
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)

DESENVOLVIMENTO DO GRÃO DE PÓLEN DE CYPERACEAE E JUNCACEAE

FERNANDA PASSARINI-LOPES

Rio Claro – SP
2021

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)**

DESENVOLVIMENTO DO GRÃO DE PÓLEN DE CYPERACEAE E JUNCACEAE

FERNANDA PASSARINI-LOPES

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Ike Coan

Coorientadora: Profa. Dra. Aline Oriani

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal).

**Rio Claro – SP
2021**

P286d Passarini-Lopes, Fernanda
Desenvolvimento do grão de pólen de Cyperaceae e Juncaceae /
Fernanda Passarini-Lopes. -- Rio Claro, 2021
118 f. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Alessandra Ike Coan
Coorientadora: Aline Oriani

1. Grão de pólen. 2. Parede do grão de pólen. 3. Cyperaceae. 4.
Juncaceae. 5. Microsporogênese. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de
Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DESENVOLVIMENTO DO GRÃO DE PÓLEN DE CYPERACEAE E JUNCACEAE

AUTORA: FERNANDA PASSARINI LOPES

ORIENTADORA: ALESSANDRA IKE COAN

COORIENTADOR: ALINE ORIANI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA VEGETAL), área: Biologia Vegetal pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ALESSANDRA IKE COAN (Participação Virtual)
Departamento de Biodiversidade / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Profa. Dra. DANIELA GUIMARÃES SIMÃO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / Centro de Ciências Naturais e Exatas / Universidade Federal de Santa Maria - RS

Prof. Dr. MARCCUS VINICIUS DA SILVA ALVES (Participação Virtual)
Departamento de Botânica / Universidade Federal de Pernambuco - Recife / PE

Profa. Dra. SHIRLEY MARTINS SILVA (Participação por Parecer Circunstanciado)
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Cascavel / PR

Profa. Dra. TATIANE MARIA RODRIGUES (Participação por Parecer Circunstanciado)
Departamento de Botânica / UNESP - Instituto de Biociências de Botucatu - SP

Rio Claro, 09 de abril de 2021

Dedico este trabalho a minha mãe e a todos
que me incentivaram a fazê-lo

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pela Bolsa de Doutorado, número de processo: 141848/2017-0; e pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa – Nível 2, números de processos: 307515/2015-0 e 309504/2018-0, à minha orientadora.

Agradeço às minhas orientadoras, as professoras doutoras Alessandra Ike Coan e Aline Oriani por aceitar me orientar, pela oportunidade de realizar este trabalho, como também aos ensinamentos obtidos sob suas orientações.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Câmpus Rio Claro e ao Departamento de Biodiversidade do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP pelo espaço e estrutura disponibilizados para a realização desse projeto de pesquisa. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal) e ao seu coordenador, Prof. Dr. Douglas Silva Domingues. À Célia Hebling, secretária aposentada, e Sabrina Basso da Silva, secretária interina, do antigo Departamento de Botânica. Aos professores, à técnica Naiara David de Souza e aos demais funcionários do Departamento de Biodiversidade. Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima – USP/Câmpus de Piracicaba pelo espaço e estrutura disponibilizados para realização do processamento dos materiais para as microscopias eletrônicas de transmissão e de varredura e pelo uso dos microscópios eletrônicos de transmissão e de varredura para capturas de imagens.

Ao técnico Renato Barbosa Salaroli e ao responsável do Laboratório de Microscopia Eletrônica Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima – USP/Câmpus de Piracicaba, Professor Doutor Elliot Watanabe Kitajima, pelo auxílio no processamento e na preparação dos materiais para visualização nos microscópios eletrônicos de transmissão e de varredura e na captura de imagens.

Aos guias e funcionários do Parque Estadual Ilha Cardoso, da Estação Ecológica Juréia-Itatins e do Instituto Florestal, pela permissão de coletar os materiais do presente trabalho e por guiar nas trilhas nos dois primeiros locais mencionados durante as expedições de coleta.

Aos meus queridos colegas: Arthur, Giselle, Lucimara, Ana Angélica, Thales, Kleber, Kaire, Aline, João e Gustavo pelo convívio agradável no laboratório, pela troca de vivências e conhecimento e por estarem dispostos a ajudar.

Aos membros da banca pela disponibilidade e pelas contribuições.

RESUMO

Cyperaceae e Juncaceae dispersam grãos de pólen agregados dos tipos pseudomônade e tétrade, respectivamente, cujos aspectos ontogenéticos não são ainda totalmente compreendidos. Ambas as famílias, incluindo Thurniaceae, pertencem ao clado ciperídeo em Poales por compartilharem sinapomorfias embriológicas. Essa tese teve como objetivo descrever o desenvolvimento da parede polínica da tétrade permanente de sete espécies de *Juncus* (Juncaceae) e identificar o seu mecanismo de coesão; e também descrever o desenvolvimento da antera e da pseudomônade de seis espécies da subfamília Cyperoideae (Cyperaceae), com foco na microsporogênese, visando ampliar o conhecimento embriológico na família. Nas espécies de *Juncus* analisadas, a persistência da lamela média e da parede celular do microsporócito durante a microsporogênese, assim como a formação antecipada da parede polínica antes da citocinese, contribuíram para que os quatro micrósporos permanecessem juntos ao final deste processo. A coesão é do tipo “simple cohesion” devido o teto da exina ser contínuo por toda a tétrade. A coesão é ainda fortalecida pela presença de uma camada basal contínua tanto ao longo da superfície da tétrade como também entre os quatro grãos de pólen, formando uma única parede interna. Além disso, a intina envolve cada grão de pólen individualmente. Nas espécies de Cyperaceae estudadas, a formação da parede da antera é do tipo monocotiledôneo, constituída por epiderme com células levemente papilosas, endotécio com espessamento em espiral, camada mediana efêmera e tapete secretor. Idioblastos fenólicos foram observados na parede da antera de todas as espécies estudadas, mas com variação em sua distribuição. A microsporogênese é simultânea do tipo-Cyperaceae, com citocinese assimétrica, que resulta em uma tétrade de micrósporos desiguais, com um micrósporo de maior tamanho e volume, o micrósporo funcional, e três micrósporos de menor tamanho e volume, os micrósporos não-funcionais. Os quatro micrósporos permanecem juntos devido à formação da camada de exina da parede polínica ao redor da tétrade. Além disso, os quatro micrósporos são separados por um espaço periplasmático contendo muitas vesículas e uma fina matriz de primexina. Antes da formação do vacúolo central, o núcleo do micrósporo funcional se divide mitoticamente, resultando nas células vegetativa e generativa. Mais tarde, o núcleo da célula generativa se divide, formando duas células espermáticas. Durante a microgametogênese, os núcleos dos micrósporos não-funcionais não se dividem e essas três células acabam se degenerando. O grão de pólen resultante desse processo é a pseudomônade, caráter sinapomórfico da família dentro de Poales. Estes resultados mostram algumas semelhanças entre Juncaceae e Cyperaceae quanto ao desenvolvimento de seus grãos de pólen e de suas paredes polínicas, corroborando com a hipótese que a pseudomônade tenha surgido de uma tétrade permanente, sustentando, assim, o relacionamento filogenético dessas duas famílias.

Palavras-chave: Microsporogênese. Parede polínica. Pseudomônade. Tétrade permanente.

ABSTRACT

Cyperaceae and Juncaceae disperse aggregated pollen grains of the pseudomonad and tetrad types, respectively, whose ontogenetic aspects are not yet fully understood. Both families, including Thurniaceae, belong to the cyperid clade in Poales for sharing embryological synapomorphies. This thesis aimed to describe the pollen wall development of the permanent tetrad of seven species of *Juncus* (Juncaceae) and to identify its cohesion mechanism; and also to describe the anther and pseudomonad development of six species of the subfamily Cyperoideae (Cyperaceae), with a focus on microsporogenesis, aiming to expand the embryological knowledge in the family. In the species of *Juncus* analyzed, the persistence of the middle lamella and the microsporocyte cell wall during microsporogenesis, as well as the early formation of the pollen wall before cytokinesis, contributed to the four microspores remaining together at the end of this process. Cohesion is of the “simple cohesion” type due to the exine being continuous throughout the tetrad. Cohesion is further strengthened by the presence of a continuous foot layer both along the surface of the tetrad and also between the four pollen grains, forming a single continuous internal wall. In addition, the intine involves each pollen grain individually. In the species of Cyperaceae studied, the anther wall formation is monocotyledonous type, constituted by epidermis with slightly papillate cells, endothecium with helicoidal thickening, ephemeral middle layer, and secretory tapetum. Phenolic idioblasts were observed in the anther wall of all studied species, but with variation in their distribution. Microsporogenesis is simultaneous of the Cyperaceae type, with asymmetric cytokinesis, which results in a tetrad of uneven microspores, with a microspore of larger size and volume, the functional microspore, and three microspores of smaller size and volume, the non-functional microspores. The four microspores remain together due to the formation of the exine layer of the pollen wall around the tetrad. In addition, the four microspores are separated by a periplasmic space containing many vesicles and a thin primexine matrix. Before the central vacuole formation, the functional microspore nucleus divides mitotically, resulting in the vegetative and generative cells. Later, the generative cell nucleus divides, forming two spermatid cells. During microgametogenesis, the non-functional microspores nuclei do not divide and these three cells degenerate. The pollen grain resulting from this process is the pseudomonad, a synapomorphic character to the family within Poales. These results show some similarities between Juncaceae and Cyperaceae, regarding their pollen grain and pollen wall development, corroborating the hypothesis that the pseudomonad has arisen from a permanent tetrad, thus supporting the phylogenetic relationship of these two families.

Keywords: Microsporogenesis. Permanent tetrad. Pollen wall. Pseudomonad.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	8
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 1. Development of the permanent tetrad wall in <i>Juncus</i> L. (Juncaceae, Poales).44	
Abstract.....	45
Introduction	46
Materials and Methods	48
Results	49
Discussion.....	51
References	54
Illustrations	59
Table	70
CAPÍTULO 2. Aspectos do desenvolvimento da parede da antera e da pseudomônade de espécies de Cyperoidae (Cyperaceae, Poales)	71
RESUMO.....	72
ABSTRACT	73
1 INTRODUÇÃO.....	74
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	77
4 RESULTADOS	79
5 DISCUSSÃO	83
6 CONCLUSÃO.....	89
REFERÊNCIAS	91
ILUSTRAÇÕES	97
TABELA	116
CONSIDERAÇÕES FINAIS	117

1 INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento do grão de pólen em angiospermas é definido por eventos precisamente regulados, interligados com o desenvolvimento simultâneo do próprio estame (SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). Mudanças mínimas na cronologia desses eventos, principalmente causadas por mutações, podem levar a defeitos tanto no desenvolvimento do pólen, quanto da antera e do estame (CHAUDHURY, 1993; TAYLOR et al., 1998; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004), que podem culminar na esterilidade masculina (TAYLOR et al., 1998).

Nas angiospermas, os grãos de pólen passam por um longo processo que se inicia na diferenciação de uma ou mais células meristemáticas subepidérmicas na antera, nos locais dos futuros microsporângios, formando o tecido arquesporial (MAHESHWARI, 1950). A diferenciação de células do tecido arquesporial culminam na formação da parede da antera e do tecido esporogênico (MAHESHWARI, 1950; STANLEY; LINSKENS, 1974; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004).

1.1 Antera

O estame é formado pela antera e pelo filete em grande parte das angiospermas (STANLEY; LINSKENS, 1974; GOLDBERG; BEALS; SANDERS, 1993; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004), com exceção de alguns táxons de angiospermas basais [p. ex., Annonaceae (BHANDARI, 1984), Austrobaileyales (BHANDARI, 1984; ENDRESS; DOYLE, 2009; LOSADA; BACHELIER; FRIEDMAN, 2017), Degeneriaceae (CANRIGHT, 1952; BHANDARI, 1984; ENDRESS; DOYLE, 2009), Himantandraceae, Magnoliaceae (CANRIGHT, 1952; BHANDARI, 1984) e Nymphaeaceae (VAN HEEL, 1977; TAYLOR et al., 2013)] e a provável irmã das eudicotiledôneas, Ceratophyllales (ENDRESS, 1994). Nestas famílias, os estames são laminares, não havendo distinção entre o filete e a antera e nem dos próprios sacos polínicos (BHANDARI, 1984), que estão em posição laminar (CANRIGHT, 1952). O estame laminar é considerado um caráter plesiomórfico em angiospermas (CANRIGHT, 1952; BHANDARI, 1984) e, durante a evolução das plantas com flores, esse estame sofreu redução de seu tecido estéril, além de retração de suas margens (BHANDARI, 1984) e mudança na posição de seus sacos polínicos, de laminar para marginal na antera (CANRIGHT, 1952).

A antera é o local de produção do grão de pólen (GOLDBERG; BEALS; SANDERS, 1993; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004; PACINI, 2010), onde ocorre a transição da geração esporofítica para gametofítica (CANALES et al., 2002). É formada pelo conectivo e pelas tecas com microsporângios (BHANDARI, 1984).

O conectivo é um tecido estéril, formado por células parenquimáticas e vasculares, que conecta o filete ao restante da antera, e que contém o feixe vascular (MAUSETH, 1988). É considerado uma extensão do filete (FAHN, 1978), que pode se expandir, promovendo a separação das tecas no interior da antera (BHANDARI, 1984). Nas angiospermas basais [p. ex., Magnoliaceae (XU; CHEN; SPECHT, 2013) e Schisandraceae (VIJAYARAGHAVAN; DHAR, 1975)], o conectivo é conspícuo, com duas ou mais vezes o tamanho do tecido fértil, enquanto que nas demais famílias de angiospermas, há redução de seu tamanho (BHANDARI, 1984). Também, algumas de suas células podem adquirir espessamentos de parede semelhantes àqueles do endotécio (VIJAYARAGHAVAN; DHAR, 1975; VENTURELLI; BOUMAN, 1988; SANDERS et al., 1999; PRAKASH; LEE; GOH, 2000; AMELA GARCÍA; GALATI; ANTON, 2002; KUMAR; RAMASWAMY, 2003; XU; CHEN; SPECHT, 2013; OLIVEIRA et al., 2020), ou apresentar aerênquima (OLIVEIRA et al., 2020); ou acumular taninos, óleos (VIJAYARAGHAVAN; DHAR, 1975), cristais (VIJAYARAGHAVAN; DHAR, 1975; CHEN et al., 2013) e amido (OLIVEIRA et al., 2015; SHARMA; SINGH; BHALLA, 2015).

A grande maioria das angiospermas apresenta quatro microsporângios em suas anteras, sendo dois por teca (p. ex., HORNER, 1977; MAKDE, 1982; SIMPSON, 1988; SANDERS et al., 1999; HERMANN; PALSER, 2000; AMELA GARCÍA; GALATI; ANTON, 2002; CANALES et al., 2002; LIU et al., 2007; SAJO; LONGHI-WAGNER; RUDALL, 2007; LI et al., 2010; SOLÍS; GALATI; FERRUCCI, 2010; EKICI, 2014; GOTELLI et al., 2016). Os microsporângios, também chamados de sacos polínicos, são regiões onde ocorre o desenvolvimento do grão de pólen (STANLEY; LINSKENS, 1974; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978). Além disso, em algumas famílias de monocotiledôneas (p. ex., Philydraceae – BHANDARI, 1984) e eudicotiledôneas (p. ex., Onagraceae – GORMLEY, 1915 e Viburnaceae – BHANDARI, 1984), as anteras podem ser bisporangiadas; em algumas famílias de angiospermas basais [Annonaceae (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992)] e de outras eudicotiledôneas [Bixaceae (BHANDARI, 1984) e Melastomataceae (LIMA; ROMERO; SIMÃO, 2019)] são observadas anteras polisporangiadas, com mais de quatro microsporângios. Além disso, pode haver variação no número de microsporângios dentro de uma mesma família, como acontece em algumas famílias de monocotiledôneas [Eriocaulaceae (COAN; SCATENA, 2004; COAN; STÜTZEL; SCATENA, 2010),

Restionaceae (DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985; LINDER; VLOK, 1991; LINDER; BRIGGS; JOHNSON, 1998; BRIGGS; JOHNSON, 2000) e Smilacaceae (CONRAN, 1998; AO, 2013)] e de eudicotiledôneas [Ericaceae (STEVENS et al., 2004) e Malvaceae (NABEESA; NEELAKANDAN, 1985; TANG; GAO; XIE, 2009; MACINTYRE; LACROIX, 1996; LATTAR; GALATI; FERRUCCI, 2014)], nas quais são observadas espécies que apresentam anteras com dois ou quatro microsporângios.

Os microsporângios se originam de células do tecido arquesporial que se diferenciam de células do meristema floral (SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). As células do tecido arquesporial se dividem e se diferenciam nas camadas parietal e esporogênica, que originam as camadas da parede da antera e os grãos de pólen, respectivamente (MAHESHWARI, 1950).

Na maioria das angiospermas, a parede da antera compreende quatro camadas: epiderme, endotécio, camada mediana e tapete (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). O processo de formação destas camadas, inicia com a divisão das células do tecido arquesporial na camada parietal primária, que passa por divisão periclinal formando duas camadas parietais secundárias (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Essas camadas secundárias podem ou não se dividir e, por isso, a formação da parede da antera é classificada em quatro tipos: básico, dicotiledôneo, monocotiledôneo e reduzido (DAVIS, 1966 *apud* JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). No tipo básico, as camadas parietais secundárias externa (voltada para a epiderme) e interna (voltada para o tecido esporogênico) se dividem, com a externa originando o endotécio e a camada mediana, enquanto a interna origina outra camada mediana e o tapete. No tipo dicotiledôneo, apenas a camada parietal secundária externa se divide e diferencia em endotécio e camada mediana, enquanto a camada interna se diferencia no tapete. No tipo monocotiledôneo ocorre o contrário, apenas a camada parietal secundária interna se divide e diferencia em camada mediana e tapete, enquanto a camada externa se diferencia em endotécio. No tipo reduzido, ambas as camadas parietais não se dividem e se diferenciam diretamente no endotécio e tapete.

Assim, o endotécio, a camada mediana (quando presente) e o tapete se originam da camada parietal (MAHESHWARI, 1950) e se dispõem de forma concêntrica revestindo cada microsporângio (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; CANALES et al., 2002). Além disso, em alguns casos, o tapete pode apresentar parte de sua origem proveniente de células do conectivo (BHANDARI, 1984; CHAPMAN, 1987; HERMANN;

PALSER, 2000) e do tecido esporogênico (CHAPMAN, 1987) ou ser totalmente formado a partir deste último tecido (AARTS et al., 1997).

A grande maioria das angiospermas apresenta quatro camadas uniestratificadas na parede de suas anteras, no entanto, anteras com mais de quatro camadas parietais também são observadas. Na monocotiledônea Haemodoraceae (SIMPSON, 1988), cujas anteras apresentam a formação de parede do tipo monocotiledôneo, tanto a camada mediana como o tapete são biestratificados, resultantes de novas divisões. Nas eudicotiledôneas, duas ou mais camadas medianas também podem ser observadas, por exemplo, nas anteras tanto de Euphorbiaceae (LIU et al., 2007) e de Passifloraceae (AMELA GARCÍA; GALATI; ANTON, 2002), que apresentam formação de parede do tipo dicotiledôneo, quanto de Sapindaceae (SOLÍS; GALATI; FERRUCCI, 2010), que apresenta o tipo básico de formação.

A epiderme é a camada externa da parede da antera (MAHESHWARI, 1950; BHANDARI, 1984), cujas células se tornam alongadas e achatadas (MAHESHWARI, 1950) ou até papilosas (MAKDE, 1982; SAJO; LONGHI-WAGNER; RUDALL, 2007; COAN; ALVES; SCATENA, 2010) à medida que a antera se desenvolve. Estas células têm função protetora (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), podendo acumular grãos de amido (HERMANN; PALSER, 2000; TÛTÛNCÛ KONYAR; DANE; TÛTÛNCÛ, 2013; OLIVEIRA et al., 2015) ou compostos fenólicos (MAKDE, 1982; HERMANN; PALSER, 2000). As suas paredes celulares podem adquirir espessamentos fibrosos, como ocorre em algumas famílias de eudicotiledôneas (Dilleniaceae – JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992) e monocotiledôneas (Mayacaceae – VENTURELLI; BOUMAN, 1986; Musaceae – XUE; WANG; LI, 2005; e Zingiberaceae – JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), participando da deiscência da antera (KEIJZER, 1987).

Internamente à epiderme se encontra o endotécio, que pode compreender uma a mais camadas (BHANDARI, 1984), cujas células se alongam radialmente e podem ou não adquirir espessamento em suas paredes ao longo do seu desenvolvimento (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978). O espessamento nas paredes promove a função mecânica do endotécio no momento da deiscência da antera (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; KEIJZER, 1987), a fim de que os grãos de pólen sejam liberados (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978). Quando não há espessamentos de parede no endotécio, a deiscência pode ser poricida, como observada em espécies de Ericaceae (HERMANN; PALSER, 2000), ocasionada pela degeneração de algumas células presentes no ápice da antera (MAHESHWARI, 1950); a deiscência pode ser longitudinal, efetuada pela epiderme com espessamentos de parede, como reportado em *Musella* (Franch.) C.Y.Wu (Musaceae) (XUE;

WANG; LI, 2005); ou a deiscência pode não ocorrer, como relatado em alguns táxons com flores cleistógamas e em Hydrocharitaceae (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978). O endotécio também pode estar ausente na antera, como em alguns membros de Ericaceae (HERMANN; PALSER, 2000), ou degenerar antes da antese, como acontece em *Pharus* (Poaceae) (SAJO; LONGHI-WAGNER; RUDALL, 2007).

Internamente ao endotécio se encontra a camada mediana, seguida pelo tapete (SORENSEN et al., 2002). Estas camadas da parede da antera são efêmeras, desaparecendo na antera madura da maioria das famílias de angiospermas (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978).

A camada mediana está presente na grande maioria das paredes das anteras de angiospermas (MAHESHWARI, 1950; BHANDARI, 1984), com exceção de algumas espécies de Ericaceae (HERMANN; PALSER, 2000) e em *Pharus* (Poaceae) (SAJO; LONGHI-WAGNER; RUDALL, 2007), por exemplo. Quando presente, pode ser constituída de uma a mais camadas (BHANDARI, 1984) e pode acumular reservas nutritivas (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; OLIVEIRA et al., 2015). Pouco é conhecido sobre sua função na antera (SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004), pois, devido ao seu caráter efêmero, esta camada acaba sendo obliterada com o desenvolvimento do endotécio, do tapete (MAHESHWARI, 1950) e dos microsporócitos (SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). Quando presente em mais de uma camada, aquela(s) próxima(s) ao endotécio pode(m) persistir e adquirir espessamento de parede (BHANDARI, 1984; SIMPSON, 1988; PRAKASH; LEE; GOH, 2000; SIMÃO; SCATENA; BOUMAN, 2007), contribuindo com a deiscência da antera, como reportado para as monocotiledôneas Haemodoraceae (SIMPSON, 1988), Heliconiaceae (PRAKASH; LEE; GOH, 2000; SIMÃO; SCATENA; BOUMAN, 2007) e Zingiberaceae (BHANDARI, 1984), por exemplo.

O tapete é a camada mais interna da parede da antera e está em contato com o tecido esporogênico (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Todo material necessário para o desenvolvimento do grão de pólen passa primeiramente pelo tapete, onde é reelaborado e secretado no lóculo (MAHESHWARI, 1950; PACINI, 2010). O lóculo geralmente é preenchido por fluido locular, que também é produzido pelo tapete (PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985; PACINI, 2010). O material reelaborado é encontrado nesse fluido e captado pelo microsporócito, pelo micrósporo e pelo grão de pólen ao longo de sua parede ou por sua abertura (PACINI, 2010). Também, o próprio grão de pólen pode captar o nutriente diretamente do tapete, a partir de contato direto com ele (PACINI, 2010).

Em angiospermas são encontrados os tapetes dos tipos secretor (ou glandular) e ameboide (ou periplasmodial) (MAHESHWARI, 1950; BHANDARI, 1984; PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985; CHAPMAN, 1987; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; PACINI, 2010), sendo o primeiro tipo considerado plesiomórfico e o segundo, derivado dele (FURNESS; RUDALL, 2001). O primeiro tipo é o mais frequente (PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985; PACINI, 2010) e seu caráter plesiomórfico se deve ao fato de ser encontrado em grande parte das famílias das angiospermas basais (FURNESS; RUDALL, 2001), além de estar presente tanto em monocotiledôneas (FURNESS; RUDALL, 1998, 2006), como em eudicotiledôneas (PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). No tapete secretor, as suas células terminam perdendo parcialmente as suas paredes celulares, no entanto, ainda permanecem revestindo a cavidade locular (MAHESHWARI, 1950; BHANDARI, 1984; PACINI, 2010). No tapete ameboide, as células perdem completamente as suas paredes e o citoplasma invade a cavidade locular, formando um periplasmódio que envolve cada micrósporo ou grão de pólen em formação (MAHESHWARI, 1950; BHANDARI, 1984; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; PACINI, 2010); este tipo de tapete está presente em magnoliídeas (FURNESS; RUDALL, 2001), monocotiledôneas (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; FURNESS; RUDALL, 1998) e em algumas famílias de eudicotiledôneas (FURNESS; RUDALL, 2001; FURNESS, 2008; PACINI, 2010), especialmente nas asterídeas (FURNESS, 2008).

Além dos dois tipos mencionados acima, há também o tapete invasivo não sincicial, cujas células, ao perderem completamente as suas paredes, invadem a cavidade locular, mas não se fundem e terminam envolvendo cada micrósporo e grão de pólen (FURNESS; RUDALL, 1998); é observado em algumas famílias de angiospermas basais (FURNESS; RUDALL, 2001) e de monocotiledôneas (FURNESS; RUDALL, 2001, 2006), especialmente na ordem Zingiberales (FURNESS; RUDALL, 2001), e em poucas eudicotiledôneas (FURNESS; RUDALL, 2001; FURNESS, 2008), especialmente nas asterídeas (FURNESS, 2008).

O tapete tem como principais funções: nutrição dos micrósporos; produção e secreção de orbículos, de substratos para construção da parede polínica (esporopolenina), de materiais de cobertura da exina (“tryphine” e “pollenkitt”) (STANLEY; LINSKENS, 1974; BHANDARI, 1984; PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985; CHAPMAN, 1987; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004), que auxiliam na dispersão dos grãos de pólen (KNOX, 1984); de calase para dissolução da parede de calose ao redor da tétrade de micrósporos (HORNER, 1977; PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985; CHAUDHURY, 1993; MCCONN; BROWSE, 1996; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004); produção de fluido locular; além

da produção de “viscin threads” (PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985) e de substâncias de autoincompatibilidade esporofítica (PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985; CHAPMAN, 1987; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992).

1.2 Microsporogênese e microgametogênese

As células do tecido arquesporial se dividem mitoticamente e diferenciam nas camadas parietal e esporogênica (MAHESHWARI, 1950). As células dessa última camada se dividem e desenvolvem em microsporócitos que, em seguida, por meiose, formam os quatro micrósporos; estes últimos também se dividem, por mitose, e se desenvolvem nos grãos de pólen (MAHESHWARI, 1950; STANLEY; LINSKENS, 1974; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). Vale ressaltar que nem todos os micrósporos originados da meiose se desenvolvem em grãos de pólen (SORENSEN et al., 2002), como se observa em algumas plantas mutantes, por exemplo, de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae) (SANDERS et al., 1999; SORENSEN et al., 2002), *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) (CHEN et al., 2011), *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae) (ALBERTSEN; PALMER, 1979) e *Helianthus annuus* L. (Asteraceae) (HORNER, 1977); e em espécies de Cyperaceae (ELFVING, 1879; TANAKA, 1940, 1941; PADHYE; MOHARIR, 1958; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; CARNIEL, 1972; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1972, 1973; DUNBAR, 1973; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; NIJALINGAPPA, 1986; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018), Ericaceae (SMITH-WHITE, 1959; FURNESS; RUDALL, 2011) e Liliaceae (MAHESHWARI, 1934; EKICI, 2014), por exemplo.

Dois processos ocorrem durante o desenvolvimento do grão de pólen: a microsporogênese e a microgametogênese (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; HALBRITTER et al., 2018).

Na microsporogênese, os micrósporos (n) são formados a partir de divisões meióticas dos microsporócitos ($2n$) seguidas pela citocinese (BLACKMORE; KNOX, 1990; FURNESS; RUDALL; SAMPSON, 2002; RUDALL; BATEMAN, 2007). Nesta fase de desenvolvimento do grão de pólen, a meiose é crucial, pois marca a transição da geração esporofítica ($2n$) para a geração gametofítica (n) (BHANDARI, 1984; BLACKMORE; CRANE, 1988; BHATT; CANALES; DICKINSON, 2001; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004).

A microsporogênese em angiospermas pode ser classificada em dois tipos: sucessiva e simultânea (FURNESS; RUDALL, 1999a; FURNESS; RUDALL; SAMPSON, 2002). Na microsporogênese sucessiva, uma parede de calose é formada ao final de cada divisão meiótica, enquanto na microsporogênese simultânea, esta parede só se forma ao final da segunda divisão (FURNESS; RUDALL, 1999a; FURNESS; RUDALL; SAMPSON, 2002; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). O tipo sucessivo é frequentemente observado nas angiospermas basais (p. ex. Annonaceae – LORA; HERRERO; HORMAZA, 2014; LI; XU, 2018; Aristolochiaceae – GONZÁLEZ; RUDALL; FURNESS, 2001; Cabombaceae – TAYLOR; OSBORN, 2006; TAYLOR et al., 2008; e Magnoliaceae – GALATI et al., 2012) e nas monocotiledôneas (p. ex., Arecaceae – JAZINIZADEH; MAJD; POURPAK, 2017; Asparagaceae – HAQUE; GHOSH, 2016; Bromeliaceae – SAJO et al., 2005; Eriocaulaceae – COAN; SCATENA, 2004; Haemodoraceae – SIMPSON, 1988; Heliconiaceae – PRAKASH; LEE; GOH, 2000; SIMÃO; SCATENA; BOUMAN, 2007; Liliaceae – EKICI, 2014; Mayacaceae – VENTURELLI; BOUMAN, 1986; Musaceae – XUE; WANG; LI, 2005; e Poaceae – SAJO; LONGHI-WAGNER; RUDALL, 2007), além de poucas espécies de algumas famílias das eudicotiledôneas (p. ex., Euphorbiaceae – ALBERT; GOUYON; RESSAYRE, 2009; Podostemataceae – JÄGER-ZÜRN, NOVELO, PHILBRICK, 2006; LALRUATSANGA, 2014; Proteaceae – BLACKMORE; BARNES, 1995; e Rafflesiaceae – ERNST; SCHMID, 1913). O tipo simultâneo é descrito em algumas famílias de angiospermas basais (p. ex., Annonaceae – TSOU; FU, 2007; Aristolochiaceae – GONZÁLEZ; RUDALL; FURNESS, 2001; Magnoliaceae – XU; CHEN; SPECHT, 2013; Nymphaeaceae – TAYLOR et al., 2013; ZINI et al., 2017; e Schisandraceae – VIJAYARAGHAVAN; DHAR, 1975) e de monocotiledôneas (p. ex., Araceae – FURNESS; RUDALL, 1999a; Cyperaceae – MAKDE, 1982; Juncaceae – ZAMAN, 1950; Orchidaceae – GURUDEVA, 2015; e Rapateaceae – VENTURELLI; BOUMAN, 1988), porém é frequentemente observado nas eudicotiledôneas (p. ex., Asteraceae – HORNER, 1977; LI et al., 2010; Balsaminaceae – VINCKIER et al., 2012; Caprifoliaceae – GHIMIRE et al., 2018; Celastraceae – GODOY et al., 2012; Ericaceae – HERMANN; PALSER, 2000; Euphorbiaceae – LIU et al., 2007; Fabaceae – ALBERTSEN; PALMER, 1979; Malvaceae – LATTAR; GALATI; FERRUCCI, 2012; Menispermaceae – ZHANG et al., 2020; Passifloraceae – AMELA GARCÍA; GALATI; ANTON, 2002; Rhamnaceae – GOTELLI et al., 2016; Rubiaceae – YUE; KUANG; LIAO, 2017; e Trochodendraceae – HSU; JANE; CHEN, 2013).

Geralmente, ao final de ambos os tipos de microsporogênese, a parede de calose se dissolve, liberando os quatro micrósporos individualmente (HESLOP-HARRISON, 1964), que

se desenvolvem e diferenciam nos grãos de pólen do tipo mônade (WALKER; DOYLE, 1975; BLACKMORE; CRANE, 1988; HARDER; JOHNSON, 2008). Esses micrósporos também podem permanecer unidos (MAHESHWARI, 1950) e serem liberados em: díade, tétrade ou políades, mássulas e polínias (ERDTMAN, 1952; WALKER; DOYLE, 1975; KNOX; MCCONCHIE, 1986; COPENHAVER, 2005; HARDER; JOHNSON, 2008) - os chamados grãos de pólen compostos ou agregados (WALKER; DOYLE, 1975; HARDER; JOHNSON, 2008). Os grãos de pólen que compõem esses tipos de unidades de dispersão são, geralmente, férteis, mas, há casos que alguns deles ou todos podem ser estéreis, como observado em Cyperaceae (TANAKA, 1939; MAKDE, 1982; BROWN; LEMMON, 2000; ROCHA et al., 2016), em espécies de *Leucopogon* R.Br (Ericaceae) (SMITH-WHITE, 1959; MCGLONE, 1978; FURNESS; RUDALL, 2011), e em *Leschenaultia formosa* R.Br [= *Lechenaultia formosa* R.Br] (Goodeniaceae) (KNOX; FRIEDERICH, 1974).

Concluída a microsporogênese, tem início a microgametogênese, que compreende a formação do microgametófito a partir da divisão mitótica do micrósporo (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; HALBRITTER et al., 2018). Nesta divisão, duas células são formadas: as células vegetativa e generativa (MAHESHWARI, 1950). Durante esse processo, o citoplasma da célula vegetativa acumula substâncias de reserva (carboidratos e/ou lipídios e/ou proteínas) (KNOX, 1984); e a célula generativa se divide novamente formando as células espermáticas (MAHESHWARI, 1950; STANLEY; LINSKENS, 1974). Essa última divisão pode ocorrer ainda no interior da antera ou dentro do tubo polínico (MAHESHWARI, 1950; STANLEY; LINSKENS, 1974).

A maioria das angiospermas dispersa grãos de pólen como mônades (BLACKMORE; CRANE, 1988), enquanto que díades são descritas em Podostemaceae (RAZI, 1949; LALRUATSANGA, 2014) e Scheuchzeriaceae (VOLKOVA et al., 2016); tétrades são relatadas para Juncaceae (ELFVING, 1879; BRENNER, 1922; ZAMAN, 1950; BALSLEV, 1998), Thurniaceae (HAMANN, 1961; MUNRO; LINDER, 1997; KUBITZKI, 1998; SILVA; ALVES; COAN, 2020) e algumas espécies de Annonaceae (GUINET; LE THOMAS, 1973; LORA et al., 2009; TSOU; FU, 2002), Ericaceae (KNOX; MCCONCHIE, 1986; HERMANN; PALSER, 2000), Nymphaeaceae (ROLAND, 1965), Onagraceae (SKVARLA; RAVEN; PRAGLOWSKI, 1976), Typhaceae (TAKAHASHI; SOHMA, 1984) e Velloziaceae (AYENSU; SKVARLA, 1974); mássulas, para algumas espécies de Orchidaceae (LIU, 2015); políades, para espécies de Celastraceae (GODOY et al., 2012) e Fabaceae (BARTH, 1965; GUINET; BARTH, 1967; GUINET; LE THOMAS, 1973; GUINET; LUGARDON, 1976; KNOX; MCCONCHIE, 1986); e polínias, para algumas espécies de Apocynaceae

(LINSKENS; SUREN, 1969; DAN DICKO-ZAFIMAHOVA, 1980) e Orchidaceae (YEUNG, 1987).

