UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

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

ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO FLORAL E PÓS-SEMINAL EM ESPÉCIES DE CYPERÍDEAS (POALES)

LUCIMARA REIS DE OLIVEIRA SILVA

Rio Claro – SP
2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

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

ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO FLORAL E PÓS-SEMINAL EM ESPÉCIES DE CYPERÍDEAS (POALES)

LUCIMARA REIS DE OLIVEIRA SILVA

ORIENTADORA: 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
2022

S586a

Silva, Lucimara Reis de Oliveira

Anatomia e desenvolvimento floral e pós-seminal em espécies de cyperídeas (Poales) / Lucimara Reis de Oliveira Silva. -- Rio Claro, 2022

224 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Aline Oriani

1. Anatomia vegetal. 2. Desenvolvimento floral. 3. Cyperídeas. 4. Envoltório seminal. 5. Germinação. 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.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Rio Claro

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: **ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO FLORAL E PÓS-SEMINAL EM ESPÉCIES DE CYPERÍDEAS (POALES)**

AUTORA: LUCIMARA REIS DE OLIVEIRA SILVA
ORIENTADORA: ALINE ORIANI MAGANHATO

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

Profa. Dra. ALINE ORIANI MAGANHATO (Participaçao Virtual)
Departamento de Biodiversidade / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Prof. Dr. ODAIR JOSÉ GARCIA DE ALMEIDA (Participaçao Virtual)
UNESP - Instituto de Biociências / Campus do Litoral Paulista - São Vicente / SP

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

Profa. Dra. ANA PAULA DE SOUZA CAETANO (Participaçao Virtual)
Instituto de Biociências / Universidade Federal de Mato Grosso - Cuiabá / MT

Profa. Dra. BÁRBARA DE SÁ HAIAD (Participaçao Virtual)
Departamento de Botânica - Museu Nacional / Universidade Federal do Rio de Janeiro / RJ

Rio Claro, 13 de janeiro de 2022.

Dedico à minha família e a todos que estiveram ao meu lado motivando-me a cada dia.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o financiamneto do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pela Bolsa de Doutorado, número do processo: 170850/2017-0. Agradeço à Universidade Estadual Paulista (UNESP-Rio Claro), ao Departamento de Botânica do Instituto de Biociências e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal) pela oportunidade de realizar o doutorado e pela infraestrutura disponibilizada.

Agradeço à minha orientadora Dra. Aline Oriani pela orientação, incentivo, inspiração, paciência e exemplo de entusiasmo pelo trabalho. Sou imensamente grata por todos seus ensinamentos.

Agradeço a Dra. Alessandra Ike Coan, coordenadora do Laboratório de Morfologia e Anatomia Vegetal, pelo apoio durante a execução da tese. Ao Dr. Gustavo Habermann, por me permitir utilizar o laboratório de fisiologia vegetal para realização dos experimentos de germinação. Ao Dr. Rafael Trevisan, pelo auxílio na identificação do material botânico e nos trabalhos de campo para coleta do material. E a Edimilson Souza (Movido), pela ajuda na coleta do material botânico na Amazônia.

Agradeço ao Professor Doutor Elliot Watanabe Kitajima, responsável pelo Laboratório de Microscopia Eletrônica – USP/Câmpus de Piracicaba, e ao técnico Renato Barbosa Salaroli, pelo auxílio no processamento dos materiais e pelo uso do microscópio eletrônico de varredura para capturas de imagens.

Agradeço aos membros da banca examinadora pela disponibilidade e dedicação em avaliar este trabalho.

Agradeço aos colegas do Laboratório de Morfologia e Anatomia Vegetal: Alexia, Aline, Angélica, Arthur, Fernanda, Gisele, Gustavo, Isabela, João, Kaire, Kleber e Thales, pelos momentos divertidos e por toda ajuda durante esses anos.

Agradeço às minhas amigas Giselle e Janaine, pela companhia e bom humor nos necessários momentos de desabafo e descontração, e, em especial, a Angélica, pela amizade e companheirismo incondicional.

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais e minha irmã Patrícia, por terem me apoiado nas minhas escolhas, aceitando as ausências, pela compreensão, pelo afeto e pela torcida constante. E ao meu companheiro Adriano pelo amor, cuidado, compreensão e apoio constante. Sem você esse caminho teria sido muito mais difícil.

A todos que contribuíram de alguma forma para execução deste trabalho: muito obrigada!

RESUMO

Juncaceae, Thurniaceae e Cyperaceae formam o clado cyperídeo dentro da ordem Poales. Nas análises filogenéticas, Thurniaceae emerge como grupo-irmão do clado formado por Juncaceae e Cyperaceae. O clado cyperídeo é considerado um dos mais consistentes de Poales, baseado em dados morfológicos e moleculares. Nessas famílias, as flores são reduzidas, mas apresentam grande diversidade morfológica, principalmente em Cyperaceae. Em Thurniaceae e na maioria das Juncaceae, as flores são pentacíclicas, enquanto em Cyperaceae ocorre redução de peças e de verticilos florais. Esta tese teve como objetivo estudar a anatomia, vascularização e o desenvolvimento floral em representantes das três famílias, visando compreender os processos ontogenéticos que levaram às diferenças estruturais encontradas nas flores dentro do clado; objetivou, também, avaliar a germinação e o desenvolvimento pós-seminal em espécies de Juncaceae e Cyperaceae em um contexto ecológico e evolutivo. As tépalas, em Thurniaceae e Cyperaceae, recebem apenas um traço vascular, enquanto em Juncaceae podem receber de um a três traços vasculares. Considerando a posição filogenética de Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae dentro do clado cyperídeo, a vascularização das tépalas por um único feixe vascular é a condição ancestral mais provável, tendo ocorrido reversões em Juncaceae. O padrão de desenvolvimento do gineceu difere entre as três famílias do clado. Enquanto em espécies de *Luzula* (Juncaceae) e *Thurnia* (Thurniaceae) a zona sinascidiada do gineceu é evidente desde o início do desenvolvimento do pistilo, em *Juncus* (Juncaceae) e em Cyperaceae o gineceu inicia-se como um primórdio anelar, que é plicado em *Juncus* pela formação das placentas parietais. A tendência evolutiva foi a redução da zona sinascidiada por meio da redução dos septos, até sua total supressão, como ocorre em Cyperaceae, onde o gineceu é completamente unilocular e a placentação é basal. A placentação axilar-basal, presente nas espécies de Thurniaceae, é provavelmente a condição ancestral. A variação na morfologia floral observada em

Cyperaceae resulta de diferentes processos de redução (perda de diferentes peças florais) nas diferentes espécies analisadas, tendo esses processos ocorrido, provavelmente, de forma independente nos diferentes clados. Em Thurniaceae também pode ocorrer redução, resultando em flores dímeras pela perda das tépalas internas e dos estames internos latero-abaxiais, além do carpelo abaxial. Em relação ao desenvolvimento pós-seminal, observou-se que a germinação das espécies de Juncaceae inicia-se com a emissão do fanerômero e, em Cyperaceae, com a protrusão do coleóptilo. O cotilédone do tipo fanerômero é provavelmente a condição ancestral do clado, tendo derivado no coleóptilo pelo maior desenvolvimento do hipofilo em relação ao hiperfilo cotiledonar.

Palavras-chave: anatomia; cyperídeas; coleóptilo; cotilédone; desenvolvimento floral; desenvolvimento pós-seminal; evolução floral; fanerômero; germinação; gineceu; vascularização.

ABSTRACT

Juncaceae, Thurniaceae and Cyperaceae form the cyperid clade within the order Poales. In the phylogenetic analyses, Thurniaceae appear as sister to Juncaceae plus Cyperaceae. The cyperid clade is considered one of the most consistent in the order, based on morphological and molecular data. In these families, the flowers are reduced, but show great morphological diversity, especially in Cyperaceae. In Thurniaceae, and in the majority of Juncaceae, the flowers are pentacyclic, whereas in Cyperaceae there is a reduction of floral parts and whorls. This thesis aimed to study the floral anatomy, vasculature and development in representatives of the three families, in order to understand the ontogenetic processes that led to the structural differences found in the flowers within the clade; it also aimed to evaluate germination and post-seminal development in Juncaceae and Cyperaceae species in an ecological and evolutionary context. The tepals in Thurniaceae and Cyperaceae receive only one vascular trace, whereas in Juncaceae they may receive one or three vascular traces. Considering the phylogenetic position of Thurniaceae, Juncaceae, and Cyperaceae, tepals receiving one vascular trace is the most likely ancestral condition in the clade, with reversals in Juncaceae. The gynoecium development pattern differs among the three families. Whereas in *Luzula* (Juncaceae) and *Thurnia* (Thurniaceae) the synascidiate zone is formed early in gynoecium development, in *Juncus* (Juncaceae) and Cyperaceae the gynoecium begins as a ring primordium, which is plicate in *Juncus* due to the formation of parietal placentae. The evolutionary tendency was the reduction of the synascidiate zone of gynoecium by shortening of the septa, until its total suppression, as occurs in Cyperaceae, in which the gynoecium is completely unilocular and the placentation is basal. The axile-basal placentation, as observed in Thurniaceae, is probably the ancestral condition in the clade. The variation in floral morphology observed in Cyperaceae results from different reduction processes (loss of different floral parts) that probably occurred independently in the different clades. In

Thurniaceae, reduction processes may result in dimerous flowers by the loss of latero-abaxial inner tepals, latero-abaxial inner stamens and abaxial carpel. Regarding the post-seminal development, it was observed that the germination of Juncaceae begins with the emission of a phaneromer and, in Cyperaceae, with the protrusion of the coleoptile. The coleoptile is probably the derived condition in the clade and switched directly from a phaneromeric cotyledon due to a greater development of the cotyledonary hypophyll in relation to the hyperphyll.

