferente aos tratamentos utilizados, devido aos efeitos de adaptação às condições do local de origem (CASTELLANI e AGUIAR, 1997).

O impedimento estabelecido pela dormência pode dificultar a propagação da espécie em viveiros, mas de acordo com Fowler e Bianchetti (2000) em condições de campo se constitui como estratégia benéfica para as espécies florestais, pela distribuição da germinação ao longo do tempo, aumentando a probabilidade de sobrevivência das mesmas.

No caso de *T. micrantha* é obvio que mais testes envolvendo a quebra de dormência precisam ser realizados. No entanto, a diferença de maturação entre sementes obtidas a partir de frutos aparentemente semelhantes em termos de cor, textura e consistência, também necessita ser avaliada. Quanto mais homogêneo for o lote de sementes, maior representatividade para a espécie, o que torna importante a coleta de frutos a partir de um ponto considerado ótimo em termos de maturação.

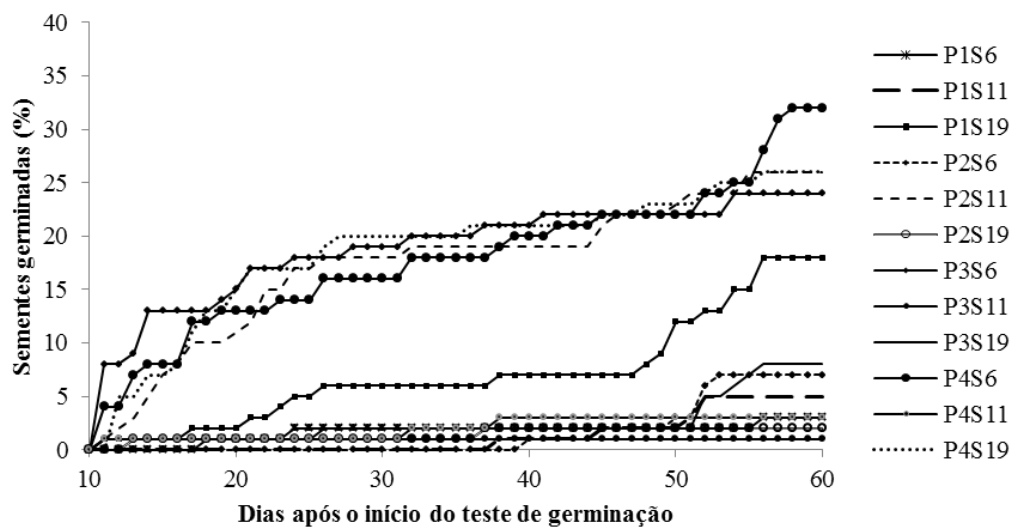
Desta forma, características morfoanatômicas de frutos e de sementes, associadas à análise de sementes, trarão informações envolvendo os tecidos, maturação e a instauração de dormência, quando existente. De fato, Felippi et al. (2015) descreve que apenas informações como a coloração de fruto, não sejam suficientes para uma coleta bem sucedida.

A germinação alcançada pela matriz P4S6 no final do teste, aos 60 dias (Figura 19), foi maior devido a um pico de germinação observado a partir de 55 dias, observa-se também que entre 50 e 60 dias houve um sobressalto na germinação de 7 matrizes. Talvez a umidade do substrato tenha contribuído para a deterioração dos tegumentos e emissão da raiz primária.

Por ocasião do encerramento do teste, aos 60 dias após a semeadura, a germinação das sementes de grandíuva ainda se encontrava distribuída no tempo, mas em porcentagem muito pequena, demonstrando uma ligação com a dormência uma vez que, as sementes eram viáveis e maduras, porém o tegumento prejudicou a emissão da raiz primária.

O índice de velocidade de germinação (IVG) no comportamento germinativo das sementes de diferentes matrizes de grandíuva demonstrou que os tratamentos são P4S6, P4S19, P2S11 e P3S6 diferiram-se significativamente dos demais e demonstra a importância de testes pré-germinativos e de determinação do grau de maturação ideal, pois conforme Marcos-Filho (2015) a medida que ocorre à maturação, as sementes que permanecem nas matrizes vai ocorrendo espessamento da parede celular das células que compõem os tecidos tegumentares na semente e deposição de suberina e outras substâncias impermeabilizantes que interferem na germinação.

