
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ISABELA BASSO FROLLINI

DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL EM
Eriocaulon elichrysoides (ERIOCAULACEAE)

ISABELA BASSO FROLLINI

DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL EM *Eriocaulon
elichrysoides* (ERIOCAULACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro,
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, para obtenção dos graus de
Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Aline Oriani

Rio Claro - SP
2022

F929d	Frollini, Isabela Basso Desenvolvimento pós-seminal em <i>Eriocaulon elichrysoides</i> (Eriocaulaceae) / Isabela Basso Frollini. -- Rio Claro, 2022 28 p. : fotos Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro Orientadora: Aline Oriani 1. Angiosperma. 2. Monocotiledônea. 3. Desenvolvimento pós-seminal. 4. <i>Eriocaulon elichrysoides</i>. 5. Eriocaulaceae. 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.

ISABELA BASSO FROLLINI

DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL EM *Eriocaulon elichrysoides*
(ERIOCAULACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro,
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, para obtenção dos graus de
Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Aline Oriani (orientadora)

Dra. Lucimara Reis de Oliveira Silva

Dr. Thales Henrique Dias Leandro

Aprovado em: 07 de Janeiro de 2022



Assinatura da discente



Assinatura da orientadora

Aos meus pais, que sempre me apoiaram com imensa dedicação, e aos meus amigos queridos, que de alguma forma contribuíam para minha jornada, Dedico.

AGRADECIMENTOS

É com imensa satisfação que estou finalizando estes cinco anos de graduação. Cinco anos em que pude aprender muito e desenvolver não apenas trabalhos como este, mas vínculos e amizades que pretendo levar para a vida toda. Não há melhor maneira de celebrar senão agradecendo a todos aqueles que compartilharam tantos momentos importantes comigo, contribuindo para o meu crescimento pessoal.

Agradeço primeiramente à Unesp, ao Instituto de Biociências de Rio Claro e ao Departamento de Botânica, que me concederam o espaço e tantas oportunidades de aprendizado. Agradeço também à FAPESP pela concessão da bolsa (processo 2019/09181-4, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) que permitiu a realização do presente trabalho.

Agradeço à minha orientadora, Dra. Aline Oriani, que desde o começo da graduação acreditou no meu potencial. Obrigada por todo o auxílio e conhecimento que você compartilhou comigo. Se um dia conseguir ser metade da cientista que você é, serei muito feliz!

Agradeço aos meus pais, Elisa e Valério, que com seu amor incondicional abdicaram de muito pelo meu bem-estar e futuro. Mãe, serei eternamente grata por todos os ensinamentos e pelo amor, carinho e atenção que sempre recebi de você. É um privilégio imenso ser sua filha e espero um dia conseguir retribuir tudo o que você faz por mim de alguma forma. Pai, fico bastante entristecida de você não estar mais aqui para acompanhar a finalização desta etapa da minha vida. Espero que eu tenha feito você orgulhoso.

Agradeço também à minha bisavó, Francelina, minha segunda mãe, que foi peça chave para o desenvolvimento do meu interesse pela botânica. Com a senhora, aprendi que uma das melhores formas de vivenciar o amor não é necessariamente a partir das palavras, mas sim dos gestos e do cuidado.

Agradeço à minha irmã do coração, Manuelle, que vem fielmente compartilhando a vida comigo (mesmo que à distância) por quase uma década já. Manu, obrigada por todo o amor e atenção que você me dedica todos os dias. Você, com seu senso de humor e seu jeitinho de encarar as adversidades da vida, é única.

Agradeço às outras irmãs que a vida me deu: Nathalia e Luana. As memórias mais divertidas minha adolescência são todas compartilhadas com vocês. Obrigada

por todas as risadas que vocês me proporcionam e por todo apoio que sempre me dão.

Agradeço aos amigos que a biologia me presenteou: Haru, Laís, Marina, Letícia e Giovani. A jornada da graduação não se tornou menos sofrida por causa de vocês, que me abandonaram na licenciatura, mas pelo menos me diverti bastante. Obrigada pelo apoio e vamos seguir desempregados, porém sempre juntos!

Agradeço à Dra. Vera Lucia Scatena pela confiança e todo o auxílio prestado nos últimos anos.

E por fim, mas não menos importante, agradeço a todos os meus amigos e colegas de laboratório, em especial Mara, Ana, Aline, Gustavo, Gisele, Arthur, João, Thales e Fernanda. Obrigada por todas as risadas e todo o auxílio que vocês me prestaram. Trabalhar no laboratório era muito mais leve com todos vocês lá. Sentirei muitas saudades!

“Mas a ciência tem o inefável dom de curar todas as mágoas.”

- Machado de Assis, O Alienista.

RESUMO

Eriocaulon inclui cerca de 480 espécies, dentre elas *Eriocaulon elichrysoides*, que possui ampla distribuição nas regiões do Cerrado brasileiro. No presente trabalho, estudou-se o desenvolvimento pós-seminal dessa espécie, com análises da anatomia e ultraestrutura das plântulas em diferentes fases de desenvolvimento, a fim de compreender o processo de formação do corpo primário da planta e como os indivíduos se estabelecem no ambiente. Para tanto, sementes foram colocadas para germinar em condições controladas e acompanhadas diariamente. A germinação e as sucessivas etapas do desenvolvimento pós-seminal foram fotografadas com auxílio de uma câmera acoplada a um estereomicroscópio. Sementes germinadas e amostras de plântulas nas diferentes fases do desenvolvimento foram fixadas e processadas para análises sob microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostram que a taxa de germinação é alta e que as sementes apresentam opérculo. O embrião é reduzido em relação ao tamanho da semente e não apresenta os polos radicular e caulinar distinguíveis. O cotilédone é compacto e haustorial, ficando ancorado na semente após a germinação por células diferenciadas do endosperma. A primeira estrutura a se desenvolver após a protrusão do eixo embrionário é a primeira folha plumular, concomitante à formação de rizoides. A raiz primária aborta e raízes adventícias se formam após o desenvolvimento da segunda folha. O fato de as sementes serem leves e aerodinâmicas, a alta taxa de germinação e o rápido desenvolvimento das duas primeiras folhas plumulares são provavelmente estratégias que contribuem para o estabelecimento da plântula no ambiente e a distribuição ampla da espécie.

Palavras-chave: Desenvolvimento pós-seminal, *Eriocaulon elichrysoides*, Eriocaulaceae.