Key words: anatomy; cyperids; coleoptile; cotyledon; floral development; post-seminal development; floral evolution; phaneromer; germination; gynoecium; vasculature.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL 14

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 28

CAPÍTULO 1: Desenvolvimento e vascularização floral em *Juncus* e *Luzula* (Juncaceae, Poales) e inferências sobre a evolução floral nas cyperídeas 38

Resumo 39

Introdução 40

Material e Métodos 43

Resultados 45

Discussão 49

Referências 56

Legendas 62

Figuras 68

Tabelas 82

CAPÍTULO 2: Organogênese floral de *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae, Poales): contribuições para o entendimento do desenvolvimento floral no clado cyperídeo 83

Resumo 84

Introdução 85

Material e Métodos 88

Resultados 88

Discussão 91

Conclusões 95

Referências 96

Legendas 100

Figuras 103

CAPÍTULO 3: Entendendo as variações da morfologia floral em Cyperoideae (Cyperaceae, Poales) com base na anatomia 112

Resumo 113

Introdução 114

Resultados 117

Discussão 121

Material e Métodos 126

Conclusões 128

Referências 129

Legendas 133

Figuras 137

Tabela 149

CAPÍTULO 4: Desenvolvimento do envoltório seminal e pós-seminal em *Juncus tenuis* (Juncaceae, Poales): aspectos ecológicos e evolutivos 150

Resumo 151

Introdução 152

Material e Métodos 154

Resultados 156

Discussão 159

Conclusões 166

Referências 167

Legendas 175

Figuras 177

Tabela 181

CAPÍTULO 5: Entendendo o desenvolvimento pós-seminal em espécies de Cyperaceae (Poales) em uma perspectiva anatômica 182

Resumo 183

Introdução 184

Material e Métodos 188

Resultados 190

Discussão 194

Referências 201

Legendas 207

Figuras 211

Tabela 221

CONSIDERAÇÕES FINAIS 222

INTRODUÇÃO GERAL

A ordem Poales e o clado cyperídeo

A ordem Poales compreende aproximadamente 20.000 espécies distribuídas em 16 famílias e agrupadas em quatro clados (Linder & Rudall 2005; Bouchenak-Khelladi et al. 2014; Givnish et al. 2010, 2018). Bromeliaceae, Typhaceae e Rapateaceae são as primeiras famílias a divergirem, seguidas do clado cyperídeo (Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae), da família Mayacaceae, a qual surge como grupo irmão do clado xyrídeo (Eriocaulaceae e Xyridaceae), das restiídeas (Restionaceae, Anarthriaceae e Centrolepidaceae) e das graminídeas (Flagellariaceae, Joinvilleaceae, Ecdeiocoleaceae e Poaceae) (Linder & Rudall 2005; Bouchenak-Khelladi 2014; Givnish et al. 2010, 2018) (Fig. 1).

O clado cyperídeo é considerado um dos mais consistentes em Poales (Linder Rudall 2005), suportado por dados moleculares e morfológicos (Munro & Linder 1997; Chase 2004; Chase et al. 2006; Bouchenak-Khelladi 2014; Givnish et al. 2010, 2018). Os representantes de Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae compartilham a presença de grãos de pólen em tétrades e tricelulares, óvulos anátropos, bitegumentados, sementes testal-tégmicas e microsporogênese simultânea (Stevens 2001; Linder & Rudall 2005). As flores das cyperídeas são reduzidas, agrupadas em inflorescências, e estudos da morfologia e do desenvolvimento floral permitirão identificar sinapomorfias do clado e revelar padrões evolutivos.

Thurniaceae

Thurniaceae é uma família que inclui poucas espécies, distribuídas de modo disjunto pelo Hemisfério Sul, com áreas restritas de ocorrência (Kubitzki 1998; Chase et al. 2000; Jones et al. 2007). A família inclui apenas dois gêneros, *Prionium* e *Thurnia.* O gênero *Prionium* é monoespecífico, representado por *P. serratum*, espécie endêmica da flora da

Região do Cabo e da região de Maputaland-Pondoland, na África do Sul (Mucina & Rutherford 2006); *Thurnia* é composto por três espécies endêmicas da região amazônica no norte da América do Sul, ocorrendo na Colômbia, Guiana Francesa, Guiana, Suriname, Venezuela e Brasil (Balslev 1998; Kubitzki 1998; Chase et al. 2000).

Com base em caracteres morfológicos, *Prionium* era incluído em Juncaceae (Balslev, 1998), mas posteriormente foi transferido para sua própria família Prioniaceae (Munro & Linder 1998). E, atualmente, com base em dados morfológicos e moleculares, *Prionium* encontra-se incluído em Thurniaceae, emergindo nas análises filogenéticas como grupo-irmão de *Thurnia* (Chase et al. 2000; Bremer 2002). No Brasil, ocorre apenas uma espécie, *Thurnia sphaerocephala*, em áreas alagadas e igarapés, na região amazônica (Gil & Schneider 2020). Os representantes dessa família são adaptados a solos arenosos e pobres em nutrientes e normalmente crescem perto de cursos d'água (Kubitzki 1998; Jones et al. 2007). *Prionium serratum* geralmente cresce em áreas abertas ou em riachos com alguma cobertura de árvores, enquanto as espécies de *Thurnia* crescem em sub-bosques de florestas tropicais úmidas (Balslev 1998; Kubitzki 1998).

As espécies de Thurniaceae, em geral, possuem hábito rizomatoso robusto, com folhas espiraladas, formando grandes rosetas (Kubitzki 1998) (Fig. 2A, B). As inflorescências de *Thurnia* são racemosas, globosas e são caracterizadas por flores branco-esverdeadas (Fig. 2B), pequenas, actinomorfas, homoclamídeas e monoclinas; as tépalas são livres e estão presentes dois verticilos de estames férteis, com filetes alongados; o gineceu é tricarpelar, trilocular, com um óvulo por lóculo. O ovário é súpero, com estilete alongado e três estigmas (Kubitzki 1998).

A família Thurniaceae é pouco estudada sob o ponto de vista anatômico. Vale ressaltar os trabalhos de Cutler (1963, 1965) sobre anatomia vegetativa, que revelaram características exclusivas para *Thurnia* como, por exemplo, feixes vasculares invertidos

presentes nas folhas. Já em relação à anatomia floral, Silva et al. (2020) estudaram comparativamente *Prionium serratum* e *Thurnia sphaerocephala*, relatando algumas diferenças entre as espécies, como o comprimento das zonas sinascidiada e simplicada no gineceu, e presença ou não de intrusões na parede do ovário. No entanto, pouco se sabe sobre o desenvolvimento floral na família, sendo esse conhecimento essencial para o entendimento da evolução floral no clado cyperídeo.