Figura 17 - Germinação acumulada de sementes de *T. micrantha*, provenientes de diferentes matrizes, em janeiro de 2016, Dois Vizinhos, PR.



Fonte: O autor (2016).

A matriz P3S6 teve início de germinação muito rápido, sendo que nos primeiros 15 dias já tinham 14,13% de sementes germinadas, enquanto as outras foram mais lentas. Essa matriz demonstra, que se realizada a quebra de dormência de forma ideal poderia ter um índice bem elevado de germinação.

Assim é possível verificar matrizes com maior potencial germinativo e que terão maior índice e velocidade de germinação no momento de produzir mudas em viveiro.

Por fim, sugere-se que um conjunto de análises complementar aos dados obtidos com observação da coloração de frutos e germinação a partir de um número maior de indivíduos contribuirá com informações técnicas de propagação da espécie.

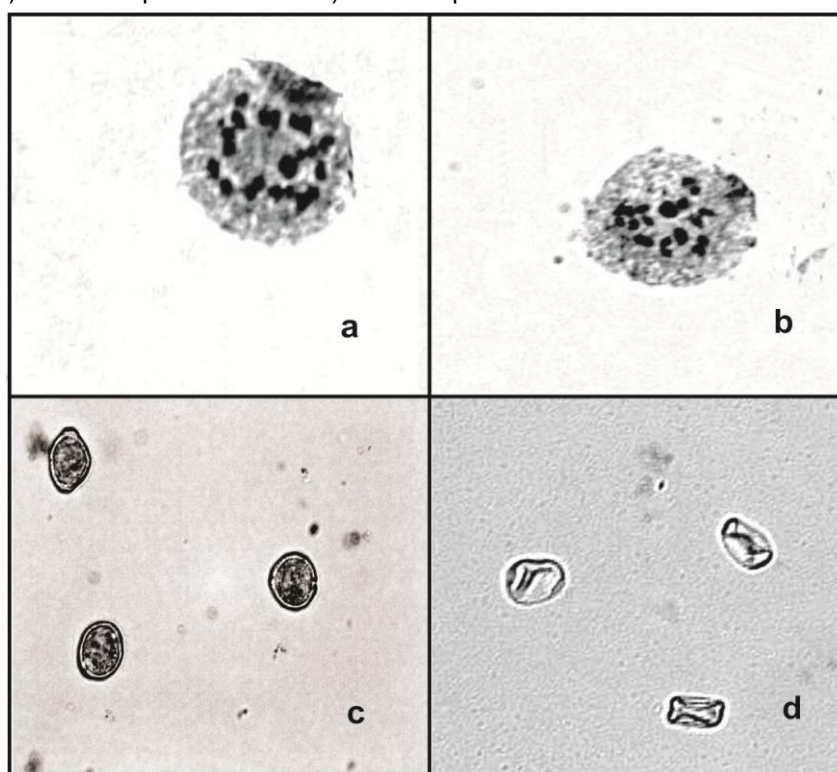
5.3 Aspectos citogenéticos

5.3.1 Número de cromossomos, comportamento meiótico e viabilidade do pólen

Neste estudo o número de cromossomo foi observado apenas na matriz P1S6, sendo $2n=20$ cromossomos, contados em diacinese com 10 cromossomos em associação bivalente (Figura 18 - a e b). O número básico de *T. micrantha* foi relatado por Torres, 1996, como $n=10$. Porém, no gênero ocorre poliploidia, *T. orientalis* $2n= 40+1B$ (BEDI et al, 1985) ou $2n=120$ (OGINUMA et al., 1990); *T.*

amboinensis n=10, 80 (GOLDBLATT, 1981). São poucos os estudos que relatam a contagem do número cromossômico para o gênero ou a espécie, mas observa-se que citogeneticamente o gênero apresenta grande variação cromossomal.