1.3 Parede do grão de pólen

A parede do grão de pólen geralmente é formada por duas camadas, a exina e a intina (STANLEY; LINSKENS, 1974; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978). A exina é a camada externa, formada por um biopolímero resistente a ataques biológico e químico, chamado de esporopolenina (STANLEY; LINSKENS, 1974; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). A intina é a camada interna e consiste principalmente de celulose (STANLEY; LINSKENS, 1974).

A esporopolenina é produzida e secretada tanto pelo próprio micrósporo como pelo tapete (STANLEY; LINSKENS, 1974; BHANDARI, 1984; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004) e é depositada extracelularmente (BHANDARI, 1984) antes ou depois da dissolução da tétrade (STANLEY; LINSKENS, 1974; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). A composição química da esporopolenina na exina muda conforme novas deposições são realizadas (HESLOP-HARRISON, 1968; STANLEY; LINSKENS, 1974).

A exina pode ser descrita com base na sua morfologia (ERDTMAN, 1952, 1965) ou na sua composição química (FAEGRI, 1956; FAEGRI; IVERSEN, 1964). Quanto à morfologia, a exina é dividida em sexina (camada externa esculpada) e nexina (camada interna não esculpada) (ERDTMAN, 1952); estas duas camadas ainda são subdivididas em teto e báculo, e nexina 1 e 2, respectivamente (ERDTMAN, 1966). Com relação a composição química, a exina é dividida em ectexina (camada fortemente corada) e endexina (camada fracamente corada ou que não reage; e sinônimo de nexina 2) (FAEGRI, 1956; FAEGRI; IVERSEN, 1964). A ectexina também pode ser subdividida em teto, columela e camada basal (sinônimo de nexina 1) (FAEGRI, 1956; FAEGRI; IVERSEN, 1964). Além disso, a ectexina e a endexina absorvem os elétrons de maneiras diferentes, se distinguindo nas fotomicrografias eletrônicas (FAEGRI; IVERSEN, 1964).

A forma final da exina é determinada quando os micrósporos ainda estão unidos pela parede de calose em uma tétrade e o seu estabelecimento ocorre, inicialmente, em uma matriz celulósica (STANLEY; LINSKENS, 1974), chamada de primexina (HESLOP-HARRISON, 1963, 1964). Neste período, há também a definição da localização da(s) abertura(s), quando presente(s) (KNOX, 1984).

A primeira parede a se formar ao redor do micrósporo recém-formado é a parede de calose (SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004), que o acompanha desde o estágio de microsporócito (HESLOP-HARRISON, 1964; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). Mais tarde, internamente a ela, a primexina é formada ao redor de cada micrósporo (HESLOP-HARRISON, 1963, 1964).

A primexina é uma matriz celulósica que serve como um molde para a deposição da esporopolenina (BHANDARI, 1984; CHAPMAN, 1987), por possuir receptores que auxiliam em sua polimerização (KNOX, 1984), e onde os elementos estruturais da exina, como o teto, a columela e a camada basal, se diferenciam (HESLOP-HARRISON, 1964; TAYLOR et al., 2008). Esta matriz não é depositada nos locais das futuras aberturas (HESLOP-HARRISON, 1964; SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). A disposição, principalmente, do teto e da columela e também das aberturas produz os padrões esculturais da parede do grão de pólen (SCOTT; SPIELMAN; DICKINSON, 2004). Esses padrões esculturais estão sob controle esporofítico (BHANDARI, 1984), pois a parede polínica é esculturada mesmo em grãos de pólen anucleados (KNOX; FRIEDERICH, 1974).

Abaixo da camada basal, a endexina, camada mais interna da exina, pode estar presente ou não (HESLOP-HARRISON, 1971; HESSE, 2000). Quando presente, a endexina começa a se formar no estágio de micrósporo livre, a partir da sobreposição de lamelas originárias da membrana plasmática, onde se deposita a esporopolenina (HESLOP-HARRISON, 1968, 1971). A endexina apresenta composição química variável (FAEGRI; IVERSEN, 1964; HESLOP-HARRISON, 1968, 1971; KNOX, 1984) e diferenças quanto à dissolução por acetólise (KNOX, 1984).

Embora a maioria da parede polínica madura seja formada por exina e intina; a exina pode ser reduzida ou até ausente em algumas famílias (KNOX, 1984; BLACKMORE; CRANE, 1988); por exemplo, a redução é observada nos grãos de pólen de monocotiledôneas, como, Cannaceae, Heliconiaceae (KRESS; STONE, 1982), Musaceae (HESSE; WAHA, 1983) e Triuridaceae (FURNESS; RUDALL; EASTMAN, 2002), enquanto a sua ausência, em Cymodoceaceae (DUCKER; PETTITT; KNOX, 1978; PETTITT et al., 1983). Por outro lado, a intina é observada em todos os grãos de pólen (KNOX, 1984).

A intina, a camada interna da parede polínica, é formada após o término da deposição de esporopolenina na exina (STANLEY; LINSKENS, 1974) e é composta de pectina, microfibrilas de celulose (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978) e calose (FAEGRI; IVERSEN, 1964), além de proteínas (HESLOP-HARRISON, 1971; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978), como, por exemplo, as enzimas de incompatibilidade gametofítica (BHOJWANI;

BHATNAGAR, 1978). A intina é primeiramente depositada nos arredores da abertura e em seguida no restante do grão de pólen (HESLOP-HARRISON, 1964, 1971), apresentando uma ou mais camadas (KNOX, 1984). Nas aberturas, ela encontra-se em maior espessura (KNOX, 1984). Nos grãos de pólen inaperturados do tipo omniaperturado, a intina possui espessura uniforme por toda a parede polínica e apresenta túbulos citoplasmáticos em toda a sua extensão (THANIKAIMONI, 1986); no tipo funcionalmente monoaperturado, a intina apresenta uma espessura maior em uma determinada região (FURNESS; RUDALL, 1999b), e em ambos os tipos, a exina é reduzida (THANIKAIMONI, 1986; FURNESS; RUDALL, 1999b).

No geral, a parede polínica tem como função transferir nutrientes do lóculo da antera para o protoplasto do grão de pólen (ROWLEY, 1964). Também, pode haver retenção de substâncias dentro ou sobre a exina, que auxiliam na dispersão do pólen, na atração de polinizadores e na sua germinação (STANLEY; LINSKENS, 1974; KNOX, 1984). Tais substâncias são o “pollenkitt” (CHAPMAN, 1987; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; TAYLOR et al., 2008), a “tryphine” (FRANCHI; PACINI, 1980; CHAPMAN, 1987; PLATT; HUANG; THOMSON, 1998) e substâncias de reconhecimento ligadas ao sistema de autoincompatibilidade esporofítica (FRANCHI; PACINI, 1980; CHAPMAN, 1987; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Além disso, a parede polínica, junto com essas substâncias, auxilia na proteção do microgametófito em seu interior e no controle do movimento da água (KNOX, 1984). Quando dispersado, a parede protege o microgametófito dos danos mecânicos (KNOX, 1984) e ambientais (desidratação) (KNOX, 1984; AARTS et al., 1997).

1.4 Grãos de pólen agregados

Os grãos de pólen agregam-se, geralmente, através da fusão de suas paredes polínicas (SKVARLA; LARSON, 1963; BARTH, 1965; ROLAND, 1965; GUINET; BARTH, 1967; LINSKENS; SUREN, 1969; GUINET; LE THOMAS, 1973; AYENSU; SKVARLA, 1974; KNOX; FRIEDERICH, 1974; GUINET; LUGARDON, 1976; SKVARLA; RAVEN; PRAGLOWSKI, 1976; SAMPSON, 1977; VIJAYARAGHAVAN; SHUKLA, 1977; KENRICK; KNOX, 1979; TAKAHASHI, 1979; TAKAHASHI; SOHMA, 1984; KNOX; MCCONCHIE, 1986; LORA et al., 2009; LORA; HERRERO; HORMAZA, 2014; LIU, 2015; VOLKOVA et al., 2016; YUE; KUANG; LIAO, 2017). A presença de uma parede fina de calose (KNOX; FRIEDERICH, 1974; SAMPSON, 1977; TAKAHASHI; SOHMA, 1984; KNOX; MCCONCHIE, 1986), ou a ausência desta parede ao redor da tétrade e entre os micrósporos (VIJAYARAGHAVAN; SHUKLA, 1977); a dissolução tardia da parede de

calose-celulose (TSOU; FU, 2002; LORA; HERRERO; HORMAZA, 2014), ou da parede celular do microsporócito (YEUNG, 1987; CACCAVARI; GALATI, 1998; RHEE; SOMERVILLE, 1998; RHEE et al., 2003; LORA et al., 2009; TAYLOR et al., 2013) são eventos que favorecem a fusão da parede polínica dos grãos de pólen adjacentes e a formação dos grãos de pólen agregados.

A coesão das paredes polínicas pode ocorrer de maneiras diversas e envolvendo seus diferentes estratos: pela fusão da exina de grãos de pólen adjacentes (LINSKENS; SUREN, 1969; LORA et al., 2009), especialmente pela continuidade do teto (SKVARLA; LARSON, 1963; ROLAND, 1965; GUINET; BARTH, 1967; GUINET; LE THOMAS, 1973; AYENSU; SKVARLA, 1974; TAKAHASHI; SOHMA, 1984; KNOX; MCCONCHIE, 1986) e por estruturas semelhantes às columelas (KNOX; FRIEDERICH, 1974; SAMPSON, 1977), ou, ainda, pela fusão da ectexina das aberturas adjacentes (SKVARLA; RAVEN; PRAGLOWSKI, 1976; LORA; HERRERO; HORMAZA, 2014). A coesão pode, também, resultar de pontes de parede, que podem ser formadas apenas pela exina (TAKAHASHI, 1979) ou ectexina (BARTH, 1965; TAKAHASHI, 1979), pela ectexina e endexina (SKVARLA; RAVEN; PRAGLOWSKI, 1976), pela endexina (BARTH, 1965), pela nexina (KENRICK; KNOX, 1979; KNOX; MCCONCHIE, 1986), nexina e intina (KNOX; MCCONCHIE, 1986) ou apenas intina (GUINET; LUGARDON, 1976; SAMPSON, 1977).

Em políades de espécies de *Acacia* Mill. (Fabaceae), embora se constate a presença de pontes de endexina (BARTH, 1965), nexina (KENRICK; KNOX, 1979; KNOX; MCCONCHIE, 1986) e intina (GUINET; LUGARDON, 1976), alguns estudos consideram que estas estruturas sejam insuficientes para manter a unidade polínica e acreditam que uma outra substância de composição desconhecida, denominada de “Kittsubstanz”, esteja envolvida (BARTH, 1965; KNOX; MCCONCHIE, 1986).

Algumas terminologias são relacionadas aos grãos de pólen agregados, como “calymmate” e “acalymmate” (VAN CAMPO; GUINET, 1961), “simple cohesion” e “crosswall cohesion” (KNOX; MCCONCHIE, 1986) e “callose-cellulose binding system” (TSOU; FU, 2002).

No grão de pólen composto do tipo “calymmate”, a ectexina forma um envelope contínuo ao redor da tétrade, políade ou polínia (VAN CAMPO; GUINET, 1961), com um teto comum na região de junção destes grãos de pólen (KNOX, 1984). Essa terminologia foi empregada na descrição das tétrades de *Victoria cruziana* A.D. Orb. (Nymphaeaceae) (ROLAND, 1965), *Typha latifolia* L. (Typhaceae) (TAKAHASHI; SOHMA, 1984), *Philydrum languinosum* Banks & Sol. ex Gaertn. (Philydraceae), em espécies de *Rhododendron* L.

(Ericaceae) (KNOX; MCCONCHIE, 1986), *Vellozia* Vand. (Velloziaceae) (AYENSU; SKVARLA, 1974) e Juncaceae (BLACKMORE; CRANE, 1988), além das polínias de *Asclepias curassavica* L. (Apocynaceae) (LINSKENS; SUREN, 1969), das políades de *Parkia platycephala* Benth. (Fabaceae) (GUINET; LE THOMAS, 1973) e das pseudomônades de Cyperaceae (BLACKMORE; CRANE, 1988).

No tipo “acalymmate”, a ectexina não forma um envelope contínuo ao redor da unidade polínica, podendo-se distinguir cada micrósporo da tétrade, ou cada tétrade ou grupos de grãos de pólen (VAN CAMPO; GUINET, 1961); a coesão dos grãos de pólen ocorre por meio de pontes de parede ou por uma camada adesiva especial (KNOX, 1984). Essa terminologia foi empregada nas políades de Fabaceae – como em espécies de *Acacia* Mill. (BARTH, 1965; GUINET; LE THOMAS, 1973; GUINET; LUGARDON, 1976; KNOX; MCCONCHIE, 1986), *Affonsea* A. St.-Hill, *Inga* Mill. (BARTH, 1965), *Calliandra* Benth. (GUINET; BARTH, 1967), *Albizia* Durazz., *Lysiloma* Benth. e *Pithecellobium* Mart. (GUINET; LUGARDON, 1976); e nas tétrades de espécies de *Asteranthe* Engl. & Diels. (Annonaceae) e *Hexalobus* A. DC. (Annonaceae) (GUINET; LE THOMAS, 1973), de *Hedycarya arborea* J.R.Forst. & G.Forst (Monimiaceae) (SAMPSON, 1977) e de *Leschenaultia formosa* R.Br [= *Lechenaultia formosa* R.Br] (Goodeniaceae) (KNOX; MCCONCHIE, 1986).

Knox e McConchie (1986) ao revisarem estudos ultraestruturais de grãos de pólen compostos e estudarem outras espécies com o esse mesmo tipo polínico, concluíram que a coesão ocorria por um destes dois mecanismos: “simple cohesion” ou “crosswall cohesion”. No tipo “simple cohesion”, a coesão acontece pela fusão de tetos (ou báculas) e foi descrita nas tétrades de *Leschenaultia formosa* R.Br [= *Lechenaultia formosa* R.Br] (Goodeniaceae), *Philydrum languinosum* (Philydraceae), *Rhododendron anagalliflorum* Wernham, *Rhododendron laetum* J.J.Sm., e *Rhododendron lochae* F.Muell. (Ericaceae) (KNOX; MCCONCHIE, 1986) e *Gardenia jasminoides* J.Ellis (Rubiaceae) (YUE; KUANG; LIAO, 2017), enquanto no tipo “crosswall cohesion”, a coesão ocorre pela presença de pontes de parede entre eles – formada por sexina, nexina ou intina – e foi observada nas políades de *Acacia retinodes* Schltdl. (Fabaceae) e nas tétrades de *Zygogynum bicolor* Tiegh. (Winteraceae) (KNOX; MCCONCHIE, 1986) e *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae) (LORA et al., 2009).

Tsou e Fu (2002), ao estudarem as tétrades de grãos de pólen de *Annona glabra* L. e *Annona montana* Macfad. (Annonaceae), observaram que a digestão parcial do envelope de calose-celulose criava um sistema de ligação entre os grãos de pólen da tétrade que os mantinha

unidos e sugeriram que este tipo de coesão deveria se chamar “callose-cellulose binding system”.

Mônades também podem ser agrupadas em aglomerados maiores através da ocorrência de “pollenkitt”, “tryphine” (HESSE, 1981; PACINI, 1990; HARDER; JOHNSON, 2008), “viscin threads” (HESSE, 1981; PACINI, 1990; HERMANN; PALSER, 2000; HARDER; JOHNSON, 2008), ou filamentos isentos de esporopolenina, como aqueles encontrados em *Strelitzia* Aiton (Strelitziaceae) (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; HESSE; WAHA, 1983; KRONESTEDT-ROBARDS, 1996; HARDER; JOHNSON, 2008). A ocorrência dessas estruturas ou substâncias está relacionada à dispersão desses grãos de pólen pelos polinizadores (HESSE, 1981; PACINI, 1990; HARDER; JOHNSON, 2008).

1.5 Cyperaceae e Juncaceae

Cyperaceae e Juncaceae estão incluídas na ordem Poales, juntamente com Bromeliaceae, Ecdeicoleaceae, Eriocaulaceae, Flagellariaceae, Joinvilleaceae, Mayacaceae, Poaceae, Rapateaceae, Restionaceae (incluindo Anarthriaceae e Centrolepidaceae), Thurniaceae, Typhaceae e Xyridaceae (APG IV, 2016). Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae estão agrupadas no clado ciperídeo nas análises filogenéticas de Poales, que é fortemente sustentado por dados moleculares e morfológicos (LINDER; RUDALL, 2005; GIVNISH et al., 2010; BOUCHENAK-KHELLADI; MUASYA; LINDER, 2014).

Juncaceae compartilha com Cyperaceae as seguintes características embriológicas: a microsporogênese simultânea, os grãos de pólen em tétrade permanente, o desenvolvimento do saco embrionário do tipo *Polygonum*, o desenvolvimento do embrião do tipo *Onagrad* (variação *Juncus*) e as sementes testal-tégmicas (DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985; BALSLEV, 1996, 1998; GOETGHEBEUR, 1998; STEVENS, 2017). Além disso, os processos envolvidos na microsporogênese simultânea e na microgametogênese diferem entre estas duas famílias (DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985; GOETGHEBEUR, 1998).

Em Juncaceae, cada microsporócito origina uma tétrade de micrósporos que se mantêm unidos na unidade de dispersão (WULFF, 1939; ZAMAN, 1950; LAMBERT, 1969, 1970; FURNESS; RUDALL, 1999a), enquanto que em Cyperaceae cada microsporócito origina uma tétrade de micrósporos onde apenas um núcleo se mantém funcional e resulta na unidade de dispersão, uma tétrade reduzida denominada de pseudomônade (TANAKA, 1940; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978).

O primeiro relato sobre a ontogenia dos grãos de pólen de Cyperaceae e Juncaceae, além de outras famílias de angiospermas, foi feito por Elfving (1879), que observou que os quatro produtos meióticos em Juncaceae não se separavam e desenvolviam em uma tétrade permanente, enquanto que dos quatro produtos meióticos em Cyperaceae, três deles terminavam se degenerando e apenas um se desenvolvia em grão de pólen. Estudos posteriores confirmaram as descobertas de Elfving (1879) para Juncaceae (BRENNER, 1922; WULFF, 1939; ZAMAN, 1950; LAMBERT, 1969, 1970; FURNESS; RUDALL, 1999a) e mostraram que os quatro grãos de pólen permanecem unidos devido ao desenvolvimento precoce da parede polínica (MEYER; YAROSHEVSKAYA; 1976), cuja exina se estende por toda a superfície da tétrade (LAMBERT, 1970; MEYER; YAROSHEVSKAYA, 1976; FURNESS; RUDALL, 1999a). Em Cyperaceae, os estudos posteriores (STOUT, 1912; PIECH, 1928; TANAKA, 1940, 1941; PADHYE; MOHARIR, 1958; CARNIEL, 1962; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1972; DUNBAR, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; NIJALINGAPPA; PALAKSHAI, 1998; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; FURNESS; RUDALL, 1999a; BROWN; LEMMON, 2000; RANGANATH; NAGASHREE, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018) também confirmaram as descobertas de Elfving (1879) e acrescentaram novos conhecimentos. Descobriu-se que os quatro produtos meióticos eram desiguais, devido a citocinese ser tardia (ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018) e desigual (CARNIEL, 1962; BROWN; LEMMON, 2000) ou assimétrica (RANGANATH; NAGASHREE, 2000; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016), resultando em uma tétrade de micrósporos, com um micrósporo maior, denominado funcional, e outros três menores, denominados não-funcionais (DUNBAR, 1973; BROWN; LEMMON, 2000; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016). Esses últimos sofrem morte celular programada e acabam se degenerando e o micrósporo funcional se desenvolve no grão de pólen propriamente dito (SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016). Por essa peculiaridade na citocinese meiótica, a microsporogênese simultânea foi nomeada tipo-Cyperaceae (SIMPSON, 1995), enquanto o grão de pólen resultante desse processo, de pseudomônade (SELLING, 1947).

Juncaceae apresenta distribuição cosmopolita, consistindo de oito gêneros [*Distichia* Nees & Meyen, *Juncus* L., *Luzula* DC., *Marsippospermum* Desv., *Oreojuncus* Záv. Dráb. & Kirschner, *Oxychloë* Phil., *Patosia* Buchenau e *Rostkovia* Desv. (TRIAS-BLASI et al., 2015)] e 440 espécies (KIRSCHNER et al., 2002a). Dentre estes gêneros, *Juncus* e *Luzula* apresentam

distribuição quase cosmopolita e são ricos em espécies, com 315 e 115 espécies, respectivamente (KIRSCHNER et al., 2002a, b). No Brasil, esta família apresenta dois gêneros: *Juncus* e *Luzula*; e 23 espécies (VALADARES, 2020).

Atualmente, as filogenias de Juncaceae são construídas com base apenas em dados moleculares (DRÁBKOVÁ et al., 2003, 2004; DRÁBKOVÁ; KIRSCHNER; VLČEK, 2006; DRÁBKOVÁ; VLČEK, 2009). Estas filogenias suportam o monofiletismo de Juncaceae e *Luzula*, ao passo que *Juncus* apresenta-se parafilético e os demais gêneros apresentam suporte muito baixo (DRÁBKOVÁ et al., 2003, 2004; DRÁBKOVÁ; KIRSCHNER; VLČEK, 2006; DRÁBKOVÁ; VLČEK, 2009). Além disso, nenhum dado anatômico vegetativo (CUTLER, 1969) ou reprodutivo (ELFVING, 1879; LAURENT, 1903; BRENNER, 1922; WULFF, 1939; ZAMAN, 1950; LAMBERT, 1969, 1970; FURNESS; RUDALL, 1999a) foi utilizado em combinação com os dados moleculares na construção da filogenia da família.

Com relação aos aspectos do desenvolvimento polínico em Juncaceae, esses são bem conhecidos em *Juncus* e *Luzula* (ELFVING, 1879; BRENNER, 1922; WULFF, 1939; ZAMAN, 1950; LAMBERT, 1969, 1970; FURNESS; RUDALL, 1999a), muito pouco conhecido para *Oxychloë* (BRENNER, 1922) e desconhecidos para os demais gêneros da família.

Cyperaceae possui distribuição cosmopolita, compreendendo 90 gêneros e 5539 espécies (GOVAERTS et al., 2021), e é dividida em duas subfamílias: Cyperoideae Kostel. e Mapanioideae C.B.Clarke, as quais aparecem como grupos-irmãos nas análises filogenéticas baseadas em dados moleculares (SIMPSON et al., 2003, 2007; MUASYA et al., 2009; HINCHLIFF; ROALSON, 2013; JUNG; CHOI, 2013; SPALINK et al., 2016). No Brasil, esta família apresenta 30 gêneros e 646 espécies (SCHNEIDER et al., 2020).

A subfamília Mapanioideae é irmã dos demais gêneros de Cyperoideae e é formada pelas tribos Hypolytreae e Chrysitricheae (SIMPSON et al., 2003; MUASYA et al., 2009; HINCHLIFF; ROALSON, 2013; JUNG; CHOI, 2013; SEMMOURI et al., 2019), enquanto Cyperoideae compreende Trilepideae Goetgh., Cladieae Nees, Bisboeckelereae Pax ex L.T.Eiten, Sclerieae Kunth ex Fenzl, Cryptangieae Benth, Schoeneae Dumort., Carpheae Semmouri & Larridon, Rhynchosporae Wight & Arn., Dulichieae Rchb. ex J.Schultze-Motel, Scirpeae Kunth ex Dumort., Sumatrosirpeae Lév.-Bourret & J.R. Starr, Cariceae Kunth ex Dumort., Eleocharideae Goetgh., Abildgaardieae Lye, Fuireneae Reichenb. ex Fenzl e Cypereae Dumort., totalizando 16 tribos (*sensu* SEMMOURI et al., 2019). O relacionamento de algumas dessas tribos ainda é problemático, como, por exemplo, a tribo Schoeneae, cujos gêneros não são monofiléticos (ZHANG et al., 2004; VERBOOM, 2006).

O entendimento atual da microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae e do desenvolvimento da pseudomônade baseia-se, predominantemente, em estudos de gêneros derivados de Cyperoideae (ELFVING, 1879; STOUT, 1912; PIECH, 1928; TANAKA, 1940, 1941; PADHYE; MOHARIR, 1958; CARNIEL, 1962; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; DUNBAR, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; NIJALINGAPPA; PALAKSHAI, 1998; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; FURNESS; RUDALL, 1999a; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018), com poucos registros em representantes de tribos basais como, por exemplo, Bisboeckelereae, Schoeneae e Sclerieae (TANAKA, 1941; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; NIJALINGAPPA, 1986). Não há estudos com representantes de Trilepideae. Em Mapanioideae, aspectos do desenvolvimento polínico são bem conhecidos em Chrysitricheae (SIMPSON et al., 2003) e em Hypolytreae, restritos à *Hypolytrum* Pers. (NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1972; COAN; ALVES; SCATENA, 2010) e *Mapania* Aubl. (PASSARINI LOPES; ALVES; COAN, in prep.).

Embora os estudos de ontogenia polínica, mencionados anteriormente, tenham contribuído muito para o conhecimento embriológico de Juncaceae e Cyperaceae, ainda há lacunas na grande maioria de seus gêneros, o que justificou a realização desta tese, que foi organizada em dois capítulos. No capítulo 1, intitulado “Development of the permanent tetrad wall in *Juncus* L. (Juncaceae, Poales)”, procurou-se entender o mecanismo que leva à coesão dos quatro grãos de pólen em uma tétrade permanente em espécies de *Juncus*. No capítulo 2, intitulado “Aspectos do desenvolvimento da antera e da pseudomônade de espécies de Cyperoideae (Cyperaceae, Poales)”, procurou-se investigar o desenvolvimento da pseudomônade em espécies dos gêneros *Cladium* (Cladieae), *Becquerelia* (Bisboeckelereae), *Scleria* (Sclerieae), *Fuirena* (Fuireneae) e *Schoenoplectus* (Fuireneae), a fim de constatar ou não peculiaridades na microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae, com atenção especial à ultraestrutura durante a microsporogênese, a fim de ampliar o conhecimento embriológico atual em Cyperaceae.

REFERÊNCIAS

- AARTS, M. G. M.; HODGE, R.; KALANTIDIS, K.; FLORACK, D.; WILSON, Z. A.; MULLIGAN, B. J.; STIEKEMA, W. J.; SCOTT, R.; PEREIRA, A. The *Arabidopsis* MALE STERILITY 2 protein shares similarity with reductases in elongation/condensation complexes. **The Plant Journal**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 615–623, 1997.
- ALBERT, B.; GOUYON, P. H.; RESSAYRE, A. Microsporogenesis variation in *Codiaeum* producing inaperturate pollen grain. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 332, p. 507–516, 2009.
- ALBERTSEN, M. C.; PALMER, R. G. A comparative light- and electron-microscopic study of microsporogenesis in Male Sterile (MS₁) and Male Fertile soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 66, n. 3, p. 253–265, 1979.
- AMELA GARCÍA, M. T.; GALATI, B. G.; ANTON, A. M. Microsporogenesis, microgametogenesis and pollen morphology of *Passiflora* spp. (Passifloraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 139, p. 383–394, 2002.
- AO, C. Q. Anther wall development, placentation, sporogenesis and gametogenesis in *Smilax davidiana* A.DC: a contribution to the embryology of *Smilax*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 88, p. 459–465, 2013.
- APG IV. Angiosperm Phylogeny Group IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, p. 1–20, 2016.
- AYENSU, E. S.; SKVARLA, J. J. Fine structure of Velloziaceae pollen. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, New York, v. 101, n. 5, p. 250–266, 1974.
- BALSLEV, H. Juncaceae. **Flora Neotropica**, New York, v. 68, p. 1–167, 1996.
- BALSLEV, H. Juncaceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **The families and genera of vascular plants**. IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae). Berlin: Springer-Verlag, 1998, p. 252–260.
- BARTH, O. M. Feinstruktur des sporoderms einiger brasilianischer mimosoiden-polyaden. **Pollen et Spores**, Paris, v. 7, n. 3, p. 429–441, 1965.
- BHANDARI, N. N. The microsporangium. In: JOHRI, B. M. (eds). **Embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1984, p. 53–121.
- BHATT, A. M.; CANALES, C.; DICKINSON, H. G. Plant meiosis: the means to 1N. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, n. 3, p. 114–121, 2001.
- BHOJWANI, S. S.; BHATNAGAR, S. P. **The embryology of angiosperms**. Delhi: Vikas Publishing House Pvt Ltd, 1978.

- BLACKMORE, S.; BARNES, S. H. Garside's rule and the microspore tetrads of *Grevillea rosmarinifolia* A. Cunningham and *Dryandra polycephala* Benth (Proteaceae). **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 85, p. 111–121, 1995.
- BLACKMORE, S.; CRANE, P. R. The systematic implications of pollen and spore ontogeny. In: HUMPHRIES, C. J. (ed.). **Ontogeny and systematics**. New York: Columbia University Press, 1988, p. 83–115.
- BLACKMORE, S.; KNOX, R. B. Microsporogenesis: the male programme of development. In: BLACKMORE, S.; KNOX, R. B. (eds). **Microspores: evolution and ontogeny**. London: Academic Press, 1990, p. 1–10.
- BOUCHENAK-KHELLADI, Y.; MUASYA, A. M.; LINDER, H. P. A revised evolutionary history of Poales: origins and diversification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 175, p. 4–16, 2014.
- BRENNER, W. Zur kenntnis der blütenentwicklung einiger Juncaceen. **Acta Societatis Scientiarum Fennicae**, Helsingfors, v. 50, n. 4, p. 5–37, 1922.
- BRIGGS, B. G.; JOHNSON, L. A. S. Hopkinsiaceae and Lyginiaceae, two new families of Poales in Western Australian, with revision of *Hopkinsia* and *Lyginia*. **Telopea**, Wales, v. 8, n. 4, p. 477–502, 2000.
- BROWN, R. C.; LEMMON, B. E. The cytoskeleton and polarization during pollen development in *Carex blanda* (Cyperaceae). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 87, n. 1, p. 1–11, 2000.
- CACCAVARI, M. A.; GALATI, B. Pollen development in *Mimosa balansae*. **Phytomorphology**, Delhi, v. 48, n. 4, p. 371–381, 1998.
- CANALES, C.; BHATT, A. M.; SCOTT, R.; DICKINSON, H. EXS, a putative LRR receptor kinase, regulates male germline cell number and tapetal identity and promotes seed development in *Arabidopsis*. **Current Biology**, London, v. 12, p. 1718–1727, 2002.
- CANRIGHT, J. E. The comparative morphology and relationships of the Magnoliaceae. I. Trends of specialization in the stamens. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 39, n. 7, p. 484–497, 1952.
- CARNIEL, K. Beiträge zur entwicklungsgeschichte des sporogenen gewebes der Gramineen und Cyperaceen. II. Cyperaceae. **Österreichische botanische Zeitschrift**, Wien, v. 109, n. 1 e 2, p. 81–95, 1962.
- CARNIEL, K. Elektronenmikroskopische analyse der pollenentwicklung von *Heleocharis palustris*. **Österreichische botanische Zeitschrift**, Wien, v. 120, p. 223–234, 1972.
- CHAPMAN, G. P. The tapetum. **International Review of Cytology**, New York, v. 107, p. 111–125, 1987.
- CHAUDHURY, A. M. Nuclear genes controlling male fertility. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, p. 1277–1283, 1993.

CHEN, B. X.; ZHAO, C. H.; ZHAO, Y. Y.; LIU, X. R.; LIU, J. X. Pollen morphology and ontogeny of *Maianthemum bifolium* (L.) F.W. Schmidt in China. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 299, n. 1, p. 123–129, 2013.

CHEN, C.; CHEN, G.; HAO, X.; CAO, B.; CHEN, Q.; LIU, S.; LEI, J. CaMF2, an anther-specific lipid transfer protein (LTP) gene, affects pollen development in *Capsicum annuum* L. **Plant Science**, Limerick, v. 181, p. 439–448, 2011.

COAN, A. I.; SCATENA, V. L. Embryology and seed development of *Blastocaulon scirpeum* and *Paepalanthus scleranthus* (Eriocaulaceae). **Flora**, Jena, v. 199, p. 47–57, 2004.

COAN, A. I.; ALVES, M. V.; SCATENA, V. L. Evidence of pseudomonad pollen formation in *Hypolytrum* (Mapanioideae, Cyperaceae). **Australian Journal of Botany**, East Melbourne, v. 58, p. 663–672, 2010.

COAN, A. I.; STÜTZEL, T.; SCATENA, V. L. Comparative embryology and taxonomic considerations in Eriocaulaceae (Poales). **Feddes Repertorium**, Weinheim, v. 121, n. 7 e 8, p. 268–284, 2010.

CONRAN, J. G. Smilacaceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **Flowering Plants – Monocotyledons**. The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer-Verlag, 1998, v. 3, p. 417–422.

COPENHAVER, G. P. A compendium of plant species producing pollen tetrads. **Journal of the North Carolina Academy of Science**, Raleigh, v. 121, n. 1, p. 17–35, 2005.

CUTLER, D. F. **Anatomy of the monocotyledons**. IV. Juncaceae. Oxford: Clarendon Press, 1969.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocotyledons**: structure, evolution and taxonomy. Berlin: Springer-Verlag, 1985.

DAN DICKO-ZAFIMAHOVA, L. Etude ontogénique de la pollinie de *Calotropis procera* (Asclepiadaceae). Apport de la microscopie photonique. **Grana**, Stockholm, v. 19, n. 2, p. 85–98, 1980.

DAVIS, G. L. Systematic embryology of the angiosperms. New York: John Wiley and Sons, 1966.

DOPCHIZ, L. P.; POGGIO, L. Meiosis and pollen grain development in *Isolepis cernua* f. *cernua* (Cyperaceae). **Caryologia**, Firenze, v. 52, n. 3 e 4, p. 197–201, 1999.

DRÁBKOVÁ, L.; KIRSCHNER, J.; SEBERG, O.; PETERSEN, G.; VLČEK, Č. Phylogeny of the Juncaceae based on *rbcL* sequences, with special emphasis on *Luzula* DC. and *Juncus* L. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 240, p. 133–147, 2003.

DRÁBKOVÁ, L.; KIRSCHNER, J.; VLČEK, Č.; PAČES, V. *TrnL-trnF* intergenic spacer and *trnL* intron define major clades with *Luzula* and *Juncus* (Juncaceae): importance of structural mutations. **Journal of Molecular Evolution**, New York, v. 59, p. 1–10, 2004.