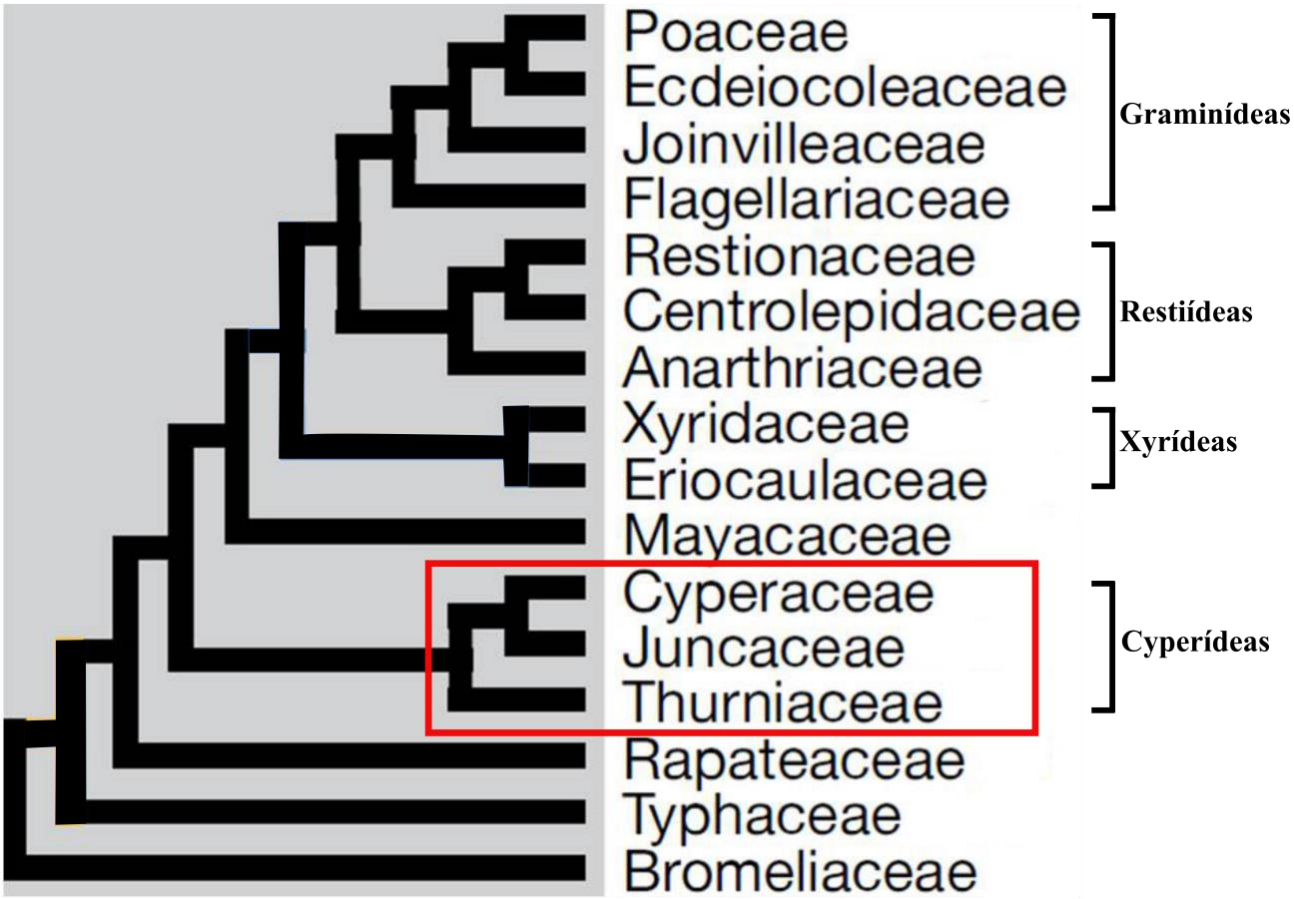


Figura 1. Árvore de credibilidade máxima obtida por análise de máxima verossimilhança a partir de sequências plastidiais, mostrando o posicionamento das famílias dentro dos clados de Poales. Extraída de Givnish et al. (2018).

Juncaceae

A família Juncaceae compreende cerca de 440 espécies distribuídas em oito gêneros: *Distichia*, *Juncus*, *Luzula*, *Marsippospermum*, *Oxychloë*, *Patosi*a, *Rostkovia* e *Oreojuncus*, todos com ampla distribuição nas regiões temperadas e subtropicais e com poucos representantes nas regiões tropicais (Kirschner et al. 2002a,b,c; Drábková & Kirschner 2013). Dentre esses gêneros, *Juncus* (ca. 300 spp.) e *Luzula* (ca. 115 spp.) são os maiores em número de espécies, e ambos possuem distribuição cosmopolita (Kirschner et al. 2002a,b). No Brasil, há registro de 23 espécies e dois gêneros (*Juncus* e *Luzula*) que ocorrem, principalmente, em campos de altitude nas regiões sul e sudeste (Alves & Luz 2015; Valadares 2020).

As flores dos representantes de Juncaceae são diminutas, actinomorfas, trímeras, homoclamídeas e monoclinas (Fig. 2C-E) (Balslev 1996, 1998). As tépalas são glumáceas e livres. O androceu é haplostêmone na maioria das espécies de *Juncus* e diplostêmone nas espécies de *Luzula* (Balslev 1996, 1998; Oriani et al. 2012). O gineceu é tricarpelar, súpero, com estilete simples, três estigmas e elevado por um ginóforo curto; em *Juncus*, o número de óvulos é variado, enquanto em *Luzula* o ovário é sempre triovulado (Balslev 1996, 1998; Oriani et al. 2012).

Dados de morfologia floral são encontrados nas revisões taxonômicas da família (Balslev 1996, 1998; Kirschner et al. 2002a,b,c), no trabalho de Eleuterius (1974), sobre a morfologia floral de *Juncus roemerianus*, e de Schaeppi (1974), sobre a morfologia do gineceu de *Juncus effusus*, *Juncus tenuis* e *Luzula nivea*. Porém, estudos de anatomia floral são escassos, restritos a algumas espécies de *Juncus* e de *Luzula* (Barnard 1958; Oriani et al. 2012). Oriani et al. (2012) relatam uniformidade na família com relação à anatomia floral, sendo os gêneros distintos por caracteres morfológicos do gineceu, como o número de óvulos e o tipo de placentação. Essas variações provavelmente resultam de diferentes processos

ontogenéticos, ainda não estudados para a família. Assim, o estudo do desenvolvimento floral trará dados inéditos, que contribuirão para o conhecimento de Juncaceae.

Cyperaceae

Cyperaceae compreende cerca de 5500 espécies organizadas em 90 gêneros, com distribuição cosmopolita e maior diversidade na África e nos Neotrópicos (Bruhl 1995; Goetghebeur 1998; Govaerts et al. 2021). No Brasil, onde ocorrem cerca de 30 gêneros e 646 espécies, distribuídas em diferentes ecossistemas (Fig. 3A-D), que vão desde campos a bordas de mata, dunas litorâneas, margem de rios e lagos, e ambientes perturbados, com espécies presentes em todas as regiões do país (Luceño & Alves 1997; Alves et al. 2009; Schneider et al. 2020).

Cyperaceae foi tradicionalmente dividida em quatro subfamílias, com base em caracteres morfológicos: Mapanioideae, Cyperoideae, Sclerioideae e Caricoideae (Goetghebeur 1998). Atualmente, com base em análises moleculares, a família está dividida em duas subfamílias: Cyperoideae e Mapanioideae, que emergem como grupos-irmãos e se diferenciam pela estrutura da unidade reprodutiva, que é a menor unidade de suas inflorescências (Simpson et al. 2003, 2007; Muasya et al. 2009). Nas espécies de Cyperoideae as unidades reprodutivas correspondem a espiguetas, compostas por flores monoclinas (Blaser 1941a,b; Goetghebeur 1998; Vrijdaghs et al. 2009). Já em Mapanioideae, as unidades reprodutivas são espicóides compostos por flores estaminadas e uma flor pistilada, todas aperiantadas, formando um pseudanto (Bruhl 1995; Goetghebeur 1998).

As espécies de Cyperaceae apresentam hábito herbáceo, são anuais ou perenes, e podem ser cespitosas, rizomatosas, ou estoloníferas. Nas flores o perianto pode estar presente ou ausente e, caso presente, pode variar em tamanho, número e forma (Goetghebeur 1998). O número de estames pode variar de 1-3 (-6), sendo os filetes livres e as anteras basifixas. O

gineceu é tricarpelar ou bicarpelar, com ovário súpero, placentação basal e um único óvulo (Goetghebeur 1998).

Cyperaceae exibe uma grande diversidade morfológica, principalmente na arquitetura da inflorescência (Fig. 2F,G; 3E-G). O entendimento das inflorescências e da unidade reprodutiva é bem complexo dentro da família, o que promove diferentes interpretações evolutivas e, consequentemente, formulação de hipóteses equivocadas, dificultando o estabelecimento de homologias (Kukkonen 1994; Simpson 1995; Goetghebeur 1998; Muasya et al. 1998; Vegetti 2003; Guarise & Vegetti 2008).

Existem diversos estudos envolvendo a anatomia dos órgãos reprodutivos com espécies de Cyperaceae, principalmente com a subfamília Cyperoideae. Tais estudos abordam a vascularização floral, como o de Blaser (1941a,b), que mostra modificações, reduções e perda de peças florais. Segundo o autor, ao longo da evolução da família, ocorreu redução no número e na estrutura das peças do perianto como, por exemplo, de sépalas para cerdas vascularizadas, devido à compressão do mesofilo e a persistência do feixe vascular, e, em um estágio mais derivado, a perda da vascularização das cerdas (Blaser 1941a,b).