ABSTRACT

Eriocaulon comprises about 480 species, among them *Eriocaulon elichrysoides*, which has a wide distribution in Cerrado, the Brazilian savanna. In the present research, the post-seminal development of this specie was studied, with analyzes of the anatomy and ultrastructure of the seedlings at different developmental stages, in order to understand the process of formation of the plant's primary body and the establishment of the individuals in the environment. For this purpose, seeds were placed to germinate under controlled conditions and were daily monitored. Germination and the successive stages of post-seminal development were photographed using a camera coupled to a stereomicroscope. Germinated seeds and seedlings at different stages of development were fixed and processed for analyses under light microscopy and scanning electron microscopy. The results show that the germination percentage is high and the seeds have operculum, a feature shared by Eriocaulaceae and their sister-group Xyridaceae. The embryo is small in relation to the seed size and does not exhibit organized shoot and root apical meristems. The cotyledon is compact, haustorial and retained in the seed by specialized endosperm cells. The first structures to develop after germination are the first plumular leaf and the rhizoids. The primary root aborts and shoot-born roots are initiated after the formation of the second plumular leaf. The light and aerodynamic seeds, the high germination rate, and the rapid development of the first two plumular leaves are probably strategies that contribute to the establishment of the seedlings in the environment and the wide distribution of the species.

Key Words: Post-seminal development, *Eriocaulon elichrysoides*, Eriocaulaceae.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS	13
3. RESULTADOS	14
4. DISCUSSÃO.....	15
5. CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS.....	19
APÊNDICE A – Figura 1: Desenvolvimento pós-seminal de <i>Eriocaulon elichrysoides</i> sob estereomicroscópio.	23
APÊNDICE B – Figura 2: Desenvolvimento pós-seminal de <i>Eriocaulon elichrysoides</i> sob microscopia eletrônica de varredura.....	24
APÊNDICE C – Figura 3: Desenvolvimento pós-seminal de <i>Eriocaulon elichrysoides</i> sob microscopia de luz.	25
APÊNDICE D – Figura 4: Desenvolvimento pós-seminal de <i>Eriocaulon elichrysoides</i> sob microscopia de luz.	26
APÊNDICE E – Legendas das Figuras	27

1. INTRODUÇÃO

Eriocaulaceae compreende cerca de 1.400 espécies, agrupadas em dez gêneros, muitas delas com ocorrência restrita à América do Sul (GIULIETTI *et al.*, 2012). Seus representantes têm os mais diversos hábitos, possuindo de poucos milímetros até dois metros de altura, além de habitarem desde ambientes xéricos até ambientes aquáticos, geralmente em regiões montanhosas (GIULIETTI *et al.*, 1995; STÜTZEL, 1998). Os dois principais centros de diversidade da família estão localizados nos neotrópicos, na Serra do Espinhaço no Brasil e nos tepuis venezuelanos (HENSOLD; GIULIETTI, 1991).

A família é caracterizada pela presença de inflorescências em capítulo, sendo reconhecidas duas subfamílias dentro de Eriocaulaceae com base em caracteres florais: Eriocauloideae, caracterizada por flores diplostêmones e pétalas glandulares; e Paepalanthoideae, caracterizada por flores isostêmones e pétalas aglandulares (RUHLAND, 1903; GIULIETTI *et al.*, 2012).

Eriocaulon compreende atualmente 484 espécies (WCSP, 2021) e, juntamente com *Mesanthemum* Körn, compõe a subfamília Eriocauloideae (RUHLAND, 1903; GIULIETTI *et al.*, 2012). O gênero é o único da família que possui distribuição pantropical, sendo que as Américas contabilizam a segunda maior riqueza de espécies (cerca de 120 espécies), após o continente asiático (com cerca de 220 espécies) (LARRIDON *et al.*, 2019).

As espécies de *Eriocaulon* geralmente ocorrem em regiões úmidas, sazonais ou perenes, e alguns indivíduos podem ser encontrados em córregos e rios rasos, possuindo o caule submerso alongado e adaptações morfológicas ao hábito aquático (LARRIDON *et al.*, 2019).

Eriocaulon elichrysoides Bong. é uma erva de substrato aquático amplamente distribuída nas regiões Sudeste e Leste do Brasil (GIULIETTI; HENSOLD, 1990), além de ocorrer no Centro-Oeste e possivelmente no Sul do país (FLORA DO BRASIL, 2020) além da Argentina, Uruguai e Paraguai (GIULIETTI; HENSOLD, 1990). A espécie, assim como outras da família Eriocaulaceae, é nativa do Cerrado, habitando principalmente áreas de campos úmidos (FLORA DO BRASIL, 2020).

Alguns estudos sobre desenvolvimento pós-seminal em Eriocaulaceae foram realizados nas últimas décadas com *Eriocaulon aquaticum* (= *E. septangulare*) (HARE, 1950), *Eriocaulon robustobrownianum* (RAMASWAMY *et*

al., 1981), *Comanthera cipoensis* (= *Syngonanthus rufipes*) (SCATENA *et al.*, 1993), *C. elegans* (= *S. elegans*) e *C. nivea* (= *S. niveus*) (SCATENA *et al.*, 1996), quatro espécies de *Paepalanthus* (KRAUS *et al.*, 1996), cinco espécies de *Comanthera* (CORREDOR *et al.*, 2015) e nove espécies de *Leiothrix* (MASCARENHAS; SCATENA, 2020). As principais características recorrentes dentre as espécies estudadas são: embrião indiferenciado; formação de cotilédone haustorial; ausência de bainha cotiledonar protegendo a folha primária; e redução completa da raiz primária. Ressalta-se que tais estudos abordaram aspectos morfológicos e, alguns deles, também aspectos anatômicos do desenvolvimento pós-seminal, mas nenhum analisou as plântulas sob o ponto de vista ultraestrutural.

Em Poales, ordem em que Eriocaulaceae está inserida (APG IV, 2016), há grande diversidade em relação aos padrões de desenvolvimento pós-seminal e estrutura das plântulas (TILLICH, 2007). O cotilédone, por exemplo, pode ser do tipo compacto, fanerômero, coleóptile, ou hipofilo laminar, dependendo de como suas partes (hipofilo e hiperfilo) se desenvolvem e se caracterizam morfológicamente (TILLICH, 2007). Segundo Tillich (2007), o cotilédone do tipo compacto é provavelmente a condição ancestral em Poales, a partir da qual os outros tipos derivaram. No clado xyrídeo, que inclui Eriocaulaceae e Xyridaceae (GIVNISH *et al.*, 2018), o cotilédone compacto é a condição mais comum, tendo ocorrido extrema redução em Eriocaulaceae, cujo cotilédone é reduzido à sua porção haustorial, que fica retida dentro da semente (TILLICH, 2007).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar morfológica, anatômica e ultraestruturalmente o desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides*, buscando investigar se a espécie compartilha o mesmo padrão de desenvolvimento pós-seminal observado nas demais espécies de Eriocaulaceae já estudadas. Ademais, procurou-se compreender quais características da plântula de *E. elichrysoides* podem favorecer o seu estabelecimento no ambiente, uma vez que a espécie apresenta ampla distribuição geográfica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Capítulos de *Eriocaulon elichrysoides* Bong. com sementes maduras foram coletados em Itirapina, São Paulo, em áreas de campos úmidos. O material testemunho (ORIANI *et al.*, 102) foi herborizado e depositado no *Herbarium Rioclarense* do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

Para a análise do desenvolvimento pós-seminal, 100 sementes maduras foram extraídas dos capítulos e colocadas para germinar em quatro placas de Petri, cada uma com 25 sementes, enumeradas. As placas foram forradas com papel filtro e mantidas sempre umedecidas com água destilada. O experimento foi acondicionado em sala climatizada, em temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ e luz fluorescente ($\approx 32 \mu\text{mol/m}^2.\text{s}$ PAR) constantes.