Figura 18- Microsporócitos em diacinese e grãos de pólen de *Trema micranta* a) e b) Diacinese com 10 bivalentes; c) Grãos de pólen férteis e d) Grão de pólen inférteis.



Fonte: O autor (2016).

Para as demais matrizes não foi possível a contagem do número cromossômico e análise do comportamento meiótico devido a dificuldade de encontrar botões em estágio ideal que fosse possível observar os microsporócitos nas fases I e II na meiose. Os botões coletados se encontravam em fase muito jovem na qual não tinham iniciado a microsporogênese ou já se encontravam no final da microsporogênese sendo possível observar apenas os grãos de pólen.

Ná Tabela 4 estão os resultados obtidos na análise de viabilidade dos grãos de pólen observados nas 12 matrizes de *T. micranta*. O percentual de viabilidade do pólen foi alto para todas as matrizes avaliadas. A porcentagem média de grãos de pólen viáveis (Figura 18) foi de 97,5%, variando de 83 a 100% (Tabela 4). Apenas as matrizes P1S6 e P4S19 apresentaram grãos inviáveis. Este comportamento pode ser resultante de vários fatores, como, comportamento meiótico irregular, resultando

em grãos de pólen desbalanceados, fatores ambientais e morfológicos. Nota-se neste estudo que todas as matrizes apresentaram viabilidade polínica acima de 70% conforme Souza et al. (2002) classifica como alta viabilidade polínica. Segundo Arenas-de-Souza et al. (2014) a viabilidade polínica *Handroanthus impetiginosa* (ipê roxo) e *Handroanthus chrysotricha* (ipê amarelo) com valores de 77,97 e 83,05% respectivamente, também seguem a mesma classificação.

Tabela 4 - Análise de viabilidade dos grãos de pólen observados nas 12 matrizes de *T. micranta*.

Árvore Matriz	Número de pólen analisados	Pólen férteis
P1S6	930	87%
P1S11	320	100%
P1S19	2440	100%
P2S6	700	100%
P2S11	2225	100%
P2S19	320	100%
P3S6	1000	100%
P3S11	1300	100%
P3S19	2180	100%
P4S6	400	100%
P4S11	2125	100%
P4S19	1002	83%

Fonte: O autor (2016).

A viabilidade polínica é reflexo das condições de desenvolvimento da parte reprodutiva masculina da planta, uma vez que o pólen viável é um conjunto de gametas masculinos normais, aptos para fertilização, embora nem todo o pólen seja utilizado na fertilização. Segundo Peñaloza (1995), a determinação da viabilidade do pólen é fundamental na investigação das causas de infertilidade das plantas, assim como para o conhecimento do potencial de reprodução de uma espécie e dos problemas de fertilidade que possam ocorrer.

Nas 12 matrizes analisadas a alta viabilidade polínica contribuiria para a utilização das mesmas em programas de reflorestamento e produção de sementes. Esta alta viabilidade polínica se comparada com os dados de análise de semente mostra que as sementes possuem alta viabilidade, porém a dormência imposta torna a germinação lenta e irregular.

Há necessidade de aprofundar os estudos relacionados à citogenética, que são poucos conhecidos para a espécie, para melhor entendimento da sua evolução, sugere-se novas coletas de material botânico, em diversas fases e tamanhos para que sejam realizadas análises mais abrangentes.

A partir das coletas a campo foram relatadas dificuldades quanto a análise citogenética de *T. micrantha*, já que não foi possível definir o estágio ideal de botões em pré-antese.

Por fim, a inexistência de um protocolo de avaliação citogenética de plantas arbóreas nativas como *T. micrantha* dificulta a obtenção de dados para avaliação de seu comportamento. Por isso, enfatiza-se a importância e a necessidade dos estudos de caracterização citogenética básica em arbóreas nativas na região sul do Brasil.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A floração e frutificação de *T. micrantha* para a região Sudoeste do Paraná é classificada como anual estendida e de alta sincronia, persistindo de novembro a abril, exceto em período de geadas, sendo possível encontrar botões florais concomitantemente com flores e frutos em desenvolvimento ou maduros.

O pico de maturação de frutos e dispersão de sementes concentra-se no mês de fevereiro, podendo as coletas, serem realizadas de janeiro a abril.