O desenvolvimento floral com espécies de Cyperaceae já foi abordado em vários estudos, os quais trouxeram resultados relevantes para o entendimento da estrutura floral, envolvendo tanto espécies de Cyperoideae (Vrijdaghs et al. 2004, 2005a,b, 2006, 2009, 2010, 2011; Reynders et al. 2012), como Mapanioideae (Richards et al. 2006; Vrijdaghs et al. 2006; Prychid & Bruhl 2013). Blaser (1941a,b) relata que, assim como o perianto, o gineceu também sofreu redução em relação ao número de carpelos, de tricarpelar para bicarpelar, redução essa evidenciada pela presença de vestígios na vascularização floral. Já para Reynders et al. (2012) revelaram que por meio da fusão congênita dos carpelos e redução da zona meristemática, o gineceu se desenvolve a partir de um primórdio anelar, o que, juntamente com o desenvolvimento bidirecional dos feixes vasculares, possibilitou nova

organização estrutural do gineceu ao longo da evolução da família, possibilitando a dimeria nesse verticilo e diferentes morfologias: gineceu achatado dorsiventralmente, com estigmas em posição lateral, e gineceu achatado lateralmente, com estigmas em posição dorsiventral. Portanto, estudos sobre a anatomia e vascularização floral em representantes de Cyperaceae são fundamentais para o entendimento dos processos de redução e da evolução floral, tanto no contexto da família como no do clado cyperídeo.

Apesar do número considerável de trabalhos com espécies de Cyperaceae, ainda há lacunas de informações, principalmente no que diz respeito à anatomia e ao desenvolvimento floral, sendo essa uma importante ferramenta para entender a organização e estrutura das flores e os processos de redução que resultaram nas diferentes morfologias florais observadas na família.

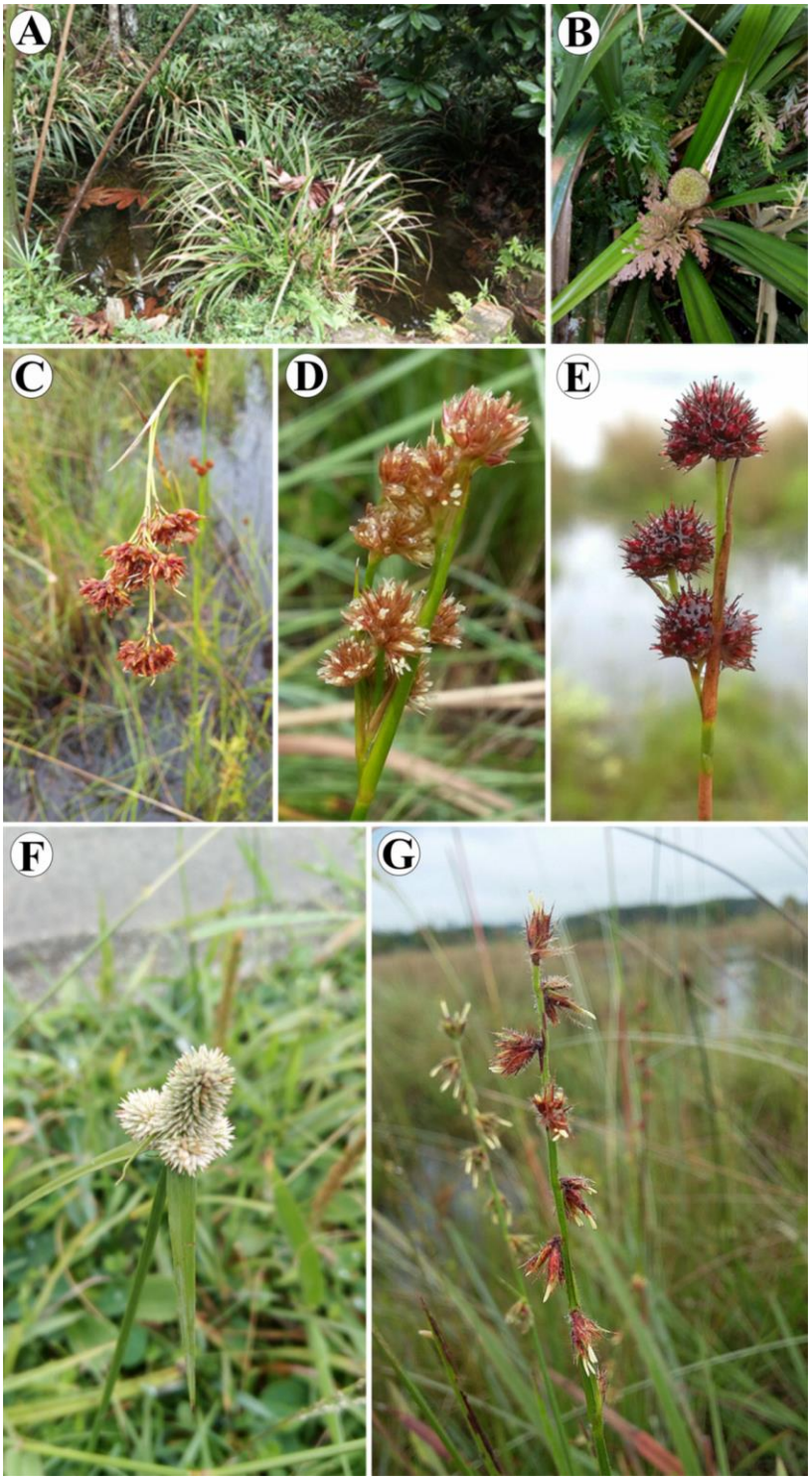


Figura 2. Hábitat, hábito e morfologia de espécies do clado cyperídeo. **A, B.** *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae) coletada em áreas alagadas e igarapés de solo arenoso, Manaus/AM. **C, D.** Hábito e inflorescência de *Juncus microcephalus* e **E.** *Juncus micranthus*, ambos coletados em áreas de campos úmidos em Itirapina/SP. **F.** Inflorescência de *Kyllinga odorada* (Cyperaceae), coletada em áreas úmidas de Florianópolis/SC. **G.** Inflorescência de *Scleria distans* (Cyperaceae), coletada em áreas de campos úmidos em Itirapina/SP.

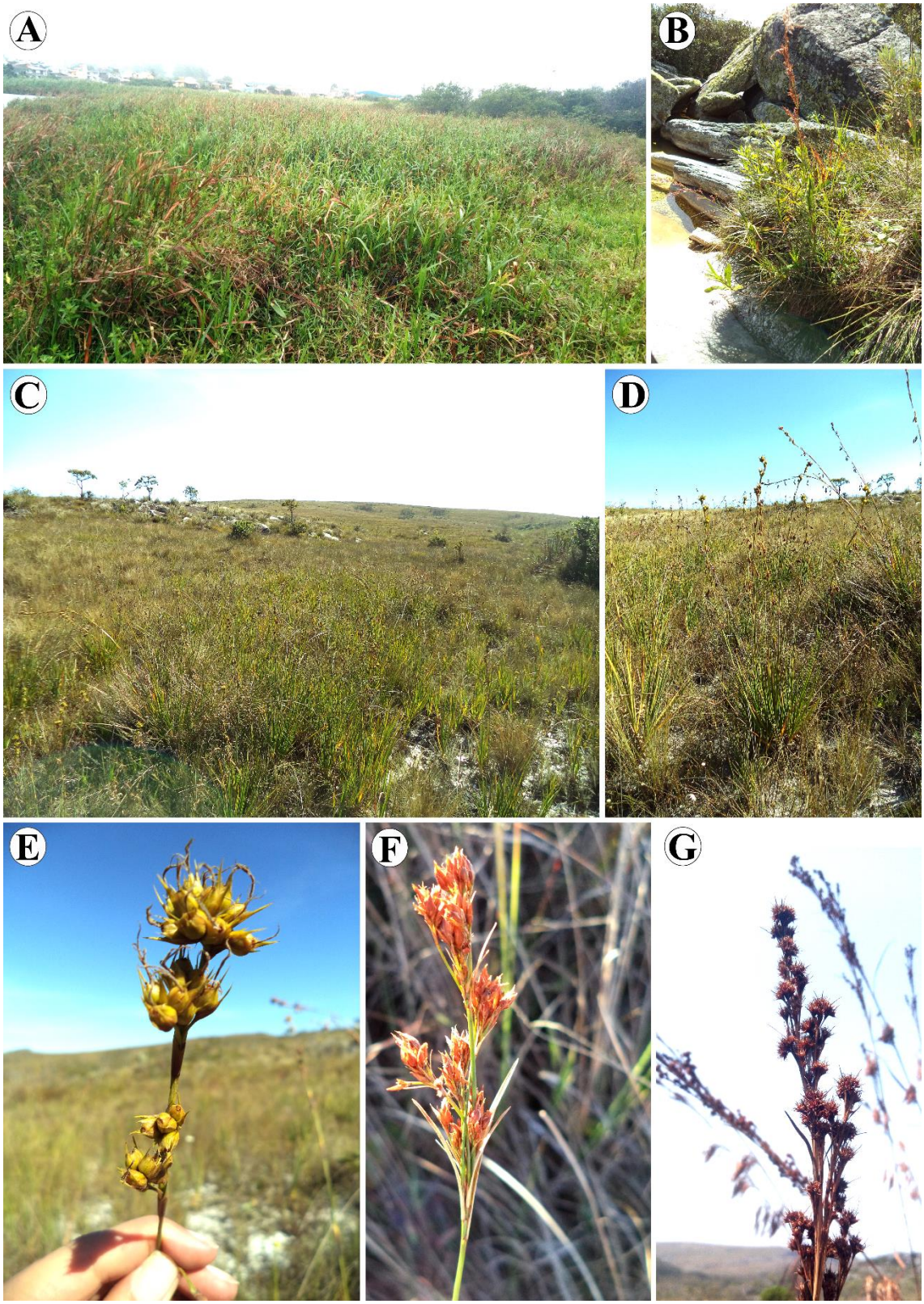


Figura 3. Hábitat e morfologia de espécies de Cyperaceae. **A.** Margens da Lagoa Pequena em Florianópolis, SC. **B-D.** Campos rupestres da Serra do Cipó, MG. **E.** Inflorescência de *Lagenocarpus bracteosus*. **F.** Inflorescência de *Rhynchospora rugosa* **G. E.** Inflorescência de *Lagenocarpus rigidus*.