As sementes foram observadas a cada 24 horas, sendo consideradas germinadas após a protrusão do eixo embrionário. A análise diária das sementes e das plântulas foi realizada com o auxílio de um microscópio estereoscópio Leica EZ4, ao qual foi acoplado uma câmera digital Canon Power Shot S80, utilizada para o registro da germinação e das distintas fases de desenvolvimento das plântulas.

Para as análises sob microscopia eletrônica de varredura (MEV), sementes germinadas e plântulas nos diferentes estágios de desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 (álcool etílico 50%, formaldeído e ácido acético glacial; 18:1:1 v/v) e posteriormente desidratadas em série etílica por cerca de 15 minutos para cada concentração (30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%). As amostras desidratadas foram submetidas ao ponto crítico em CO_2 líquido (Balzer CPD050 Critical Point), montadas em stubs e metalizadas com ouro via sistema de pulverização catódica (Balzer 5 CDO 50 Sputter Coater).

As análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica “Elliot Watanabe Kitajima”, da ESALQ/USP, Piracicaba/SP. O Microscópio Eletrônico de Varredura utilizado foi um Jeol, JSM IT 300, a 20 kV, sendo os resultados documentados com imagens obtidas a partir do sistema de digitalização de imagens do microscópio (TM 3000 Application Program).

Para as análises anatômicas, sementes germinadas e plântulas nas diferentes fases de desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 e posteriormente armazenadas em álcool 70% (JOHANSEN, 1940). Na sequência, o material foi

desidratado em série n-butílica, incluído em (2- hidroxietil)-metacrilato (Leica Historesin Embedding Kit) seguindo-se as instruções do fabricante, e seccionado longitudinal e transversalmente em micrótomo rotativo (Leica RM 2245) com 6 μm de espessura. As secções foram coradas com ácido periódico, reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1964; FEDER; O'BRIEN, 1968) e montadas em lâminas permanentes com Entellan (Merck).

As lâminas confeccionadas foram observadas sob microscopia de luz para análise e descrição anatômica das estruturas. Os resultados foram documentados por meio de um capturador de imagens (Leica DFC 450) acoplado ao microscópio (Leica DM 4000B), utilizando-se o software LAS (Leica Application Suite Versão 4.0.0).

3. RESULTADOS

As sementes maduras possuem formato elipsoidal e coloração ocre (Fig. 1a-b). Seu tamanho médio é de 1mm de comprimento e 0,5mm de diâmetro (n=20 sementes). O hilo é geralmente inconspícuo, obtuso, enquanto a micrópila é geralmente conspícua e aguda. Ocorre a presença de um opérculo na região micropilar, que se torna facilmente identificável com o início da protrusão do eixo embrionário, sendo dotado de coloração minimamente mais escura que o restante do envoltório da semente (Fig. 1a, cabeça de seta). O opérculo se desprende do envoltório seminal logo após a protrusão do eixo embrionário (Fig. 1b).

O envoltório seminal, visto sob microscopia eletrônica de varredura, é ornamentado (Fig. 2a-e). As células da camada mais externa do envoltório seminal perdem parte de suas paredes, formando estruturas em forma de prego (Fig. 2c) que recobrem toda a semente (Fig. 2a-e).

A taxa de germinação foi alta, de aproximadamente 70%, já que das 100 sementes utilizadas durante o experimento, 69 apresentaram protrusão do eixo embrionário, indicando germinação.

O embrião possui tamanho reduzido quando comparado ao endosperma, que é amilífero (Fig. 3a). O embrião é campanulado, sendo as células em contato com o endosperma maiores e de núcleo conspícuo (Fig. 3b-c). Uma camada de células do endosperma localizada entre o embrião e o envoltório seminal, no polo micropilar, faz a ancoragem do embrião (Fig. 3c); essas células não acumulam

amido. No embrião, os polos caulinar e radicular não são distinguíveis (Fig. 3b-c).

Após a embebição das sementes, as células da extremidade do embrião voltada à micrópila começam a se dividir, levando à protrusão do eixo embrionário (Figs. 1b, seta; 2b-c; 3c-d), que ocorreu entre o quinto e o oitavo dia após o início do experimento. Após discreto prolongamento do eixo embrionário (Fig. 3e), a primeira folha plumular se diferencia (Figs. 1c-d; 2d; 3f) por volta do sétimo ao décimo dia de experimento. Concomitante ao desenvolvimento da primeira folha, diferenciam-se vários rizoides na base do eixo embrionário (Figs. 2d-e; 3f-g). Em seguida, mais folhas são formadas (Figs. 1f; 4a-d), sendo que a segunda folha aparece por volta do décimo terceiro ao décimo quinto dia de experimento.

Notou-se que, após o desenvolvimento do colar de rizoides, a plântula aderiu-se firmemente ao papel filtro que forrava as placas de Petri utilizadas no experimento.

Após a formação das primeiras folhas, inicia-se a formação de raízes adventícias na região do nó cotiledonar (Figs. 1g-h; 2f; 4a-d). A primeira raiz adventícia se desenvolve de dois a três dias após a diferenciação da segunda folha, entre o décimo quinto a décimo oitavo dia do experimento. A raiz primária aborta logo no início do desenvolvimento (Figs. 1f-h; 2f) e aparece como um conjunto de células em degeneração (Fig. 4c-d). Vários tricomas são observados na base das folhas (Fig. 2g), cujas células apresentam conteúdo que reagiu positivamente ao PAS (Fig. 4c-d). Na Fig. 4e é possível observar os feixes vasculares bem diferenciados irrigando todas as folhas plumulares e o cotilédone. O cotilédone é compacto, haustorial. No estágio de plântula com três a quatro folhas é possível observar que o amido das células do endosperma mais próximas do cotilédone haustorial foi consumido e que há amido acumulado nos órgãos da plântula (Fig. 4e).

4. DISCUSSÃO

As sementes de *E. elichrysoides* demonstraram rápida germinação, que também ocorreu em altas taxas em comparação às taxas comuns para monocotiledôneas, o que já foi observado para outras espécies de Eriocaulaceae (HARE, 1950; RAMASWAMY *et al.*, 1981; SCATENA *et al.*, 1993; 1996; KRAUS

et al., 1996; CORREDOR *et al.*, 2015; MASCARENHAS; SCATENA, 2020). Para espécies que, assim como *E. elichrysoides*, habitam ambientes abertos e com clima que apresenta duas estações bem demarcadas - sendo uma mais chuvosa e outra mais seca e com menores temperaturas - é bastante vantajoso que as plântulas se desenvolvam de maneira rápida, para que haja tempo hábil para o acúmulo de reservas antes da chegada de períodos de estresse (OLIVEIRA, 2008).