A fenofase brotação de *T. micrantha* diminui a intensidade quando exposta a temperatura inferior a 10°C, culminando em maior queda foliar. Da mesma forma, condições climáticas como o fotoperíodo e temperaturas elevadas favoreceram as fenofases floração e frutificação da espécie.

A partir do mês de setembro ocorre a retomada do crescimento vegetativo e a diminuição da queda foliar influenciadas pelo aumento de temperatura e precipitações pluviométricas.

A espécie *T. micrantha* apresenta 288.989 sementes por quilograma e teor de água entre as sementes variando entre 7,1 a 8,9%.

A germinação de sementes mostrou-se lenta e irregular, iniciando a partir do 12º dia após a semeadura, atingindo em média 13,3%, o que demonstra a necessidade de estudos viabilizando maior número de sementes germinadas.

O número de cromossomo observado, a partir da matriz P1S6, foi de $2n=20$, contados em diacinese com 10 cromossomos em associação bivalente.

A viabilidade polínica foi de 97,5% para todas as matrizes de *T. micrantha* analisadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, Cândida. M. L. Utilização de recursos florais por abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em uma área de Caatinga. Itaitim (BH), Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 457-467, 2003.

AGUIAR, Ivor. B. de.; PIÑA-RODRIGUES, Fatima. C. M.; FIGLIOLIA, Márcia. B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 350p. 1993.

ALVARES, Clayton A.; STAPE, José L.; SENTELHAS, Paulo C.; GONÇALVES, José L. de M.; SPAROVEK, Gerd. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p.711-728. 2013.

ARENAS-DE-SOUZA, Maicon D.; SILVEIRA, Greiciele F.; SILVA, Márcia de S. A.; KARSBURG, Isane V. Estimativa da Viabilidade Polínica em Indivíduos de *Tabebuia impetiginosa* e *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex. DC.) Standl. (Bignoniaceae) através de Métodos Citoquímicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 3864-3871. 2014.

BEDI, A.; BARBER, J.P.; BEDI, G.C. et al. **BCR-ABL mediated inhibition of apoptosis with delay of G2/M transition after DNA damage: a mechanism of resistance to multiple anticancer agents**. Blood, v. 86, p. 1148-1158, 1995.

BENCKE, Cinara S. C.; MORELLATO, L. Patrícia C. Estudo comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** (Impresso), São Paulo, v. 25, n.2, p. 237-248. 2002.

BRACK, Paulo; GRINGS, Martin; KINUPP, Valdely; LISBOA, Gustavo; BARROS, Ingrid. **Espécies arbóreas de uso estratégico na Agricultura familiar**. 38 p. 2011.

BRAMMER, Sandra P.; ZANOTTO, Maira; CAVERZAN, Andréia. **Citogenética vegetal: da era clássica à molecular**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 9p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 85). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do85.htm> acesso em 10 de novembro de 2015.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília, 398f. 2009.

BRASILEIRO-VIDAL, Ana C.; GUERRA, Marcelo. Citogenética molecular em cereais. In: BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. **Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. p. 277-298. Disponível em: <http://livraria.sct.embrapa.br/liv_resumos/pdf/00074440.pdf> acesso em 10 de novembro de 2015.

CABREIRA, Mariana A. F. **Levantamento das classes de solos da área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos**. Trabalho de Conclusão de Curso. Dois Vizinhos - PR, 54f. 2015.

CARVALHO, Nelson. M. de.; NAKAGAWA, João. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 4 ed., 588f. 2000.

CARVALHO, Paulo E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, v. 1, 1039 p. 2003.

CARVALHO, Paulo E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA, CNPF, 640f. 1994.

CASTELLANI, Estela D.; AGUIAR, Ivor B. Condições preliminares para a germinação de sementes de candiúba (*Trema micrantha* (L.) Blume). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 2, p.80-83, 1998.

DIAS, Herly C. T.; OLIVEIRA FILHO, Ary T. de. Fenologia de quatro espécies arbóreas de uma floresta estacional semidecídua montana em Lavras, MG. **CERNE** (UFL), Lavras, DCF/UFLA, v. 2, n.1, p. 66-88, 1996.