Estrutura do fruto e da semente em Juncaceae e Cyperaceae

Os frutos dos representantes de Juncaceae são do tipo cápsula loculicida. As sementes podem ser ovoides, obovoides, elipsoides, oblongas, fusiformes, ou oblíquas; externamente, podem ser lisas ou reticuladas (estriadas) (Luz 2004). Apresentam coloração hialina, amarelada, parda ou castanha; o endosperma é amiláceo e o embrião é pequeno em relação ao tamanho da semente (Balslev 1998; Luz 2004).

Estudos sobre o desenvolvimento do óvulo e da semente são escassos para as espécies de Juncaceae. Dentre esses estudos, pode-se citar o de Zaman (1950), com duas espécies de *Juncus*: *Juncus prismatocarpus* e *J. effusus.* O autor relatou a presença de manchas vermelhas no tegumento interno, porém a natureza dessa substância não foi identificada. Além disso, Zaman (1950) demostra que o envoltório semnal é formado por endotégmen e endostesta, sendo a exotesta e o exotégmen absorvidos ao longo do desenvolvimento da semente. No entanto, pouco se sabe sobre a ontogenia e anatomia dos frutos e sementes em Juncaceae, e estudos são necessários para que se possa entender melhor suas estruturas.

Em relação à dispersão de sementes em Juncaceae, Salisbury (1974) e Balslev (1996; 1998) relataram algumas estratégias de dispersão como, por exemplo, a presença de uma camada mucilaginosa nas sementes de espécies de *Juncus*, que, quando umedecidas, tornam-se pegajosas, aderindo facilmente aos dispersores. Segundo Balslev (1996, 1998), dispersão pelo vento ou pela água também podem ocorrer em Juncaceae.

Em Cyperaceae o fruto é indeiscente, do tipo aquênio. Em sua maioria, os aquênios possuem um contorno elíptico, oval ou oboval, e sua secção transversal apresenta-se de arredondada a triangular, ou, nos casos de ovários bicarpelares, dorsiventral ou lateralmente achatada (Goetghbeur 1998; Vitta 2005).

Em Cyperaceae, o aquênio reúne uma grande quantidade de caracteres de importância taxonômica, tanto na diferenciação supragenérica quanto infragenérica (Bruhl 1995,

Goetghbeur 1998). Forma, tamanho, coloração, caracteres da superfície, persistência e estrutura da base do estilete (estilopódio) e de apêndices, como cerdas hipóginas, são características utilizadas com frequência nos estudos taxonômicos em todos os grupos de Cyperaceae (Vitta 2005).

Estudos abordando a anatomia e desenvolvimento do fruto em Cyperaceae ainda são poucos diante da grande quantidade de espécies. Dentre esses estudos, destacam-se o de Shah (1968), Ragonese et al. (1984), Browning & Gordon-Gray (1993, 1996) e Lye (2000) que forneceram caracteres de valor diagnóstico para os gêneros, como variação no número de camadas do pericarpo e formato das células do exocarpo. No clado cyperídeo, os frutos deiscentes (cápsulas) encontrados em Thurniaceae e Juncaceae são considerados condição plesiomórfica, sendo os frutos indeiscentes (aquênios) de Cyperaceae a condição derivada (Plunkett et al. 1995; Simpson 1995).

As espécies de Cyperaceae, por possuírem frutos indeiscentes, transferem para o pericarpo a função de proteção do embrião, e até mesmo de regulação da germinação, já que as células do exocarpo apresentam corpos silicosos nas paredes periclinais internas, e as células do mesocarpo geralmente possuem paredes lignificadas (Ragonese et al. 1984; Browning & Gordon-Gray 1993, 1996; Coan et al. 2008). O envoltório seminal das Cyperaceae é constituído apenas pela exotesta e pelo endotégmen, os quais são pouco diferenciados. A exotesta é caracterizada por possuir células inconspícuas e com paredes finas, enquanto o endotégmen apresenta células de paredes mais espessadas (Makde & Bhuskute 1987; Coan et al. 2008).

Desenvolvimento pós-seminal de Juncaceae e Cyperaceae

Nas últimas décadas, estudos sobre o desenvolvimento pós-seminal de espécies de monocotiledôneas têm contribuído para a elucidação de relações evolutivas e padronização da terminologia utilizada para descrição das estruturas do embrião e da plântula (Tillich 2000,

2007). Em Poales, esses estudos concentram-se principalmente nas famílias: Eriocaulaceae (p.ex. Ramaswamy et al. 1981; Scatena et al. 1993, 1996; Kraus et al. 1996; Corredor et al. 2015; Mascarenhas & Scatena 2021) e Bromeliaceae (p.ex. Scatena et al. 2006; Pereira et al. 2008, 2009; Silva & Scatena 2011).

Na maioria das Poales, o embrião é indiferenciado e o cotilédone é compacto (Scatena et al. 1993, 1996; Kraus et al. 1994, 1996; Rudall & Sajo 1999; Tillich 2007; Corredor et al. 2015; Mascarenhas & Scatena 2021). No entanto, algumas famílias como Bromeliaceae e Poaceae apresentam embrião diferenciado (Benzing 2000; Prado et al. 2014; GPWG 2001), sendo o tipo de cotilédone bastante variável (Tillich 2000, 2007).

Tillich (2007) realizou um trabalho importante, que descreve, sob o ponto de vista morfológico, o tipo de cotilédone e o desenvolvimento pós-seminal para as monocotiledôneas, com ênfase na ordem Poales. Esse trabalho inclui representantes de todas as famílias da ordem, inclusive Cyperaceae, e é referência, pois identifica homologias e padroniza a terminologia. Segundo Tillich (2007), o cotilédone é uma das estruturas mais diversas e apresenta vários estados de caráter derivados dentre as monocotiledôneas, o que dificulta as análises morfológicas. Ainda segundo o autor, existem quatro tipos de cotilédones nas monocotiledôneas, sendo eles: cotilédone do tipo compacto, coleóptilo, hipofilo cotiledonar laminar e fanerômero.

Tillich (2007) descreveu o cotilédone para as espécies de Juncaceae como do tipo fanerômero e, para as Cyperaceae, como do tipo coleóptilo. O fanerômero corresponde à porção proximal do hiperfilo cotiledonar, que se alonga e eleva a semente bem acima da superfície do solo, enquanto o coleóptilo corresponde a uma estrutura tubular produzida pela atividade meristemática do tecido marginal da bainha cotiledonar. A hipótese evolutiva do autor é a de que o cotilédone do tipo compacto seria a condição ancestral em Poales e, a partir

dele, teriam derivados os outros tipos: coleóptilo e hipofilo cotiledonar laminar devido ao alongamento do hipofilo, e fanerômero pelo alongamento do hiperfilo (Fig. 4).