De acordo com Garcia e Oliveira (2007), as altas taxas de germinação, o tamanho reduzido das sementes e a essencialidade da luz para que o processo de germinação ocorra são características adaptativas de plantas que habitam locais com ampla exposição solar, como é o caso de *E. elichrysoides*. O fotoblastismo positivo permite que sementes germinem apenas quando se encontram na superfície do solo, o que no caso de plântulas pequenas como as de *E. elichrysoides* é de extrema importância, já que dessa forma não há gasto energético para alongar o eixo embrionário até atingir a superfície do solo, como ocorre em plântulas de sementes enterradas (FENNER; THOMPSON, 2005). Ademais, o fato das sementes de *E. elichrysoides* serem elipsoidais e de tamanho diminuto as torna aerodinâmicas, de maneira a possivelmente facilitar sua ampla dispersão e distribuição geográfica, principalmente porque a espécie produz grandes quantidades de sementes por indivíduo.

A presença de um opérculo protegendo a região micropilar parece ser característica comum às Eriocaulaceae, observada também nas sementes de diversos gêneros, como *Lachnocaulon* (COAN *et al.*, 2010), *Leiothrix* (COAN *et al.*, 2010; MASCARENHAS; SCATENA, 2020), *Paepalanthus* (KRAUS *et al.*, 1996; SCATENA; BOUMAN, 2001; COAN *et al.*, 2010), *Philodice* (COAN *et al.*, 2010), *Syngonanthus* (SCATENA *et al.*, 1993, 1996; COAN *et al.*, 2010), *Comanthera* (CORREDOR *et al.*, 2015) e *Tonina* (COAN *et al.*, 2010). Assim como foi observado por Coan *et al.* (2010), constatou-se que esta estrutura se torna facilmente visível, uma vez que é forçada a se romper devido ao crescimento do eixo embrionário.

Scatena *et al.* (1993) relataram que a presença de opérculo nas sementes de Eriocaulaceae seria uma possível sinapomorfia de Xyridaceae e Eriocaulaceae. Tal estrutura estaria claramente ausente em *Eriocaulon*, o que indicaria uma posição basal do gênero na família, reafirmando a hipótese já

proposta por Hensold e Giulietti (1991). Em estudos anteriores sobre o desenvolvimento embrionário em *E. aquaticum* e *E. robustobrownianum*, Hare (1950) e Ramaswamy *et al.* (1981), respectivamente, também não mencionaram a presença de opérculo nas sementes destas espécies. Apesar disto, Coan *et al.* (2010) observaram a presença de opérculo nas sementes de *Eriocaulon ligulatum*, assim como ocorreu no presente estudo, o que reforça a uniformidade do caráter para Eriocaulaceae. Como Eriocaulaceae e Xyridaceae são grupos-irmãos, o opérculo provavelmente surgiu no ancestral mais recente compartilhado por essas duas famílias.

O embrião em *E. elichrysoides* é indiferenciado assim como já foi observado para outras espécies da família (HARE, 1950; RAMASWAMY *et al.*, 1981; SCATENA *et al.*, 1993, 1996; KRAUS *et al.*, 1996; CORREDOR *et al.*, 2015; MASCARENHAS; SCATENA, 2020), sendo esta uma característica comum em Poales (BASKIN; BASKIN, 2018).

Segundo Tillich (1995, 2007), houve redução extrema das plântulas em Eriocaulaceae, que costumam apresentar um cotilédone compacto, composto de um haustório e de uma bainha reduzida. A porção haustorial fica retida dentro da semente durante a germinação, enquanto a pequena projeção observada na base da bainha corresponde a um hipocótilo vestigial e um polo radicular (TILLICH, 1995, 2007). Ramaswamy *et al.* (1981) descreveram a permanência *in situ* do cotilédone em *E. robustobrownianum*, que funcionaria como um órgão de absorção e condução. Nossos resultados evidenciam claramente a função haustorial do cotilédone, sendo possível observar o consumo de amido do endosperma e seu acúmulo nos órgãos recém-formados da plântula. Em *E. elichrysoides*, o endosperma é capaz de prover energia para a plântula até o estágio de 4-5 folhas.

As estruturas observadas na plântula durante o desenvolvimento pós-seminal de *E. elichrysoides* foram as mesmas já identificadas para outras espécies de Eriocaulaceae, sejam estas do mesmo gênero (HARE, 1950; RAMASWAMY *et al.*, 1981), ou de gêneros distintos (SCATENA *et al.*, 1993; 1996; KRAUS *et al.*, 1996; CORREDOR *et al.*, 2015; MASCARENHAS; SCATENA, 2020). A ordem de diferenciação de tais estruturas, entretanto, parece apresentar algumas variações dentre as espécies.

Ao descrever o desenvolvimento pós-seminal em *E. aquaticum*, Hare (1950) menciona o surgimento tardio de uma radícula, de origem aparentemente endógena, como sendo um dos últimos órgãos a aparecer durante a germinação, após o início do desenvolvimento da segunda folha. Assim, Hare (1950) acredita que a fixação inicial da plântula seria feita por um órgão ancorador que surge como uma protuberância lateral na base do epicótilo, sendo um produto do embrião ainda não diferenciado. Tal estrutura seria posteriormente auxiliada pelo desenvolvimento de uma coroa de pelos (rizoides), sendo funcional até estágios mais avançados da germinação, quando se desenvolveria a radícula e depois as raízes adventícias.

Ramaswamy *et al.* (1981) também relataram a ausência de radícula no início do desenvolvimento da plântula em *E. robustobrownianum*. Para os autores, o que Hare (1950) designa como uma radícula de desenvolvimento tardio, seria na verdade, uma raiz primária, também de desenvolvimento endógeno. Para Kraus *et al.* (1996) a raiz primária descrita pelos autores seria na verdade uma raiz adventícia, devido à sua origem, o que é corroborado por nossos resultados.

Em termos de padrões generalizados, os estudos realizados por Hare (1950), Ramaswamy *et al.* (1981), Scatena *et al.* (1993) e Kraus *et al.* (1996) identificaram que a protrusão do eixo embrionário foi seguida pelo desenvolvimento de rizoides e, posteriormente, da primeira folha. Já nos trabalhos de Scatena *et al.* (1996) e Mascarenhas e Scatena (2020), os autores observaram que a raiz primária é a primeira estrutura a ser identificada após a protrusão do eixo embrionário, porém cessa rapidamente seu desenvolvimento com a diferenciação dos rizoides e da primeira folha. Corredor *et al.* (2015), por sua vez, identificou o desenvolvimento da primeira folha e da primeira raiz adventícia após a protrusão do eixo embrionário, não mencionando a presença de rizoides e nem da degeneração da raiz primária.

No presente estudo, a primeira estrutura identificada após a protrusão do eixo embrionário foi a primeira folha, que se desenvolve concomitantemente aos rizoides, seguida da segunda folha. A raiz primária não se desenvolve, abortando já no início do desenvolvimento. O aborto da raiz primária é uma característica uniforme nas Eriocaulaceae, sendo que a função de fixação e absorção é

realizada pelos rizóides até que ocorra o desenvolvimento das raízes adventícias (TILLICH, 2007).