- DRÁBKOVÁ, L.; KIRSCHNER, J.; VLČEK, Č. Phylogenetic relationships within *Luzula* DC. and *Juncus* L. (Juncaceae): a comparison of phylogenetic signals of *trnL-trnF* intergenic spacer, *trnL* intron and *rbcL* plastome sequence data. **Cladistics**, London, v. 22, p. 132–143, 2006.
- DRÁBKOVÁ, L. Z.; VLČEK, Č. DNA variation within Juncaceae: Comparison of impact of organelle regions on phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 278, p. 169–186, 2009.
- DUCKER, S. C.; PETTITT, J. M.; KNOX, R. B. Biology of australian seagrasses: pollen development and submarine pollination in *Amphibolis antarctica* and *Thalassodendron ciliatum* (Cymodoceaceae). **Australian Journal of Botany**, East Melbourne, v. 26, p. 265–285, 1978.
- DUNBAR, A. Pollen development in the *Eleocharis palustris* group (Cyperaceae). I. Ultrastructure and ontogeny. **Botaniska Notiser**, Uppsala, v. 126, p. 197–254, 1973.
- EKICI, N. Microsporogenesis, pollen mitosis and pollen tube growth in *Gagea villosa* (Liliaceae). **Biologia**, Berlin, v. 69, n. 10, p. 1323–1330, 2014.
- ELFVING, F. Studien über die pollenkörner der angiospermen. **Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaften**, Jena, v. 13, p. 1–28, 1879.
- ENDRESS, P. K. Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 192, p. 79–97, 1994.
- ENDRESS, P. K.; DOYLE, J. A. Reconstructing the ancestral angiosperm flower and its initial specializations. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 96, n. 1, p. 22–66, 2009.
- ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms (an introduction to palynology)**. Stockholm: Almqvist and Wiksell, 1952.
- ERDTMAN, G. Sporoderm morphology and morphogenesis. A collocation of data and supposition. **Grana**, Stockholm, v. 6, n. 3, p. 317–323, 1966.
- ERNST, A.; SCHMID, E. Über blüte und frucht von *Rafflesia*. Morphologisch-biologische beobachtungen und entwicklungsgeschichtlich-zytologische untersuchungen. **Annales du Jardin botanique de Buitenzorg**, Leiden, Sér. 2, v. 12, p. 1–58, 1913.
- FAEGRI, K. Recent trends in palynology. **The Botanical Review**, Bronx, v. 22, n. 9, p. 639–664, 1956.
- FAEGRI, K.; IVERSEN, J. **Textbook of pollen analysis**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1964.
- FAHN, A. **Anatomia vegetal**. Madrid: H. Blume Ediciones, 1978.
- FRANCHI, G. G.; PACINI, E. Wall projections in the vegetative cell of *Parietaria officinalis* L. pollen. **Protoplasma**, Wien, v. 104, p. 67–74, 1980.

FURNESS, C. A. A review of the distribution of plasmodial and invasive tapeta in eudicots. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 169, n. 2, p. 207–223, 2008.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. The tapetum and systematics in monocotyledons. **The Botanical Review**, Bronx, v. 64, n. 3, p. 201–239, 1998.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Microsporogenesis in monocotyledons. **Annals of Botany**, London, v. 84, p. 475–499, 1999a.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Inaperturate pollen in monocotyledons. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 160, n. 2, p. 395–414, 1999b.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. The tapetum in basal angiosperms: early diversity. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 162, n. 2, p. 375–392, 2001.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Comparative structure and development of pollen and tapetum in Pandanales. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 167, n. 2, p. 331–348, 2006.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Selective microspore abortion correlated with aneuploidy: an indication of meiotic drive. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 24, p. 1–8, 2011.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J.; EASTMAN, A. Contribution of pollen and tapetal characters to the systematics of Triuridaceae. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 235, p. 209–218, 2002.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J.; SAMPSON, F. B. Evolution of microsporogenesis in angiosperms. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 163, n. 2, p. 235–260, 2002.

GALATI, B. G.; ZARLAVSKY, G.; ROSENFELDT, S.; GOTELLI, M. M. Pollen ontogeny in *Magnolia liliflora* Desr. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 298, p. 527–534, 2012.

GHIMIRE, B.; SUH, G. U.; LEE, C. H.; HEO, K.; JEONG, M. J. Embryological studies on *Abelia tyaihyoni* Nakai (Caprifoliaceae). **Flora**, Jena, v. 242, p. 29–88, 2018.

GIVNISH, T. J.; AMES, M.; MCNEAL, J. R.; MCKAIN, M. R.; STEELE, P. R.; DEPAMPHILIS, C. W.; GRAHAM, S. W.; PIRES, J. C.; STEVENSON, D. W.; ZOMLEFER, W. B.; BRIGGS, B. G.; DURVALL, M. R.; MOORE, M. J.; HEANEY, J. M.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; THIELE, K.; LEEBENS-MACK, J. H. Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 97, n. 4, p. 584–616, 2010.

GODOY, S. M.; ALONSO-PEREIRA, A. R.; ROMAGNOLO, M. B.; RISSO-PASCOTTO, C. Complex of pollen mother cell and polyad production during microsporogenesis in *Hippocratea volubilis* (Hippocrateaceae). **Caryologia**, Firenze, v. 65, n. 4, p. 335–339, 2012.

GOETGHEBEUR, P. Cyperaceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **Flowering Plants – Monocotyledons**. The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer-Verlag, 1998, v. 4, p. 141–190.

GOLDBERG, R. B.; BEALS, T. P.; SANDERS, P. M. Anther development: basic principles and practical applications. **The Plant Cell**, Rockville, v. 5, p. 1217–1229, 1993.

GONZÁLEZ, F.; RUDALL, P. J.; FURNESS, C. A. Microsporogenesis and systematics of Aristolochiaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 137, p. 221–242, 2001.

GORMLEY, R. Onagraceae of Ohio. **The Ohio Naturalist**, Columbus, v. 15, n. 5, p. 463–468, 1915.

GOTELLI, M. M.; GALATI, B. G.; ZARLAVSKY, G.; MEDAN, D. Pollen and microsporangium development in *Hovenia dulcis* (Rhamnaceae): a different type of tapetal cell ultrastructure. **Protoplasma**, Wien, v. 253, p. 1125–1133, 2016.

GOVAERTS, R.; KOOPMAN, J.; SIMPSON, D.; GOETGHEBEUR, P.; WILSON, K.; EGOROVA, T.; BRUHL, J. **World checklist of Cyperaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew, 2021. Disponível em: <http://wcsp.science.kew.org>. Acesso em: 06 fevereiro 2021.

GUINET, P.; BARTH, O. M. L'exine des *Calliandra* (Mimosaceae) observée en microscopie photonique et en microscopie électronique. **Pollen et Spores**, Paris, v. 9, n. 2, p. 211–227, 1967.

GUINET, P.; LE THOMAS, A. Interprétation de la répartition dissymétrique des couches de l'exine dans les pollens composés. Conséquences relatives à la notion d'aperture. **Comptes Rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences de Paris, Série D**, Paris, v. 276, n. 10, p. 1545–1548, 1973.

GUINET, P.; LUGARDON, B. Diversité des structures de l'exine dans le genre *Acacia* (Mimosaceae). **Pollen et Spores**, Paris, v. 18, n. 4, p. 483–511, 1976.

GURUDEVA, M. R. Ontogeny of microsporangium and development of male gametophyte in *Malaxis versicolor* (Lindl.) Abeyw. (Orchidaceae). **The Journal of the Indian Botanical Society**, Meerut, v. 94, n. 3 e 4, p. 195–201, 2015.

HALBRITTER, H.; ULRICH, S.; GRÍMSSON, F.; WEBER, M.; ZETTER, R.; HESSE, M.; BUCHNER, R.; SVOJTKA, M.; FROSCH-RADIVO, A. **Illustrated pollen terminology**. 2 ed., Cham: Springer, 2018. *E-book*.

HAMANN, U. Merkmalsbestand und verwandtschaftsbeziehungen der Farinosae: ein beitrage zum system der Monokotyledonen. **Willdenowia**, Berlin, v. 2, n. 5, p. 639–768, 1961.

HAQUE, S. M.; GHOSH, B. Cytological studies of sporophytic and gametophytic generation of two bulbaceous species *Ledebouria revoluta* and *Drimiopsis botryoides* (Asparagaceae). **Caryologia**, Firenze, v. 69, n. 1, p. 38–49, 2016.

HARDER, L. D.; JOHNSON, S. D. Function and evolution of aggregated pollen in angiosperms. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 169, n. 1, p. 59–78, 2008.

HESLOP-HARRISON, J. An ultrastructural study of pollen wall ontogeny in *Silene pendula*. **Grana**, Stockholm, v. 4, n. 1, p. 7–24, 1963.

HESLOP-HARRISON, J. Cells walls, cell membranes and protoplasmic connections during meiosis and pollen development. In: LINSKENS, H. F. (eds). **Pollen physiology and fertilization**. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1964, p. 39–47.

HESLOP-HARRISON, J. Pollen wall development. **Science**, Washington, v. 161, p. 230–237, 1968.

HESLOP-HARRISON, J. The pollen wall: structure and development. In: HESLOP-HARRISON, J. (eds). **Pollen: development and physiology**. London: Butterworth-Heinemann, 1971, p. 75–98.

HERMANN, P. M.; PALSER, B. F. Stamen development in the Ericaceae. I. Anther wall, microsporogenesis, inversion, and appendages. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 87, n. 7, p. 934–957, 2000.

HESSE, M. Pollenkitt and viscin threads: their role in cementing pollen grains. **Grana**, Stockholm, v. 20, n. 3, p. 145–152, 1981.

HESSE, M. Pollen wall stratification and pollination. In: DAFNI, A.; HESSE, M.; PACINI, E. (eds). **Pollen and Pollination**. Wien: Springer-Verlag, 2000, p. 1–17.

HESSE, M.; WAHA, M. The fine structure of the pollen wall in *Strelitzia reginae* (Musaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 141, p. 285–298, 1983.

HINCHLIFF, C. E.; ROALSON, E. H. Using supermatrices for phylogenetic inquiry: an example using the sedge. **Systematic Biology**, Basingstoke, v. 62, n. 2, p. 205–219, 2013.

HORNER Jr., H. T. A comparative light- and electron-microscopic study of microsporogenesis in male-fertile and cytoplasmic male-sterile sunflower (*Helianthus annuus*). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 64, n. 6, p. 745–759, 1977.

HSU, Y. C.; JANE, W. N.; CHEN, S. H. Microsporogenesis and exine structure in *Trochodendron aralioides* Siebold and Zuccarini (Trochodendraceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 299, p. 1057–1064, 2013.

JÄGER-ZÜRN, I.; NOVELO R., A.; PHILBRICK, C. T. Microspore development in Podostemaceae-Podostemoideae, with implications of the characterization of the subfamilies. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 256, p. 209–216, 2005.

JAZINIZADEH, E.; MAJD, A.; POURPAK, Z. Anther development and microsporogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 49, n. 1, p. 331–335, 2017.

JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. **Comparative embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

JUNG, J.; CHOI, H. K. Recognition of two major clades and early diverged groups within the subfamily Cyperoideae (Cyperaceae) including Korean sedges. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 126, p. 335–349, 2013.

KEIJZER, C. J. The processes of anther dehiscence and pollen dispersal. I. The opening mechanism of longitudinally dehiscing anthers. **New Phytologist**, Cambridge, v. 105, p. 487–498, 1987.

KENRICK, J.; KNOX, R. B. Pollen development and cytochemistry in some Australian species of *Acacia*. **Australian Journal of Botany**, East Melbourne, v. 27, p. 413–427, 1979.

KIRSCHNER, J.; BALSLEV, H.; ČEŠKA, A.; SWAB, J. C.; EDGAR, E.; GARCIA-HERRAN, K.; KAPLAN, Z.; NOVARA, L. J.; NOVIKOV, V. S.; WILTON, A. Juncaceae 1: *Rostkovia* to *Luzula*. **Species Plantarum: Flora of the World Part 6**, Canberra: Australian Biological Resources Study, 2002a.

KIRSCHNER, J.; BALSLEV, H.; CLEMANTS, S. E.; ERTTER, B.; ÁLVAREZ, M. C. F. C.; HÄMET-AHTI, L.; MIYAMOTO, F.; NOLTIE, H. J.; NOVARA, L. J.; NOVIKOV, V. S.; SIMONOV, S. S. Juncaceae 2: *Juncus* subg. *Juncus*. **Species Plantarum: Flora of the World Part 7**, Canberra: Australian Biological Resources Study, 2002b.

KNOX, R. B. The pollen grain. In: JOHRI, B. M. (eds) **Embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p. 197–271.

KNOX, R. B.; FRIEDERICH, E. Tetrad pollen grain development and sterility in *Leschenaultia formosa* (Goodeniaceae). **New Phytologist**, Cambridge, v. 73, p. 251–258, 1974.

KNOX, R. B.; MCCONCHIE, C. A. Structure and function of compound pollen. In: BLACKMORE, S.; FERGUSON, I. K. (eds). **Pollen and Spores: form and function**. Linnean Society Symposium Series, London: Academic Press, 1986, n. 12, p. 265–282.

KRESS, W. J.; STONE, D. E. Nature of the sporoderm in monocotyledons, with special reference to the pollen grains of *Canna* and *Heliconia*. **Grana**, Stockholm, v. 21, n. 3, p. 129–148, 1982.

KRONESTEDT-ROBARDS, E. Formation of the pollen-aggregating threads in *Strelitzia reginae*. **Annals of Botany**, London, v. 77, p. 243–250, 1996.

KUBITZKI, K. Thurniaceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **Flowering Plants – Monocotyledons**. The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer-Verlag, 1998, v. 4, p. 455–457.

KUMAR, H. N. K.; RAMASWAMY, S. N. Contributions to the study of microsporogenesis in *Calamus* L. (Arecaceae). **Taiwania**, Taipei, v. 48, n. 3, p. 180–193, 2003.

LALRUATSANGA, H. Microsporogenesis of *Polypleurum wallichii* (R. Brown ex. Griff.) Warm. (Podostemaceae) growing in northeast India. **Science Vision**, Mizoram, v. 14, n. 3, p. 122–127, 2014.

LAMBERT, A. M. Observations sur la première mitose pollinique de Luzules. **Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Science, Série D, Science Naturelles**, Paris, v. 269, n. 2, p. 153–156, 1969.

LAMBERT, A. M. Formation et différenciation des grains de pollen chez les Luzules (Structures et ultrastructures). **Bulletin de l'Académie et de la Société Lorraines des Sciences**, Nancy, v. 9, n. 1, p. 147–149, 1970.

LATTAR, E.; GALATI, B. G.; FERRUCCI, M. S. Comparative study of anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in species of *Corchorus*, *Heliocarpus*, *Luehea* and *Triumfetta* (Malvaceae: Grewioideae) from South America. **New Zealand Journal of Botany**, Wellington, v. 52, n. 4, p. 429–445, 2014.

LATTAR, E. C.; GALATI, B. G.; FERRUCCI, M. S. Ultrastructural study of pollen and anther development in *Luehea divaricata* (Malvaceae, Grewioideae) and its systematic implications: role of tapetal transfer cells, orbicules and male germ unit. *Flora*, Jena, v. 207, p. 888–894, 2012.

LAURENT, M. Sur le développement de l'embryon des Joncées. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences**, Paris, v. 137, p. 532–533, 1903.

LI, B.; XU, F. Formation pattern in five types of pollen tetrad in *Pseuduvaria trimera* (Annonaceae). **Protoplasma**, Wien, v. 256, p. 53–68, 2018.

LI, F.; CHEN, S.; CHEN, F.; TENG, N.; FANG, W.; ZHANG, F.; DENG, Y. Anther wall development, microsporogenesis and microgametogenesis in male fertile and sterile chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat., Asteraceae). **Scientia Horticulturae**, New York, v. 126, p. 261–267, 2010.

LIMA, J. F.; ROMERO, R.; SIMÃO, D. G. Polysporangiate anthers in *Microlicia* D. Don (Melastomataceae Juss.). **Feddes Repertorium**, Weinheim, v. 130, p. 9–18, 2019.

LINDER, H. P.; RUDALL, P. J. Evolutionary history of Poales. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 36, p. 107–124, 2005.

LINDER, H. P.; VLOK, J. H. The morphology, taxonomy and evolution of *Rhodocoma* (Restionaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 175, p. 139–160, 1991.

LINDER, H. P.; BRIGGS, B. G.; JOHNSON, L. A. S. Restionaceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **Flowering Plants – Monocotyledons. The families and genera of vascular plants**. Berlin: Springer-Verlag, 1998, v. 4, p. 425–445.

LINSKENS, H. F.; SUREN, M. L. Die entwicklung des polliniums von *Asclepias curassavica*. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, Berlin, v. 82, n. 7 e 8, p. 527–534, 1969.

LIU, H. F.; KIRCHOFF, B. K.; WU, G. J.; LIAO, J. P. Microsporogenesis and male gametogenesis in *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). **Journal of the Torrey Botanical Society**, Lawrence, v. 134, n. 3, p. 335–343, 2007.

LIU, L. Ultramicroscopic examination of mature massulae of *Habenaria arinaria* (Orchidaceae). **Micron**, Oxford, v. 74, p. 1–7, 2015.

LORA, J.; HERRERO, M.; HORMAZA, J. I. Microspore development in *Annona* (Annonaceae): differences between monad and tetrad pollen. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 101, n. 9, p. 1508–1518, 2014.

LORA, J.; TESTILLANO, P. S.; RISUEÑO, M. C.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Pollen development in *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae). Implications for the evolution of aggregated pollen. **BMC Plant Biology**, London, v. 9, p. 129, 2009.

LOSADA, J. M.; BACHELIER, J. B.; FRIEDMAN, W. E. Prolonged embryogenesis in *Austrobaileya scandens* (Austrobaileyaceae): its ecological and evolutionary significance. **New Phytologist**, Cambridge, v. 215, p. 851–864, 2017.

MACINTYRE, J. P.; LACROIX, C. R. Comparative development of perianth and androecial primordia of the single flower and the homeotic double-flowered mutant in *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 74, p. 1871–1882, 1996.

MAHESHWARI, P. Contributions to the morphology of some Indian Liliaceae. I. The gametophytes of *Ophiopogon wallichianus* Hook f. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 1, p. 197–204, 1934.

MAHESHWARI, P. **An introduction to the embryology of angiosperms**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1950.

MAKDE, K. H. Pollen development in the Cyperaceae. **The Journal of the Indian Botanical Society**, Meerut, v. 61, p. 242–249, 1982.

MAKDE, K. H.; BHUSKUTE, S. M. Embryology of *Kyllinga monocephala* (Cyperaceae) and its systematic position. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 156, p. 143–150, 1987.

MAUSETH, J. D. **Plant anatomy**. Menlo Park: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1988.

MCCONN, M.; BROWSE, J. The critical requirement for linolenic acid is pollen development, not photosynthesis, in an *Arabidopsis* mutant. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 403–416, 1996.

MCGLONE, M. S. Pollen structure of the New Zealand members of the Styphelieae (Epacridaceae). **New Zealand Journal of Botany**, Wellington, v. 16, n. 1, p. 91–101, 1978.

MEYER, N. R.; YAROSHEVSKAYA, A. S. The phylogenetic significance of the development of pollen grain walls in Liliaceae, Juncaceae and Cyperaceae. *In*: FERGUSON,

I. K.; MULLER, J. (eds). **The evolutionary significance of the exine**. Linnean Society Symposium Series, London: Academic Press, 1976, n. 1, p. 91–100.

MUASYA, A. M.; SIMPSON, D. A.; VERBOOM, G. A.; GOETGHEBEUR, P.; NACZI, R. F. C.; CHASE, M. W.; SMETS, E. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: current progress and future prospects. **The Botanical Review**, Bronx, v. 75, p. 2–21, 2009.

MUNRO, S. L.; LINDER, H. P. The embryology and systematic relationships of *Pronium serratum* (Juncaceae: Juncales). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 84, n. 6, p. 850–860, 1997.

NABEESA, E.; NEELAKANDAN, N. Development of *Abelmoschus esculentus* (Malvaceae) pollen. **Grana**, Stockholm, v. 24, n. 1, p. 3–10, 1985.

NAGARAJ, M.; NIJALINGAPPA, B. H. M. Sporogeneses and development of gametophytes in *Hypolytrum latifolium* L.C. Rich. **Current Science**, Bangalore, v. 41, n. 7, p. 260–261, 1972.

NAGARAJ, M.; NIJALINGAPPA, B. H. M. Embryological studies in *Cyperus alopecuroides* Rottb. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 77, n. 6, p. 252–263, 1973.

NIJALINGAPPA, B. H. M. Sporogenesis and gametogenesis in some Cyperaceae. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 83A, n. 2, p. 66–72, 1976.

NIJALINGAPPA, B. H. M. Embryology of *Scleria foliosa* (Cyperaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 152, p. 219–230, 1986.

NIJALINGAPPA, B. H. M.; DEVAKI, N. Embryological studies in *Diplacrum caricinum* R.Br. **Beiträge zur Biologie der Pflanzen**, Berlin, v. 54, p. 215–225, 1978.

NIJALINGAPPA, B. M. H.; PALAKSHAI, C. R. Embryological studies in *Rhynchospora wightiana* (Cyperaceae). In: BHATIA, B.; SHUKLA, A. K.; SHARMA, H. L. (eds). **Plant form and function**. New Delhi: Angkor Publisher (p) Ltd., 1998, p. 225–236.

OLIVEIRA, F. M. C.; RODRIGUES, A. C.; LUSA, M. G.; MELO-DE-PINNA, G. F. A. Androecium and gynoecium anatomy of Bromeliaceae species. **Flora**, Jena, v. 263, p. 151538, 2020.

OLIVEIRA, J. M. S.; MARTINS, M. S.; DORNELES, M. P.; FREITAS, C. C. Starch distribution in anthers, microspores and pollen grains in *Aechmea recurvata* (Klotzsch.) L.B.Sm., *Dyckia racinae* L.B.Sm and *Tillandsia aeranthos* (Loisel.) L.B.Sm (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 103–112, 2015.

PACINI, E. Tapetum and microspore function. In: BLACKMORE, S.; KNOX, R. B. (eds). **Microspores: evolution and ontogeny**. London: Academic Press, 1990, p. 213–237.

PACINI, E. Relationships between tapetum, loculus, and pollen during development. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 171, n. 1, p. 1–11, 2010.

PACINI, E.; FRANCHI, G. G.; HESSE, M. The tapetum: its form, function and possible phylogeny in Embryophyta. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 149, p. 155–185, 1985.

PADHYE, M. D. Studies in Cyperaceae. III. Life history of *Kyllinga brevifolia* Rottb. with a brief discussion on systematic position of *Kyllinga*. **The Botanical Gazette**, Chicago, v. 132, n. 3, p. 172–179, 1971a.

PADHYE, M. D. Studies in Cyperaceae. I. Embryology of *Cyperus iria* Linn. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 37, p. 1–10, 1971b.

PADHYE, M. D.; MOHARIR, S. K. Studies in embryology of *Cyperus tegetum* Roxb. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 48, n. 2, p. 89–95, 1958.

PADHYE, M. D.; CHAUBE, S. N.; IYER, A. V. Studies in Cyperaceae – VIII. Gametophytes and fertilization in two members of Cyperaceae. **The Journal of the Indian Botanical Society**, Meerut, v. 49, p. 86–92, 1970.

PASSARINI LOPES, F.; ALVES, M. V. S.; COAN, A. I. Anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in *Mapania* Aubl. (Mapanioideae, Cyperaceae). **Feddes Repertorium**, Weinheim. In prep.

PETTITT, J. M.; MCCONCHIE, C. A.; DUCKER, S. C.; KNOX, R. B. Reproduction in seagrasses: pollination in *Amphibolis antarctica*. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences**, London, v. 219, p. 119–135, 1983.

PIECH, K. Studja cytologiczne nad rodzajem *Scirpus*. – Zytologische studien an der gattung *Scirpus*. **Bulletin International de L'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles. Série B: Sciences Naturelles Botanique**, Imprimerie de l'Université, Cracovie, p. 1–43, 1928.

PLATT, K. A.; HUANG, A. H. C.; THOMSON, W. W. Ultrastructural study of lipid accumulation in tapetal cells of *Brassica napus* L. Cv. Westar during microsporogenesis. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 159, n. 5, p. 724–737, 1998.

PRAKASH, N.; LEE, Y. H.; GOH, C. J. Anther and pollen development in *Heliconia*. **Havard Papers in Botany**, Cambridge, v. 5, n. 1, p. 193–200, 2000.

RANGANATH, R. M.; NAGASHREE, N. R. Selective cell elimination during microsporogenesis in sedges. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 13, p. 53–60, 2000.

RAZI, B. A. Embryological studies of two members of the Podostemaceae. **The Botanical Gazette**, Chicago, v. 111, n. 2, p. 211–218, 1949.

RHEE, S. Y.; SOMERVILLE, C. R. Tetrad pollen formation in *quartet* mutants of *Arabidopsis thaliana* is associated with persistence of pectic polysaccharides of the pollen mother cell wall. **The Plant Journal**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 79–88, 1998.

RHEE, S. Y.; OSBORNE, E.; POINDEXTER, P. D.; SOMERVILLE, C. R. Microspore separation in the *quartet 3* mutants of *Arabidopsis* is impaired by a defect in a developmentally regulated polygalacturonase required for pollen mother cell wall degradation. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 133, p.1170–1180, 2003.

ROCHA, D. M.; MARQUES, A.; ANDRADE, C. G. T. J.; GUYOT, R.; CHALUVADI, S. R.; PEDROSA-HARAND, A.; HOUBEN, A.; BENNETZEN, J. L.; VANZELA, A. L. L. Developmental programmed cell death during asymmetric microsporogenesis in holocentric species of *Rhynchospora* (Cyperaceae). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 18, p. 5391–5401, 2016.

ROCHA, D. M.; VANZELA, A. L. L.; MARIATH, J. E. A. Comparative study of microgametogenesis in members of Cyperaceae and Juncaceae: a shift from permanent pollen tetrads to pseudomonads. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 188, n. 1, p. 59–73, 2018.

ROLAND, F. Précisions sur la structure et l'ultrastructure d'une tétrade calymmée. **Pollen et Spores**, Paris, v. 7, n. 1, p. 5–8, 1965.

ROWLEY, J. R. Formation of the pore in pollen of *Poa annua*. In: LINSKENS, H. F. (eds). **Pollen physiology and fertilization**. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1964, p. 59–69.

RUDALL, P. J.; BATEMAN, R. M. Developmental bases for key innovations in the seed-plant microgametophyte. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 12, n. 7, p. 317–326, 2007.

SAJO, M. G.; FURNESS, C. A.; PRYCHID, C. J.; RUDALL, P. J. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. *Grana*, Stockholm, v. 44, n. 2, p. 65–74, 2005.

SAJO, M. G.; LONGHI-WAGNER, H.; RUDALL, P. J. Floral development and embryology in the early-divergent grass *Pharus*. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 168, n. 2, p. 181–191, 2007.

SAMPSON, F. B. Pollen tetrads of *Hedycarya arborea* J. R. et G. Forst. (Monimiaceae). *Grana*, Stockholm, v. 16, n. 2, p. 61–73, 1977.

SAN MARTIN, J. A. B.; ANDRADE, C. G. T. J.; MASTROBERTI, A. A.; MARIATH, J. E. A.; VANZELA, A. L. L. Asymmetric cytokinesis guide the development of pseudomonads in *Rhynchospora pubera* (Cyperaceae). **Cell Biology International**, London, v. 37, p. 203–212, 2013.

SANDERS, P. M.; BUI, A. Q.; WETERINGS, K.; MCINTIRE, K. N.; HSU, Y. C.; LEE, P. Y.; TRUONG, M. T.; BEALS, T. P.; GOLDBERG, R. B. Anther developmental defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 11, n., p. 297–322, 1999.

SCHNEIDER, L. J. C.; PEREIRA-SILVA, L.; THOMAS, W. W.; MATZENAUER, W.; HEFLER, S. M.; NUNES, C. S.; MACIEL-SILVA, J. F.; PRATA, A. P. N.; JIMÉNEZ-MEJÍAS, P.; WEBER, P.; SILVA FILHO, P. J. S.; COSTA, S. M.; SOARES NETO R. L.;

ALVES, K. N. L.; GIL, A. S. B.; TREVISAN, R.; LÓPEZ, M. G.; HALL, C. F.; FERNANDES-JÚNIOR, A. J.; VITTA, F. A.; ORSOLANO, G. N.; WANDERLEY, M. G. L. **Cyperaceae in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB100>. Acesso em: 11 mar. 2021.

SCOTT, R. J.; SPIELMAN, M.; DICKINSON, H. G. Stamen structure and function. **The Plant Cell**, Rockville, v. 16, p. S46–S60, 2004.

SELLING, O. H. Studies in Hawaiian pollen statistics. II. The pollen of the Hawaiian phanerogams. **Special Publication, Bernice Pauahi Bishop Museum, Bishop Museum**, Honolulu, v. 38, p. 1–430, 1947.

SEMMOURI, I.; BAUTERS, K.; LÉVEILLÉ-BOURRET, E.; STARR, J. R.; GOETGHEBEUR, P.; LARRIDON, I. Phylogeny and systematics of Cyperaceae, the evolution and importance of embryo morphology. **The Botanical Review**, Bronx, v. 85, n. 1, p. 1–39, 2019.

SILVA, A. L.; ALVES, M. V. S.; COAN, A. I. Comparative floral morphology and anatomy of Thurniaceae, an early-diverging family in the cyperids (Poales, Monocotyledons). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 306, n. 3, p. 1–14, 2020.

SIMÃO, D. G.; SCATENA, V. L.; BOUMAN, F. Anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in *Heliconia* (Heliconiaceae, Zingiberales). **Flora**, Jena, v. 202, p. 148–160, 2007.

SIMPSON, D. Relationships within Cyperales. In: RUDALL, P. J.; CRIBB, P. J.; CUTLER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (eds). **Monocotyledons: systematics and evolution**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1995, p. 497–509.

SIMPSON, D. A.; FURNESS, C. A.; HODKINSON, T. R.; MUASYA, A. M.; CHASE, M. W. Phylogenetic relationships in Cyperaceae subfamily Mapanioideae inferred from pollen and plastid DNA sequence data. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 90, n. 7, p. 1071–1086, 2003.

SIMPSON, D. A.; MUASYA, A. M.; ALVES, M. V.; BRUHL, J. J.; DHOOGHE, S.; CHASE, M. W.; FURNESS, C. A.; GHAMKHAR, K.; GOETGHEBEUR, P.; HODKINSON, T. R.; MARCHANT, A. D.; REZNICEK, A. A.; NIEUWBORG, R.; ROALSON, E. H.; SMETS, E.; STARR, J. R.; THOMAS, W. W.; WILSON, K. L.; ZHANG, X. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data – a new *rbcL* analysis. **Aliso**, Claremont, v. 23, p. 72–83, 2007.

SIMPSON, M. G. Embryological development of *Lachnanthes caroliniana* (Haemodoraceae). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 75, n. 9, p. 1394–1408, 1988.

SHARMA, A.; SINGH, M. B.; BHALLA, P. L. Anther ontogeny in *Brachypodium distachyon*. **Protoplasma**, Wien, v. 252, p. 439–450, 2015.

SKVARLA, J. J.; LARSON, D. A. Nature of cohesion within pollen tetrads of *Typha latifolia*. **Science**, Washington, v. 140, n. 3563, p. 173–175, 1963.

SKVARLA, J. J.; RAVEN, P. H.; PRAGLOWSKI, J. Ultrastructural survey of Onagraceae pollen. In: FERGUSON, I. K.; MULLER, J. (eds). **The evolutionary significance of the exine**. Linnean Society Symposium series, London: Academic Press, 1976, n. 1, p. 447–479.

SMITH-WHITE, S. Pollen development patterns in the Epacridaceae. A problem in cytoplasm-nucleus interaction. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales**, Sydney, v. 84, p. 8–35, 1959.

SOLÍS, S. M.; GALATI, B.; FERRUCCI, M. S. Microsporogenesis and microgametogenesis of *Cardiospermum grandiflorum* and *Urvillea chacoensis* (Sapindaceae, Paullinieae). **Australian Journal of Botany**, East Melbourne, v. 58, p. 597–604, 2010.

SORENSEN, A.; GUERINEAU, F.; CANALES-HOLZEIS, C.; DICKINSON, H. G.; SCOTT, R. J. A novel extinction screen in *Arabidopsis thaliana* identifies mutant plants defective in early microsporangial development. **The Plant Journal**, Oxford, v. 29, n. 5, p. 581–594, 2002.

SPALINK, D.; DREW, B. T.; PACE, M. C.; ZABORSKY, J. G.; STARR, J. R.; CAMERON, K. M.; GIVNISH, T. J.; SYTSMA, K. J. Biogeography of the cosmopolitan sedges (Cyperaceae) and the area-richness correlation in plants. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 43, n. 10, p. 1893–1904, 2016.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, biochemistry, management**. Berlin: Springer-Verlag, 1974.

STEVENS, P. F. **Angiosperms Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. [S. l.]. 2017 [2001 onwards]. Disponível em <http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/>. Acesso em: 06 fevereiro 2021.

STEVENS, P. F.; LUTEYN, J.; OLIVER, E. G. H.; BELL, T. L.; BROWN, E. A.; CROWDEN R. K.; GEORGE, A. S.; JORDAN, G. J.; LADD, P.; LEMSON K.; MCLEAN, C. B.; MENADUE, Y.; PATE, J. S.; STACE, H. M.; WEILLER, C. M. Ericaceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **Flowering Plants – Dicotyledons. The families and genera of vascular plants**. Berlin: Springer-Verlag, 2004, v. 6, p. 145–194.

STOUT, A. B. The individuality of the chromosomes and their serial arrangement in *Carex aquatilis*. **Archiv für Zellforschung**, Leipzig, v. 9, p. 114–140, 1912.

TAKAHASHI, H. Pollen development in *Chimaphila japonica* Miq. (Pyrolaceae). **The Science Reports of the Tôhoku University, Fourth series, (Biology)**, Sendai, v. 37, p. 263–272, 1979.

TAKAHASHI, H.; SOHMA, K. Development of pollen tetrad in *Typha latifolia* L. **Pollen et Spores**, Paris, v. 26, n. 1, p. 5–18, 1984.

TANAKA, N. Chromosome studies in Cyperaceae, III. The maturation divisions in *Scirpus lacustris* L., with special reference to the heteromorphic pairing. **Cytologia**, Tokyo, v. 9, p. 533–556, 1939.

TANAKA, N. Chromosome studies in Cyperaceae, VI. Pollen development and additional evidence for the compound chromosome in *Scirpus lacustris* L. **Cytologia**, Tokyo, v. 10, p. 348–362, 1940.

TANAKA, N. Chromosome studies in Cyperaceae, XII. Pollen development in five genera, with special reference to *Rhyncospora*. **The Botanical Magazine Tokyo**, Tokyo, v. 55, n. 650, p. 55–65, 1941.

TANG, Y.; GAO, H.; XIE, J. S. An embryological study of *Eriolaena candollei* Wallich (Malvaceae) and its systematic implications. **Flora**, Jena, v. 204, p. 569–580, 2009.

TAYLOR, M. L.; OSBORN, J. M. Pollen ontogeny in *Brasenia* (Cabombaceae, Nymphaeales). *American Journal of Botany*, Baltimore, v. 93, n. 3, p. 344–356, 2006.