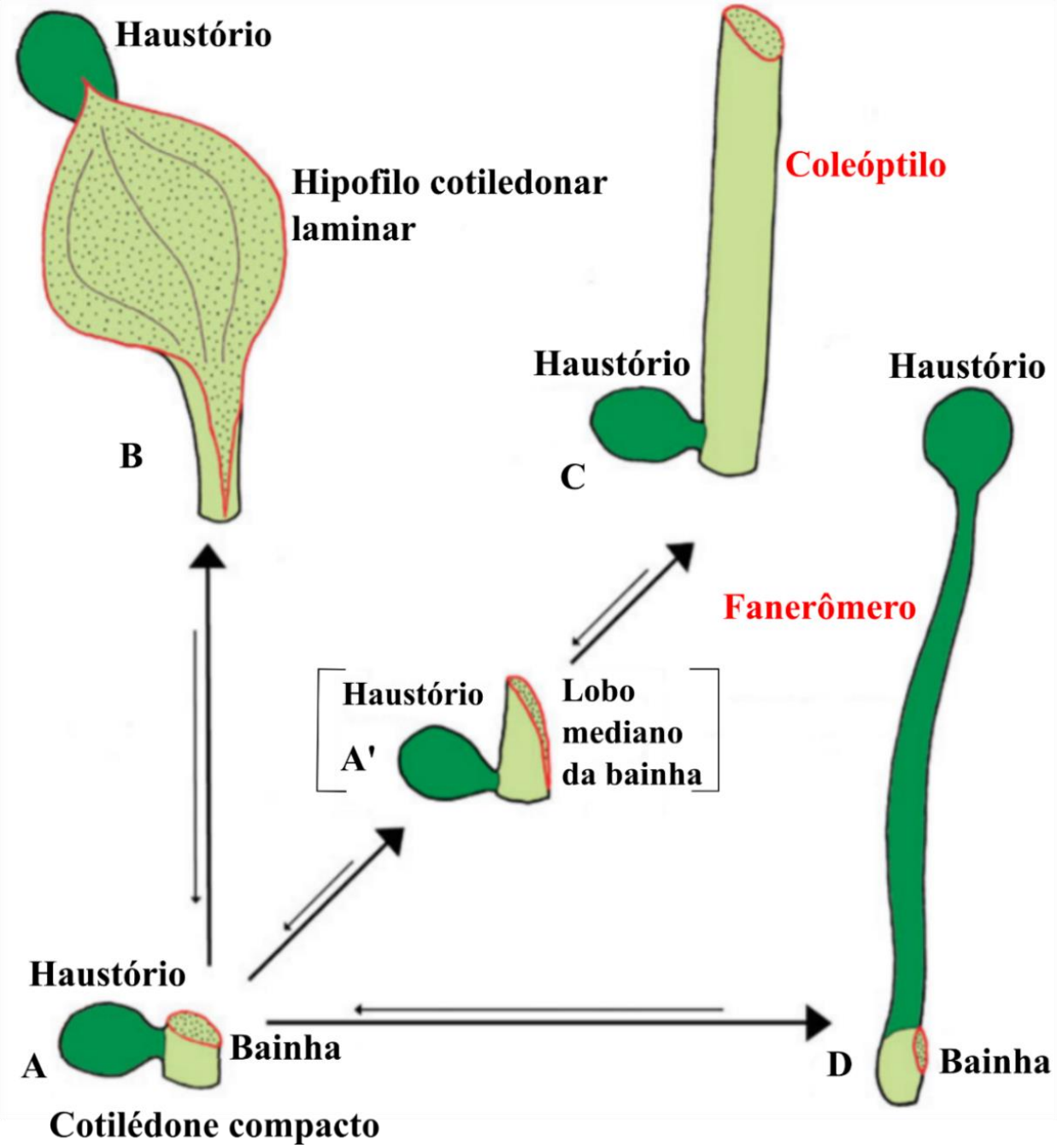


Figura 4. Tipos de cotilédones em Poales. A. Cotilédone compacto que deu origem aos outros tipos de cotilédone na ordem. B, C e D. Tipos de cotilédone derivados do cotilédone compacto. B. Hipofilo cotiledonar laminar. C. Coleóptilo. D. Fanerômero. Extraído de Tillich (2007).

Nesse contexto, o objetivo desta tese foi estudar comparativamente a anatomia, vascularização e o desenvolvimento floral em espécies do clado cyperídeo (Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae), buscando identificar homologias e contribuir para o entendimento da evolução floral no clado. Somando-se a isso, estudou-se a germinação e o desenvolvimento pós-seminal em espécies de Juncaceae e Cyperaceae, buscando caracterizar morfológica e anatomicamente as plântulas em início de desenvolvimento em um contexto ecológico e evolutivo. Os resultados obtidos são apresentados em cinco capítulos intitulados:

Capítulo 1: Desenvolvimento e vascularização floral em *Juncus* e *Luzula* (Juncaceae, Poales) e inferências sobre a evolução floral nas cyperídeas

Capítulo 2: Organogênese floral de *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae, Poales): contribuições para o entendimento do desenvolvimento floral no clado cyperídeo

Capítulo 3: Entendendo as variações da morfologia floral em Cyperoideae (Cyperaceae, Poales) com base na anatomia

Capítulo 4: Desenvolvimento do envoltório seminal e pós-seminal em *Juncus tenuis* (Juncaceae, Poales): aspectos ecológicos e evolutivos

Capítulo 5: Entendendo o desenvolvimento pós-seminal em espécies de Cyperaceae (Poales) em uma perspectiva anatômica

Referências

Alves M, Araújo AC, Prata AP, Vitta F, Hefler S, Trevisan R, Gil ASB, Martins S, Thomas W. 2009. Diversity of Cyperaceae in Brazil. Rodriguésia 60: 771–782.

Alves M, Luz CL. 2015. Juncaceae in lista de espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB138>.

Barnard C. 1958. Floral histogenesis in the monocotyledons III. The Juncaceae. Australian Journal of Botany 6: 285–299.

Balslev H. 1996. Juncaceae. Flora Neotropica Monographs 68:1–167.

Balslev H. 1998. Juncaceae. In: Kubitzki K. (ed) The families and genera of vascular plants. Flowering plants - Monocotyledons Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae), Springer, Berlin, pp 252–260.

Blaser WH. 1941a. Studies in the morphology of the Cyperaceae. Morphology of the flowers. *Scirpoid* genera. American Journal of Botany 28:542–551.

Blaser WH. 1941b. Studies in the Morphology of the Cyperaceae. I . Morphology of flowers. *Rhynchosporoid* genera. American Journal of Botany 28:832–838.

Bouchenak-Khelladi Y, Muasya AM, Linder HP. 2014. A revised evolutionary history of Poales: Origins and diversification. Botanical Journal of the Linnean Society 175:4–16.

Bremer K. 2002. Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). Evolution 56:1374–1387.

Browning J, Gordon-Gray KD, 1993. Studies in Cyperaceae in southern Africa. 21: The taxonomic significance of the achene and its embryo in *Bolboschoenus*. South African Journal of Botany 59:311–318.

Browning J, Gordon-Gray KD. 1996. Studies in cyperaceae in southern africa. 30: Aspects of the relationship between *Cyathocoma* and *Costularia*. South African Journal of Botany

62:250–257.

Bruhl JJ. 1995. Sedge genera of the world: relationships and a new classification of the Cyperaceae. Australian Systematic Botany 8:125–305.

Chase MW. Soltis DE, Soltis PS, Rudall PJ, Fay MF, Hahn, WH, Sullivan S, Joseph J, Molvray M, Kores PJ, Givnish TJ, Sytsma KJ, Pires,JC. 2000. Higher-level systematics of the monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification. In Monocots: systematics and evolution (Wilson, K. L. & Morrison, D. A., eds.), CSIRO, Melbourne, pp. 3–16.

Chase MW. 2004. Monocot relationships: an overview. American Journal of Botany 91:1645–1655.

Chase MW, Fay MF, Devey DS, Maurin O, Ronsted N, Davies TJ, Pillon Y, Pertersen G, Seberg O, Tamura M, Asmussen CB, Hilu K, Borsch T, Davis JI, Stevenson DW, Pires JC, Givnish TJ, Sytsma KJ, McPherson MA, Graham SW, Rai HS. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. Aliso 22:63–75.

Coan AI, Alves MV, Scatena VL. 2008. Comparative study of ovule and fruit development in species of *Hypolytrum* and *Rhynchospora* (Cyperaceae, Poales). Plant Systematics and Evolution 272:181–195.

Corredor BAD, Escobar DFE, Scatena VL. 2015. Morfología de semillas y desarrollo post-seminal de especies de *Comanthera* (Eriocaulaceae). Revista de Biología Tropical 63:1127–1135.

Cutler DF. 1963 Inverted vascular bundles in the leaf of the Thurniaceae. Nature 198:1111–1112.

Cutler DF. 1965. Vegetative anatomy of Thurniaceae. Kew Bull 19:431–441.

Drábková LZ, Kirschner J. 2013. *Oreojuncus*, a new genus in the Juncaceae. Preslia 85:483–503.

Eleuterius LN. 1974. Flower morphology and plant types within *Juncus roemerianus*. Bulletin of Marine Science 24:493–497.

Gil ASB, Schneider LJC. 2020. Thurniaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.Available at: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB241>. Accessed on: 04 Nov. 2021

Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, Depamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Duvall 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. Annals of the Missouri Botanical Garden 97:584–616.

Givnish TJ, Zuluaga A, Spalink D, Soto Gomez M, Lam VKY, Saarela JM, Sass C, Iles WJD, de Sousa DJL, Leebens-Mack J, Chris Pires J, Zomlefer WB, Gandolfo MA, Davis JI, Stevenson DW, dePamphilis C, Specht CD, Graham SW, Barrett CF, Ané C. 2018. 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 105:1888–1910.