Scatena *et al.* (1993) argumentaram que uma das possíveis explicações para o aborto da raiz primária seria justamente a rigidez do opérculo, que impediria, portanto, que a estrutura penetrasse o solo, originando sua degeneração. Tal possibilidade, entretanto, não parece viável para *E. elichrysoides*. Para a espécie, a primeira estrutura a se desenvolver após a protrusão do eixo embrionário não corresponde à raiz primária e sim à primeira folha, sendo que o opérculo se destaca da semente, não ficando preso ao eixo embrionário

Destacamos também a presença de tricomas nas bases das folhas de *E. elichrysoides*, cujas células apresentam conteúdo que reagiu positivamente ao PAS. Tais tricomas provavelmente são secretores de mucilagem (coléteres) e protegem as primeiras folhas formadas contra o dessecamento, favorecendo o estabelecimento da plântula no ambiente.

5. CONCLUSÃO

As estruturas observadas durante o desenvolvimento pós-seminal de *E. elichrysoides* são as mesmas identificadas anteriormente para outras espécies de Eriocaulaceae. Apesar disto, a ordem de desenvolvimento das estruturas não ocorre como aquela já descrita para as outras duas espécies do mesmo gênero.

Enquanto que em *E. aquaticum* e *E. robustobrownianum* a protrusão do eixo embrionário é seguida pelo desenvolvimento de rizoides e, posteriormente, da primeira folha, em *E. elichrysoides* as duas primeiras folhas plumulares desenvolvem-se rapidamente, logo após a protrusão do eixo embrionário, concomitantemente aos rizoides.

A alta taxa de germinação, somada ao rápido desenvolvimento das primeiras folhas plumulares e à presença de coléteres são estratégias que provavelmente favorecem o estabelecimento das plântulas no ambiente.

REFERÊNCIAS

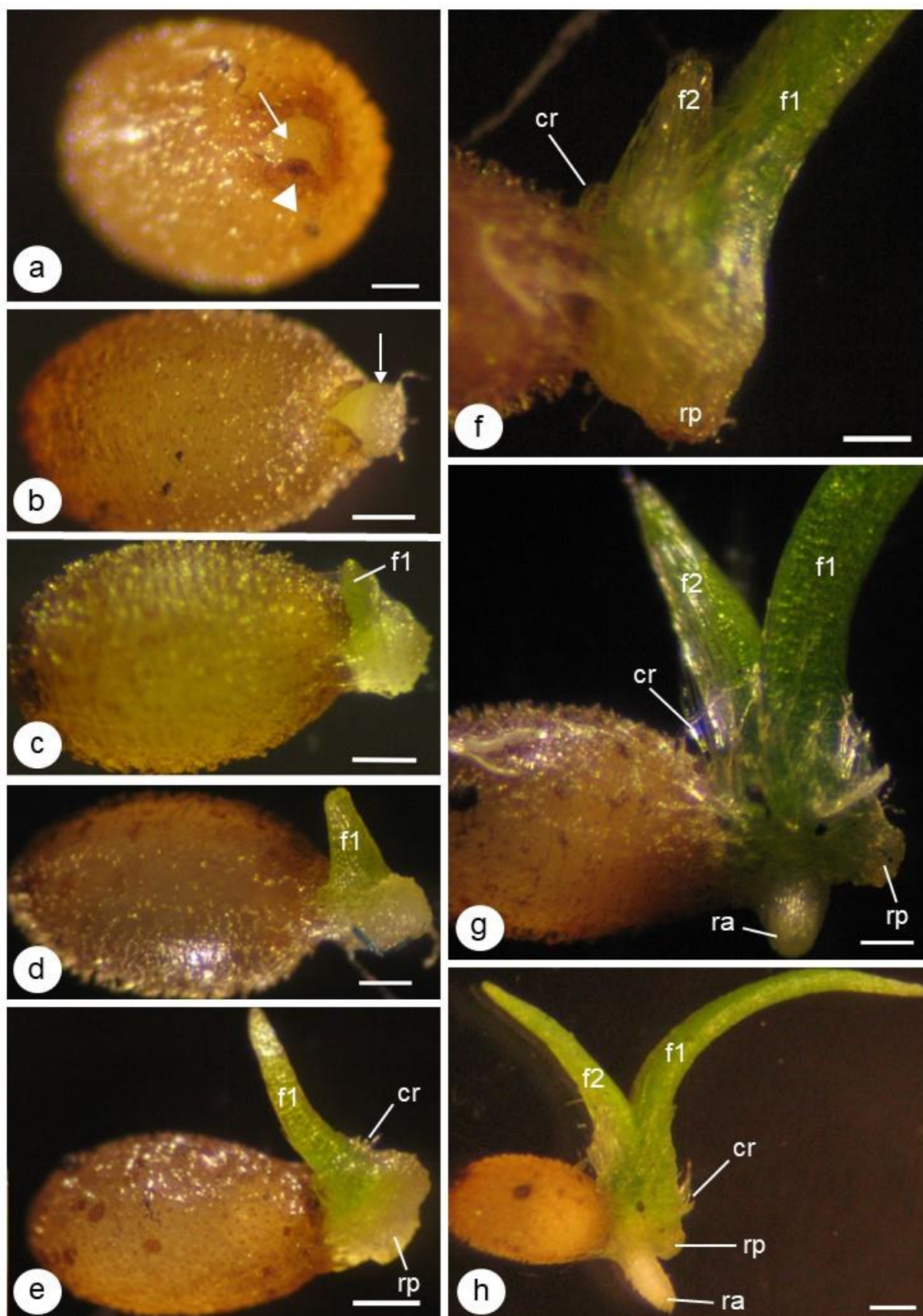
APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.181, n. 1, p. 1-20, maio 2016.

- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Resolving the puzzle of Martin's broad embryo: A solution based on morphology, taxonomy and phylogeny. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v.34, p. 61–67, 2018.
- COAN, A. I.; STÜTZEL, T.; SCATENA, V. L. Comparative embryology and taxonomic considerations in Eriocaulaceae (Poales). **Feddes Repertorium**, v. 121, n. 7-8, p. 268-284, dez. 2010.
- CORREDOR, B. A. D.; ESCOBAR, D. F. E.; SCATENA, V. L. Morfología de semillas y desarrollo post-seminal de especies de *Comanthera* (Eriocaulaceae). **Revista de Biología Tropical**, v. 63, n. 4, p. 1127-1135, out. 2015.
- FEDER, N.; O'BRIAN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, n. 1, p. 123-142, jan. 1968.
- FENNER, M.; THOMPSON, K. Germination. In: FENNER, M.; THOMPSON, K. (eds.), **The Ecology of Seeds**. Cambridge University Press, 2005. p. 110-135.
- FLORA DO BRASIL. *Eriocaulon*. In: **Flora do Brasil 2020** – Algas, fungos e plantas. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB28682>>. Acesso em: 15 dez. 2020
- GARCIA, Q. S.; OLIVEIRA, P. G. Germination patterns and seed longevity of Monocotyledons from the Brazilian campos rupestres. **Seed Science Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 35-41, jul. 2007.
- GIULIETTI, A. M.; AMARAL, M. C. E.; BITTRICH, V. Phylogenetic analysis of inter- and infrageneric relationships of *Leiothrix* Ruhland (Eriocaulaceae). **Kew Bulletin**, v. 50, n. 1, p. 55-71, jan. 1995.
- GIULIETTI, A. M.; ANDRADE, M. J. G.; SCATENA, V. L.; TROVÓ, M.; COAN, A. I.; SANO, P. T.; SANTOS, F. A. R.; BORGES, R. L. B.; BERG, C. V. D. Molecular phylogeny, morphology and their implications for the taxonomy of Eriocaulaceae. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 1-19, mar. 2012.
- GIULIETTI, A. M.; HENSOLD, N. Padrões de distribuição geográfica dos gêneros de Eriocaulaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 133-159, jul. 1990.
- GIULIETTI, A. M.; MONTEIRO, W. R.; MAYO, S. J.; STEPHENS, J. A preliminary survey of testa sculpture in Eriocaulaceae. **Beiträge zur Biologie der Pflanzen**, v. 62, p. 189-209, 1988.