TAYLOR, M. L.; GUTMAN, B. L.; MELROSE, N. A.; INGRAHAM, A. M.; SCHWARTZ, J. A.; OSBORN, J. M. Pollen and anther ontogeny in *Cabomba caroliniana* (Cabombaceae, Nymphaeales). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 95, n. 4, p. 399–413, 2008.

TAYLOR, M. L.; HUDSON, P. J.; RIGG, J. M.; STRANDQUIST, J. N.; GREEN, J. S.; THIEMANN, T. C.; OSBORN, J. M. Pollen ontogeny in *Victoria* (Nymphaeales). **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 174, n. 9, p. 1259–1276, 2013.

TAYLOR, P. E.; GLOVER, J. A.; LAVITHIS, M.; CRAIG, S.; SINGH, M. B.; KNOX, R. B.; DENNIS, E. S.; CHAUDHURY, A. M. Genetic control of male fertility in *Arabidopsis thaliana*: structural analyses of postmeiotic developmental mutants. **Planta**, Berlin, v. 205, p. 492–505, 1998.

THANIKAIMONI, G. Pollen apertures: form and function. In: BLACKMORE, S.; FERGUSON, I. K. (eds). **Pollen and Spores: form and function**. Linnean Society Symposium Series, London: Academic Press, 1986, n. 12, p. 119–136.

TRIAS-BLASI, A.; BAKER, W. J.; HAIGH, A. L.; SIMPSON, D. A.; WEBER, O.; WILKIN, P. A genus-level phylogenetic linear sequence of monocots. **Taxon**, Wien, v. 64, n. 3, p. 552–581, 2015.

TSOU, C. H.; FU, Y. L. Tetrad pollen formation in *Annona* (Annonaceae): proexine formation and binding mechanism. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 89, n. 5, p. 734–747, 2002.

TSOU, C. H.; FU, Y. L. Octad pollen formation in *Cymbopetalum* (Annonaceae): the binding mechanism. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 263, p. 13–23, 2007.

TÜTÜNCÜ KONYAR, S.; DANE, F.; TÜTÜNCÜ, S. Distribution of insoluble polysaccharides, neutral lipids, and proteins in the developing anthers of *Campsis radicans* (L.) Seem. (Bignoniaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 299, p. 743–760, 2013.

VALADARES, R. T. **Juncaceae in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB138>. Acesso em: 11 mar. 2021.

- VAN CAMPO, M.; GUINET, P. Les pollens composés. L'exemple des Mimosacées. **Pollen et Spores**, Paris, v. 3, n. 2, p. 201–218, 1961.
- VAN HEEL, W. A. The pattern of vascular bundles in the stamens of *Nymphaea lotus* L. and its bearing on stamen morphology. **Blumea**, Leiden, v. 23, n. 2, p. 345–348, 1977.
- VENTURELLI, M.; BOUMAN, F. Embryology and seed development in *Mayaca fluviatilis* (Mayacaceae). **Acta Botanica Neerlandica**, Leiden, v. 35, n. 4, p. 497–516, 1986.
- VENTURELLI, M.; BOUMAN, F. Development of ovule and seed in Rapateaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 97, p. 267–294, 1988.
- VERBOOM, G. A. A phylogeny of the schoenoid sedge (Cyperaceae: Schoeneae) based on plastid DNA sequences, with special reference to the genera found in Africa. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 38, p. 79–89, 2006.
- VIJAYARAGHAVAN, M. R.; DHAR, U. *Kadsura heteroclita* – microsporangium and pollen. **Journal of the Arnold Arboretum**, Cambridge, v. 56, n. 1, p. 176–182, 1975.
- VIJAYARAGHAVAN, M. R.; SHUKLA, A. K. Absence of callose around the microspore tetrad and poorly developed exine in *Pergularia daemia*. **Annals of Botany**, London, v. 41, p. 923–926, 1977.
- VINCKIER, S. A.; JANSSENS, S. B.; HUYSMANS, S.; VANDEVENNE, A.; SMETS, E. F. Pollen ontogeny linked to tapetal cell maturation in *Impatiens parviflora* (Balsaminaceae). **Grana**, Stockholm, v. 51, n. 1, p. 10–24, 2012.
- VOLKOVA, O. A.; REMIZOWA, M. V.; SOKOLOFF, D. D.; SEVEROVA, E. E. A developmental study of pollen dyads and notes on floral developmental in *Scheuchzeria* (Alismatales: Scheuchzeriaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 182, p. 791–810, 2016.
- WALKER, J. W.; DOYLE, J. A. The bases of angiosperm phylogeny: palynology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 62, n. 3, p. 664–723, 1975.
- WULFF, H. D. Die pollenentwicklung der Juncaceen nebst einer auswertung der embryologischen befunde hinsichtlich einer verwandtschaft zwischen den Juncaceen und Cyperaceen. **Jahrbücher für Wissenschaftliche Botanik**, Berlin, v. 87, p. 533–556, 1939.
- XU, F. X.; CHEN, D. Q.; SPECHT, C. Comparative microsporogenesis and anther development of selected species from Magnoliaceae. **Nordic Journal of Botany**, Copenhagen, v. 31, p. 291–300, 2013.
- XUE, C. Y.; WANG, H.; LI, D. Z. Microsporogenesis and male gametogenesis in *Musella* (Musaceae), a monotypic genus from Yunnan, China. **Annales Botanici Fennici**, Helsinki, v. 42, p. 461–467, 2005.
- YEUNG, E. C. Mechanisms of pollen aggregation into pollinia in *Epidendrum ibaguense* (Orchidaceae). **Grana**, Stockholm, v. 26, n. 1, p. 47–52, 1987.

YUE, L.; KUANG, Y.; LIAO, J. Ontogeny of permanent tetrads in *Gardenia jasminoides* (Rubiaceae) provides insight into pollen evolution. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 247, p. 120–132, 2017.

ZAMAN, B. The embryology of *Juncus prismatocarpus* BR. and *J. effusus* Linn. **Proceedings: Plant Sciences**, Bangalore, v. 31, n. 4, p. 223–234, 1950.

ZHANG, H. Y.; YAN, X. L.; SU, S.; ZHANG, Y. Q.; REN, Y.; ZHANG, X. H. Androecium development and staminode diversity of *Cocculus orbiculatus* (Menispermaceae). **Flora**, Jena, v. 265, p. 151573, 2020.

ZHANG, X.; MARCHANT, A.; WILSON, K. L.; BRUHL, J. J. Phylogenetic relationships of *Carpha* and its relatives (Schoeneae, Cyperaceae) inferred from chloroplast *trnL* intron and *trnL-trnF* intergenic spacer sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 31, p. 647–657, 2004.

ZINI, L. M.; GALATI, B. G.; ZARLAVSKY, G.; FERRUCCI, M. S. Developmental and structural characters of the pollen grains and tapetum in species of *Nymphaea* subgenus *Hydrocallis*. **Protoplasma**, Wien, v. 254, p. 1777–1790, 2017.

CAPÍTULO 1

Development of the permanent tetrad wall in *Juncus* L. (Juncaceae, Poales)

Fernanda Passarini Lopes¹, Aline Oriani^{1,2}, Alessandra Ike Coan^{1,2}

¹ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Instituto de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Rio Claro (São Paulo), Brazil.

² Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Instituto de Biociências, Departamento de Biodiversidade, Rio Claro (São Paulo), Brazil.

Corresponding author: Fernanda Passarini Lopes, fernanda.passarini-lopes@unesp.br

ORCID of all authors: FPL - 0000-0001-9933-4462; AO - 0000-0003-0843-1254; AIC - 0000-0002-8584-1700

Abstract

Juncaceae, a cosmopolitan family, belong to the cyperid clade of Poales together with Cyperaceae and Thurniaceae. Pollen grain of Juncaceae, as in Thurniaceae, is dispersed in a permanent tetrad and knowledge about the ontogeny of its wall is still incipient, based on data from only one species. This study aims to analyze the formation of the pollen wall of seven *Juncus* species in order to characterize the timing and the ontogenetic events that lead to the cohesion of the four pollen grains in a permanent tetrad. Anthers at different developmental stages were submitted to techniques of light microscopy and transmission electron microscopy; dehiscent anthers with mature pollens were also analyzed in scanning electron microscopy. In all the species here studied, callose deposits around each microsporocyte, with dissolution prior to meiosis. Microspore wall starts at the end of the second meiotic division with formation of primexine. Exine comprises tectum, columellae, and foot layer. During cytokinesis, cell plates form the internal wall of the pollen tetrad. Mature permanent tetrad is enveloped externally by both the exine and intine and internally by the intine and the foot layer, which forms the continuous internal wall. Callose was detected in the early stages of microsporocytes, although reported to be absent in Juncaceae. Our data confirm the variation in Juncaceae cytokinesis and the occurrence of simple cohesion due to the presence of a continuous tectum along the pollen tetrad.

Keywords: Cyperids, callose, primexine, exine, intine

Introduction

The pollen grain wall in angiosperms usually consists of exine and intine formed after microsporocyte meiosis (Heslop-Harrison 1968, 1971; Stanley and Linskens 1974; Bhojwani and Bhatnagar 1978). The beginning is marked by the deposition of a callose wall around each newly formed microspore (Heslop-Harrison 1963, 1964, 1968, 1971; Stanley and Linskens 1974; Bhojwani and Bhatnagar 1978; Knox 1984), with subsequent deposition of primexine between the callose wall and the plasma membrane of each microspore (Heslop-Harrison 1963, 1971; Bhojwani and Bhatnagar 1978; Knox 1984). Primexine is the precursor of exine (Heslop-Harrison 1971) and the matrix in which the polymerization of sporopollenin will occur (Knox 1984). After the enzymatic dissolution of the callose wall, the microspores become free and continue to develop into individual pollen grains, the monads (Izhar and Frankel 1971; Stanley and Linskens 1974; Bhojwani and Bhatnagar 1978); at this stage of development, the intine begins its formation (Heslop-Harrison 1963, 1964, 1971; Stanley and Linskens 1974; Bhojwani and Bhatnagar 1978).

In some families of angiosperms, such as Goodeniaceae (Knox and Friederich 1974), Monimiaceae (Sampson 1977), Apocynaceae (Vijayaraghavan and Shukla 1977), and Ericaceae (Takahashi and Sohma 1980), there is the reduction or absence of a callose wall separating each of the microspores from the tetrad, leading to the fusion of their walls and the production of aggregated or compound pollen grains, instead of monads. These aggregated pollen grains may constitute dyads, triads, tetrads, polyads, or masses (Knox and McConchie 1986), depending on the quantity of microspores of the tetrad or of tetrads remaining together. It is believed that aggregated pollen grains have emerged as an adaptation to low numbers of visits performed by some pollinators in entomophilic species; however, there are also records of the occurrence of pollen grains of this type in species pollinated by water and wind (Harder and Johnson 2008).

In addition to the reduction or absence of the callose wall, aggregated pollen grains may arise from delayed digestion of the microsporocyte wall, which, after cytokinesis, continues to envelop the four microspores and leads to the fusion of their pollen walls (Rhee and Somerville 1998; Rhee et al. 2003; Lora et al. 2009). Aggregated pollen grains may also be formed by the presence of viscous substances (pollenkitt, tryphine, and viscin threads) that group monads or aggregated pollen grains into a single dispersion unit (Hesse 1981; Pacini 1990; Harder and Johnson 2008).

Among the types of aggregated pollen grains, the tetrad stands out for occurring in 39 to 52 families (Walker and Doyle 1975; Copenhaver 2005; Harder and Johnson 2008) and in 581 species of angiosperms (Copenhaver 2005). In monocots, pollen grains of this kind are reported for Amaryllidaceae, Araceae, Bromeliaceae, Cyperaceae, Hydrocharitaceae, Juncaceae, Orchidaceae, Philydraceae, Thurniaceae, Typhaceae, and Velloziaceae (Copenhaver 2005). It should be noted that Cyperaceae, Juncaceae, and Thurniaceae form the cyperid clade in Poales (Linder and Rudall 2005; Givnish et al. 2010) and have the permanent tetrad as one of their embryological synapomorphies (Dahlgren et al. 1985; Simpson 1995).

In Juncaceae and Thurniaceae, the permanent tetrad results from simultaneous microsporogenesis, whose cytokinesis occurs only after the end of the second meiotic division, with the formation of four microspores that develop and remain united (Maheshwari 1950; Furness and Rudall 1999). In Cyperaceae, a variation in simultaneous microsporogenesis occurs, called Cyperaceae-type simultaneous microsporogenesis (Simpson 1995), in which the pollen grain formed is a reduced tetrad (Wulff 1939; Linder and Rudall 2005), called a pseudomonad (Selling 1947). In this type of microsporogenesis, three of the four microspores formed at the end of meiosis degenerate, leaving only one functional microspore, which gives rise to the pseudomonad (e.g., Nagaraj and Nijalingappa 1972; Coan et al. 2010).

Juncaceae comprises about 440 species (Kirschner et al. 2002a) distributed in eight genera: *Distichia* Nees & Meyen, *Juncus* L., *Luzula* DC., *Marsippospermum* Desv., *Oreojuncus* Záv. Drábek & Kirschner, *Oxychloë* Phil., *Patosia* Buchenau, and *Rostkovia* Desv. (Trias-Blasi et al. 2015). *Juncus* has the greatest species richness, including 315 species grouped into two subgenera: *Agathryon* Raf. and *Juncus* L. (Kirschner et al. 2002b, c). Historically, studies of developmental aspects of the permanent tetrad wall in Juncaceae have been restricted to *Juncus* (Wulff 1939; Meyer and Yaroshevskaya 1976) and *Luzula* (Lambert 1969, 1970; Furness and Rudall 1999). The tetrads of Juncaceae have been described as calymmate (Blackmore and Crane 1988), and cohesion occurs due to the continuous exine along the surface of the tetrad (Lambert 1970; Meyer and Yaroshevskaya 1976; Furness and Rudall 1999). According to Furness and Rudall (1999), there is no deposition of callose wall during the formation of the pollen wall in *Juncus* (as described by Meyer and Yaroshevskaya 1976) or during the microsporogenesis of *Luzula*, and the internal walls of the tetrad are formed only by intine with traces of exine.

In this paper, we report the formation of the pollen grain wall of seven species of *Juncus* in order to characterize the timing and ontogenetic events that lead to the cohesion of the four pollen grains in a permanent tetrad.

Materials and Methods

The species studied, as well as the collection sites and data, are listed in Table 1. Testimonial material was deposited at the Herbarium Rioclarense (HRCB) (acronym according to Thiers 2020). The selection of taxa was mainly based on the occurrence in natural areas in the State of São Paulo, Brazil, optimizing the collection and fixation of the different developmental stages; additional material from the spirit collection was also analyzed, especially for *Juncus microcephalus* Kunth.

Light microscopy (LM)

Inflorescences at different stages of development were fixed in FAA 50 (37% formaldehyde, 100% glacial acetic acid, 50% ethyl alcohol, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940) and later stored in 70% ethanol, with a few drops of glycerin.

Flowers or isolated stamens were dehydrated in an n-butyl alcohol series and included in Leica historesin (Feder and O'Brien 1968). The material was sectioned at a thickness of 7µm, with disposable steel knives, on a rotary microtome (Leica, Reichert-Jung 2040). Most of the anatomical sections obtained were stained with periodic acid-Schiff reagent (PAS reaction) and toluidine blue (Feder and O'Brien 1968) and mounted in Entellan. Selected anatomical sections were photographed in a photomicroscope (Leica DMLB) with a coupled digital camera (Leica DFC 295) using the LAS image scanning program (Leica Application Suite V3.3.0). Some of the sections were histochemically tested using aniline blue to detect the presence of callose during the development of the pollen grain wall (Chamberlain 1932, modified)—observations were made in the same equipment described above which is coupled with the EBQ 100 fluorescence system.

Scanning Electron Microscopy (SEM)

Stamens with dehiscent anthers were separated from the flowers, fixed in FAA 50, dehydrated in an ethyl alcohol series, and submitted to critical point drying with carbon dioxide (Balzers CPD 030 Critical Point Dryer). Then, the anthers were dissected and fixed onto stubs using double-sided adhesive tape and metallized with gold (10 nm) (Balzers SDC 050 Sputter Coater). The samples were analyzed under a Hitachi TM3000 scanning electron microscope

operated at 20 kV, and images were acquired with the aid of TM3000 software version 02-02-03.

Transmission Electron Microscopy (TEM)

Anthers separated from flowers were fixed in refrigerated Karnovsky solution (2.5% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde, 0.05M cacodylate buffer) at pH 7.2 (Karnovsky 1965). The samples were then rinsed in refrigerated 0.1M cacodylate buffer and then post-fixed with 1% osmium tetroxide in the same buffer for 1 hour. After post-fixing, the anthers were rinsed in distilled water, contrasted in 0.5% uranyl acetate, then dehydrated in a graded acetone series, and embedded in Spurr resin (Spurr 1969).

Ultrathin sections were made on a Leica UCT ultramicrotome with glass knives, later stained with uranyl acetate (Watson 1958) for 20 minutes and lead citrate (Reynolds 1963) for 10 minutes, and examined under a transmission electron microscope (JEOL JEM 1011) at 60 kV.

Results

As the development of the pollen tetrad was similar for all species of *Juncus* here studied, a common description is here presented.

The wall of the immature anther consists of four layers: epidermis, endothecium, middle layer, and tapetum (Fig. 1a, b). These layers are single-layered and formed of cells with dense cytoplasm, prominent nuclei, and many vacuoles (Fig. 1a, b). The microsporocytes are polygonal in shape, fill the entire microsporangium cavity, and all are in direct contact with the tapetum cells (Fig. 1b). The microsporocytes also present dense cytoplasm and a conspicuous and central nucleus with a prominent nucleolus (Fig. 1a, b).

As the microsporocyte differentiates, callose deposits internally to the primary cell wall (Fig. 1c–e). This callose deposition occurs unevenly around the microsporocyte (Fig. 1e) and is secreted through vesicles, which fuse to the plasma membrane (Fig. 1f).

Before the onset of meiosis, the cells of the epidermis, endothecium, and tapetum vacuolize, and the callose wall around each microsporocyte dissolves (Fig. 2a). The middle lamella and the primary wall of the microsporocytes are persistent at this stage (Fig. 2a). Microsporogenesis is simultaneous (Fig. 2b–d), and the four nuclei of microspores exhibit a tetrahedral arrangement (Fig. 2d). At the end of the second meiotic division, electron-dense

material from microvesicles produced in the tetrad cytoplasm is deposited onto the plasma membrane, initiating the formation of primexine (Fig. 2e).

At a later stage, it can be observed that the microspore tetrads release sporopollenin which is deposited on the primexine matrix (Fig. 3a) to constitute the exine (Fig. 3b); the sporopollenin released by the tapetal cells inside the anther locule polymerize to form the Ubisch bodies gradually resulting in the peritapetal membrane of the microsporangium (Fig. 3c).

Cytokinesis begins with the alignment and fusion of vesicles between the future highly vacuolized tetrad microspores, forming the cell plates—these plates are formed from the center of the tetrad towards the periphery, that is, centrifugally (Fig. 3a). The cell plates fuse and create a single continuous internal wall.

The nucleus of each microspore passes through mitosis, originating the generative and vegetative cells (Fig. 4a). In this stage of development, the primexine, below the protecta, gradually molds into procolumellae (Fig. 4b, c), leading to the differentiation of the tectum, columella, and foot layer (Fig. 4c) which constitute the exine (Fig. 4b, c). The tectum is continuous along the tetrad (Fig. 4c), except in the aperture regions, where it is discontinuous and reduced and the columellar region is granular (Fig. 4d). The foot layer is thin and envelops each pollen grain formed (Fig. 4c, f); this layer is thick only in the opening regions (Fig. 4d). In the internal wall, traces of exine can be observed (Fig. 4f), probably from the fusion of the internal wall with the external wall (Fig. 4e). Concomitant with the completion of the exine, stabilization of the intine occurs internally, consisting of polysaccharides (Fig. 4b–f).

In the mature anther, the middle layer and the tapetum degenerate (Fig. 4g), leaving the anther wall consisting only of the epidermis and endothecium, whose wall thickens helicoidally (Fig. 4h). In this phase of development, the exine completely envelops the surface of the pollen tetrad, including in the region of cohesion to adjacent pollen grains (Fig. 5a). The internal wall (consisting of a thin foot layer) is continuous among the pollen grains, while the intine surrounds each pollen grain of the tetrad (Fig. 5a). On each pollen grain, it is possible to observe the nucleus of the vegetative cell and the two spermatocytic cells (Figs. 4h and 5b).

Micromorphologically, the permanent tetrad presents three distinct regions (Fig. 5c): 1) the region of cohesion between adjacent pollen grains; 2) the peripheral region of each pollen grain (with homogeneous exine differentiated in tectum and columella as seen in Fig. 4c), and 3) the central region of each pollen grain, with a granular appearance, which corresponds to the opening region (where the exine has a discontinuous tectum as seen in Fig. 4d, and where pollen tube germination occurs (Fig. 5d)).

Discussion

The wall of the pollen tetrad in the *Juncus* species studied begins to develop at the coenocytic microsporocyte stage. This wall consists of exine and intine, the former stratified in tectum, columellae, and foot layer. The formation of the pollen wall still in the microsporocyte stage has also been reported in *Juncus bufonius* L. (Juncaceae) and species of Cyperaceae (Meyer and Yaroshevskaya 1976). However, the formation of the wall of the pseudomonad in *Eleocharis* R.Br. (Cyperaceae) has been described as initiated in the tetrad stage of the microspores (Dunbar 1973).

In other species of angiosperms that disperse aggregated pollen grains, in general, the pollen wall develops on the newly formed microspores, and each microspore has its own wall before fusion (Sampson 1977; Takahashi 1979; Takahashi and Sohma 1980, 1984; Knox and McConchie 1986; Tsou and Fu 2002; Lora et al. 2009; Yue et al. 2017). In the present study, as previously mentioned, the pollen wall begins to develop over the coenocytic microsporocyte after the second meiotic division—the middle lamella and the primary wall of the microsporocytes are persistent in this stage. Persistent primary wall has been previously reported on pollinia of *Epidendrum ibaguense* Kunth (Orchidaceae) by Yeung (1987) and on permanent tetrads of *Mimosa balansae* Micheli (Fabaceae) by Caccavari and Galati (1998) and of *Annona cherimolla* Mill. (Annonaceae) by Lora et al. (2009).

Each newly formed microspore in the species of *Juncus* here studied has its own external wall, which extends into the cohesion region, but they share the same internal wall. The anticipation of the development of the pollen wall and late persistence of the middle lamella and the primary wall of the microsporocyte may be critical events for the presence of pollen tetrads in *Juncus*.

In the *Juncus* species studied here, simultaneous cytokinesis occurs by the formation of centrifugal cell plates, whereas in *Luzula forsteri* (Sm.) DC. cytokinesis occurs by centripetal furrows (Furness and Rudall 1999). This observation indicates that this process is heterogeneous in these two genera although a few species have been analyzed so far and may point to the need for verification in more representatives including the other genera of Juncaceae.

As for the external wall surrounding the pollen tetrad in the species studied here, we speculate that primexine acts as a mold for the formation of the ornamentation of exine. This result confirms the suggestion of Godwin et al. (1967) that primexine acts as a negative mold

of exine, as observed in *Ipomoea purpurea* (L.) Roth. (Convolvulaceae). In *Eleocharis* (Cyperaceae), the primexine layer is formed only in association with the callose envelope and is thus observed on the external wall and not on the internal wall, where no callose is deposited (Dunbar 1973). According to Dunbar (1973), the preformed pattern of the sculpted part of the future wall is probably deposited on the primexine by the combined influence of the callose layer and the plasma membrane.

Callose is dissolved by the enzyme callase (Heslop-Harrison 1968, 1971; Izhar and Frankel 1971), whose activity is mediated by a pH between 5.9 and 6.2 (Izhar and Frankel 1971). The time of callase activity is crucial for the pollen grain to develop normally, because when its activity time is altered, the pollen grain's viability can be affected (Izhar and Frankel 1971). Premature dissolution of the callose wall around the microsporocyte has been shown to produce defective exine as well as sterility, due to the rupture of the microspores after being released from the tetrad (Worrall et al. 1992). Worrall et al. (1992) suggest that the callose wall plays an important role in the correct establishment of the exine layer in the microspore wall, giving structural integrity for the microspore to follow its development. The callose wall is dissolved before meiosis and thus is absent around the microsporocyte at the time of formation of the pollen wall in the *Juncus* species studied here; however, contrary to the studies described above, the pollen wall has an ornate exine layer, and all four pollen grains are viable.

In *Juncus bufonius*, callose is absent during the formation of the pollen wall (Meyer and Yaroshevskaya 1976) and thus does not hinder the development of the permanent tetrad. The callose is deposited around the microsporocyte in *Eleocharis* (Cyperaceae) and only dissolves after the beginning of the wall formation of the pseudomonads, at the end of the tetrad stage of the microspores (Dunbar 1973). In this genus of Cyperaceae, callose is not deposited on the cell plates, that is, it is not deposited among the tetrad microspores, and also no primexine is deposited among them (Dunbar 1973). Callose is also observed in the intine of species of Cyperaceae, for example, in *Eleocharis* (Dunbar 1973; Rocha et al. 2018) and *Rhynchospora* Vahl (Rocha et al. 2018), and it has been suggested that its function is to isolate the vegetative and generative cells and the degenerated microspores, so that they can develop independently from one another (Rocha et al. 2018).

The cohesion of the pollen grains in the *Juncus* species studied here occurs by the presence of a wall of exine around the tetrad, which extends beyond the cohesion zone, and by presenting a continuous internal wall among the four pollen grains. As the tectum and the columellae are continuous along the surface of the tetrad, we consider that the cohesion is of a simple type, as described by Knox and McConchie (1986).

Lambert (1970) schematized the openings in the pollen tetrad in *Luzula*, and Meyer and Yaroshevskaya (1976) reported them as distal in the pollen grains in *Juncus*. In the present study, these openings, ultrastructurally, have an exine (composed of reduced tectum and columellae and thick foot layer) and an intine.

In conclusion, the pollen tetrad in the *Juncus* species studied is the result of the combination of the presence of an exine wall around the tetrad and a continuous internal wall among the pollen grains, due to the absence of a temporary septum among the newly formed microspores. Further ontogenetic studies of the pollen wall are necessary for more representatives of Juncaceae and also for Cyperaceae, a family phylogenetic close to Juncaceae, in order to know if callose has any influence on the formation of the pollen wall and on the loss of viability of three of the four microspores formed after microsporogenesis.

Acknowledgments The authors thank Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima for permission to use the facilities of Laboratório de Microscopia Eletrônica aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA - ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo, Brazil) and to Renato Barbosa Salaroli for the technical assistance with the TEM.

Authors' contributions The present study is part of the Ph.D. Thesis of the first author. All authors contributed to its conception and design. Material preparation and data collection were performed by Fernanda Passarini Lopes and analysis was performed by all authors. All authors contributed and approved the final version of the present manuscript.

Funding This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – Ph.D. Scholarship process number 141848/2017-0 to F.P.L. and Research Grant processes numbers 307515/2015-0 and 309504/2018-0 to A.I.C.) and by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – PNPd – Finance Code 001 to A.O.).

Availability of data and material The authors confirm that the data supporting the findings of this study are available within the manuscript.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest/Competing interests The authors declare that there is no conflict of interest.

Ethics approval Not applicable.

Consent to participate Not applicable.

Consent for publication All authors give their consent for information to be published in Protoplasma.

Code availability Not applicable.

References

- Bhojwani SS, Bhatnagar SP (1978) The Embryology of Angiosperms. Vikas Publishing House PVT, New Delhi
- Blackmore S, Crane PR (1988) The systematic implications of pollen and spore ontogeny. In: Humphries CJ (ed) Ontogeny and Systematics. Columbia University Press, New York, pp 83–115
- Caccavari MA, Galati B (1998) Pollen development in *Mimosa balansae*. Phytomorphology 48(4):371–381
- Chamberlain CJ (1932) Methods in plant histology. The University of Chicago Press, Chicago
- Coan AI, Alves MV, Scatena VL (2010) Evidence of pseudomonad pollen formation in *Hypolytrum* (Mapanioideae, Cyperaceae). Aust J Bot 58:663–672. <https://doi.org/10.1071/BT10149>
- Copenhaver GP (2005) A compendium of plant species producing pollen tetrads. J N C Acad Sci 121(1):17–35
- Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF (1985) The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy. Springer, Berlin
- Dunbar A (1973) Pollen development in the *Eleocharis palustris* group (Cyperaceae). I. Ultrastructure and ontogeny. Bot Notiser 126:197–254
- Feder N, O'Brien TP (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. Am J Bot 55(1):123–142. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1968.tb06952.x>

- Furness CA, Rudall PJ (1999) Microsporogenesis in monocotyledons. *Ann Bot* 84:475–499. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0942>
- Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, dePamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Durvall MR, Moore MJ, Heaney JM, Soltis DE, Soltis PS, Thiele K, Leebens-Mack JH (2010) Assembling the tree of the Monocotyledons: Plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Ann Mo Bot Gard* 97(4):584–616. <https://doi.org/10.3417/2010023>
- Godwin H, Echlin P, Chapman B (1967) The development of the pollen grain wall in *Ipomoea purpurea* (L.) Roth. *Rev Palaeobot Palynol* 3:181–195. [https://doi.org/10.1016/0034-6667\(67\)90051-6](https://doi.org/10.1016/0034-6667(67)90051-6)
- Harder LD, Johnson SD (2008) Function and evolution of aggregated pollen in Angiosperms. *Int J Plant Sci* 169(1):59–78. <https://doi.org/10.1086/523364>
- Heslop-Harrison J (1963) An ultrastructural study of pollen wall ontogeny in *Silene pendula*. *Grana* 4(1):7–24. <https://doi.org/10.1080/00173136309437854>
- Heslop-Harrison J (1964) Cells walls, cell membranes and protoplasmic connections during meiosis and pollen development. In: Linskens HF (ed) *Pollen physiology and fertilization*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, pp 39–47
- Heslop-Harrison J (1968) Pollen wall development. *Science* 161:230–237. <https://doi.org/10.1126/science.161.3838.230>
- Heslop-Harrison J (1971) The pollen wall: structure and development. In: Heslop-Harrison J (ed) *Pollen: Development and physiology*. Butterworth-Heinemann, London, pp 75–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-408-70149-5.50013-0>
- Hesse M (1981) Pollenkitt and viscin threads: their role in cementing pollen grains. *Grana* 20(3):145–152. <https://doi.org/10.1080/00173138109427656>
- Izhar S, Frankel R (1971) Mechanism of male sterility in *Petunia*: The relationship between pH, callase activity in the anthers, and the breakdown of the microsporogenesis. *Theor Appl Genet* 41(3):104–108. <https://doi.org/10.1007/BF00277751>
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York
- Karnovsky MJ (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27(2):137A.
- Kirschner J et al (2002a). *Juncaceae 1: Rostkovia to Luzula*. *Species Plantarum: Flora of the World Part 6*. Australian Biological Resources Study, Canberra
- Kirschner J et al (2002b) *Juncaceae 2: Juncus subg. Juncus*. *Species Plantarum: Flora of the World Part 7*. Australian Biological Resources Study, Canberra

- Kirschner J et al (2002c) Juncaceae 3: *Juncus* subg. *Agathryon*. Species Plantarum: Flora of the World 8. Australian Biological Resources Study, Canberra
- Knox RB (1984) The pollen grain. In: Johri BM (ed.) Embryology of Angiosperms. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp 197–271. https://doi.org/10.1007/978-3-642-69302-1_5
- Knox RB, Friederich E (1974) Tetrad pollen grain development and sterility in *Leschenaultia formosa* (Goodeniaceae). New Phytol 73:251–258. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1974.tb04622.x>
- Knox RB, McConchie CA (1986) Structure and function of compound pollen. In: Blackmore S, Ferguson IK (eds) Pollen and Spores: Form and Function. Linnean Society Symposium Series, number 12, Academic Press, London, pp 265–282
- Lambert AM (1969) Observations sur la première mitose pollinique de Luzules. C R Séances Acad Sci, Sér D, Sci Nat 269:153–156
- Lambert AM (1970) Formation et différenciation des grains de pollen chez les Luzules (Structures et Ultrastructures). Bull Acad Soc Lorraines Sci 9(1):147–149
- Linder HP, Rudall PJ (2005) Evolutionary history of Poales. Annu Rev Ecol Evol Syst 36:107–124. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.36.102403.135635>
- Lora J, Testillano PS, Risueño MC, Hormaza JI, Herrero M (2009) Pollen development in *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae). Implications for the evolution of aggregated pollen. BMC Plant Biol 9:129. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-129>
- Maheshwari P (1950) An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill, New York
- Meyer NR, Yaroshevskaya AS (1976) The phylogenetic significance of the development of pollen grain walls in Liliaceae, Juncaceae and Cyperaceae. In: Ferguson IK, Muller J (eds) The evolutionary significance of the exine. Linnean Society Symposium Series, number 1, Academic Press, London, pp 91–100
- Nagaraj M, Nijalingappa BHM (1972) Sporogeneses and development of gametophytes in *Hypolytrum latifolium* L.C. Rich. Curr Sci India 41(7):260–261
- Pacini E (1990) Tapetum and microspore function. In: Blackmore S, Knox RB (eds) Microspores: evolution and ontogeny. Academic Press, London, pp 213–237
- Reynolds ES (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 17(1):208–212. <https://doi.org/10.1083/jcb.17.1.208>
- Rhee SY, Somerville CR (1998) Tetrad pollen formation in *quartet* mutants of *Arabidopsis thaliana* is associated with persistence of pectic polysaccharides of the pollen mother cell wall. Plant J 15(1):79–88. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1998.00183.x>

- Rhee SY, Osborne E, Poindexter PD, Somerville CR (2003) Microspore separation in the *quartet 3* mutants of *Arabidopsis* is impaired by a defect in a developmentally regulated polygalacturonase required for pollen mother cell wall degradation. *Plant Physiol* 133:1170–1180. <https://doi.org/10.1104/pp.103.028266>
- Rocha DM, Vanzela ALL, Mariath JEA (2018) Comparative study of microgametogenesis in members of Cyperaceae and Juncaceae: a shift from permanent pollen tetrads to pseudomonads. *Bot J Linn Soc* 188(1):59–73. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy041>
- Sampson FB (1977) Pollen tetrads of *Hedycarya arborea* J. R. et G. Forst (Monimiaceae). *Grana* 16(2):61–73. <https://doi.org/10.1080/00173134.1977.11864640>
- Selling OH (1947) Studies in Hawaiian pollen statistics. II. The pollen of the Hawaiian phanerogams. Special Publication, Bernice Pauahi Bishop Museum, Bishop Museum, Honolulu, 38:1–430
- Simpson D (1995) Relationships within Cyperales. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds) *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 497–509
- Spurr AR (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J Ultrastruct Res* 26:31–43
- Stanley RG, Linskens HF (1974) *Pollen: biology, biochemistry, management*. Springer-Verlag, Berlin
- Takahashi H (1979) Pollen development in *Chimaphila japonica* Miq. (Pyrolaceae). *Sci Rep Tôhoku Univ, Ser 4, Biol* 37:263–272
- Takahashi H, Sohma K (1980) Pollen development in *Pyrola japonica* Klenze. *Sci Rep Tôhoku Univ, Ser 4, Biol* 38:57–71
- Takahashi H, Sohma K (1984) Development of pollen tetrad in *Typha latifolia* L. *Pollen et Spores* 26(1):5–18
- Thiers B (2020) [continuously updated] Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>. Accessed on 04 October 2020
- Trias-Blasi A, Baker WJ, Haigh AL, Simpson DA, Weber O, Wilkin P (2015) A genus-level phylogenetic linear sequence of monocots. *Taxon* 64(3):552–581. <https://doi.org/10.12705/643.9>
- Tsou C-H, Fu Y-L (2002) Tetrad pollen formation in *Annona* (Annonaceae): Proexine formation and binding mechanism. *Am J Bot* 89(5):734–747. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.5.734>