FELIPPI, Marciele; ARAÚJO, Maristela M.; LONGHI, Solon J.; LUCIO, Alessandro D. Fenologia reprodutiva e qualidade das sementes de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.12, p.2137-2142, 2015.

FELIPPI, Marciele; MAFFRA, Charles R. B.; CANTARELLI, Edison B.; ARAÚJO, Maristela M.; LONGHI, Solon J. FENOLOGIA, MORFOLOGIA E ANÁLISE DE SEMENTES DE *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 477-491, 2012.

FOURNIER, Luis A. Um método quantitativo para la medición de características fenológicas em arboles. **Turrialba**, v. 24, n. 4, p.422-423, 1974.

FOURNIER, Luis A.; CHARPANTIER, C. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de las árboles tropicales. **Turrialba**, v.25, n.1, p.45-48, 1975.

FOWLER, A.J.P.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, (Embrapa Florestas. Documentos, 40), 27p., 2000.

GARAY, Irene; DIAS, Braulio F. S. **Conservação da Biodiversidade em Ecossistemas Tropicais: avanços conceituais e revisão de novas metodologias de avaliação e monitoramento**. Editora Vozes, Petrópolis, 430f. 2001.

GOLDBLATT, P. **Index to plant chromosome numbers**. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard., (5. ed.). 1975- 1978. 1981.

GUI-FERREIRA, Alfredo. G.; BORGHETTI, Fabian. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre – RS. Editora ARTMED. 323f. 2004.

HOPPE, Juarez. M.; GENRO, Cícero. J. M.; VAGAS, Cristiane. O.; FLORIANO, Eduardo. P.; REIS, Eduardo. R. dos.; FORTES, Fabiano. O. de.; MÜLLER, Ivanor; FARIAS, Jorge, A. de.; CALEGARI, Leandro.; DACOSTA, Lourdes. P. E. **Produção de sementes e mudas florestais**. UFSM – PPGEF, caderno didático. Santa Maria-RS, 2 ed. n.1, 402f. 2004.

Instituto Brasileiro De Florestas – IBF. Sementes de Pau Pólvara (*Trema micrantha*). 2015. Disponível em: <<http://ibflorestas.org.br/loja/sementes/semente-pau-polvora.html>> Acesso em: 30 de setembro de 2015.

KAGEYAMA, Paulo Y.; GANDARA, Flávio. B. Recuperação de áreas ciliares. *In*: Rodrigues, Ricardo R.; LEITÃO-FILHO, Hermógenes F. **Matas Ciliares: conservação e recuperação**. São Paulo: EDUSP/FAPESP, v. 1, 2. ed., p. 235-247, 2004.

KINOSHITA, Luiza S.; TORRES, Roseli B.; FORNI-MARTINS, Eliana R.; SPINELLI, Tatiana; AHN, Yu J.; CONSTÂNCIO, Sábata S. Composição florística e síndromes de polinização e de dispersão da mata do Sítio São Francisco, Campinas, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.20, n.2, p.313-327, 2006.

LABOURIAU, Luiz. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 174p. 1983.

LEITH, Helmut. Purposes of a phenology book. *In*: Phenology and sazonal modeling. Springer-Verlag. **Ecological Studies**, v.8, p.3-19, 1974.

LENZI, Mauricio; ORTH, Inácio A. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anarcadiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasi. **Biotemas**, v. 17, p. 67-89, 2004.

LIMA JUNIOR, Manuel J. V. Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais. ABRATES, Londrina, Paraná, Brasil, 83p. 2011.

LOCATELLI, M. M.; SILVA, E. A. A. **Condicionamento Fisiológico de Sementes de *Trema micrantha***. *In*: XXIV Congresso de Iniciação Científica. UNESP – Botucatu, São Paulo, 2012.

LORENZI, Harri. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil, 2.ed., v.1., Nova Odessa, São Paulo, Instituto Plantarum, 367p. 1998.