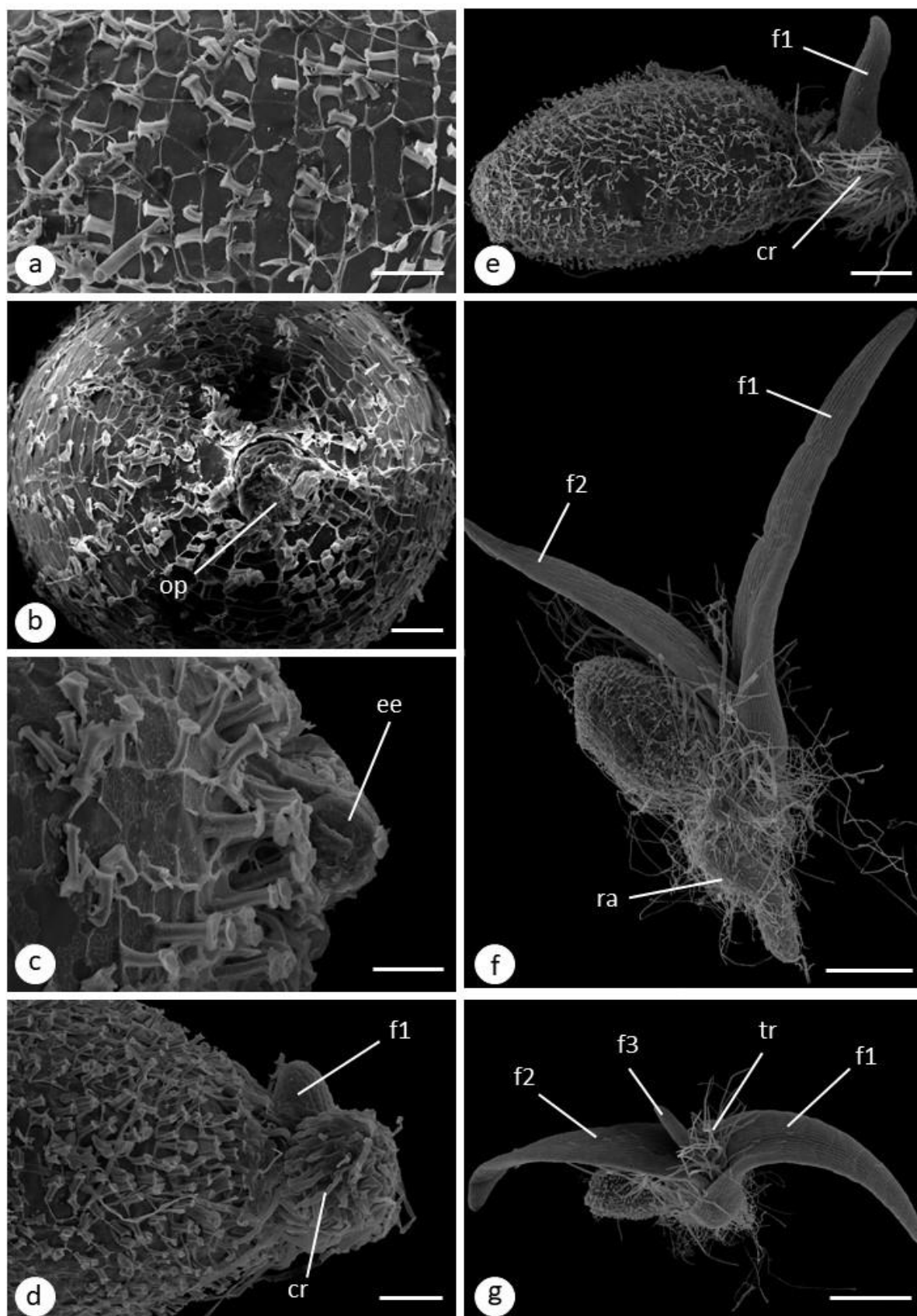
- GIVNISH, T. J.; ZULUAGA, A.; SPALINK, D.; GOMEZ, M. S.; LAM, V. K. Y.; SAARELA, J. M.; SASS, C.; ILES, W. J. D.; SOUSA, D. J. L.; LEEBENS-MACK, J.; PIRES, J. C.; ZOMLEFER, W. B.; GANDOLFO, M. A.; DAVIS, J. I.; STEVENSON, D. W.; DEPAMPHILIS, C.; SPECHT, C. D.; GRAHAM, S. W.; BARRETT, C. F.; ANÉ, C. Monocot plastid phylogenomics, timeline, net rates of species diversification, the power of multi-gene analyses, and a functional model for the origin of monocots. **American Journal of Botany**, v. 105, n. 11, p. 1888-1910, 2018.
- HARE, L. The structure and development of *Eriocaulon septangulare* With. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 53, p. 422-448, 1950.
- HENSOLD, N.; GIULIETTI, A. M. Revision and redefinition of the genus *Rondonanthus* Herzog (Eriocaulaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 78, n. 2, p. 44-459, 1991.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1940.
- KRAUS, J. E.; SCATENA, V. L.; LEWINGER, M. E.; TRENCH, K. U. S. Morfologia externa e interna de quatro espécies de *Paepalanthus* Kunth (Eriocaulaceae) em desenvolvimento pós-seminal. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 15, p. 45-53, 1996.
- LARRIDON, I.; TANAKA, N.; LIANG, Y.; PHILLIPS, S. M.; BARFOD, A. S.; CHO, S. H.; GALE, S. W.; JOBSON, R. W.; KIM, Y. D.; LI, J.; MUASYA, A. M.; PARNELL, J. A. N.; PRAJAKSOOD, A.; SHUTOH, K.; SOULADETH, P.; TAGANE, S.; TANAKA, N.; YANO, O.; MESTERHÁZY, A.; NEWMAN, M. F.; ITO, Y. First molecular phylogenetic insights into the evolution of *Eriocaulon* (Eriocaulaceae, Poales). **Journal of Plant Research**, v. 132, p. 589-600, ago. 2019.
- MASCARENHAS, A. A. S.; SCATENA, V. L. Seed morphology and post-seminal development in *Leiothrix* Ruhland (Eriocaulaceae, Poales). **Feddes Repertorium**, v. 0, p. 1-11, 2020.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.
- OLIVEIRA, P. E. Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de cerrado. In: SANO, S. P.; ALMEIDA, S. P. (eds.), **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 2008. p. 169-192.