- Vijayaraghavan MR, Shukla AK (1977) Absence of callose around the microspore tetrad and poorly developed exine in *Pergularia daemia*. *Ann Bot* 41(5):923–926. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085388>
- Walker JW, Doyle JA (1975) The bases of angiosperm phylogeny: palynology. *Ann Mo Bot Gard* 62:664–723
- Watson ML (1958) Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol* 4(4):475–478. <https://doi.org/10.1083/jcb.4.4.475>
- Worrall D, Hird DL, Hodge R, Paul W, Draper J, Scott R (1992) Premature dissolution of the microsporocyte callose wall causes male sterility in transgenic tobacco. *Plant Cell* 4:759–771. <https://doi.org/10.1105/tpc.4.7.759>
- Wulff HD (1939) Die pollenentwicklung der Juncaceen nebst einer auswertung der embryologischen befunde hinsichtlich einer verwandtschaft zwischen den Juncaceen und Cyperaceen. *Jahrb Wiss Botanik* 87:533–556
- Yeung EC (1987) Mechanisms of pollen aggregation into pollinia in *Epidendrum ibaguense* (Orchidaceae). *Grana* 26(1):47–52. <https://doi.org/10.1080/00173138709428903>
- Yue L, Kuang Y, Liao J (2017) Ontogeny of permanent tetrads in *Gardenia jasminoides* (Rubiaceae) provides insight into pollen evolution. *Rev Palaeobot Palynol* 247:120–132. <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2017.09.004>

Illustrations

Fig. 1 Young anthers with developing microsporocytes in *Juncus imbricatus* (**a, c–f**) and *J. acutus* (**b**), in TEM (**a, c–f**) and LM (**b**). **a, b** Details of microsporangia showing the developing anther wall and the microsporocytes. **c** Microsporocytes surrounded by the callose wall showing accumulation of callose vesicles (arrow) in the region close to the tapetum. **d** Detail of callose walls of two adjacent microsporocytes. **e** Detail of a microsporocyte surrounded by callose. **f** Vesicles (arrows) releasing callose on the microsporocyte plasma membrane. C, callose; E, epidermis; En, endothecium; Mi, microsporocyte; ML, middle layer; Nu, nucleolus; T, tapetum; V, vacuole. Scale bars: **a, c, e** = 2µm; **b**= 25µm; **d**= 200nm; **f**= 1µm

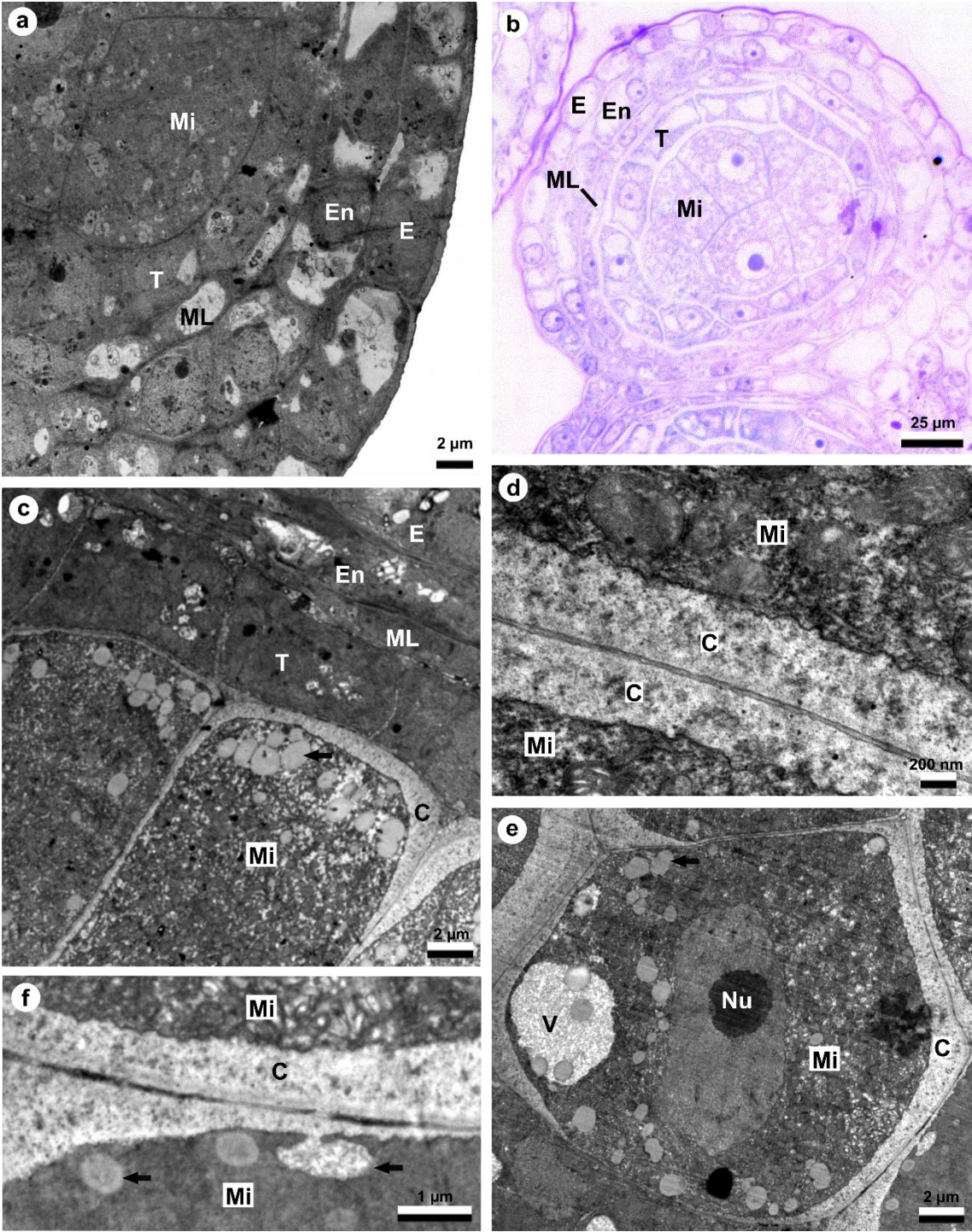


Fig. 2 Pollen wall development during microsporogenesis in *Juncus imbricatus* (**a, e**) and *J. pallescens* (**b–d**), in TEM (**a, e**) and LM (**b–d**). **a** Detail of anther wall before microsporocyte meiosis. **b** First meiotic division, showing the primary cell wall (arrows) still surrounding the dividing microsporocyte. **c, d** Details of microsporangia showing the end of the second meiotic division of microsporocytes. **e** Primexine inception over coenocytic microsporocyte after meiosis II. E, epidermis; En, endothecium; Mi, microsporocyte; ML, middle layer; Pr, primexine; T, tapetum. Scale bars: **a**=5µm; **b–d**= 25µm; **e**= 500nm

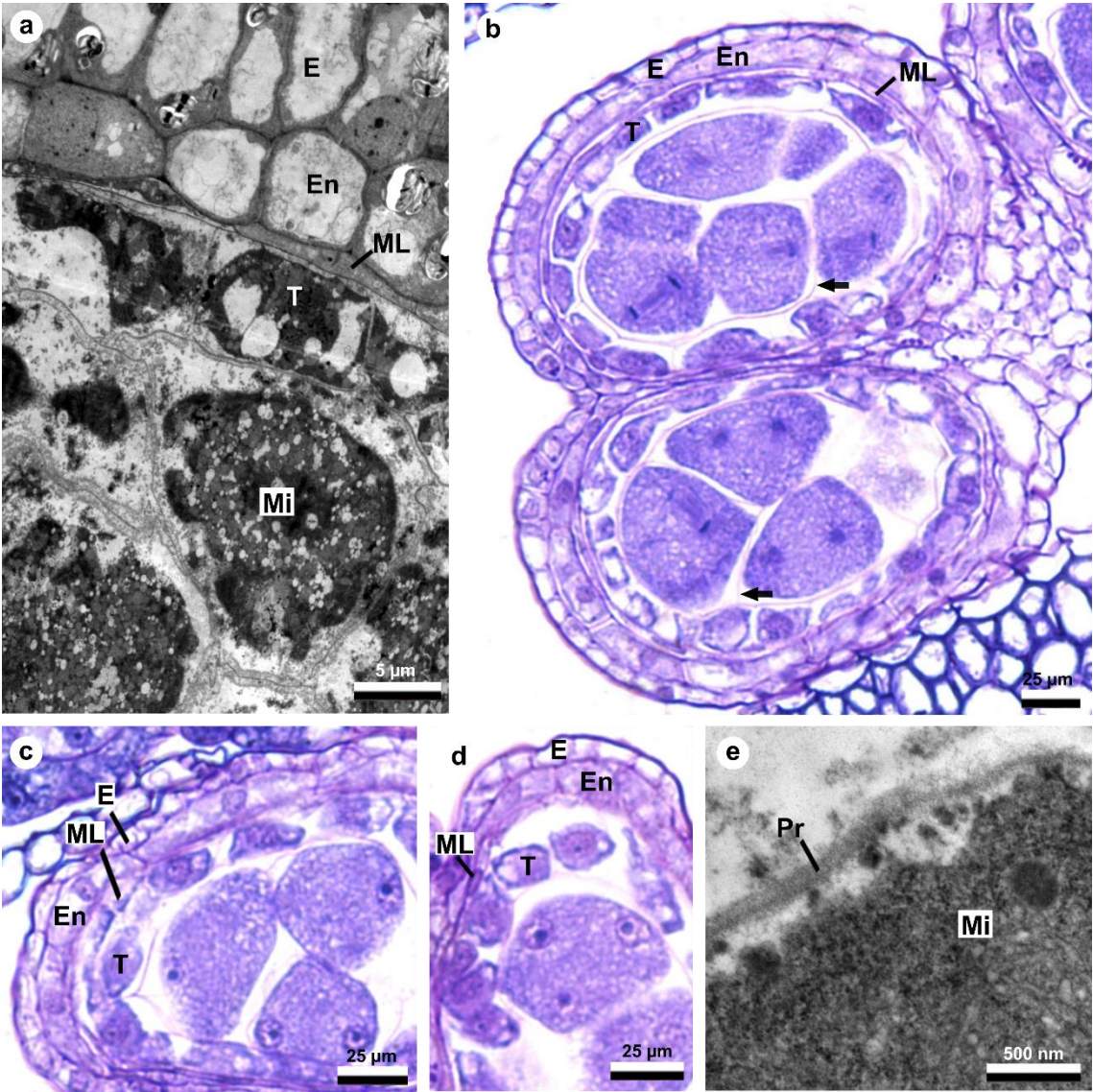


Fig. 3 Ultrastructure of the microspore tetrad and anther wall during cytokinesis in *Juncus pallescens*. **a** Formation of cell plates (arrows) and deposition of sporopollenin on the primexine matrix. **b** Exine formation on the microspore tetrad wall. **c** Detail of anther wall, showing the Ubisch bodies. En, endothecium; FL, foot layer; ML, middle layer; Pt, protectum; S, sporopollenin; T, tapetum; UB, Ubisch Bodies; V, vacuole. Scale bars: **a**, **b**= 2 μ m; **c**= 500nm

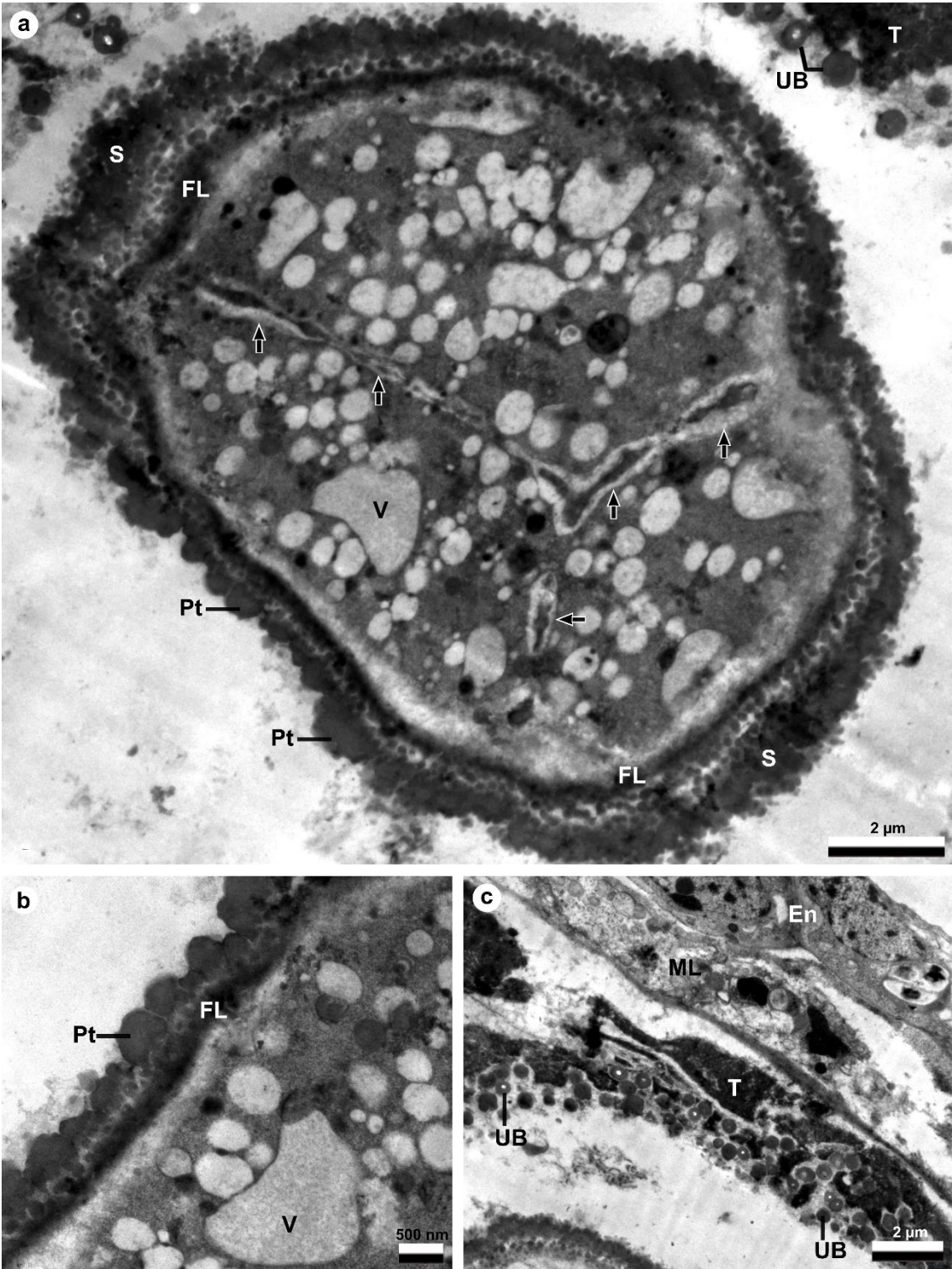


Fig. 4 Pollen wall development during microgametogenesis in *Juncus acutus* (**a**), *J. pallescens* (**b–e**), *J. imbricatus* (**f**), *J. microcephalus* (**g, h**), in LM (**a, g, h**) and TEM (**b–f**). **a** Detail of one of the four pollen grains of a tetrad, showing the nuclei of both the generative and vegetative cells. **b, c** Details of pollen tetrads walls, showing both the exine (formed by tectum, columella, and foot layer) and intine. **d** Detail of pollen tetrad wall in the opening region showing the thick foot layer. **e, f** Details of the regions in which the internal wall joins the external wall, which surrounds the pollen tetrad. **g** Developing anther showing desintegration of tapetum. **h** Dehiscent anther, showing the anther wall formed only by the epidermis and endothecium. Co, columella; E, epidermis; En, endothecium; FL, foot layer; GN, generative nucleus; In, intine; Pc, procolumella; Pr, primexine; Pt, protectum; SN, spermatic nucleus; Te, tectum; V, vacuole; VN, vegetative nucleus. Scale bars: **a, g**= 25µm; **b, c, e**= 500nm; **d**= 1µm; **f**= 2µm; **h**= 10µm

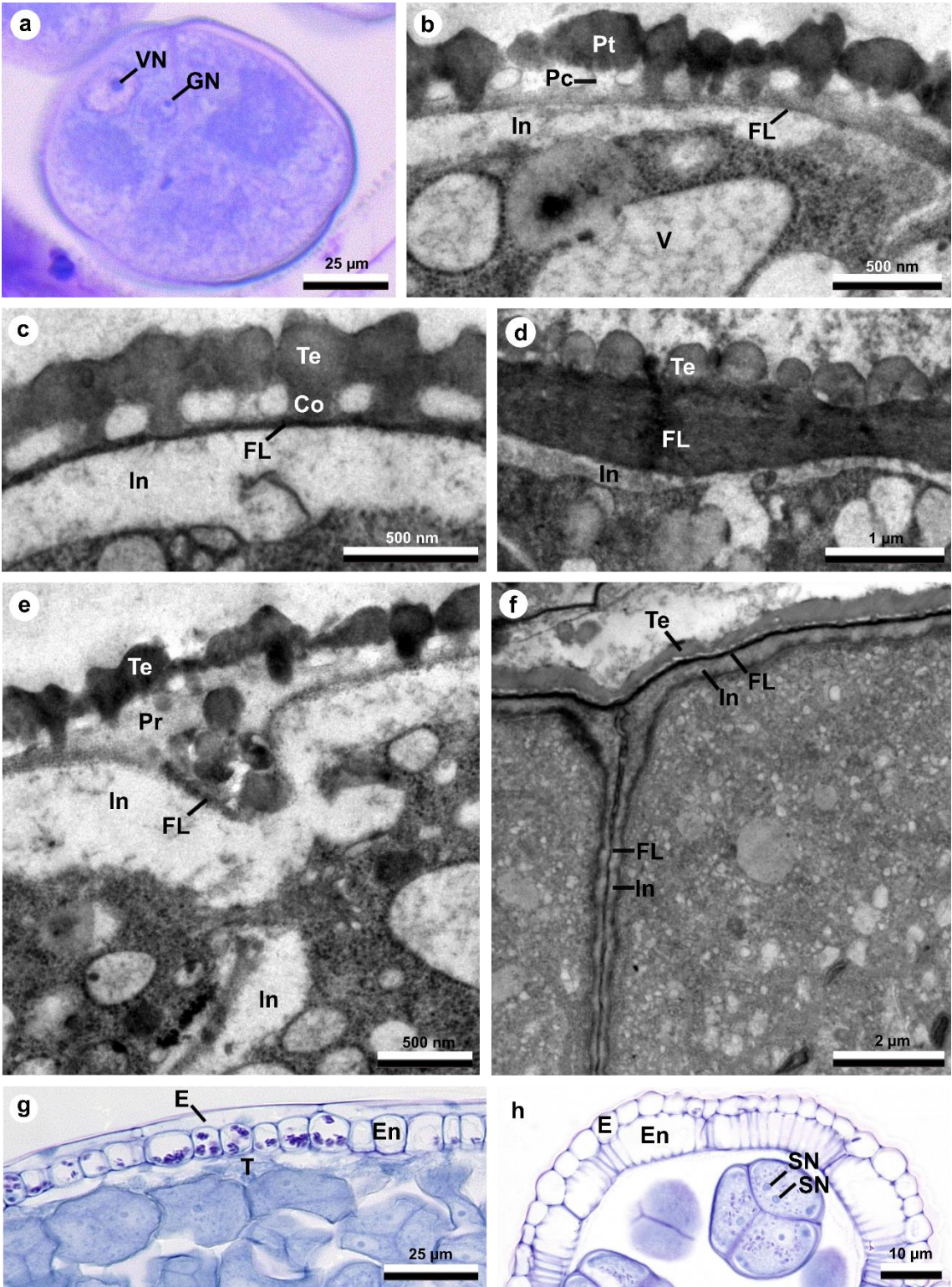


Fig. 5 Mature pollen tetrads of *Juncus pallescens* (**a**), *J. tenuis* var. *dichotomus* (**b**), *J. microcephalus* (**c**) and *J. micranthus* (**d**), in TEM (**a, b**), SEM (**c**) and LM (**d**). **a** Detail of a pollen tetrad showing three of the four pollen grains and the pollen wall completely formed. **b** Detail of a pollen grain of the tetrad, showing the vegetative nucleus and two spermatocytic cells. **c** Micromorphology of the mature pollen tetrad, showing the following regions: 1 – region of cohesion between adjacent pollen grains, 2 – peripheral, and 3 – central with the opening. **d** Germinated pollen tetrad showing pollen tubes. En, endohectium; Ex, exine; In, intine; PT, pollen tube; SN, spermatocytic nucleus; VN, vegetative nucleus. Scale bars: **a**= 2500nm; **b**= 2µm; **c, d**=5µm

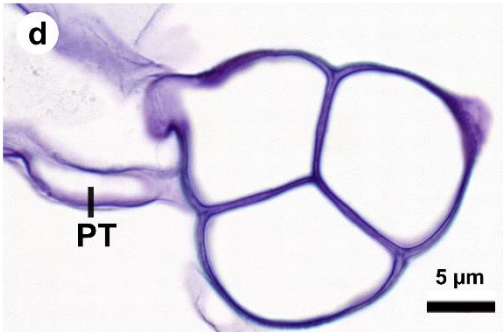
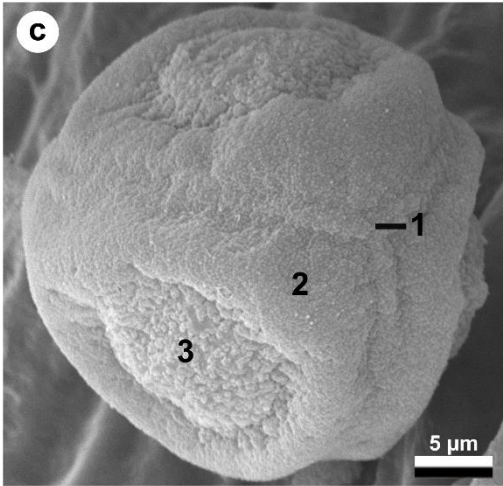
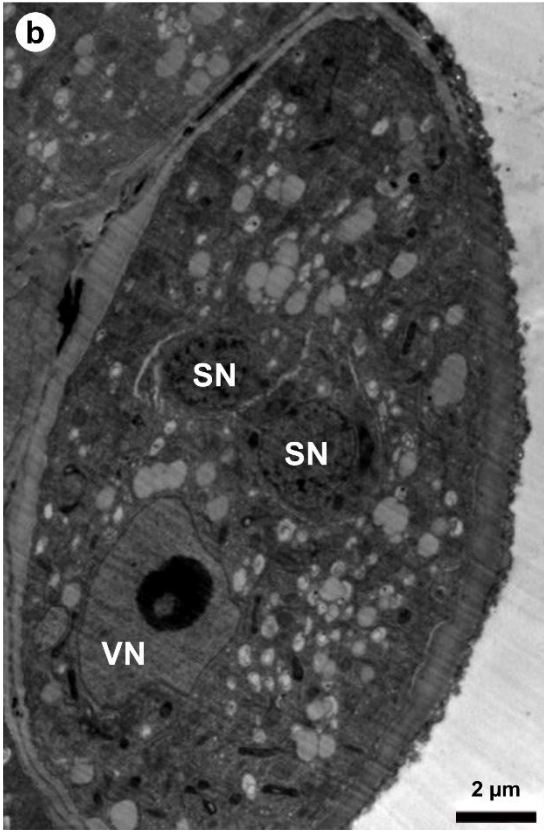
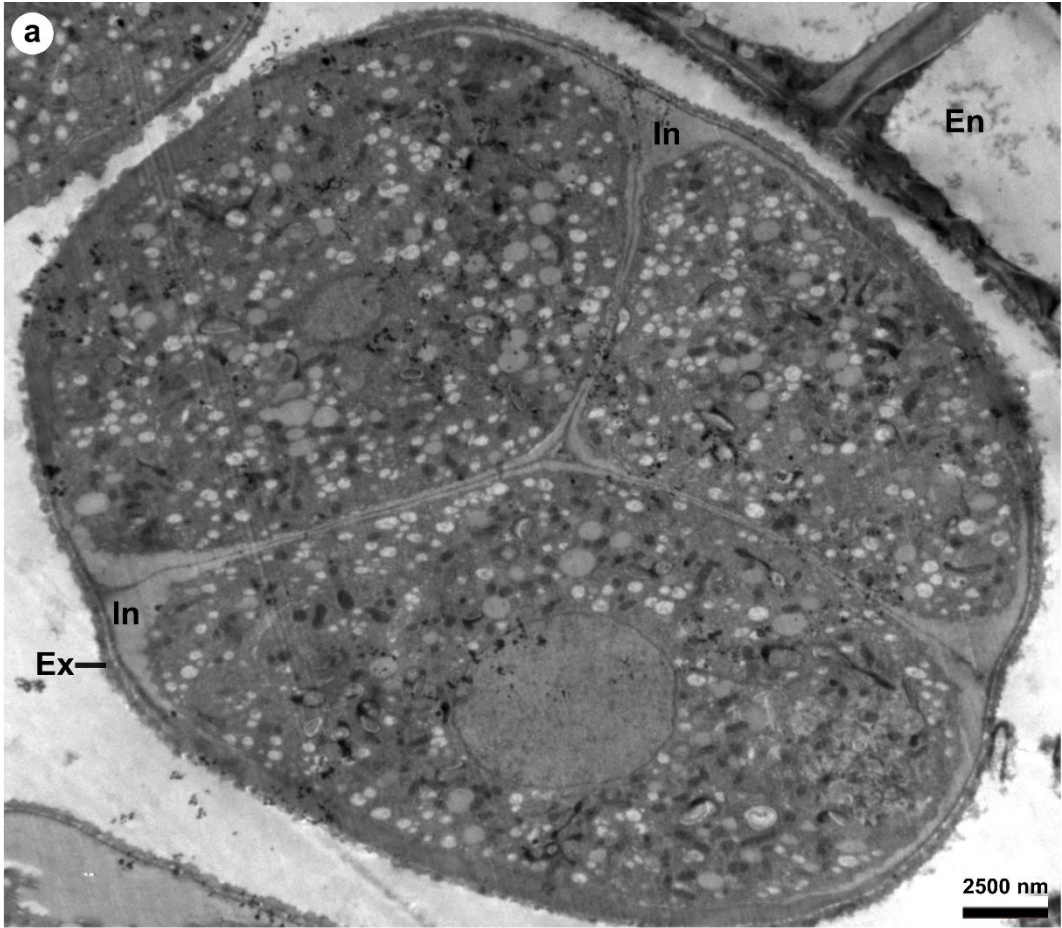


Table 1. List of the *Juncus* species studied, with the respective taxonomic positions *sensu* Kirschner et al. (2002b, c) and collection and/or herbaria data

Taxa	Collector and number (Herbarium)	Locality
<i>Juncus</i> subgenus <i>Juncus</i> L.		
Section <i>Juncus</i> L.		
<i>Juncus acutus</i> L.	F.P. Lopes 10 (HRCB 73000)	Santo André, São Paulo, Brazil
Section <i>Ozophyllum</i> Dumort.		
<i>Juncus microcephalus</i> Kunth	A.I. Coan et al. 74 (HRCB 49691)	Santana do Riacho, Minas Gerais, Brazil
	A.I. Coan et al. 92 (HRCB 49683)	São Roque de Minas, Minas Gerais, Brazil
	Al. Coan et al. 94 (HRCB 49682)	Brazil
	A.I. Coan et al. 109 (HRCB 52826)	São Roque de Minas, Minas Gerais, Brazil
		Diamantina, Minas Gerais, Brazil
<i>Juncus pallescens</i> Lam.	F.P. Lopes 9 (HRCB 72999)	Santo André, São Paulo, Brazil
<i>Juncus micranthus</i> Schrad. ex E.Mey	A.I. Coan & C.C Formiga 44 (HRCB 49701)	Itirapina, São Paulo, Brazil
	A.I. Coan & A. Oriani 50 (HRCB 52839)	Itirapina, São Paulo, Brazil
	A.I. Coan et al. 81 (HRCB 49689)	Itirapina, São Paulo, Brazil
	A.I. Coan et al. 106 (HRCB 52823)	Diamantina, Minas Gerais, Brazil
<i>Juncus</i> subgenus <i>Agathryon</i> Raf.		
Section <i>Steirochloa</i> Griseb.		
<i>Juncus capillaceus</i> Lam.	F.P. Lopes 7 (HRCB 72997)	Santo André, São Paulo, Brazil
<i>Juncus imbricatus</i> Laharpe	F.P. Lopes 6 (HRCB 73996)	Santo André, São Paulo, Brazil
<i>Juncus tenuis</i> var. <i>dichotomus</i> (Elliott) Alph. Wood	A.I. Coan et al. 80 (HRCB 49688)	Jundiaí, São Paulo, Brazil
	F.P. Lopes 8 (HRCB 72998)	Santo André, São Paulo, Brazil

CAPÍTULO 2

Aspectos do desenvolvimento da parede da antera e da pseudomônade de espécies de Cyperoideae (Cyperaceae, Poales)

Fernanda Passarini Lopes¹, Aline Oriani^{1,2}, Alessandra Ike Coan^{1,2}

¹ Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Instituto de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Rio Claro (São Paulo), Brasil.

² Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Instituto de Biociências, Departamento de Biodiversidade, Rio Claro (São Paulo), Brasil.

Autor para correspondência: Fernanda Passarini Lopes, fernanda.passarini-lobes@unesp.br

RESUMO

Cyperaceae se caracteriza pela microsporogênese simultânea do tipo-Cyperaceae, em que apenas um dos quatro produtos meióticos é funcional e se divide resultando no grão de pólen, conhecido como pseudomônade. O presente estudo tem como objetivo descrever a formação da parede da antera e do grão de pólen de seis espécies, sendo quatro representantes basais de Cyperoideae, caracterizando a microsporogênese e possíveis peculiaridades da pseudomônade. As espécies aqui estudadas compartilham com as outras espécies de Cyperoideae já analisadas: o desenvolvimento da parede da antera do tipo monocotiledôneo, compreendendo epiderme com células papilosas, endotécio com espessamento em espiral, camada mediana efêmera e tapete secretor; a microsporogênese simultânea do tipo-Cyperaceae com formação de pseudomônade tricelular; a primeira divisão mitótica precoce do núcleo do micrósporo funcional e a célula generativa posicionada adjacente aos núcleos dos micrósporos não-funcionais. Acúmulo de compostos fenólicos foi observado nas células da epiderme, cuja distribuição variou entre as espécies estudadas. A calose se depositou na parede celular dos microsporócitos, dissolvendo-se durante a microsporogênese. A citocinese foi assimétrica resultando em uma tétrade de micrósporos com arranjo tetraédrico, consistindo de um micrósporo funcional e três micrósporos não-funcionais. A primexina se depositou tanto ao redor da tétrade de micrósporos quanto entre eles. Os elementos da exina da parede polínica – teto, columela e camada basal – se depositaram simultaneamente na primexina ao redor da tétrade. A parede da pseudomônade madura consiste de teto, columela, camada basal e intina. Na região da abertura basal, a camada basal é mais espessa e a intina apresenta projeções de parede. Os nossos resultados evidenciam peculiaridades durante a formação da pseudomônade, como a presença da primexina entre os quatro micrósporos da tétrade, que pode indicar a formação de parede interna entre eles; e a camada de intina com projeções de parede na região da abertura basal, cuja função é ampliar a troca de solutos entre a pseudomônade e o fluido locular, aumentando, assim, a captação de nutrientes do meio e contribuindo para melhorar o desenvolvimento do microgametófito.

Palavras-chaves: Citocinese assimétrica. Micrósporo. Microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae. Pseudomônade.

ABSTRACT

Cyperaceae is characterized by the simultaneous microsporogenesis of the Cyperaceae type, in which only one of the four meiotic products is functional and divides resulting in the pollen grain, called pseudomonad. The present study aims to describe the anther wall and pollen grain formation of six species, four of which are basal representatives of Cyperoideae, characterizing the microsporogenesis and possible peculiarities of the pseudomonad. The species studied here share with the other Cyperoideae species already analyzed: the anther wall development of the monocotyledonous type, comprising epidermis with papillate cells, endothecium with helicoidal thickening, ephemeral middle layer and secretory tapetum; simultaneous microsporogenesis of the Cyperaceae type with formation of tricellular pseudomonads; the first early mitotic division of the functional microspore nucleus and the generative cell positioned adjacent to the non-functional microspore nuclei. Accumulation of phenolic compounds was observed in the epidermal cells, whose distribution varied between the species studied. Callose deposited in the microsporocyte cell wall, dissolving during microsporogenesis. Cytokinesis was asymmetric resulting in a microspore tetrad with a tetrahedral arrangement, consisting of a functional microspore and three non-functional microspores. Primexine was deposited both around the microspore tetrad and between them. The exine elements of the pollen wall – tectum, columella and foot layer – deposited simultaneously in the primexine around the tetrad. Mature pseudomonad wall consists of the tectum, columella, foot layer and intine. In the basal aperture region, the foot layer is thicker and the intine presents wall projections. Our results show peculiarities during the pseudomonad formation, such as the presence of the primexine between the four microspores of the tetrad, which may indicate the internal wall formation between them; and the intine layer with wall projections in the basal aperture region, whose function is to increase the solute exchange between the pseudomonad and the locular fluid, thus increasing the uptake of nutrients from the medium and contributing to improve the microgametophyte development.

Keywords: Asymmetric cytokinesis. Cyperaceae-type Simultaneous Microsporogenesis. Microspore. Pseudomonad.

1 INTRODUÇÃO

A microsporogênese é uma etapa de transição da geração esporofítica para a geração gametofítica, com a formação dos micrósporos por meio da meiose do microsporócito (BLACKMORE; KNOX, 1990). Embora a microsporogênese sucessiva seja a condição predominante nas monocotiledôneas, a microsporogênese simultânea surgiu independentemente em várias famílias desse grupo, como, por exemplo, em Blandfordiaceae R.Dahlgren & Clifford, Cyperaceae Juss., Dioscoreaceae R.Br., Juncaceae Juss., Petrosaviaceae Hutch., Rapateaceae Dumort., Tofieldiaceae Takht. e Thurniaceae Engl. (FURNESS; RUDALL, 1999). Dentre essas famílias, Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae, em Poales, destacam-se por compartilhar grãos de pólen característicos, formando uma tétrade nas duas últimas famílias (DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985; SIMPSON, 1995; LINDER; RUDALL, 2005; STEVENS, 2017) e uma pseudomônade em Cyperaceae (MAKDE, 1982; DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; NIJALINGAPPA; PALAKSHIAH, 1998; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; FURNESS; RUDALL, 1999; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018).