Goetghebeur P. 1998. Cyperaceae. In: Kubitzki K, ed. The families and genera of vascular plants. Springer: Berlin, Germany 141–190.

Govaerts R, Koopman J, Simpson D, Goetghebeur P, Wilson K, Egorova T, Bruhl J. 2021. World checklist of Cyperaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew Website at http://wcsp.science.kew.org/ Acesso em: 21 ago. 2021.

Grass Phylogeny Working Group (GPWG). 2001. Phylogeny and subfamilial classification of grasses (Poaceae). Annals of the Missouri Botanical Garden 88: 373–457.

Guarise NJ, Vegetti AC. 2008. Processes responsible of the structural diversity of the Cyperaceae synflorescence: Hypothetical evolutionary trends. Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants 203:640–647.

Jones E, Simpson DA, Hodkinson TR, Chase MW, Parnell JAN. 2007. The Juncaceae-Cyperaceae interface: a combined plastid sequence analysis. Aliso 23:55–61.

Kirschner J, Balslev H, Brooks RE, Clemants SE, Ertter B, Hämet-Ahti L, Álvarez MCFC, Novara LJ, Novikov VS, Simonov SS, Snogerup S, Wilson KL, Zika PF. 2002c. Juncaceae 3: *Juncus* subg. *Agathryon*, Species Plantarum: Flora of the world, ABRS, Canberra.

Kirschner J, Balslev H, Ceska A, Swab JC, Edgar E, Garcia-Herran K, Hämet-Ahti L, Kaplan Z, Novara LJ, Novikov VS, Wilton A. 2002a. Juncaceae 1: *Rostkovia* to *Luzula*, Species Plantarum: Flora of the world, ABRS, Canberra.

Kirschner J, Balslev H, Clemants SE, Ertter B, Álvarez MCFC, Hämet-Ahti L, Miyamoto F, Noltie HJ, Novara LJ, Novikov VS, Simonov SS, Snogerup S, Wilson KL. 2002b. Juncaceae 2: *Juncus* subg. *Juncus*, Species Plantarum: Flora of the world, ABRS, Canberra.

Kraus JE, Sajo MG, Dias-Leme CL, Wanderley MGL. 1994. Aspectos morfológicos do desenvolvimento pós-seminal em espécies de *Xyris* L. (Xyridaceae). Hoehnea 21:29–38.

Kraus JE, Scatena, VL, Lewinge ME, Trench KUS. 1996. Morfologia externa e interna de quatro espécies de *Paepalanthus* Kunth (Eriocaulaceae) em desenvolvimento pós-seminal. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 15:45–53.

Kubitzki K. 1998. Thurniaceae. In: Kubitzki K (ed) The families and genera of vascular plants. Flowering plants – Monocotyledons. Alismatanae and Commelinanae. (except Gramineae), Springer, Berlin, pp 455–457.

Kukkonen I. 1994. Definition of descriptive terms for the Cyperaceae. Annales Botanici

Fennici 31:37–43.

Linder HP, Rudall P.J. 2005. Evolutionary history of Poales. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 36:107–124.

Luceño M, Alves MV, Mendes AP. 1997. Catálogo florístico y claves de identificación de lãs ciperáceas de los estados de Paraíba y Pernambuco (nordeste de Brasil). Anales del Jardín Botánico de Madrid 55:67–100.

Luz CL. 2004. Taxonomia da família Juncaceae Juss. no Rio Grande do Sul, Brasil. Tese de mestrado - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, pp. 1–193.

Lye KA. 2000. Achene structure and function of structure in Cyperaceae. In: Wilson, K.L., Morrison, D.A. Monocots: systematics and evolution. CSIRO, Melbourne, pp. 615–628.

Makde KH, Bhuskute SM. 1987. Embryology of *Kyllinga monocephala* (Cyperaceae) and its systematic position. Plant Systematics and Evolution 156:143–150.

Mascarenhas AAS, Scatena VL. 2021. Seed morphology and post-seminal development in *Leiothrix* Ruhland (Eriocaulaceae, Poales). Feddes Repertorium 132:9–19.

Muasya A, Bruhl J, Simpson D, Culham A, Chase M. 1998. An assessment of suprageneric phylogeny in Cyperaceae using rbcL DNA sequences. Plant Systematics and Evolution 211:257–271.

Muasya AM., Simpson DA, Verboom GA, Goetghebeur P, Naczi RFC, Chase MW, Smets E. 2009. Phylogeny of cyperaceae based on DNA sequence data: Current progress and future prospects. The Botanical Review 75:2–21.

Mucina L, Rutherford MC. 2006. The vegetation of South Africa, Lesotho and Swaziland. Strelitzia 19. South African National Biodiversity Institute, Pretoria

Munro SL, Linder HP. 1997. The embryology and systematic relationships of *Prionium serratum* (Juncaceae: Juncales). American Journal of Botany 84:850–860.

Munro SL, Linder HP. 1998 The phylogenetic position of *Prionium* (Juncaceae) within the order Juncales based on morphological and rbcL sequence data. Systematic Botany 23:43–55.

Nakamura AT, Scatena VL, 2009. Desenvolvimento pós-seminal de espécies de Poaceae (Poales). Acta Botanica Brasilica 23:212–222.

Oriani A, Stützel T, Scatena VL. 2012. Contributions to the floral anatomy of Juncaceae (Poales - Monocotyledons). Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants 207:334–340.

Pereira AR, Pereira TS, Rodrigues AS, Andrade ACS. 2008. Morfologia de sementes e do desenvolvimento pós-seminal de espécies de Bromeliaceae. Acta Botanica Brasilica 22:1150-1162.

Pereira AR, Andrade ACS, Pereira TS, Forzza RC, Rodrigues AS. 2009. Comportamento germinativo de espécies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. Revista Brasileira de Botânica 32:827- 838.

Plunkett GM, Soltis DE, Soltis PS, Brooks RE. 1995. Phylogenetic relationships between Juncaceae and Cyperaceae: insights from rbcL sequence data. American Journal of Botany 82:520–525.

Prado JPC, Schimidt EC, Steinmacher DA, Guerra MP, Bouzon ZL, Vesco LLD, Pescador R. 2014. Seed morphology of *Vriesea friburguensis* var. paludosa L. B. Sm. (Bromeliaceae). Hoehnea 41:553-562.

Prychid CJ, Bruhl JJ. 2013. Floral ontogeny and gene protein localization rules out euanthial interpretation of reproductive units in *Lepironia* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). Annals of Botany 112:161–177.

Ragonese AM, Guaglianone ER, Struttmatter CD. 1984. Desarrolo Del pericarpio com cuerpos de sílice de dos espécies de *Rhynchospora* Vahl (Cyperaceae). Darwiniana

25:27–41.

Ramaswamy SN, Swamy BGL. Arekal GD. 1981. From zygote to seedling in *Eriocaulon robusto-brownianum* Ruhl. (Eriocaulaceae). Beiträge zur Biologie der Pflanzen 55:179–188.

Reynders M, Vrijdaghs A, Larridon I, Huygh W, Leroux O, Muthama Muasya A, Goetghebeur P. 2012. Gynoecial anatomy and development in Cyperoideae (Cyperaceae, Poales): Congenital fusion of carpels facilitates evolutionary modifications in pistil structure. Plant Ecology and Evolution 145:96–125.

Richards JH, Bruhl JJ, Wilson KL. 2006. Flower or spikelet? Understanding the morphology and development of reproductive structures in *Exocarya* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). American Journal of Botany 93:1241–1250.

Rudall PJ, Sajo MG. 1999. Systematic position of *Xyris*: flower and seed anatomy. International Journal of Plant Sciences160:795-808.

Salisbury EJ. 1974. The reproduction of *Juncus tenuis* (*Juncus macer*) and its dispersal. Transactions of the Botanical Society Edinburgh 42:187–190.

Scatena VL, Menezes NL, Stutzel T. 1993, Embriology and seedling development in *Syngonanthus rufipes* Silveira (Eriocaulaceae). Beiträge zur Biologie der Pflanzen 67:333–343.

Scatena VL, Lemes-Filho JP, Lima AAA.1996. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus elegans* e *S. niveus* (Eriocaulaceae). Acta Botanica Brasilica 10:85–91.

Scatena VL, Segecin S, Coan AI. 2006. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campos Gerais”, Paraná, Southern Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology 49:945–951.

Schaeppi H. 1974. Vergleichend-morphologische untersuchungen am gynoeceum einiger Juncaceen. Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich 119:225–238.

Schneider LJC, Pereira-Silva L, Thomas WW, Matzenauer W, Hefler SM, Nunes CS, Maciel-Silva JF, Prata APN, Jiménez-Mejías P, Weber P, Silva Filho PJS, Costa SM, Soares Neto RL, Alves KNL, Gil ASB, Trevisan R, López MG, Hall CF, Fernandes-Júnior AJ, Vitta FA, Orsolano GN, Wanderley MGL. 2020. Cyperaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB100>. Acesso em: 25 ago. 2021.