LUBKE, Lucas; FELIPPI, Marciele; LUBKE, Marcos; CORRÊA, Bruno J. S.; BECHARA, Fernando C. Aspectos morfológicos e biometria de frutos e sementes de *Trema micrantha* em área de restauração florestal no Sudoeste do Paraná. *In*: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES. **Anais...** Foz do Iguaçu, PR. Informativo Abrates v.25, n.2, 183p. 2015.

MAGUIRRE, Robert J. D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.

MANTOVANI, Adelar; MORELLATO, L. Patricia C.; REIS, Mauricio S. Fenologia reprodutiva e produção de sementes em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.27, p.787-796, 2004.

MARCHIORETTO, Maria S.; MAUHS, Julian; Budke, Jean C. Fenologia de espécies arbóreas zoocóricas em uma floresta psamófila no sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p. 193-201, 2007.

MARCO-FILHO, Julio. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 495p. 2005.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. ABRATES – Londrina, PR, 2 ed. 660 p, 2015.

MORAES, Izabel C. R. de. **Caracterização citogenética e da biologia reprodutiva de três espécies do gênero *Hypericum* L. (Clusiaceae)**. Tese (Doutorado)-Instituto Agronômico, Campinas-SP, 64p., 2007.

MORELLATO, L. Patrícia C.; LEITÃO-FILHO, Hermógenes. F. Padrões de frutificação e dispersão na Serra do Japi. In: História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no Sudeste do Brasil. **Editora da UNICAMP/FAPESP**, Campinas, p.112-140, 1992.

MORELLATO, L. Patrícia C.; RODRIGUES, Ricardo R.; LEITAO FILHO, Hermógenes F.; JOLY, Carlos A. Estudo fenológico comparativo de espécies arbóreas de floresta de altitude e floresta mesófila semidecídua na serra do Japi, Jundiá, SP. **Revista brasileira de botânica**, São Paulo, v. 12, n. 1/2, p. 85-98, 1989.

MORELLATO, L. Patricia C.; TALORA, Daniela C.; TAKAHASI, Adriana; BENCKE, Cinara C., ROMERA, Eliane C.; ZIPPARRO, Valescka B. Phenology of Atlantic Rain Forest trees: a comparative study. **Biotropica**, v.32, p.811-823, 2000.

MUNDIM, Thiago. G: **Avaliação de espécies nativas usadas na revegetação de áreas degradadas no cerrado**. Faculdade de Tecnologia de Brasília – Departamento de Engenharia Florestal (Trabalho de conclusão de curso, Engenharia Florestal). BRASÍLIA, 100p., 2004.

NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, Gordon W.; BAKER, Herbert G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, Zurich, v. 26, n. 2, p. 141-159, 1994.

NOLASCO, Cristiane A. **CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA E MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*)**. (Dissertação de Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia), Vitória da Conquista - BA: UESB, 47p., 2011.

OGINUMA, K.; RAVEN, P.H.; TOBE, H. **Karyomorphology and relationships of Celtidaceae and Ulmaceae (Urticales)**. Bot. Mag. (Tokyo) 103: 113-131. 1990.

OLIVEIRA, R. G. **Germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de *Eschweilepia ovata* (Cambess.) Miers., *Trema micrantha* (L.) Blume, e *Ficus tomentella* Miquel**. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade Federal Rural de Pernambuco. 66 f, 2009.

PEDERNEIRAS, Leandro C.; COSTA, Andrea F.; ARAUJO, Dorothy S.D.; CARAUTA, Jorge P.P. Ulmaceae, Cannabaceae e Urticaceae das restingas do estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, v.62, n.2, p.299-313, 2011.

PEÑALOZA, A.P.S. **Caracterização de componentes biológicos da produção de sementes de *Arachis pintoi* (Leguminosae)**. 1995. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 1995.

POPINIGIS, Flavio. **Fisiologia de sementes**. Brasília: Ministério da agricultura - AGIPLAN, 289p, 1977.

POSSENTI, Jean C.; GOUVEA, Alfredo; MARTIN, Thomas N.; CADORE, Douglas. Distribuição da Precipitação Pluvial em Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. In: I Seminário Sistemas De Produção Agropecuária Na Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Dois Vizinhos – PR. **Anais...** Dois Vizinhos – PR, p.140-142, 2007.