A pseudomônade (SELLING, 1947) resulta de microsporogênese simultânea peculiar e denominada de tipo-Cyperaceae (SIMPSON, 1995): dos quatro núcleos de micrósporos formados após o término da segunda divisão meiótica, três degeneram e apenas um é funcional e origina o grão de pólen (TANAKA, 1940; STRANDHEDE, 1965; NAGARAJ; NIJALINGAPA, 1972, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; MAKDE, 1982; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018). Este grão de pólen possui formato cuneiforme (CARNIEL, 1962; KIRPES; CLARK; LERSTEN, 1996; GOETGHEBEUR, 1998; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; FURNESS; RUDALL, 2011; SAN MARTIN et al., 2013) e arranjo periférico no microsporângio na grande maioria dos gêneros de Cyperaceae (KIRPES; CLARK; LERSTEN, 1996; SIMPSON et al., 2003; NAGELS et al., 2009; COAN; ALVES; SCATENA, 2010). Em alguns gêneros de Cyperoideae e em Hypolytreae (Mapanioideae), a pseudomônade tem formato esférico (VAN WICHELEN et al., 1999; SIMPSON et al., 2003; NAGELS et al., 2009; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; PASSARINI LOPES; ALVES; COAN, in prep.) e arranjo central no microsporângio (KIRPES;

CLARK, LERSTEN, 1996; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; PASSARINI LOPES; ALVES; COAN, in prep.).

Os estudos de desenvolvimento polínico em Cyperaceae têm revelado que a citocinese simultânea é tardia (ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018) e assimétrica (RANGANATH; NAGASHREE, 2000; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016), ocorrendo apenas após os quatro núcleos se arranjam em uma tétrade tetraédrica (CARNIEL, 1962; BROWN; LEMMON, 2000), com os três núcleos situados na região basal (adjacente ao tapete) ou na região apical, afunilada (voltada para o centro do lóculo da antera) do microsporócito, enquanto o quarto núcleo se posiciona no centro (CARNIEL, 1962; PADHYE, 1971a; BROWN; LEMMON, 2000; RANGANATH; NAGASHREE, 2000; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018). Assim, quatro micrósporos desiguais são formados: um micrósporo funcional maior – que recebe a maior parte do citoplasma e das organelas – e três micrósporos não-funcionais menores (DUNBAR, 1973; BROWN; LEMMON, 2000; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016). Esses micrósporos não-funcionais são delimitados por paredes (ELFVING, 1879; TANAKA, 1940, 1941; PADHYE; MOHARIR, 1958; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; CARNIEL, 1972; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1972, 1973; DUNBAR, 1973; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018) ou por membranas (STOUT, 1912; CARNIEL, 1962; STRANDHEDE, 1965; PADHYE, 1971a, b; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987).

O micrósporo funcional se divide mitoticamente e se diferencia no microgametófito, enquanto os três micrósporos não-funcionais degeneram e são envolvidos pela intina da parede da pseudomônade (DUNBAR, 1973; FURNESS; RUDALL, 1999; SIMPSON et al., 2003; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018; PASSARINI LOPES; ALVES; COAN, in prep.). A exina tem início sobre a tétrade de micrósporos recém-formada e a envolve completamente, mas não se forma entre os micrósporos, enquanto a intina é depositada sob a exina durante a microgametogênese (DUNBAR, 1973).

Cyperaceae apresenta distribuição cosmopolita com 5539 espécies em 90 gêneros (GOVAERTS et al., 2021) e, de acordo com dados moleculares, divide-se em duas subfamílias: Cyperoideae Kostel. e Mapanioideae C.B. Clarke, sendo esta última considerada grupo-irmão das demais Cyperaceae (SIMPSON et al., 2003; MUASYA et al., 2009; HINCHLIFF; ROALSON, 2013; JUNG; CHOI, 2013; SEMMOURI et al., 2019). Mapanioideae subdivide-se em duas tribos, Hypolytreae Nees e Chrysitricheae Nees, e Cyperoideae subdivide-se em 16

tribos, Trilepideae Goetgh., Cladieae Nees, Bisboeckelereae Pax ex L.T.Eiten, Sclerieae Kunth ex Fenzl, Cryptangieae Benth., Schoeneae Dumort., Carpheae Semmouri & Larridon, Rhynchosporae Wight & Arn., Dulichieae Rchb. ex J.Schultze-Motel, Scirpeae Kunth ex Dumort., Sumatrosirpeae Lév.-Bourret & J.R. Starr, Cariceae Kunth ex Dumort., Eleocharideae Goetgh., Abildgaardieae Lye, Fuireneae Reichenb. ex Fenzl e Cypereae Dumort (SEMMOURI et al., 2019).

Dentre as tribos de Cyperoideae, Trilepideae é considerada grupo-irmão do restante da subfamília (MUASYA et al., 2009; HINCHLIFF; ROALSON, 2013; SPALINK et al., 2016; SEMMOURI et al., 2019). Um estudo recente baseado em dados morfológicos e moleculares combinados posicionou as tribos Cladieae, Bisboeckelereae e Sclerieae em uma politomia com o restante de Cyperoideae, depois de Trilepideae (SEMMOURI et al., 2019). Cladieae foi recentemente reconhecida como tribo e compreende apenas um gênero, *Cladium* P.Browne (SEMMOURI et al., 2019). As tribos Sclerieae e Bisboeckelereae são fortemente suportadas como grupos-irmãos (SEMMOURI et al., 2019), formando o clado Sclerieae + Bisboeckelereae (HINCHLIFF; ROALSON, 2013; SPALINK et al., 2016; SEMMOURI et al., 2019) e ambas são consideradas monofiléticas (HINCHLIFF; ROALSON, 2013). Sclerieae também compreende apenas um gênero, *Scleria* P.J. Bergius, enquanto que Bisboeckelereae é formada por quatro gêneros: *Becquerelia* Brongn., *Bisboeckelera* Kuntze, *Calyptracarya* Nees e *Diplacrum* R. Br. (GOETGHEBEUR, 1998).

Cryptangieae apresenta um relacionamento indefinido com as demais tribos de Cyperoideae e seus membros não são monofiléticos (SEMMOURI et al., 2019), sendo muitas vezes agrupados dentro de Schoeneae (MUASYA et al., 2009; HINCHLIFF; ROALSON, 2013). Schoeneae é uma tribo não resolvida, que apresenta problemas nas interrelações entre seus membros (HINCHLIFF; ROALSON, 2013), sendo que alguns deles foram removidos e inseridos em novas tribos, como, por exemplo, *Cladium* na tribo Cladieae Nees, *Carpha* Banks & Sol ex R.Br. e *Trianoptiles* Fenzl ex Endl. na tribo Carpheae Semmouri & Larridon (SEMMOURI et al., 2019), e *Rhynchospora* Vahl e *Pleurostachys* Brongn. na tribo Rhynchosporae (MUASYA et al., 2009).

O clado constituído por Dulichieae, Scirpeae, Sumatrosirpeae e Cariceae é irmão do clado composto por Eleocharideae, Abildgaardieae, Fuireneae e Cypereae, e ambos os cladogramas são moderadamente a fortemente suportados (SEMMOURI et al., 2019). No último clado, o relacionamento dos gêneros de Fuireneae é moderado a fortemente suportado, sendo *Bolboschoenus* (Asch.) Palla a primeira linhagem a divergir, seguida por *Fuirena* Rottb. – que

é considerada monofilética – e, por último, pelo clado *Schoenoplectiella* Lye + *Schoenoplectus* (Rchb.) Palla (SEMMOURI et al., 2019).

Embora o entendimento atual da microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae e do desenvolvimento da pseudomônade tenha sido construído principalmente por meio de estudos realizados em representantes de Cyperoideae (ELFVING, 1879; STOUT, 1912; PIECH, 1928; TANAKA, 1940, 1941; PADHYE; MOHARIR, 1958; CARNIEL, 1962; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; DUNBAR, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; NIJALINGAPPA; PALAKSHAIAH, 1998; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; FURNESS; RUDALL, 1999; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018), aspectos do desenvolvimento polínico em tribos basais, como Cladieae, Bisboeckelereae, e Sclerieae, por exemplo, são pouco conhecidos (TANAKA, 1941; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; NIJALINGAPPA, 1986). Assim, o presente estudo tem como objetivo descrever a ontogenia polínica de alguns representantes basais de Cyperoideae, caracterizando a microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae e possíveis peculiaridades da pseudomônade que contribuam com o conhecimento embriológico de Cyperaceae.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Botânico

O material analisado compreendeu inflorescências em diferentes estágios de desenvolvimento de quatro representantes de três tribos basais de Cyperoideae: *Becquerelia* cf. *muricata* (Bisboeckelereae), *Cladium mariscus* (Cladieae), *Scleria distans* e *Scleria* cf. *latifolia* (Sclerieae) e de dois representantes de uma tribo derivada, Fuireneae: *Fuirena* sp. e *Schoenoplectus californicus*, para fins de comparação (Tabela 1). Parte do material coletado foi herborizada e depositada no Herbarium Rioclarense (HRCB) e está aguardando confirmação da identificação pelo especialista. Outra parte foi fixada para análises sob microscopias de luz e eletrônicas de varredura e de transmissão.

2.2 Metodologia

No campo, o material coletado (inflorescências inteiras em diferentes fases do desenvolvimento) foi imediatamente pré-fixado em FAA 50 (formaldeído 37%, ácido acético glacial, álcool etílico 50%, 1:1:18 v/v) (JOHANSEN, 1940) ou em Karnovsky refrigerado (glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2%, tampão cacodilato 0,05M) em pH 7,2 (KARNOVSKY, 1965, modificado). Devido à fixação em campo, não foi possível a remoção do ar sob o vácuo, a fim de otimizar a infiltração do fixador Karnovsky — o que ocasionou pouca preservação do citoplasma, porém adequada fixação da parede polínica.

2.2.1 Microscopia de Luz (ML)

No laboratório, as inflorescências das espécies mencionadas acima e previamente fixadas em FAA 50 foram armazenadas em etanol 70% com algumas gotas de glicerina e colocadas sob o vácuo.

As amostras de flores e estames removidas das inflorescências foram desidratadas em série n-butílica (1x 40%, 55%, 70%, 85% e 2x 100%) e incluídas em historresina Leica (FEDER; O'BRIEN, 1968). O material foi seccionado com espessura de 5–7µm, com navalhas de aço descartáveis, em micrótomo rotativo (Leica, Reichert-Jung 2040). A maior parte das secções anatômicas obtidas foi corada com ácido periódico – Reativo de Schiff (reação PAS) e azul de toluidina (FEDER; O'BRIEN, 1968) e montada em Entellan. As seções anatômicas selecionadas foram fotografadas em fotomicroscópio (Leica DMLB e DM4000B), com câmera digital acoplada, no Laboratório de Morfologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP. O restante das seções foi testado histoquimicamente usando azul de anilina para detectar a presença de calose durante o desenvolvimento do grão de pólen (CHAMBERLAIN, 1932, modificado) — as observações foram feitas no mesmo equipamento descrito acima (Leica DMLB) que está acoplado com o sistema de fluorescência EBQ 100 (a captura de imagens não foi realizada pois a câmera DFC295 não é apropriada para o registro de fluorescência).

2.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

No laboratório, estames maduros foram removidos das inflorescências coletadas e fixadas previamente em FAA 50 e, depois, armazenadas em etanol 70%. As amostras de estames foram desidratadas em série etílica (80%, 90%, 100%) e submetidas ao ponto crítico com gás carbônico líquido (Leica EM CPD 300). Em seguida, as anteras foram fixadas em

stubs, com auxílio de fita adesiva dupla face, dissecadas e metalizadas com ouro (10 nm) (Balzers SCD 050 Sputter Coater). As amostras foram analisadas ao microscópio eletrônico de varredura Jeol IT300, com aceleração de voltagem de 15 e 20kV e as imagens foram adquiridas com auxílio do software IT300 versão 1.120 no Laboratório de Microscopia Eletrônica Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima – USP (Piracicaba, SP).

2.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

No laboratório, as inflorescências pré-fixadas com Karnovsky refrigerado tiveram suas anteras removidas e fixadas em uma nova solução do mesmo fixador e colocadas sob o vácuo. Posteriormente, as amostras foram lavadas em tampão cacodilato 0,1M refrigerado e, em seguida, foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão por uma hora em temperatura ambiente. Após esse tempo, as amostras foram lavadas novamente com o mesmo tampão, contrastadas em acetato de uranila 1% dissolvido em álcool 10% com pernoite na geladeira e, depois, desidratadas em série graduada de acetona (1x 30%, 50%, 70%, 90%, 3x 100%) e embebidas em resina Spurr (SPURR, 1969).

As secções semifinas, de cerca de 1µm, foram obtidas em ultramicrotomo Leica UCT, utilizando-se navalhas de vidro. As secções foram coradas com azul de toluidina e examinadas sob microscópio de luz (Zeiss Axioshop 2), a fim de determinar a fase de desenvolvimento do grão de pólen e a integridade do material. Os blocos com as fases desejadas foram cortados em ultramicrotomo Leica UCT, com navalhas de vidro, para obtenção das secções ultrafinas. Estas secções foram contrastadas em acetato de uranila (WATSON, 1958) por 20 minutos e em citrato de chumbo (REYNOLDS, 1963) por 10 minutos, examinadas e fotografadas ao microscópio eletrônico de transmissão (JEOL JEM 1011), em 60 kV. Todos esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica Prof. Dr. Elliot Watanabe Kitajima – USP (Piracicaba, SP).

4 RESULTADOS

Ao analisar comparativamente o desenvolvimento da antera e da pseudomônade das seis espécies estudadas de Cyperoideae, foram observadas similaridades e, portanto, uma descrição comum é aqui apresentada, destacando-se apenas as peculiaridades, quando existentes.

4.1 Desenvolvimento da parede da antera

Em todas as espécies estudadas, o primórdio da antera consiste de meristema fundamental envolvido pela protoderme (Fig. 1A). Abaixo da protoderme, quatro grupos de células subdermais, encontradas nos locais dos futuros microsporângios, diferenciam-se em células do tecido arquesporial (Fig. 1B). Cada célula arquesporial divide-se periclinalmente, formando as camadas parietal e esporogênica primárias (Fig. 1C, D). As células da camada parietal primária dividem-se periclinalmente (Fig. 1E – cabeça-de-seta), formando duas camadas parietais secundárias (Fig. 1F). A camada parietal secundária externa se diferencia diretamente em endotécio (Fig. 1G–I), enquanto a camada parietal secundária interna se divide periclinalmente (Fig. 1G, H – cabeça-de-seta), formando a camada mediana e o tapete (Fig. 1I). A protoderme se diferencia em epiderme (Fig. 1G–I).

O desenvolvimento da parede da antera é do tipo monocotiledôneo, com quatro estratos: a epiderme, o endotécio, a camada mediana e o tapete (Fig. 1I). Esses quatro estratos parietais são formados cada qual por uma única camada de células de paredes delgadas e citoplasma denso, com um único núcleo proeminente (Fig. 1I).

À medida que a antera se desenvolve, as células epidérmicas tornam-se altamente vacuoladas (Fig. 2A–D) e a parede periclinal externa torna-se convexa, levemente papilosa (Fig. 2E). Ocorre acúmulo diferencial de compostos fenólicos nas células epidérmicas e em tecidos adjacentes nas espécies estudadas: em *Cladium mariscus* (Figs. 2E, 3A), ocorre na maioria das células epidérmicas, incluindo o conectivo e o estômio; em *Becquerelia* cf. *muricata* (Fig. 3B), é restrito a algumas células próximas ao conectivo; em *Scleria distans* (Fig. 3C) e *Scleria* cf. *latifolia* (Fig. 3D), o acúmulo ocorre em algumas células localizadas entre o conectivo e o estômio; em *Fuirena* sp. (Figs. 2D, 3E), o acúmulo ocorre apenas nas células localizadas próximas ao conectivo e ao estômio; e em *Schoenoplectus californicus* (Fig. 3F), nas células próximas ao conectivo do lado dorsal da antera.

As células do endotécio se vacuolizam (Figs. 2A, B, 4A, B) e, depois, adquirem espessamentos de parede em espiral (Figs. 2C–E, 3A–F). As células da camada mediana e do tapete mostram sinais de degradação durante a microsporogênese (Fig. 2A, B). No estágio de tétrade de micrósporos, as células da camada mediana estão obliteradas (Fig. 4C), enquanto as células do tapete secretor perdem suas paredes celulares (Fig. 2A), mas ainda permanecem na periferia do lóculo da antera (Fig. 2B). Orbículos, que apresentam a mesma eletrondensidade que a exina, são observados aderidos à membrana plasmática do tapete em degeneração voltada para o lóculo (Fig. 2B) e, mais tarde, formam a membrana peritapetal (Fig. 2C). Durante a

microgametogênese, as células da camada mediana e do tapete estão completamente obliteradas (Fig. 2C–E).

A antera madura é biteca e tetrasporangiada, com parede formada por epiderme e endotécio, e a deiscência é longitudinal (Fig. 3A–F).

4.2 Microsporângio, microsporogênese e microgametogênese

Concomitantemente ao desenvolvimento da parede da antera, as células da camada esporogênica primária dividem-se mitoticamente e produzem colunas de microsporócitos que preenchem completamente a cavidade do microsporângio (Fig. 1C–I). Os microsporócitos têm formato cuneiforme, com a parte apical, afunilada, voltada para o centro do microsporângio (Figs. 1G, I, 4A).

Previamente à microsporogênese, o microsporócito é envolvido por uma parede delgada de calose (Fig. 4A, B). Cada microsporócito passa por divisões meióticas que resultam em quatro núcleos de micrósporos, com arranjo tetraédrico (Fig. 4C). Os quatro núcleos sofrem citocinese simultânea, resultando em uma tétrade tetraédrica de micrósporos desiguais (Fig. 2B). Desses quatro micrósporos, apenas um é funcional e maior (Figs. 2A, B, 4D, E), enquanto os outros três, não-funcionais, são menores (Figs. 2A, B, 4D, E). O micrósporo funcional apresenta um grande conteúdo citoplasmático (Fig. 4D, E), enquanto nos micrósporos não-funcionais, a maior parte do protoplasto é ocupada pelo núcleo com nucléolo proeminente (Fig. 4D, E). Neste estágio de desenvolvimento, a parede de calose não é mais observada. A microsporogênese é, então, simultânea e do tipo-Cyperaceae.

Os quatro micrósporos são delimitados por suas membranas plasmáticas e separados por um espaço periplasmático, que contém muitas vesículas (Figs. 4E, 5A) e protusões da primexina (Fig. 5A – cabeça-de-seta dupla). Pouco depois, estas protusões acabam se estendendo por todo o espaço periplasmático, formando uma fina camada de primexina entre os micrósporos (Fig. 5B, C). O núcleo do micrósporo funcional (Figs. 2A, 4D) se divide por mitose, resultando nos núcleos vegetativo e generativo (Fig. 2C, D). Após a divisão, o núcleo generativo se encontra na periferia da pseudomônade, em contato próximo com a primexina e a exina em desenvolvimento e nesse local ocorre a citocinese (Fig. 6A – setas), formando as células vegetativa e generativa (Fig. 2C, D). A célula generativa é engolfada inteiramente pelo citoplasma da célula vegetativa (Fig. 2C, D). Na célula generativa, a parede celular é fina e sinuosa e a maior parte do seu protoplasto é ocupada pelo seu núcleo (Fig. 6B). A célula generativa posiciona-se adjacente aos três núcleos não-funcionais (Fig. 6C).

O citoplasma da célula vegetativa apresenta um grande vacúolo central, que desloca o seu núcleo e a célula generativa para a porção basal da pseudomônade (Fig. 2C, D); também apresenta acúmulo de amido (Fig. 6D–F). A célula generativa se divide em duas células esperáticas (Fig. 6D, F). Os núcleos não-funcionais degeneram na porção apical da pseudomônade (Fig. 6E, F). Assim, a pseudomônade madura é tricelular (Fig. 6D).

4.3 Aspectos ultraestruturais e micromorfológicos da parede da pseudomônade

No estágio de tétrade de micrósporos, a parede de calose já está dissolvida e a matriz de primexina pode ser vista ao redor da tétrade (Figs. 4E, 5B, C, 7A) e entre os micrósporos (Figs. 5B, C, 7A). Na matriz ao redor da tétrade, zonas mais eletrodensas correspondentes ao teto, columela e a camada basal são observadas (Figs. 4E, 5B, C, 7A). Durante a microgametogênese, o teto, a columela e a camada basal aumentam em espessura em relação à fase anterior de desenvolvimento (Fig. 7B); o teto e a camada basal são descontínuos ao longo da pseudomônade por apresentarem perfurações (Fig. 7B). À medida que a pseudomônade amadurece, esses elementos da exina se tornam menos eletrodensos devido às novas deposições de esporopolenina (Figs. 2C, 6B, 7B, C). A intina começa a se formar na fase de microgametófito bicelular, primeiramente sendo depositada na região da abertura basal (Fig. 7C, D) e depois no restante da pseudomônade (Fig. 7E). Não foi possível observar se a intina se forma entre os micrósporos não-funcionais pela falta de seções passando nesta região. Também, não foi possível observar alguma abertura na fase de tétrade de micrósporos.

Na fase de microgametófito bicelular, a abertura basal está quase formada (Fig. 7C) e compreende teto, columela, camada basal descontínua e intina com pequenas invaginações (Fig. 7D). Posteriormente, estas invaginações ficam mais pronunciadas (Fig. 7E, F). Quanto às aberturas laterais, não foi possível observar o seu desenvolvimento por falta de seções passando por essas regiões.

Todos os representantes de Cyperoideae aqui estudados apresentam pseudomônades maduras cuneiformes (Fig. 8A–I). Em *Cladium mariscus*, a extremidade da pseudomônade, às vezes, se apresenta alongada e afilada (Fig. 8B). O número de abertura basal é sempre um, enquanto que o número de aberturas laterais varia (Fig. 8A–I).

A ornamentação da sexina da parede da pseudomônade, sob microscopia eletrônica de varredura, é fossulada com microgrânulos e perfurações (Fig. 9A). A ornamentação da sexina na região da abertura basal é fossulada em *C. mariscus* e *S. distans* (Fig. 9B) e fossulada com microgrânulos e perfurações em *B. cf. muricata* (Fig. 9C), *Fuirena* sp. e *S. californicus*. Nas

regiões das aberturas laterais, a ornamentação da sexina é apenas fossulada (Fig. 9D) ou fossulada com microgrânulos e perfurações (Fig. 9E).

5 DISCUSSÃO

A maioria dos resultados aqui apresentados para *Cladium mariscus*, *Becquerelia* cf. *muricata*, *Scleria distans*, *Scleria* cf. *latifolia*, *Fuirena* sp. e *Schoenoplectus californicus* confirma aqueles já descritos para a subfamília e família como um todo, por exemplo: o desenvolvimento da parede da antera do tipo monocotiledôneo, cuja parede compreende epiderme, endotécio com espessamento espiral, camada mediana efêmera e tapete secretor (PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; NIJALINGAPPA; PALAKSHAIAH, 1998; COAN; ALVES; SCATENA, 2010); epiderme com células papilosas (MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; COAN; ALVES; SCATENA, 2010); microsporogênese simultânea do tipo-Cyperaceae com formação de pseudomônade (ELFVING, 1879; STOUT, 1912; PIECH, 1928; TANAKA, 1940; PADHYE; MOHARIR, 1958; CARNIEL, 1962, 1972; STRANDHEDE, 1965; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1972, 1973; DUNBAR, 1973; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; NIJALINGAPPA; PALAKSHAIAH, 1998; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; FURNESS; RUDALL, 1999; BROWN; LEMMON, 2000; RANGANATH; NAGASHREE, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018); divisão mitótica precoce no núcleo do micrósporo funcional (ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018); célula generativa posicionada adjacente aos núcleos não-funcionais (HÅKANSSON, 1928; TANAKA, 1940; 1941; CARNIEL, 1962, 1972; STRANDHEDE, 1965; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; NIJALINGAPPA; PALAKSHAIAH, 1998; BROWN; LEMMON, 2000; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018); e grão de pólen dispersado no estágio triclular (ELFVING, 1879; STOUT, 1912; PIECH, 1928; PADHYE; MOHARIR, 1958; CARNIEL, 1962, 1972; STRANDHEDE, 1965; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1972, 1973; DUNBAR, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; MAKDE;

BHUSKUTE, 1987; NIJALINGAPPA; PALAKSHAI AH, 1998; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018) e contendo grãos de amido como material de reserva (STRANDHEDE, 1965; PADHYE, 1971b; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018). Porém, algumas das características diferenciais observadas nas espécies aqui estudadas são discutidas abaixo.

5.1 Idioblastos fenólicos

Todas as espécies aqui estudadas apresentam compostos fenólicos nas células da epiderme da antera, cuja distribuição variou em cada espécie. Idioblastos fenólicos também são reportados nas paredes das anteras de outras espécies de Cyperoideae já estudadas, tanto nas células epidérmicas (PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1973; NIJALINGAPPA, 1976; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; COAN; ALVES; SCATENA, 2010), quanto nas células do conectivo (COAN; ALVES; SCATENA, 2010); enquanto que em gêneros de Mapanioideae, como *Hypolytrum* Pers. (COAN; ALVES; SCATENA, 2010) e *Mapania* Aubl., (PASSARINI LOPES; ALVES; COAN, in prep.), nenhum idioblasto é observado na parede da antera. Portanto, esse caráter está presente nas espécies de Cyperoideae já estudadas, tanto nas tribos basais como nas derivadas, impossibilitando inferir alguma consideração evolutiva para ele na subfamília. Mais investigações são necessárias para os demais gêneros de Mapanioideae, a fim de se conhecer se os idioblastos fenólicos estão mesmo ausentes em suas anteras; e em Trilepideae (Cyperoideae), para saber se esse caráter está presente, com intuito de compreender sua distribuição dentro de Cyperaceae.

5.2 Parede de calose

No presente estudo, a parede de calose se forma ao redor dos microsporócitos em estágio anterior à microsporogênese, não sendo mais observada na fase de tétrade de micrósporos. Em outras espécies de Cyperaceae, como *Carex*, *Cyperus*, *Schoenoplectus* (CARNIEL, 1962) e *Eleocharis* (CARNIEL, 1962, 1972; DUNBAR, 1973), a parede de calose foi observada envolvendo apenas a tétrade de micrósporos, não sendo observada entre os quatro micrósporos (CARNIEL, 1972; DUNBAR, 1973). Em *Juncus* L. (Juncaceae), a parede de

calose está presente apenas no estágio de microsporócito, dissolvendo-se antes da meiose ocorrer (PASSARINI LOPES; ORIANI; COAN, 2021). Portanto, mais estudos são necessários para compreender a importância da parede de calose no desenvolvimento da tétrade permanente e da pseudomônade no clado ciperídeo.

5.3 Citocinese

Nas espécies aqui estudadas de Cyperoideae, uma tétrade de micrósporos desiguais foi formada, compreendendo um micrósporo funcional maior e três micrósporos não-funcionais menores, indicando ter havido citocinese assimétrica entre os quatro núcleos resultantes da segunda divisão meiótica.

Estudos detalhados da ontogenia da pseudomônade constataram que o desencadeamento de uma série de eventos, como a presença de uma citocinese interrompida (BROWN; LEMMON, 2000) ou tardia (ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018), associada à migração dos quatro núcleos para a porção apical ou basal do microsporócito, onde essa citocinese se completa, são as causas principais para a existência da tétrade de micrósporos desiguais em Cyperaceae (CARNIEL, 1962; BROWN; LEMMON, 2000; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018).

A grande maioria dos estudos ontogenéticos da pseudomônade também relata que a citocinese pode ser completa ou incompleta. No primeiro caso, uma tétrade de micrósporos é formada e os micrósporos são delimitados pela parede celular (ELFVING, 1879; TANAKA, 1940, 1941; PADHYE; MOHARIR, 1958; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a; CARNIEL, 1972; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1972, 1973; DUNBAR, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; BROWN; LEMMON, 2000; SIMPSON et al., 2003; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018) ou pela membrana plasmática (STOUT, 1912; CARNIEL, 1962; STRANDHEDE, 1965; PADHYE, 1971a, b; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987). No segundo caso, a partição entre os núcleos não-funcionais pode ser incompleta (TANAKA, 1941) ou até ausente (ELFVING, 1879; STRANDHEDE, 1965; DOPCHIZ; POGGIO, 1999). Além disso, a citocinese pode ser ausente, permanecendo os quatro núcleos no mesmo citoplasma, como observado para as espécies da tribo Chrysitricheae, em Mapanioideae (SIMPSON et al., 2003).

Nas outras famílias do clado ciperídeo, Juncaceae (WULFF, 1939; ZAMAN, 1950; LAMBERT, 1969, 1970; FURNESS; RUDALL, 1999a) e Thurniaceae (MUNRO; LINDER,

1997), a citocinese é completa formando quatro micrósporos. Portanto, a presença de citocinese incompleta ou sua ausência entre os micrósporos não-funcionais em Cyperoideae deve ser investigada. Também mais investigações são necessárias para Mapanioideae, a fim de se conhecer se a ausência de citocinese está restrita somente a Chrysitricheae, com intuito de compreender o comportamento desse caráter dentro de Cyperaceae.

5.4 Posição e degeneração dos núcleos não-funcionais

No presente estudo, os três núcleos não-funcionais se posicionam na região apical, afunilada, da pseudomônade cuneiforme e permanecem ali até o momento de sua degeneração. Esta mesma disposição é frequentemente observada em outros gêneros de Cyperaceae com pseudomônades cuneiformes (ELFVING, 1879; STOUT, 1912; TANAKA, 1939, 1940; PADHYE; MOHARIR, 1958; CARNIEL, 1962; STRANDHEDE, 1965; PADHYE; CHAUBE; IYER, 1970; PADHYE, 1971a, b; DUNBAR, 1973; NAGARAJ; NIJALINGAPPA, 1973; NIJALINGAPPA, 1976, 1986; NIJALINGAPPA; DEVAKI, 1978; MAKDE, 1982; MAKDE; BHUSKUTE, 1987; BROWN; LEMMON, 2000); a única exceção é o gênero *Rhynchospora* (TANAKA, 1941; NIJALINGAPPA; PALAKSHIAH, 1998; COAN; ALVES; SCATENA, 2010; SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016; ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018), que, mesmo apresentando a pseudomônade cuneiforme, os três núcleos não-funcionais se posicionam na porção basal, próximo à abertura distal. Assim, mais investigações são necessárias para os gêneros de Trilepideae, Cryptangieae e Rhynchosporaeae, – especialmente *Pleurostachys* –, a fim de se conhecer o posicionamento dos núcleos não-funcionais na pseudomônade, se basal ou apical, com intuito de ampliar o conhecimento desse caráter dentro de Cyperoideae.

A degeneração dos micrósporos não-funcionais ocorre por morte celular programada (SAN MARTIN et al., 2013; ROCHA et al., 2016), exatamente por morte celular vacuolar (ROCHA et al., 2016). As moléculas geradas dessa degradação acabam sendo assimiladas pelo microgametófito em desenvolvimento (ROCHA et al., 2016), confirmando a sugestão de Elfving (1879), que acreditava que esses núcleos não-funcionais terminavam sendo reabsorvidos pelo citoplasma após o desaparecimento da parede entre eles.

5.5 Primeira mitose polínica precoce

Nossos resultados indicam que o núcleo do micrósporo funcional se divide antes de ocorrer a formação do vacúolo central, semelhante ao observado em *Rhynchospora* (ROCHA; VANZELA; MARIATH, 2018), sendo esta primeira mitose polínica precoce em relação ao observado em outras angiospermas, cuja divisão ocorre quando o micrósporo se torna vacuolado (MAHESHWARI, 1950; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; KNOX, 1984; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Assim, a primeira mitose polínica precoce pode ser considerada um caráter comum em Cyperoideae, pois é observado tanto nas tribos basais como na derivada estudadas. Se tal caráter se estender também para Mapanioideae, poderia ser considerado uma sinapomorfia para Cyperaceae; além disso, novos estudos são necessários para os gêneros de Mapanioideae, a fim de confirmar ou refutar esta hipótese.

Além do micrósporo funcional, os micrósporos não-funcionais também podem ou não realizar a primeira mitose polínica. Quando presente, esta divisão pode ser interrompida em qualquer fase do ciclo mitótico (HÅKANSSON, 1954; CARNIEL, 1962; STRANDHEDE, 1965; NIJALINGAPPA, 1976; DOPCHIZ; POGGIO, 1999; BROWN; LEMMON, 2000) ou pode ser completada (STOUT, 1912; TANAKA, 1940, 1941; CARNIEL, 1962; PADHYE, 1971b; NIJALINGAPPA, 1976), formando núcleos que não se diferenciam em células vegetativa e generativa (CARNIEL, 1962) e logo depois, degeneram (TANAKA, 1940; CARNIEL, 1962). No presente estudo, nenhum dos três micrósporos não-funcionais realizou a primeira divisão mitótica.

5.6 Parede da pseudomônade

Nossos resultados ultraestruturais mostram que os micrósporos foram delimitados pela membrana plasmática e separados uns dos outros por um espaço periplasmático, contendo a primexina e muitas vesículas. Vale ressaltar que, a presença da primexina entre os micrósporos é um dado inédito em Cyperaceae.

Material fibrilar semelhante à primexina do presente estudo foi observado entre as tétrades de micrósporos no momento da primeira mitose polínica em *Carex blanda* Dewey (BROWN; LEMMON, 2000). A constituição da parede entre os micrósporos não foi descrita, mas a figura 24 do estudo de Brown e Lemmon (2000) mostra nitidamente esta parede constituída de material fibrilar entremeado por fragmentos da exina. Anteriormente, Dunbar (1973), ao estudar a ontogenia polínica em *Eleocharis*, observou uma fina parede constituída por glóbulos de esporopolenina entre a tétrade de micrósporos. Em *Mapania* Aubl.

(Hypolytreae, Mapanioideae), uma parede interna de exina incompleta também foi observada entre os quatro micrósporos (PASSARINI LOPES; ALVES; COAN, in prep.).

Em *Juncus* (Juncaceae), uma única parede interna é formada entre os quatro micrósporos e é constituída pela camada basal (PASSARINI LOPES; ORIANI; COAN, 2021). Além disso, nenhum sinal de primexina foi observado entre os micrósporos durante a formação desta parede (PASSARINI LOPES; ORIANI; COAN, 2021). Portanto, a parede interna de exina pode ser caráter comum nas famílias do clado ciperídeo, mas em Cyperaceae, esta parede acabou desaparecendo, como em Chrysitricheae que não apresenta citocinese; ou se tornando incompleta/fragmentada, como em Hypolytreae (Mapanioideae) e Cyperoideae, respectivamente.

Como mencionado acima, a primexina é observada ao redor da tétrade de micrósporos e entre eles, e a esporopolenina se deposita e polimeriza apenas na primexina que circunda a tétrade, formando a exina. Esta exina compreende teto, columela e camada basal, que começam a ser formados quase ao mesmo tempo no estágio de tétrade de micrósporos. A exina também começa a se formar na tétrade de micrósporos em *Eleocharis*, restringindo-se apenas ao redor da tétrade (DUNBAR, 1973), depois da dissolução da parede de calose.