- RAMASWAMY, S. N.; SWAMY, B. G. L.; AREKAL, G. D. From zygote to seedling in *Eriocaulon robusto-brownianum* Ruhl. (Eriocaulaceae). **Beiträge zur Biologie der Pflanzen**, v. 55, p. 179-188, 1981.
- RUHLAND, W. Eriocaulaceae. In: ENGLER, A. (ed.) **Das Pflanzenreich**. Vol. IV. Leipzig: Engelmann, 1903. p. 301-294.
- SCATENA, V. L. **Morfoanatomia de espécies de *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae) dos campos rupestres do Brasil**. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.
- SCATENA, V. L.; BOUMAN, F. Embryology and seed development of *Paepalanthus* sect. *Actinocephalus* (Körn) Ruhland (Eriocaulaceae). **Plant Biology**, v. 3, n. 4, p. 341-350, 2001.
- SCATENA, V. L.; LEMOS-FILHO, J. P.; LIMA, A. A. A. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus elegans* e *S. niveus* (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 10, n. 1, p. 85-91, jul. 1996.
- SCATENA V.L.; MENEZES N.L.; STÜTZEL T. Embriology and seedling development in *Syngonanthus rufipes* Silv. (Eriocaulaceae). **Beitrage zur Biologie der Pflanzen**, v. 67, p. 333-343, 1993.
- STÜTZEL, T. Eriocaulaceae. In: KUBITZKI, K. (ed.) **The families and genera of vascular plants IV - Flowering Plants: Monocotyledons - Alismatanae and Comelinanae (except Gramineae)**. New York: Springer-Verlag, 1998. p. 197-207.
- TILLICH, H. J. Seedlings and systematics in Monocotyledons. In: RUDALL, P. J.; CRIBB, P. J.; CUTLER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (eds.) **Monocotyledons: Systematics and Evolution**. Vol. 1. Kew: Royal Botanical Gardens, 1995. p. 303-352.
- TILLICH, H. J. Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (Monocotyledons). **Annals of Botany**, v. 100, n. 7, p. 1413-1429, dez. 2007.
- WCSP. 2021. *Eriocaulon*. In: **World checklist of selected plant families**. Royal Botanic Gardens. Disponível em: <<http://wcsp.science.kew.org/>>. Acesso em: 17 jul. 2021.

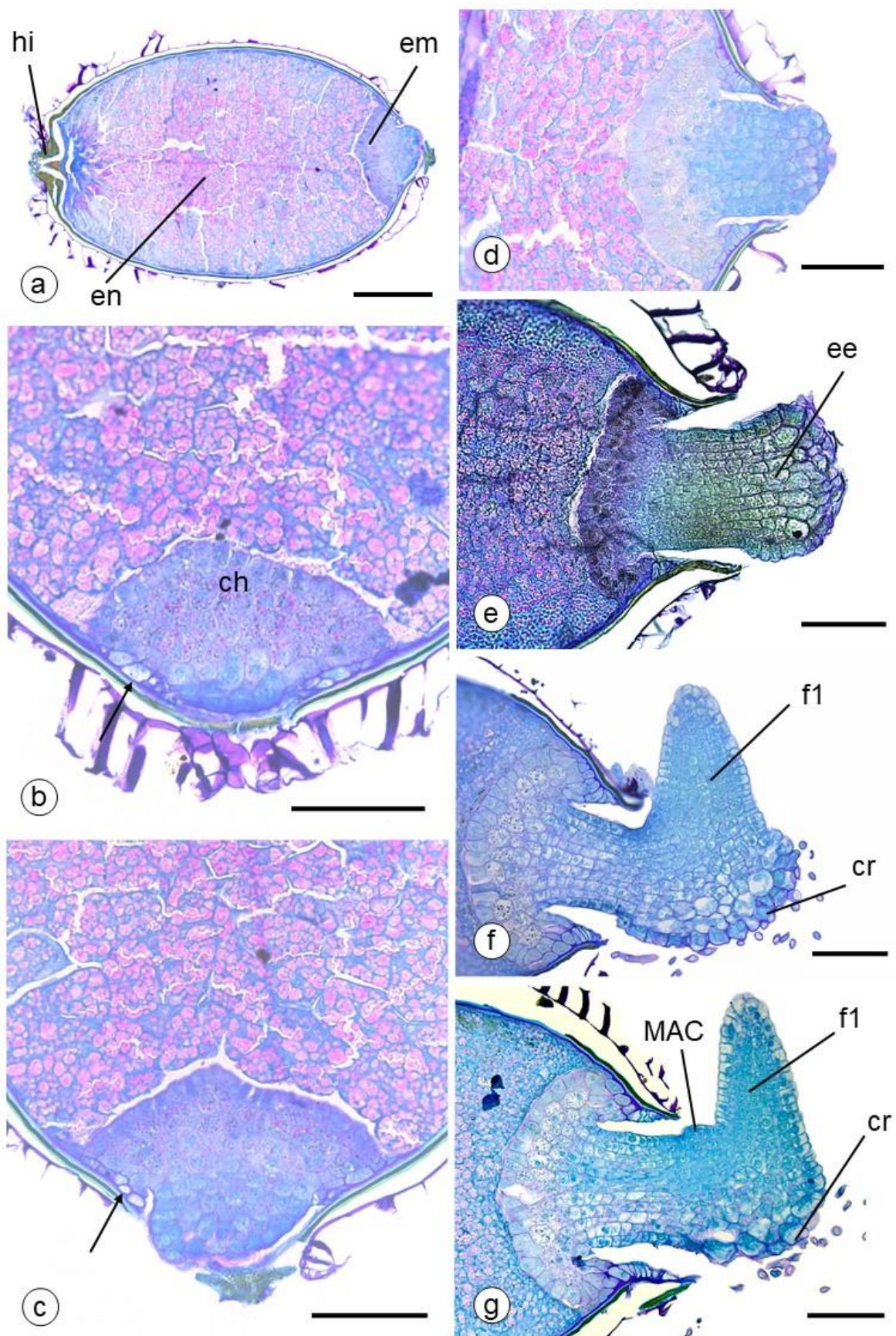
APÊNDICE A – Figura 1: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob estereomicroscópio.