PRIMACK, Richard B.; RODRIGUES, Efraim. **Biologia da conservação**. Londrina. Editora Planta, 328p, 2000.

RAMÍREZ, Nelson. Reproductive phenology, life-forms and habitats of the Venezuelan Central Plain. **American Journal of Botany**. v.89, n.5, p.836-842, 2002.

RIBAS, Luciano A.; KAGEYAMA, Paulo Y. Sistema de cruzamento de *Trema micrantha* (L.) B. em fragmentos florestais. **Scientia Forestalis**, n.72, p.29-37, 2006.

SANTOS, Paula L. **Fenologia de *Tapirira guianensis* Aubl. e *Caesalpinia leiostachya* Benth., em São Cristóvão-SE**. Monografia apresentada ao Núcleo de Engenharia Florestal. Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão - SE, 56f, 2007.

SEGHESE, F.; ISSHIKI, K.; VITTI, A.P. **Ecofisiologia da germinação de espécies arbóreas**. Série Técnica IPEF, Piracicaba, v.8, n. 25, p. 9-11, 1992.

SILVA, Laura A; GUIMARÃES, E.; ROSSI, Marcelo. N.; MAIMONI-RODELLA, Rita C. S. Biologia da reprodução de Mimosa bimucronata: uma espécie ruderal. **Planta daninha** [online], vol. 29, p. 1011-1021, 2011.

SOUZA, Margarete M.; PEREIRA, Telma N. S.; MARTINS, Ernane R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. flavicarpa degener). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, V. 26, n. 6, p.209-1217, 2002.

SOUZA, Vinicius C.; LORENZI, Harri. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Nova Odessa, São Paulo, Instituto Plantarum, 2.ed., 703p, 2008.

STACE, Clive A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21th centuries. **Taxon**, v. 49, p. 451-477, 2000.

TALORA, Daniela C.; MORELLATO, L. Patrícia C.. Fenologia de Espécies Arbóreas Em Floresta de Planície Litorânea do Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n.1, p.13-26, 2000.

TANNUS, João L. S.; ASSIS, Marco A.; MORELLATO, L. Patrícia C. Fenologia reprodutiva em campo sujo e campo úmido numa área de Cerrado no sudeste do Brasil, Itirapina - SP. **Biota Neotropica**, Campinas, vol.6, n.3. 27p, 2006.

TORRES, Roseli Buzanelli. **Biologia da Reprodução de *Trema micrantha* (L.) Blume (Ulmaceae)**. PhD Thesis, UNICAMP, Campinas - Brazil, 140f, 1996.

TRENTIN, Bruna. E.; BECHARA, Fernando. C.; ESTEVAN, Daniela. A.; BRIZOLA, Gilmar. P.; BARDDAL, Murilo. L. **Caracterização Ambiental e Regeneração Natural na Região de Dois Vizinhos-Pr**. In: I CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA UTFPR - CÂMPUS DOIS VIZINHOS. Dois Vizinhos, p.196-200, 2007.

VILLANUEVA, Roger G. Polliniferous plants and foraging strategies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in Yucatan Peninsula, Mexico. **Revista de Biologia Tropical**, v.50, n.3-4, p.1035-1044, 2002.

WHEELWRIGHT, Nathaniel T.; HABER, William A.; MURRAY, Greg K.; GUINDON, Carlos. Tropical Fruit-Eating Birds and Their Food Plants: A Survey of a Costa Rican Lower Montane Forest. **Biotropica**, v.16, n.3, p.173-192, 1984.

WIELEWICKI, A. P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWEIN, G.; MEDEIROS, A. C. de S. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**. vol.28, n.3, pp.191-197, 2006.

YAMAMOTO, Leila F.; KINOSHITA, Luiza S.; MARTINS, Fernando R. Síndromes de polinização e de dispersão em fragmentos da Floresta Estacional Semidecídua Montana, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.21, n.3, p.553-573, 2007.

ZAMITH, Luiz R.; SCARANO, Fabio. R. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.18, n.1, p.161-176, 2004.