Nas espécies aqui estudadas, a intina foi a última camada da parede a se formar. Este mesmo resultado foi observado em *Eleocharis* (DUNBAR, 1973). Segundo Dunbar (1973), o tempo de formação da intina coincidia com o tempo de degeneração dos micrósporos não-funcionais, pois esses sempre eram embebidos por esta camada ao final de sua degeneração.

A intina delgada e com projeções de parede foi observada nas espécies de Cyperoideae estudadas e assemelham-se ao reportado para *Carex acutiformis* Ehrh. (HALBRITTER; WEBER; HESSE, 2010). Estas projeções de parede observadas na intina da abertura basal, por conta de sua morfologia, são similares aos “ingrowth” relatados nas células de transferência por Gunning e Pate (1969). Deste modo, a célula vegetativa na pseudomônade das espécies estudadas pode ser comparada a uma célula de transferência.

As projeções de parede ou ingrowth apresentam-se associadas às mitocôndrias e retículo endoplasmático (GUNNING; PATE 1969; GUNNING; PATE; GREEN, 1970; PATE; GUNNING, 1972; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978; FRANCHI; PACINI, 1980). O seu papel desempenhado está relacionado ao transporte a curta distância (GUNNING; PATE 1969; GUNNING; PATE; GREEN, 1970; BHOJWANI; BHATNAGAR, 1978) de solutos e/ou materiais por ampliar a área superficial da membrana plasmática nesta região, funcionando, assim, como um aparato nutricional (GUNNING; PATE; GREEN, 1970).

As projeções de parede na intina da abertura foram primeiramente relatadas nos grãos de pólen de *Parietaria officinalis* L. (Urticaceae), onde Franchi e Pacini (1980) consideraram a célula vegetativa semelhante à célula de transferência. Esses autores também sugeriram quatro funções para estas projeções de parede: (1) ajudar na absorção mais rápida de substâncias presentes no fluido locular e derivados do tapete em degeneração para o grão de pólen; (2) ajudar na desidratação mais rápida antes da liberação do grão de pólen da antera; (3) auxiliar na reidratação mais rápida do grão de pólen no estigma; e (4) acelerar a liberação de substâncias de autoincompatibilidade gametofítica (FRANCHI; PACINI, 1980).

Das quatro funções hipotetizadas acima, Franchi e Pacini (1980) sugeriram que no caso de *Parietaria officinalis*, as projeções de parede auxiliavam o transporte ativo de substâncias de autoincompatibilidade gametofítica para o estigma.

Tais projeções também foram observadas nos ápices dos tubos polínicos de *Lilium longifolium* Griff [= *Notholirion thonsonianum* (Royle) Stapf] (Liliaceae) (ROSEN; GAWLIK, 1966). Rosen e Gawlik (1966) sugeriram que estas projeções de parede podem facilitar a secreção de enzimas e captação de substâncias digeridas por estas mais rapidamente durante o crescimento do tubo polínico no canal estilar, possibilitando um crescimento mais rápido e sua chegada mais rápida no saco embrionário para fecundação; pois o ápice do tubo polínico pode ser pré-formado na abertura (KNOX, 1984).

Para as projeções de parede encontradas na abertura basal das pseudomônades das espécies estudadas, a hipótese que mais se encaixa é a primeira, pois as projeções serviriam para ampliar a superfície de captação de nutrientes presente no lóculo durante os estágios finais de desenvolvimento da pseudomônade.

6 CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados mostram que o desenvolvimento da parede da antera e da pseudomônade são uniformes entre as espécies das tribos basais (Cladieae, Bisboeckelereae e Sclerieae) e da derivada (Fuireneae) estudadas e ampliaram o entendimento da formação da antera e do grão de pólen em Cyperoideae e em Cyperaceae. Estes dados são: a distribuição variada de compostos fenólicos nas células da epiderme da antera nas espécies estudadas; a presença de calose ao redor dos microsporócitos, de citocinese assimétrica, da primeira divisão mitótica precoce e dos micrósporos não-funcionais na região apical da pseudomônade. A partir da análise ultraestrutural foi possível observar a presença de primexina ao redor da tétrade de micrósporos e entre eles e de intina com projeções de parede na abertura

basal em Bisboeckelereae, Sclerieae e Fuiireneae; tais dados são inéditos e podem ser comumente observados em toda subfamília.

REFERÊNCIAS

- BHOJWANI, S. S.; BHATNAGAR, S. P. **The embryology of angiosperms**. Delhi: Vikas Publishing House Pvt Ltd, 1978.
- BLACKMORE, S.; KNOX, R. B. Microsporogenesis: the male programme of development. In: BLACKMORE, S.; KNOX, R. B. (eds). **Microspores: evolution and ontogeny**. London: Academic Press, 1990, p. 1–10.
- BROWN, R. C.; LEMMON, B. E. The cytoskeleton and polarization during pollen development in *Carex blanda* (Cyperaceae). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 87, n. 1, p. 1–11, 2000.
- CARNIEL, K. Beiträge zur entwicklungsgeschichte des sporogenen gewebes der Gramineen und Cyperaceen. II. Cyperaceae. **Österreichische botanische Zeitschrift**, Wien, v. 109, n. 1 e 2, p. 81–95, 1962.
- CARNIEL, K. Elektronenmikroskopische analyse der pollenentwicklung von *Heleocharis palustris*. **Österreichische botanische Zeitschrift**, Wien, v. 120, p. 223–234, 1972.
- CHAMBERLAIN, C. J. **Methods in plant histology**. Chicago: The University of Chicago Press, 1932.
- COAN, A. I.; ALVES, M. V.; SCATENA, V. L. Evidence of pseudomonad pollen formation in *Hypolytrum* (Mapanioideae, Cyperaceae). **Australian Journal of Botany**, East Melbourne, v. 58, p. 663–672, 2010.
- DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy**. Berlin: Springer-Verlag, 1985.
- DOPCHIZ, L. P.; POGGIO, L. Meiosis and pollen grain development in *Isolepis cernua* f. *cernua* (Cyperaceae). **Caryologia**, Firenze, v. 52, n. 3 e 4, p. 197–201, 1999.
- DUNBAR, A. Pollen development in the *Eleocharis palustris* group (Cyperaceae). I. Ultrastructure and ontogeny. **Botaniska Notiser**, Uppsala, v. 126, p. 197–254, 1973.
- ELFVING, F. Studien über die pollenkörner der angiospermen. **Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaften**, Jena, v. 13, p. 1–28, 1879.
- FARLEY, S. J.; PATRICK, J. W.; OFFLER, C. E. Functional transfer cells differentiate in cultured cotyledons of *Vicia faba* L. seeds. **Protoplasma**, Wien, v. 214, p. 102–117, 2000.
- FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 55, n. 1, p. 123–142, 1968.
- FRANCHI, G. G.; PACINI, E. Wall projections in the vegetative cell of *Parietaria officinalis* L. pollen. **Protoplasma**, Wien, v. 104, p. 67–74, 1980.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Microsporogenesis in monocotyledons. **Annals of Botany**, London, v. 84, p. 475–499, 1999.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Selective microspore abortion correlated with aneuploidy: an indication of meiotic drive. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 24, p. 1–8, 2011.

GOETGHEBEUR, P. Cyperaceae. In: KUBITZKI, K. (eds). **Flowering Plants – Monocotyledons**. The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer-Verlag, 1998, v. 4, p. 141–190.

GOVAERTS, R.; KOOPMAN, J.; SIMPSON, D.; GOETGHEBEUR, P.; WILSON, K.; EGOROVA, T.; BRUHL, J. **World checklist of Cyperaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew, 2021. Disponível em: <http://wcsp.science.kew.org>. Acesso em: 06 fevereiro 2021.

GUNNING, B. E. S.; PATE, J. S. “Transfer cells”. Plants cell with ingrowths, specialized in relation to short distance transport of solutes – their occurrence, structure, and development. **Protoplasma**, Wien, v. 68, p. 107–133, 1969.

GUNNING, B. E. S.; PATE, J. S.; GREEN, L. W. Transfer cells in the vascular system of stems: taxonomy, association with nodes, and structure. **Protoplasma**, Wien, v. 71, p. 147–171, 1970.

HÅKANSSON, A. Die chromosomen einiger Scirpoideen. **Hereditas**, Landskrona, v. 10, p. 277–292, 1928.

HÅKANSSON, A. Meiosis and pollen mitosis in x-rayed and untreated spikelets of *Eleocharis palustris*. **Hereditas**, Landskrona, v. 40, n. 3 e 4, p. 325–345, 1954.

HALBRITTER, H.; WEBER, M.; HESSE, M. Unique aperture stratification in *Carex* (Cyperaceae) pollen. **Grana**, Stockholm, v. 49, n. 1, p. 1–11, 2010.

HINCHLIFF, C. E.; ROALSON, E. H. Using supermatrices for phylogenetic inquiry: an example using the sedge. **Systematic Biology**, Basingstoke, v. 62, n. 2, p. 205–219, 2013.

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

JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. **Comparative embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

JUNG, J.; CHOI, H. K. Recognition of two major clades and early diverged groups within the subfamily Cyperoideae (Cyperaceae) including Korean sedges. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 126, p. 335–349, 2013.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, n. 2, p. 137A, 1965.

KIRPES, C. C.; CLARK, L. G.; LERSTEN, N. R. Systematic significance of pollen arrangement in microsporangia of Poaceae and Cyperaceae: review and observation on

representative taxa. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 83, n. 12, p. 1609–1622, 1996.

KNOX, R. B. The pollen grain. In: JOHRI, B. M. (eds) **Embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p. 197–271.

LAMBERT, A. M. Observations sur la première mitose pollinique de *Luzules*. **Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences, Série D, Science Naturelles**, Paris, v. 269, n. 2, p. 153–156, 1969.

LAMBERT, A. M. Formation et différenciation des grains de pollen chez les *Luzules* (Structures et ultrastructures). **Bulletin de l'Académie et de la Société Lorraines des Sciences**, Nancy, v. 9, n. 1, p. 147–149, 1970.

LINDER, H. P.; RUDALL, P. J. Evolutionary history of Poales. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 36, p. 107–124, 2005.

MAHESHWARI, P. **An introduction to the embryology of angiosperms**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1950.

MAKDE, K. H. Pollen development in the Cyperaceae. **The Journal of the Indian Botanical Society**, Meerut, v. 61, p. 242–249, 1982.

MAKDE, K. H.; BHUSKUTE, S. M. Embryology of *Kyllinga monocephala* (Cyperaceae) and its systematic position. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 156, p. 143–150, 1987.

MUASYA, A. M.; SIMPSON, D. A.; VERBOOM, G. A.; GOETGHEBEUR, P.; NACZI, R. F. C.; CHASE, M. W.; SMETS, E. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: current progress and future prospects. **The Botanical Review**, Bronx, v. 75, p. 2–21, 2009.

MUNRO, S. L.; LINDER, H. P. The embryology and systematic relationships of *Prionium serratum* (Juncaceae: Juncales). **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 84, n. 6, p. 850–860, 1997.

NAGARAJ, M.; NIJALINGAPPA, B. H. M. Sporogeneses and development of gametophytes in *Hypolytrum latifolium* L.C. Rich. **Current Science**, Bangalore, v. 41, n. 7, p. 260–261, 1972.

NAGARAJ, M.; NIJALINGAPPA, B. H. M. Embryological studies in *Cyperus alopecuroides* Rottb. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 77, n. 6, p. 252–263, 1973.

NAGELS, A.; MUASYA, A. M.; HUYSMANS, S.; VRIJDAGHS, A.; SMETS, E.; VINCKIER, S. Palynological diversity and major evolutionary trends in Cyperaceae. **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 277, p. 117–142, 2009.

NIJALINGAPPA, B. H. M. Sporogenesis and gametogenesis in some Cyperaceae. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 83A, n. 2, p. 66–72, 1976.

- NIJALINGAPPA, B. H. M. Embryology of *Scleria foliosa* (Cyperaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Wien, v. 152, p. 219–230, 1986.
- NIJALINGAPPA, B. H. M.; DEVAKI, N. Embryological studies in *Diplacrum caricinum* R.Br. **Beiträge zur Biologie der Pflanzen**, Berlin, v. 54, p. 215–225, 1978.
- NIJALINGAPPA, B. M. H.; PALAKSHAIAH, C. R. Embryological studies in *Rhynchospora wightiana* (Cyperaceae). In: BHATIA, B.; SHUKLA, A. K.; SHARMA, H. L. (eds). **Plant form and function**. New Delhi: Angkor Publisher (p) Ltd., 1998, p. 225–236.
- OFFLER, C. E.; LIET, E.; SUTTON, E. G. Transfer cell induction in cotyledons of *Vicia faba* L. **Protoplasma**, Wien, v. 200, p. 51–64, 1997.
- PADHYE, M. D. Studies in Cyperaceae. I. Embryology of *Cyperus iria* Linn. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 37, p. 1–10, 1971a.
- PADHYE, M. D. Studies in Cyperaceae. III. Life history of *Kyllinga brevifolia* Rottb. with a brief discussion on systematic position of *Kyllinga*. **The Botanical Gazette**, Chicago, v. 132, n. 3, p. 172–179, 1971b.
- PADHYE, M. D.; MOHARIR, S. K. Studies in embryology of *Cyperus tegetum* Roxb. **Proceedings Indian Academy of Sciences, Section B, Biology Sciences**, Bangalore, v. 48, n. 2, p. 89–95, 1958.
- PADHYE, M. D.; CHAUBE, S. N.; IYER, A. V. Studies in Cyperaceae – VIII. Gametophytes and fertilization in two members of Cyperaceae. **The Journal of the Indian Botanical Society**, Meerut, v. 49, p. 86–92, 1970.
- PASSARINI LOPES, F.; ALVES, M. V. S.; COAN, A. I. Anther development, microsporogenesis and microgametogenesis in *Mapania* Aubl. (Mapanioideae, Cyperaceae). **Feddes Repertorium**, Weinheim. In prep.
- PASSARINI LOPES, F.; ORIANI, A.; COAN, A. I. Development of the permanent tetrad wall in *Juncus* L. (Juncaceae, Poales). **Protoplasma**, Wien, v. 258, n. 3, p. 495–506, 2021.
- PATE, J. S.; GUNNING, B. E. S. Transfer cells. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 23, p. 173–196, 1972.
- PIECH, K. Studja cytologiczne nad rodzajem *Scirpus*. – Zytologische studien an der gattung *Scirpus*. **Bulletin International de L'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles. Série B: Sciences Naturelles Botanique, Imprimerie de l'Université, Cracovie**, p. 1–43, 1928.
- PLATT, K. A.; HUANG, A. H. C.; THOMSON, W. W. Ultrastructural study of lipid accumulation in tapetal cells of *Brassica napus* L. Cv. Westar during microsporogenesis. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 159, n. 5, p. 724–737, 1998.

RANGANATH, R. M.; NAGASHREE, N. R. Selective cell elimination during microsporogenesis in sedges. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 13, p. 53–60, 2000.

REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, New York, v. 17, n. 1, p. 208–212, 1963.

ROCHA, D. M.; MARQUES, A.; ANDRADE, C. G. T. J.; GUYOT, R.; CHALUVADI, S. R.; PEDROSA-HARAND, A.; HOUBEN, A.; BENNETZEN, J. L.; VANZELA, A. L. L. Developmental programmed cell death during asymmetric microsporogenesis in holocentric species of *Rhynchospora* (Cyperaceae). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 18, p. 5391–5401, 2016.

ROCHA, D. M.; VANZELA, A. L. L.; MARIATH, J. E. A. Comparative study of microgametogenesis in members of Cyperaceae and Juncaceae: a shift from permanent pollen tetrads to pseudomonads. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 188, n. 1, p. 59–73, 2018.

ROSEN, W. G.; GAWLICK, S. R. Relation of lily pollen tube structure to pistil incompatibility and mode of nutrition. In: International Congress Electron Microscopy, 6., 1966, Kyoto. **Proceedings** [...]. Tokyo: Maruzen, 1966, p. 313–314.

SAN MARTIN, J. A. B.; ANDRADE, C. G. T. J.; MASTROBERTI, A. A.; MARIATH, J. E. A.; VANZELA, A. L. L. Asymmetric cytokinesis guide the development of pseudomonads in *Rhynchospora pubera* (Cyperaceae). **Cell Biology International**, London, v. 37, p. 203–212, 2013.

SELLING, O. H. Studies in Hawaiian pollen statistics. II. The pollen of the Hawaiian phanerogams. **Special Publication, Bernice Pauahi Bishop Museum, Bishop Museum**, Honolulu, v. 38, p. 1–430, 1947.

SEMMOURI, I.; BAUTERS, K.; LÉVEILLÉ-BOURRET, E.; STARR, J. R.; GOETGHEBEUR, P.; LARRIDON, I. Phylogeny and systematics of Cyperaceae, the evolution and importance of embryo morphology. **The Botanical Review**, Bronx, v. 85, n. 1, p. 1–39, 2019.

SIMPSON, D. Relationships within Cyperales. In: RUDALL, P. J.; CRIBB, P. J.; CUTLER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (eds). **Monocotyledons: systematics and evolution**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1995, p. 497–509.

SIMPSON, D. A.; FURNESS, C. A.; HODKINSON, T. R.; MUASYA, A. M.; CHASE, M. W. Phylogenetic relationships in Cyperaceae subfamily Mapanioideae inferred from pollen and plastid DNA sequence data. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 90, n. 7, p. 1071–1086, 2003.

SPALINK, D.; DREW, B. T.; PACE, M. C.; ZABORSKY, J. G.; STARR, J. R.; CAMERON, K. M.; GIVNISH, T. J.; SYTSMA, K. J. Biogeography of the cosmopolitan sedges (Cyperaceae) and the area-richness correlation in plants. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 43, n. 10, p. 1893–1904, 2016.

SPURR, A. R. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy.

Journal of Ultrastructure Research, New York, v. 26, p. 31–43, 1969.

STEVENS, P. F. **Angiosperms Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. [S. l.]. 2017 [2001 onwards]. Disponível em <http://www.mobot.org/MOBOT/research/apweb/>. Acesso em: 06 fevereiro 2021.

STOUT, A. B. The individuality of the chromosomes and their serial arrangement in *Carex aquatilis*. **Archiv für Zellforschung**, Leipzig, v. 9, p. 114–140, 1912.

STRANDHEDE, S. O. Chromosome studies in *Eleocharis*, subser. *palustres*. II. Pollen mitosis with special reference to some strains with 15 chromosomes, and formation of secondarily unreduced pollen grains. **Hereditas**, Landskrona, v. 53, n. 3, p. 374–388, 1965.

TANAKA, N. Chromosome studies in Cyperaceae, III. The maturation divisions in *Scirpus lacustris* L., with special reference to the heteromorphic pairing. **Cytologia**, Tokyo, v. 9, p. 533–556, 1939.

TANAKA, N. Chromosome studies in Cyperaceae, VI. Pollen development and additional evidence for the compound chromosome in *Scirpus lacustris* L. **Cytologia**, Tokyo, v. 10, p. 348–362, 1940.

TANAKA, N. Chromosome studies in Cyperaceae, XII. Pollen development in five genera, with special reference to *Rhynchospora*. **The Botanical Magazine Tokyo**, Tokyo, v. 55, n. 650, p. 55–65, 1941.

VAN WICHELEN, J.; CAMELBEKE, K.; CHAERLE, P.; GOETGHEBEUR, P.; HUYSMANS, S. Comparison of different treatments for LM and SEM studies and systematic value of pollen grains in Cyperaceae. **Grana**, Stockholm, v. 38, n. 1, p. 50–58, 1999.

WATSON, M. L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. **The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, New York, v. 4, n. 4, p. 475–478, 1958.

WULFF, H. D. Die pollenentwicklung der Juncaceen nebst einer auswertung der embryologischen befunde hinsichtlich einer verwandtschaft zwischen den Juncaceen und Cyperaceen. **Jahrbücher für Wissenschaftliche Botanik**, Berlin, v. 87, p. 533–556, 1939.

ZAMAN, B. The embryology of *Juncus prismatocarpus* BR. and *J. effusus* Linn. **Proceedings: Plant Sciences**, Bangalore, v. 31, n. 4, p. 223–234, 1950.

ZINI, L. M.; GALATI, B. G.; FERRUCCI, M. S. Ovule and female gametophyte in representatives of *Nymphaea* subgenus *Hydrocallis* and *Victoria* (Nymphaeaceae; Nymphaeoidae). **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 120, p. 322–332, 2014.

ZINI, L. M.; GALATI, B. G.; FERRUCCI, M. S.; ZARLAVSKY, G.; ROSENFELDT, S. Ultrastructural study of the female gametophyte and the epistase in Cabombaceae and Nymphaeaceae. **Flora**, Jena, v. 220, p. 25–36, 2016.

ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fases iniciais do desenvolvimento da parede da antera em *Schoenoplectus californicus* (**A, C, E, F, I**), *Fuirena* sp. (**B, D**) e *Scleria* cf. *latifolia* (**G, H**); em microscopia de luz (ML) (**A–I**). **A.** Corte transversal (CT) do primórdio da antera. **B.** CT da antera jovem mostrando o tecido arquesporial. **C, D.** CT de anteras jovens mostrando as camadas parietal e esporogênica primárias. **E.** CT da antera jovem mostrando célula da camada parietal se dividindo. **F.** CT da antera jovem mostrando as camadas parietais secundárias externa e interna. **G, H.** CT e corte longitudinal de anteras jovens mostrando a divisão das células da camada parietal secundária interna. **I.** CT da antera jovem mostrando a parede da antera recém formada. CA, célula arquesporial; CE, célula esporogênica; CM, camada mediana; E, epiderme; En, endotécio; Mi, microsporócito; MF, meristema fundamental; PP, camada parietal primária; Pr, protoderme; SE, camada parietal secundária externa; SI, camada parietal secundária interna; T, tapete; *, idioblasto fenólico; cabeça-de-seta, divisão celular. Barras de escala: **A–H**= 10µm; **I**= 25µm.

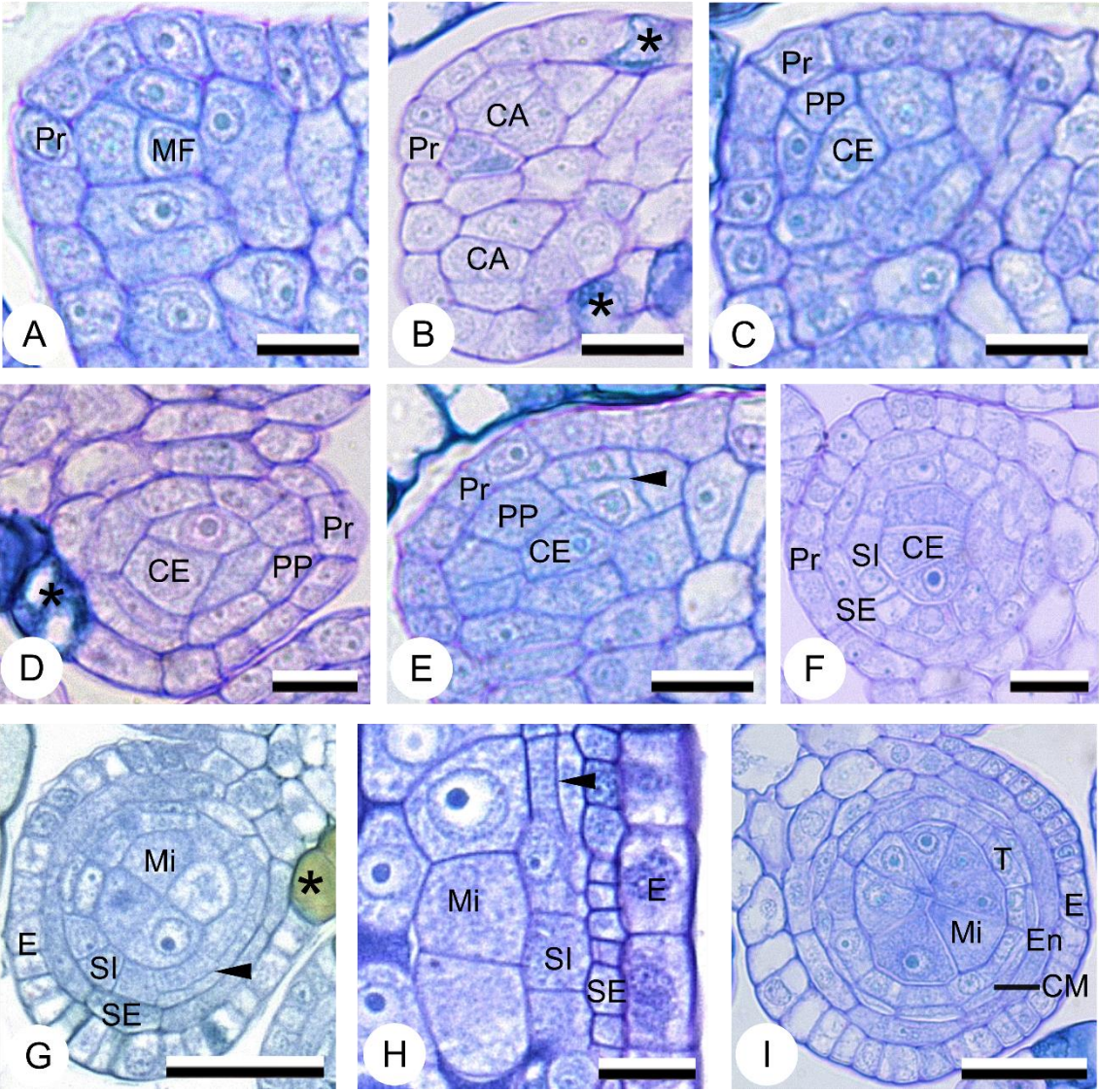


Figura 2: Fases sucessivas do desenvolvimento da parede da antera em *Scleria cf. latifolia* (**A**, **B**), *Scleria distans* (**C**), *Fuirena* sp. (**D**) e *Cladium mariscus* (**E**); cortes transversais em microscopia eletrônica de transmissão (MET) (**A–C**) e ML (**D**, **E**). **A**, **B**. Camada mediana e tapete em degeneração. **C**. Visão geral da membrana peritapetal no estágio de microgametófito bicelular vacuolado. **D**. Células do endotécio com espessamento em espiral no estágio de microgametófito bicelular vacuolado. **E**. Epiderme levemente papilosa na antera madura. CM, camada mediana; CV, célula vegetativa; E, epiderme; En, endotécio; MF, micrósporo funcional; Mi, microsporócito; MN, micrósporo não-funcional, NF, núcleo do micrósporo funcional; NG, núcleo generativo; NV, núcleo vegetativo; T, tapete; V, vacúolo; *, idioblasto fenólico. Barras de escala: **A**, **B**, **C**= 10µm; **D**= 25µm; **E**= 20µm.

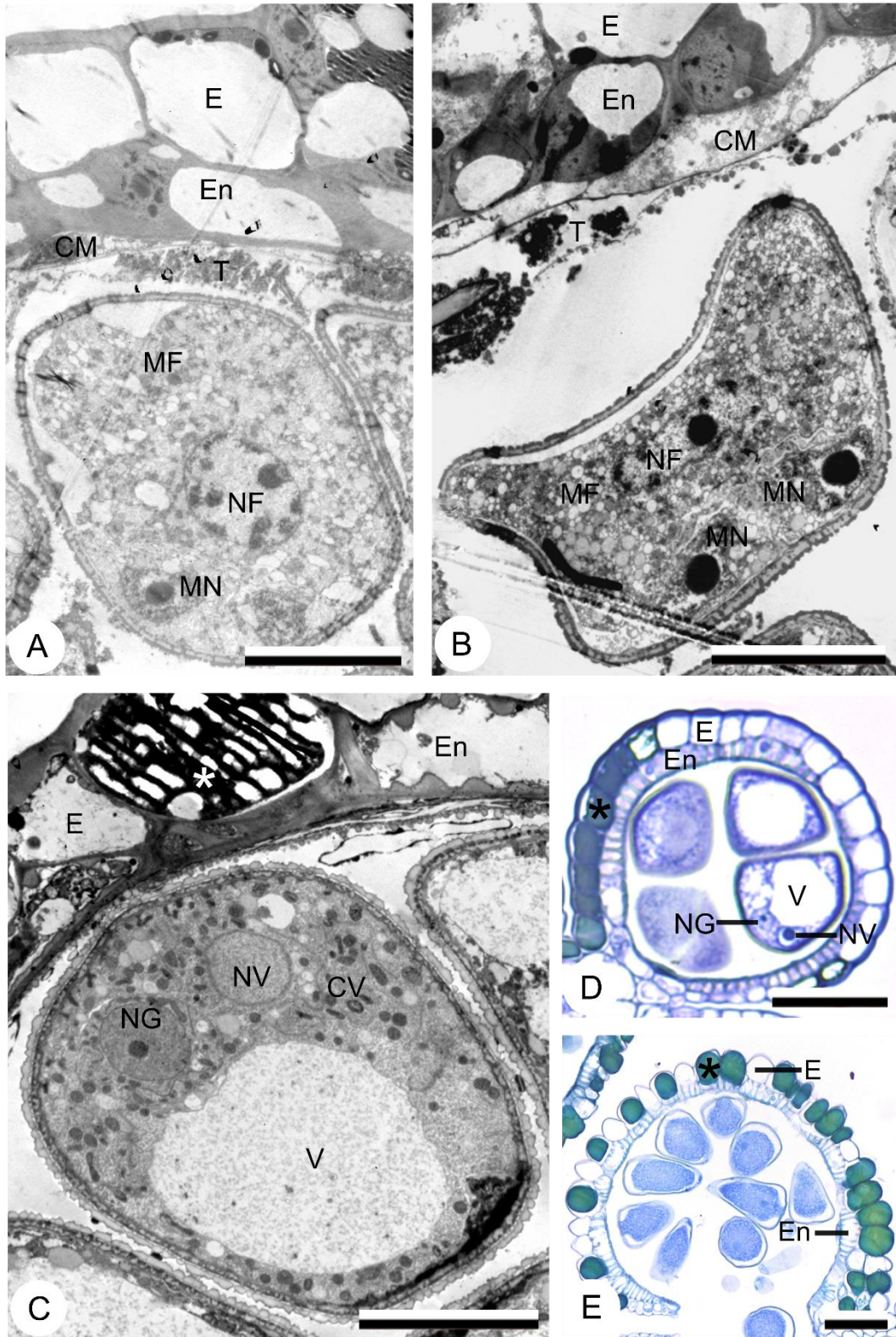


Figura 3: Fase final do desenvolvimento da parede da antera; cortes transversais em ML (**A–F**). **A.** *Cladium mariscus*. **B.** *Becquerelia* cf. *muricata*. **C.** *Scleria distans*. **D.** *Scleria* cf. *latifolia*. **E.** *Fuirena* sp. **F.** *Schoenoplectus californicus*. E, epiderme; En, endotécio; *, idioblasto fenólico. Barras de escala: **A–F**= 25µm.

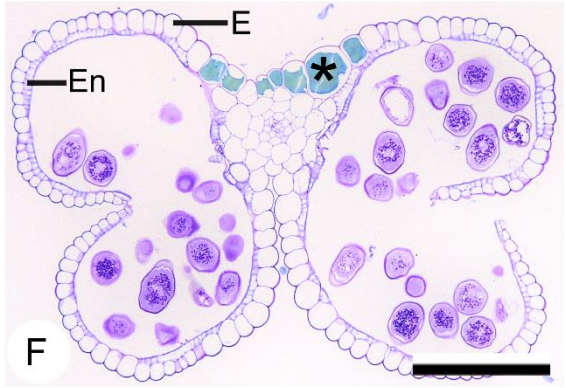
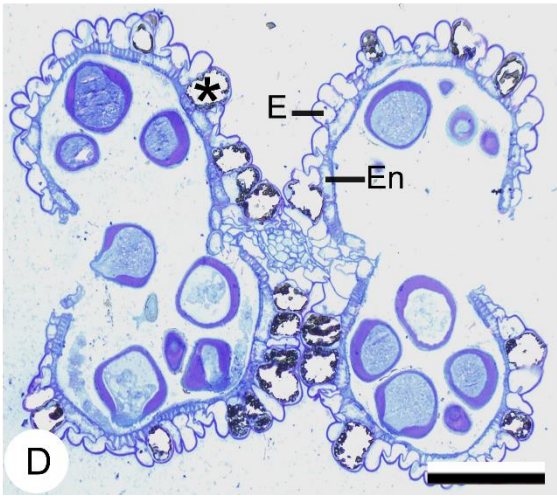
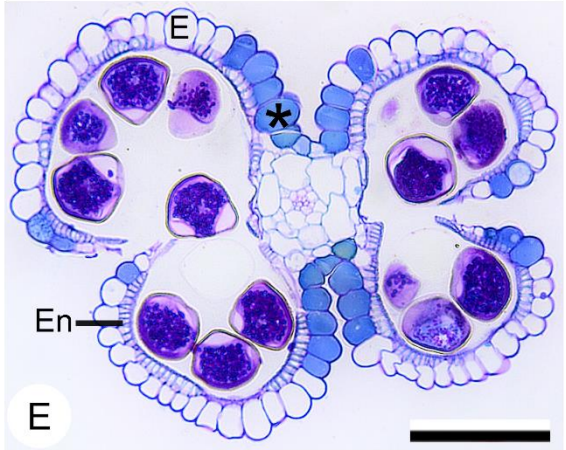
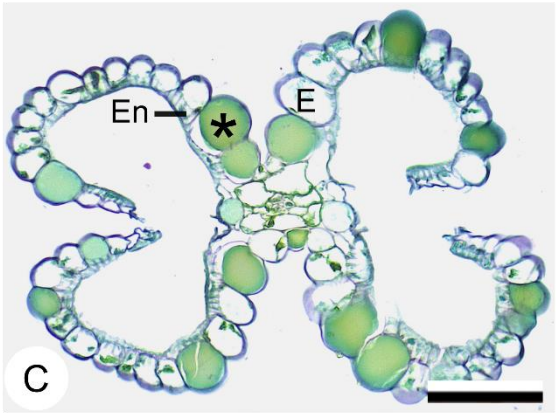
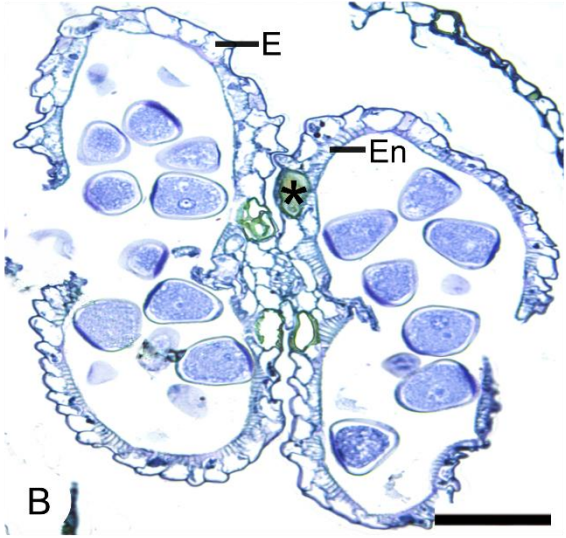
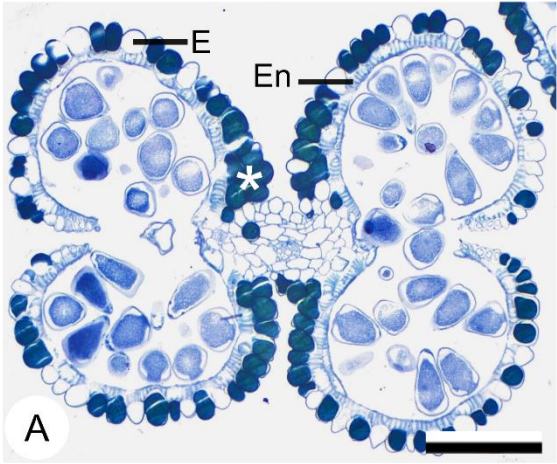


Figura 4: Microsporogênese em *Scleria* cf. *latifolia* (**A, C–E**) e *Schoenoplectus californicus* (**B**); cortes transversais em ML (**A, C**) e MET (**B, D, E**). **A, B.** Microsporócitos envolvidos por calose. **C.** Microsporócito cenocítico mostrando três dos quatro núcleos recém-formados. **D, E.** Micrósporo funcional maior e micrósporos não-funcionais menores. C, calose; CM, camada mediana; E, epiderme; En, endotécio; FM, micrósporo funcional; Mi, microsporócito; MN, micrósporo não-funcional; NF, núcleo funcional; NN, núcleo não-funcional; T, tapete. Barras de escala: **A, B, D, E**= 5µm; **C**= 25µm.