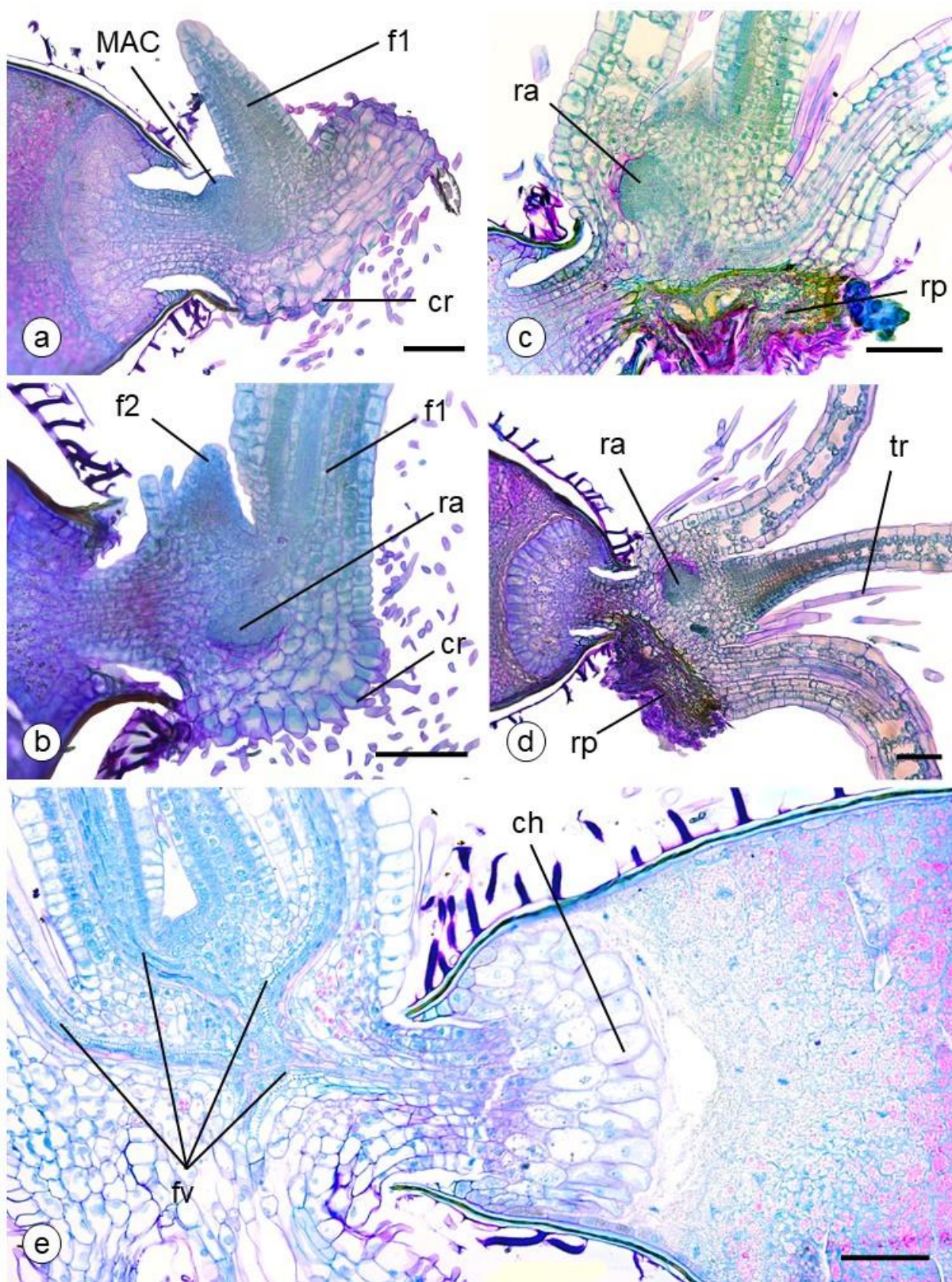
APÊNDICE B – Figura 2: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob microscopia eletrônica de varredura.



APÊNDICE C – Figura 3: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob microscopia de luz.



APÊNDICE D – Figura 4: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob microscopia de luz.



APÊNDICE E – Legendas das Figuras

Apêndice A – Figura 1: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob estereomicroscópio. **a**, Início da germinação da semente com a protrusão do eixo embrionário e abertura do opérculo. **b**, Alongamento do eixo embrionário. **c-d**, Desenvolvimento da primeira folha. **e**, Início do desenvolvimento da raiz primária e do colar de rizoides. **f**, Desenvolvimento da segunda folha e aborto da raiz primária. **g-h**, Desenvolvimento da primeira raiz adventícia e da segunda folha. **Cabeça de seta:** opérculo. **Seta:** eixo embrionário. **cr:** colar de rizoides. **f1:** primeira folha. **f2:** segunda folha. **ra:** raiz adventícia. **rp:** raiz primária. Barras: 1mm.

Apêndice B – Figura 2: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob microscopia eletrônica de varredura. **a**, detalhe da ornamentação do envoltório seminal. **b**, Início da germinação da semente com a protrusão do eixo embrionário e abertura do opérculo. **c**, Alongamento do eixo embrionário. **d-e**, Desenvolvimento da primeira folha e do colar de rizoides. **f**, Desenvolvimento da segunda folha, do colar de rizoides e da raiz adventícia. **g**, Detalhe das folhas em roseta, exibindo tricomas no ponto de inserção entre a primeira e terceira folha. **cr:** colar de rizoides. **f1:** primeira folha. **f2:** segunda folha. **f3:** terceira folha. **op:** opérculo. **ra:** raiz adventícia. **tr:** tricomas. Barras: 50 µm (c), 100 µm (a-b,d), 200 µm (e), 500 µm (f-g).

Apêndice C – Figura 3: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob microscopia de luz. **a**, Semente embebida. **b**, Detalhe do embrião. **c-e**, Protrusão do eixo embrionário. **f**, Desenvolvimento da primeira folha plumular e dos rizoides. **g**, Início do desenvolvimento da segunda folha. **Seta:** Células do endosperma que ancoram a porção haustorial do cotilédone. **ch:** cotilédone haustorial. **cr:** colar de rizoides. **ee:** eixo embrionário. **em:** embrião. **en:** endosperma. **f1:** primeira folha. **hi:** hilo. **mac:** meristema apical caulinar. Barras: 200 µm (a) e 100 µm (b-g).

Apêndice D – Figura 4: Desenvolvimento pós-seminal de *Eriocaulon elichrysoides* sob microscopia de luz. **a**, Início do desenvolvimento da segunda

folha. **b**, Início da formação de uma raiz adventícia. **c-d**, Detalhes mostrando a formação de raiz adventícia no nó cotiledonar, raiz primária abortada e tricomas na base das folhas. **e**, Detalhe mostrando o cotilédone haustorial, o consumo de amido do endosperma e a vascularização das folhas por feixes vasculares interligados; nota-se também a presença de grãos de amido nos órgãos recém-formados da plântula. **ch**: cotilédone haustorial. **cr**: colar de rizoides. **en**: endosperma. **fv**: feixes vasculares. **f1**: primeira folha. **f2**: segunda folha. **mac**: meristema apical caulinar. **ra**: raiz adventícia. **rp**: raiz primária. **tr**: tricoma. Barras: 100 μm .