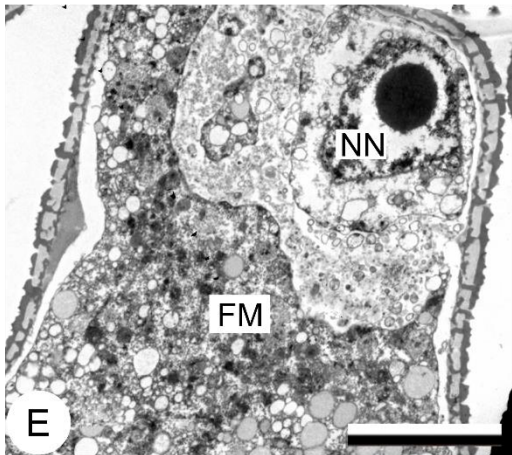
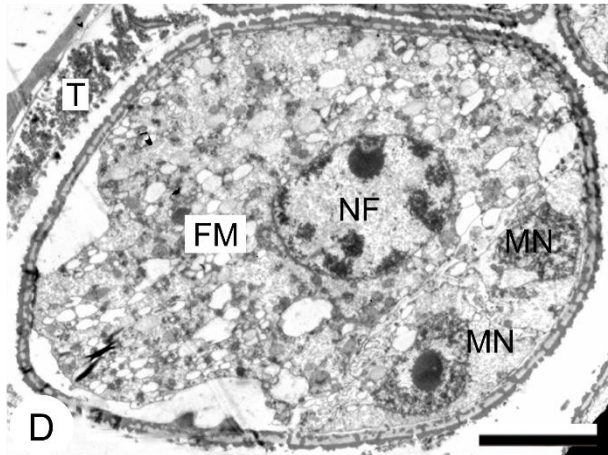
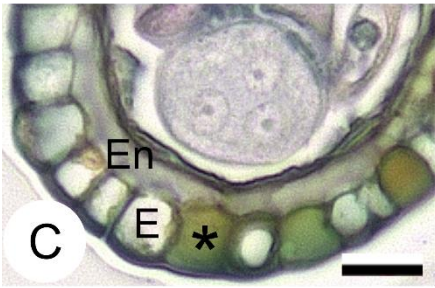
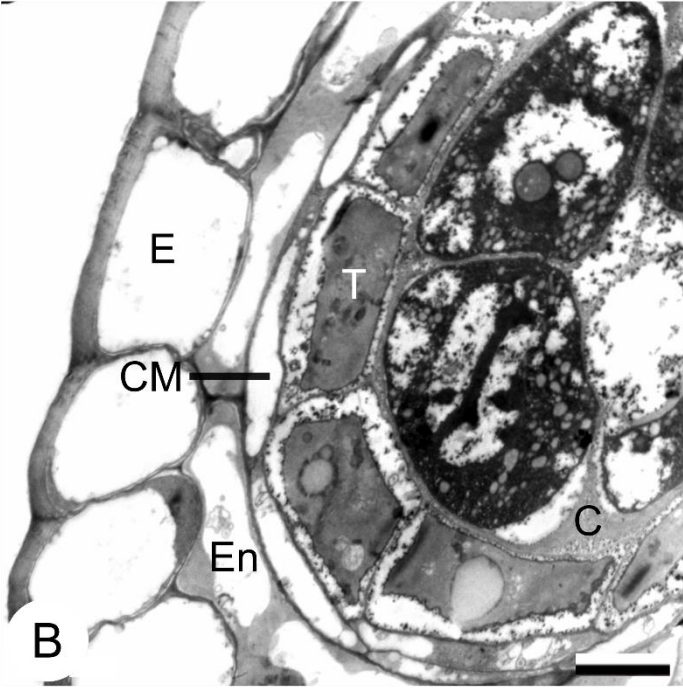
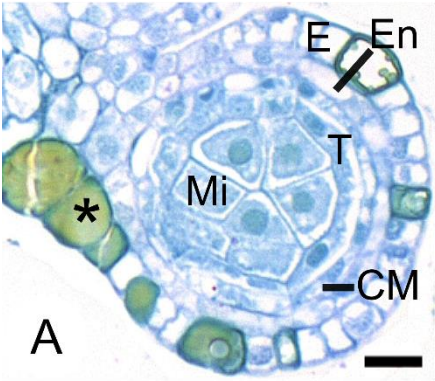


Figura 5: Ultraestrutura da parede da tétrade de micrósporos em *Scleria* cf. *latifolia* (A–C). **A.** Aspecto geral da parede e do espaço periplasmático entre os micrósporos. **B, C.** Detalhes da exina da parede e da primexina ao redor e entre os micrósporos (setas pretas). CB, camada basal; Co, columela; FM, micrósporo funcional; MN, micrósporo não-funcional; NF, núcleo funcional; NN, núcleo não-funcional; Pe, primexina, Te, teto; cabeça-de-seta dupla, protusão da primexina. Barras de escala: **A**= 2,5µm; **B**= 5µm; **C**= 1,25µm.

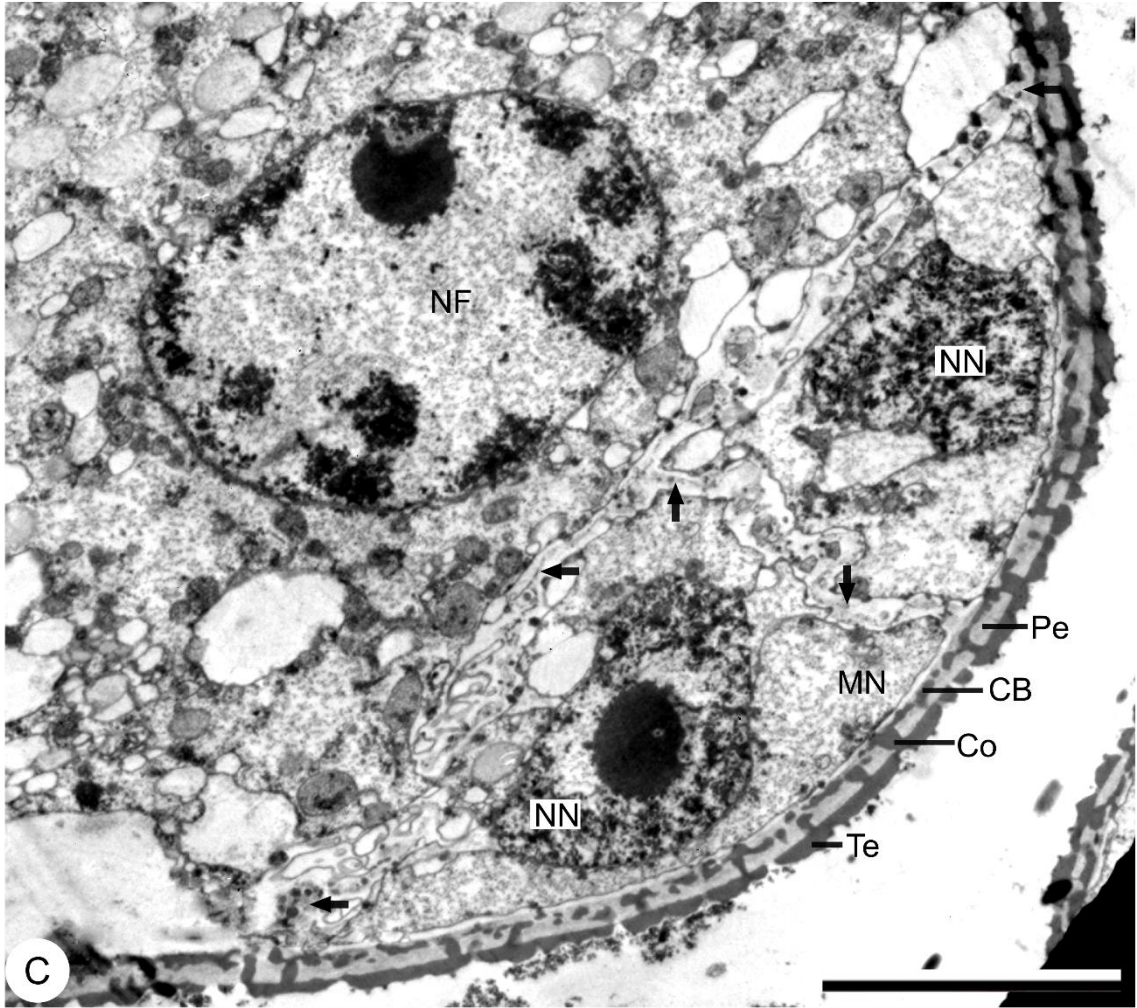
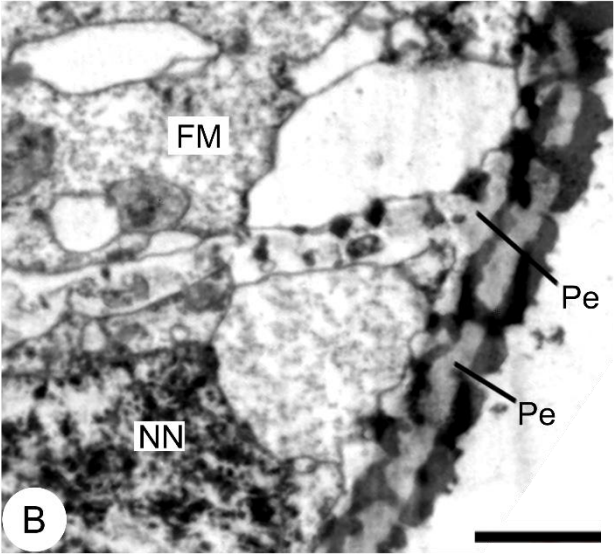
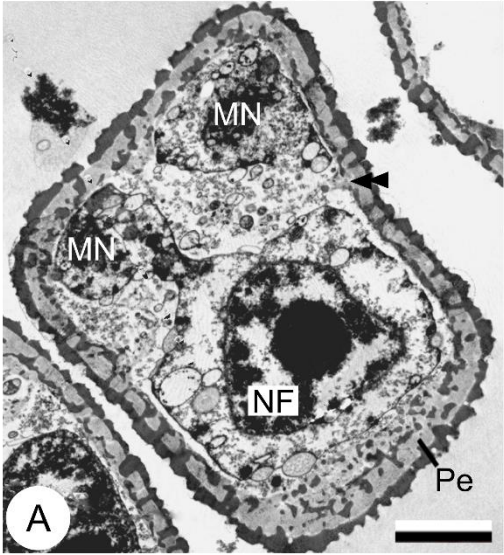


Figura 6: Microgametogênese em *Scleria* cf. *latifolia* (**A**, **C**), *Scleria distans* (**B**, **E**, **F**) e *Schoenoplectus californicus* (**D**); em MET (**A**, **B**) e ML (**C**–**F**). **A**. Formação da célula generativa (setas). **B**. Detalhe da célula generativa envolta por sua parede celular (seta). **C**. Núcleo generativo adjacente aos três núcleos não-funcionais. **D**. Pseudomônade madura tricelular. **E**, **F**. Núcleos não-funcionais em degeneração. CG, célula generativa; CV, célula vegetativa; NE, núcleo espermático; NG, núcleo generativo; NN, núcleo não-funcional; NV, núcleo vegetativo. Barras de escala: **A**=2 μ m, **B**= 5 μ m; **C**, **D**= 12,5 μ m; **E**= 7,25 μ m; **F**= 25 μ m.

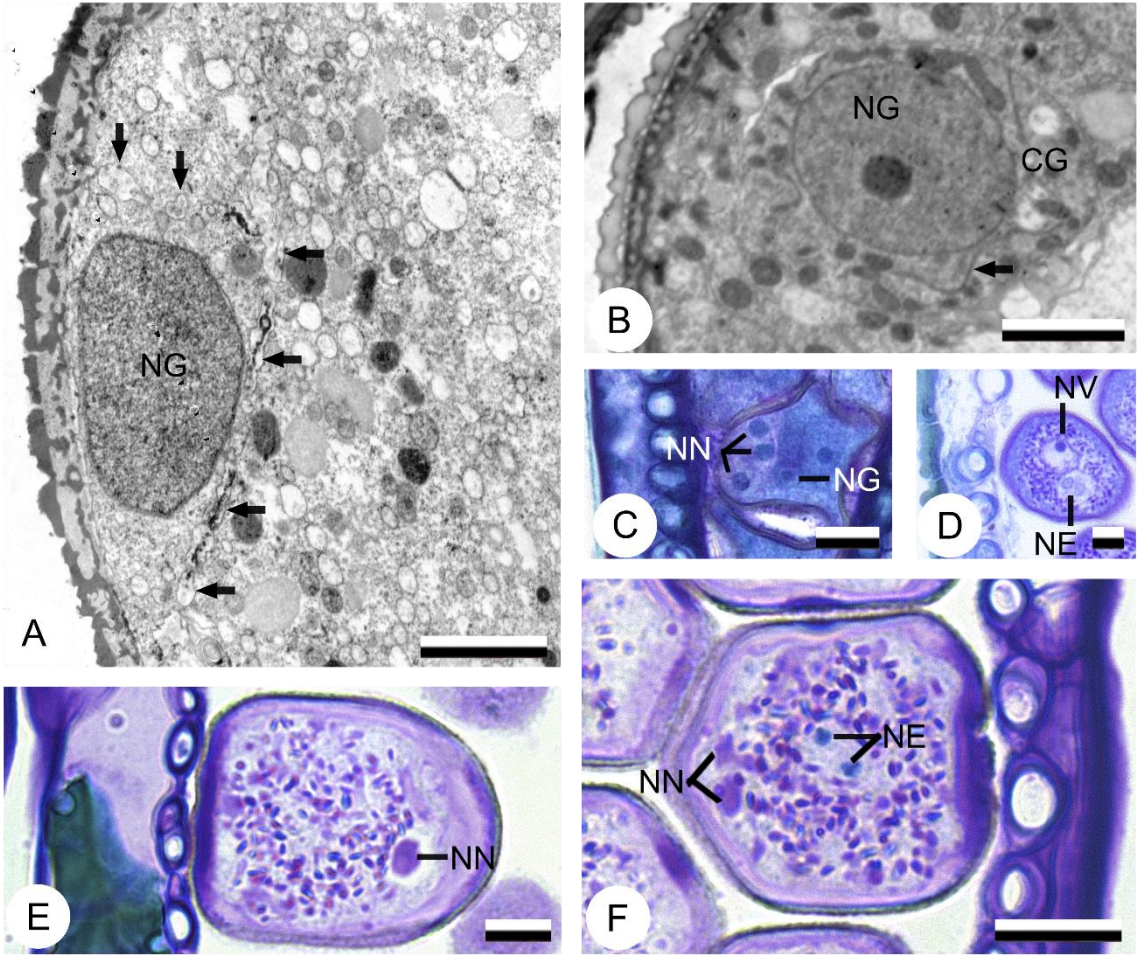


Figura 7: Ultraestrutura da parede e da abertura da pseudomônade de *Scleria* cf. *latifolia* (**A**, **B**, **D**) e *Scleria distans* (**C**, **E**, **F**). **A**. Detalhe da parede da pseudomônade mostrando as camadas da exina e a primexina permeando o espaço periplasmático (seta preta). **B**. Detalhe da parede da pseudomônade bicelular. **C**, **E**. Aspectos gerais da parede da pseudomônade e de sua abertura basal durante a microgametogênese. **D**, **F**. Detalhes da parede na região da abertura basal durante a microgametogênese. A, abertura; CB, camada basal; Co, columela; E, epiderme; En, endotécio; Ex, exina; In, intina; Pe, primexina, Te, teto. **A**, **F**= 1µm; **B**, **D**= 2,5µm; **E**, **C**= 5µm.

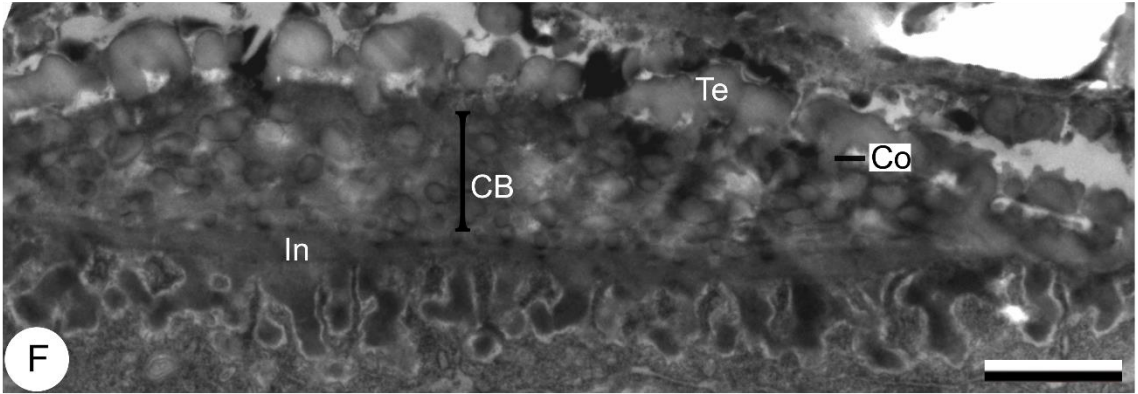
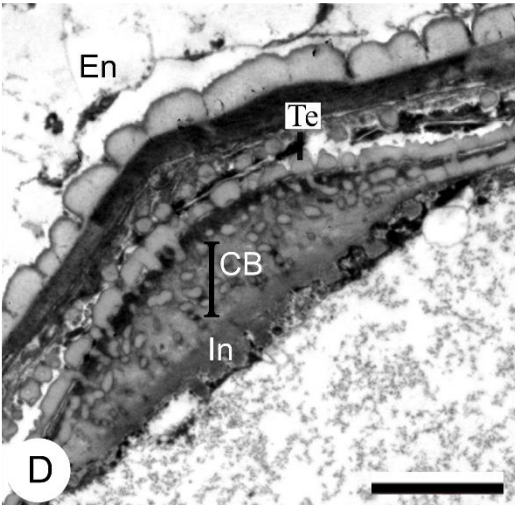
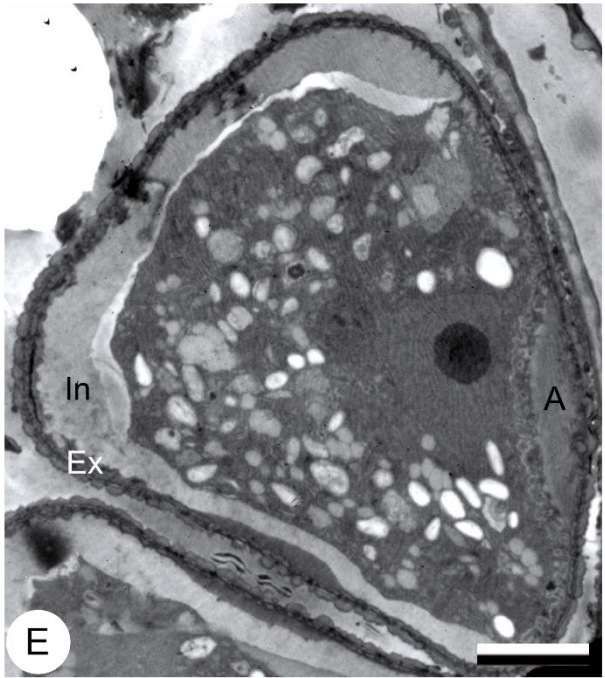
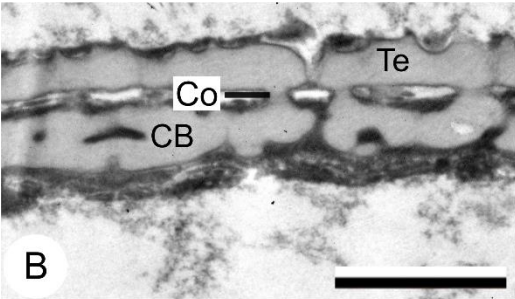
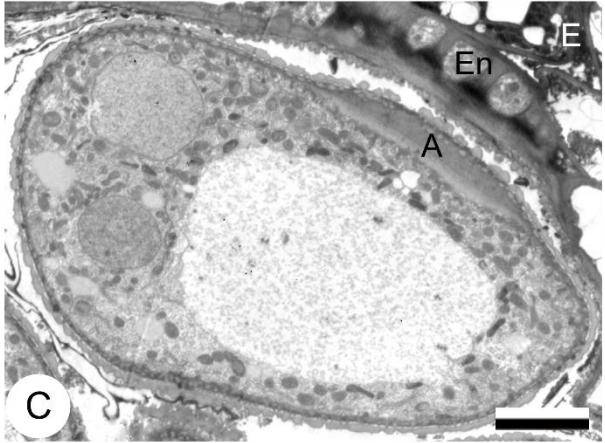
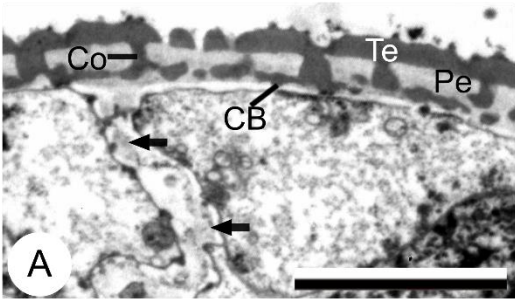


Figura 8: Micromorfologia da pseudomônade madura e formato das aberturas. **A, B.** *Cladium mariscus*. **C, D.** *Becquerelia* cf. *muricata*. **E, F.** *Scleria distans*. **G.** *Fuirena* sp. **H, I.** *Schoenoplectus californicus*. setas, aberturas. Barras de escala: **A–H**= 5µm; **I**= 10µm.

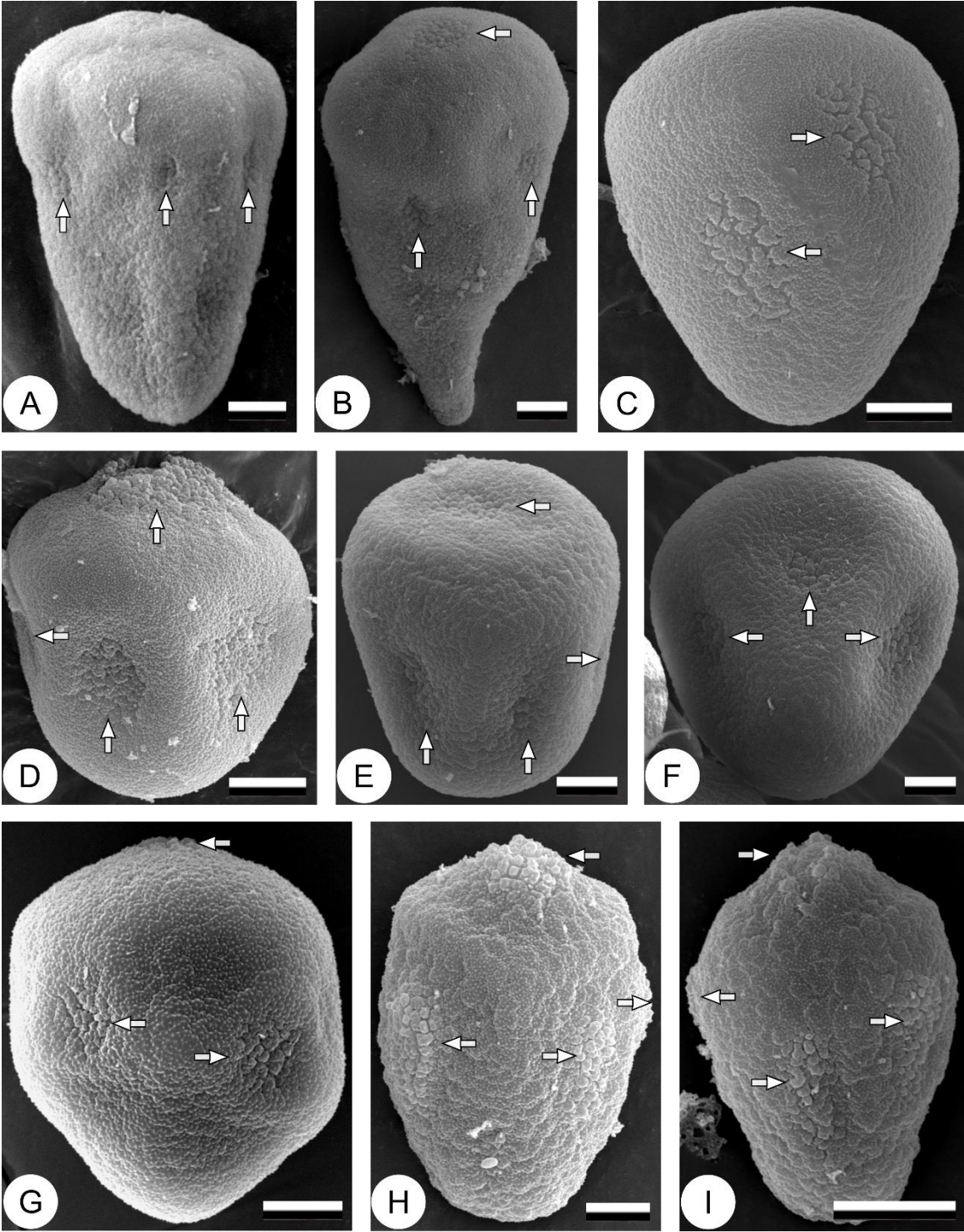


Figura 9: Ornamentações das sexinas da parede (**A**) e das aberturas basal (**B**, **C**) e laterais (**D**, **E**) das pseudomônades das espécies estudadas de Cyperoideae. **A**, **E**. *Fuirena* sp. **B**. *Scleria distans*. **C**. *Becquerelia* cf. *muricata*. **D**. *Cladium mariscus*. Barras de escala: **A–E**= 2,5µm.

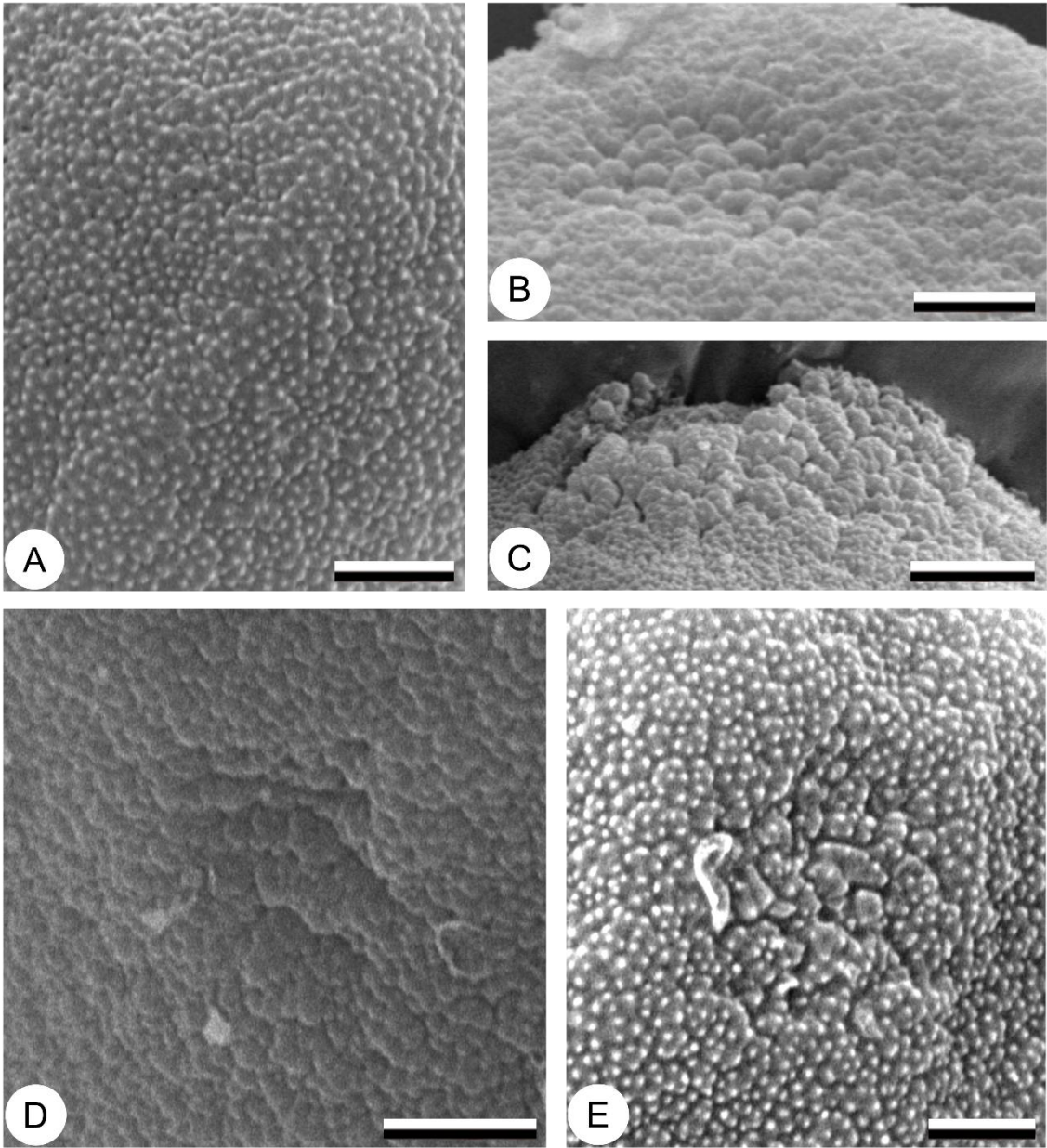


Tabela 1 – Lista de espécies de Cyperoideae estudadas, com os respectivos posicionamentos taxonômicos *sensu* Semmouri et al. (2019), dados de coleta e herbário e análises realizadas.

Espécie	Dados do coletor e herbário	Localidade	Análises realizadas
Cladieae Nees			
<i>Cladium mariscus</i> (L.) Pohl	F.P. Lopes 27 (HRCB 75025)	SP, Iguape, Estação Ecológica da Juréia-Itatins	ML/MEV
Sclerieae Wight & Arn.			
<i>Scleria distans</i> Poir.	F.P. Lopes 4 (HRCB 75012)	SP, Santo André	ML/MEV/MET
<i>Scleria</i> cf. <i>latifolia</i> Sw.	F.P. Lopes 13 (HRCB 75015)	SP, Cananéia, Parque Estadual Ilha do Cardoso	ML/MET
Bisboeckelereae Pax ex L.T.Eiten			
<i>Becquerelia</i> cf. <i>muricata</i> (Boeckeler) Nees	F.P. Lopes 29 (HRCB 75027)	SP, Iguape, Estação Ecológica da Juréia-Itatins	ML/MEV/MET
Fuireneae Reichenb. ex Fenzl			
<i>Fuirena</i> sp.	F.P. Lopes 24 (HRCB 75022)	SP, Iguape, Estação Ecológica da Juréia-Itatins	ML/MEV
<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A.Mey.)	F.P. Lopes et al. 31 (HRCB 75029)	SP, Cunha	ML/MEV/MET
Soják			

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em resumo, os resultados do presente estudo mostram que as espécies de Juncaceae e Cyperaceae estudadas compartilham algumas características como: parede da antera com endotécio com espessamento em espiral, camada mediana efêmera e tapete secretor; parede de calose ao redor do microsporócito; microsporogênese simultânea; tétrade de micrósporos unida pela deposição da camada de exina; e grão de pólen tricelular. Destaca-se a presença de parede de calose ao redor do microsporócito como um dado inédito para Juncaceae.

As características distintas encontradas nas espécies de *Juncus* estudadas, como persistência da lamela média e da parede primária do microsporócito durante a microsporogênese e a deposição antecipada da primexina e da exina da parede polínica sobre a superfície do microsporócito cenocítico tetranucleado, colaboraram com o desenvolvimento de uma tétrade permanente. A coesão é descrita como do tipo “simple cohesion”, com teto contínuo por toda a superfície deste grão de pólen agregado. Além disso, a presença de uma parede interna formada pela camada basal, que é contínua com a camada basal da parede externa, é apontada como importante na manutenção e fortalecimento da coesão.

Vale ressaltar também a uniformidade no desenvolvimento da parede polínica em *Juncus acutus*, *J. capillaceus*, *J. imbricatus*, *J. micranthus*, *J. microcephalus*, *J. pallescens* e *J. tenuis* var. *dichotomus*.

Em Cyperaceae, o desenvolvimento da antera e da pseudomônade em *Cladium mariscus* (Cladieae), *Becquerelia* cf. *muricata* (Bisboeckelereae), *Scleria distans* e *Scleria* cf. *latifolia* (Sclerieae) se mostraram uniformes quando comparados aos demais gêneros já estudados na subfamília e à *Fuirena* sp. e *Schoenoplectus californicus* (Fuireneae) também aqui analisados. Os resultados aqui apresentados permitiram corroborar a formação do grão de pólen do tipo pseudomônade em todas as espécies estudadas, que é uma sinapomorfia de Cyperaceae em Poales.

Embora tenha sido evidenciada uniformidade no desenvolvimento da pseudomônade, vale destacar características inéditas que complementam e ampliam o conhecimento embriológico tanto para Cyperoideae quanto para Cyperaceae. Tais características são: a presença de idioblastos fenólicos na parede da antera; de primexina entre os micrósporos da tétrade, relacionada ao estabelecimento de uma parede interna de exina; e abertura basal com intina contendo projeções de parede, que contribuem com o transporte mais rápido de solutos para dentro e para fora da célula.

A partir dos resultados aqui apresentados, há a necessidade de mais estudos ontogenéticos da parede polínica para outras espécies de *Juncus*, a fim de conhecer se esta uniformidade no desenvolvimento continua dentro do gênero; e também para os demais gêneros de Juncaceae: *Luzula*, *Marsippospermum*, *Oreojuncus*, *Oxychloë*, *Patosia* e *Rostkovia*, com intuito de se conhecer o mecanismo de coesão de suas tétrades permanentes e entender como este grão de pólen agregado evoluiu dentro da família. Também há necessidade de estudos ontogenéticos polínicos para Hypolytreae (Mapanioideae) e para outras tribos basais de Cyperoideae: Trilepideae, Schoeneae, Cryptangieae e Rhynchosporeae, a fim de ampliar o conhecimento embriológico dos clados basais de Cyperaceae.