Shah CK. 1968. Development of pericarp and seed coat in the Cyperaceae. Naturaliste Canadien 95:39–48.

Silva IV, Scatena VL. 2011. Morfologia de sementes e de estádios iniciais de plântulas de espécies de Bromeliaceae da Amazônia. Rodriguésia 62:263–272.

Silva AL, Alves MVS, Coan AI. 2020. Comparative floral morphology and anatomy of Thurniaceae, an early-diverging family in the cyperids (Poales, Monocotyledons). Plant Systematics and Evolution 306:53–67.

Simpson DA. 1995. Relationships within Juncales. In Monocotyledons: systematics and evolution (Rudall, P. J., Cribb, P. J., Cutler, D. F., & Humphries, C. J., eds.), Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 497–509.

Simpson DA, Furness CA, Hodkinson TR, Muasya AM, Chas MW. 2003. Phylogenetic relationships in Cyperaceae subfamily Mapanioideae inferred from pollen and plastid DNA sequence data. American Journal of Botany 90:1071–1086.

Simpson DA, Muasya AM, Alves M, Bruhl JJ, Dhooge S, Chase MW, Furness CA, Ghamkhar K, Goetghebeur P, Hodkinson TR, Marchant AD, Nieuborg R, Reznicek AA, Roalson EH, Smets E, Starr JR, Thomas WW, Wilson KL, Zhang X. 2007. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: a new *rbc*L analysis. Aliso 23:72–83.

Stevens PF. 2001 onwards. Angiosperms Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. [S. l.]. Disponível em http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/.

Tillich HJ. 2000. Ancestral and derived character states in seedlings of monocotyledons. In: Wilson, K.I. & Morrison, D.A. (Eds.). Monocots: systematics and evolution. CSIRO, Melbourne, pp. 221–228.

Tillich HJ. 2007. Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (monocotyledons). Annals of Botany 100:1413–1429.

Valadares RT. 2020. Juncaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB138>. Acesso em: 25 ago. 2021

Vegetti AC. 2003. Synflorescence typology in Cyperaceae. Annales Botanici Fennici 40:35–46.

Vitta FA, 2005. Revisão taxonômica e estudos morfológicos e biossistemáticos em *Cryptangium* Schrad. ex Nees e *Lagenocarpus* Nees (Cyperaceae: Cryptangieae). Tese de doutorado - Universidade de Campinas, Brasil, pp. 1–294.

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Muasya AM, Smets E, Caris P. 2004. The nature of the perianth in *Fuirena* (Cyperaceae). South African Journal of Botany 70:587–594.

Vrijdaghs A, Caris P, Goetghebeur P, Smets E. 2005a. Floral ontogeny in *Scirpus*, *Eriophorum* and *Dulichium* (Cyperaceae), with special reference to the perianth. Annals of Botany 96:167–168.

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Muasya AM, Caris P, Smets E. 2005b. Floral ontogeny in *Ficinia* and *Isolepis* (Cyperaceae), with focus on the nature and origin of the gynophore. Annals of Botany 96:1247–1264.

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Smets E, Muasya AM. 2006. The floral scales in *Hellmuthia*

(Cyperaceae, Cyperoideae) and *Paramapania* (Cyperaceae, Mapanioideae): An ontogenetic study. Annals of Botany 98:619–630.

Vrijdaghs A, Muasya AM, Goetghebeur P, Caris P, Nagels A, Smets E. 2009. A floral ontogenetic approach to questions of homology within the Cyperoideae (Cyperaceae). Botanical Review 75:30–51.

Vrijdaghs A, Reynders M, Larridon I, Muasya AM, Smets E, Goetghebeur P. 2010. Spikelet structure and development in Cyperoideae (Cyperaceae): A monopodial general model based on ontogenetic evidence. Annals of Botany 105: 555–571.

Vrijdaghs A, Reynders M, Muthama Muasya A, Larridon I, Goetghebeur P, Smets EF. 2011. Morphology and development of spikelets and flowers in *Cyperus* and *Pycreus* (Cyperaceae). Plant Ecology and Evolution 144:44–63.

Zaman BYB. 1950. The embryology of *Juncus prismatocarpus* Br. and *J. effusus* Linn. Proceedings of the Indian National Science 31:223–234.

CAPÍTULO 1

Desenvolvimento e vascularização floral em *Juncus* e *Luzula* (Juncaceae, Poales) e inferências sobre a evolução floral nas cyperídeas

LUCIMARA REIS DE OLIVEIRA SILVA[1], THOMAS STÜTZEL[2] e ALINE ORIANI[1*]

[1]*Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Departamento de Biodiversidade, Instituto de Biociências, UNESP - Universidade Estadual Paulista, C. Postal 199, 13506-900 Rio Claro, SP, Brazil*

[2]*Evolution und Biodiversität der Pflanzen, Fakultät für Biologie und Biotechnologie, Ruhr Universität Bochum, D-44780 Bochum, Alemanha*

* Autor para correspondêcia: alineoriani@yahoo.com.br

Manuscrito a ser submetido ao periódico *Botanical Journal of the Linnean Society*

RESUMO. O desenvolvimento e a vascularização floral de espécies de *Juncus* e *Luzula*, os dois gêneros mais representativos de Juncaceae, foram estudados comparativamente, com ênfase no perianto e no gineceu. O principal objetivo deste trabalho foi elucidar os processos ontogenéticos envolvidos no desenvolvimento do perianto e na variação do gineceu e entender sua evolução no clado cyperídeo. Estudou-se também a vascularização floral em *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae) para comparação. Em todas as espécies estudadas, a iniciação das peças florais ocorre de forma centrípeta. As tépalas internas têm desenvolvimento tardio, alongando-se apenas após a iniciação dos estigmas. O gineceu se inicia como um primórdio anelar, característica compartilhada por Juncaceae e Cyperaceae. Nas flores de *Juncus* e de *Thurnia*, o sistema vascular forma um plexo central no receptáculo, a partir do qual os traços de todas as peças florais divergem. Já nas flores de *Luzul*a, ocorre a formação de complexos vasculares no receptáculo, com posterior individualização dos traços de cada peça floral. Em *Juncus*, todas as tépalas recebem três traços vasculares, enquanto em *Luzula* há uma variação entre as espécies, cujas tépalas podem receber três ou um único traço. Já em *Thurnia sphaerocephala*, assim como em Cyperaceae, as tépalas recebem um único traço vascular. Considerando o posicionamento filogenético de Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae dentro do clado cyperídeo, a vascularização das tépalas por um único feixe vascular pode ser a condição ancestral no clado, tendo ocorrido reversões em Juncaceae, ou ocorreram reduções de forma independente nas três famílias. O padrão de desenvolvimento do gineceu difere entre *Juncus* e *Luzula*, sendo que no primeiro o gineceu se forma como um primórdio anelar, mas com septos evidentes, enquanto no último inicia-se como um primórdio triangular ao redor da placenta. Nossa hipótese é a de que houve uma redução dos septos ao longo da evolução das cyperídeas, reduzindo com isso a zona sinascidiada, até sua perda total, culminando no gineceu unilocular, com um único óvulo em Cyperaceae.

PALAVRAS-CHAVE: anatomia floral – cyperídeas – gineceu – Juncaceae – Poales – perianto – primórdio anelar – Thurniaceae.

INTRODUÇÃO

Dentre as Poales, as famílias Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae formam o clado cyperídeo (Linder & Rudall, 2005; Givnish *et al.*, 2010, 2018; Darshetkar *et al.*, 2019), compartilhando características como: microsporogênese simultânea, grãos de pólen dispersos em tétrade e gineceu com estilete curto e estigmas longos (Stevens, 2001). Na análise filogenética realizada por Bouchenak-Khelladi, Muasya & Linder (2014), com base em dados moleculares, Mayacaceae e Rapateaceae também emergem no clado cyperídeo, porém com baixo suporte filogenético. No entanto, na maioria das análises filogenéticas, o clado cyperídeo, incluindo apenas Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae, emerge com alto suporte (p. ex. Givnish *et al.*, 1999, 2010, 2018; Darshetkar *et al.*, 2019).

Dentro do clado cyperídeo, as análises filogenéticas baseadas em dados morfológicos e moleculares apontam uma maior proximidade entre Juncaceae e Cyperaceae, que formam um clado que é grupo-irmão de Thurniaceae (Linder & Rudall, 2005; Givnish *et al.*, 1999, 2010, 2018; Darshetkar *et al.*, 2019). Acredita-se que as flores das cyperídeas tenham derivado de uma flor típica de monocotiledônea, trímera, actinomórfica, diplostêmone, com ovário superior sincárpico, assim como ocorre em Thurniaceae e na maioria das Juncaceae, sendo que em Cyperaceae processos de redução e supressão de verticilos e peças teriam resultado em formas mais especializadas ao longo da evolução do clado (Simpson 1995). Uma maior especialização floral é observada em Cyperaceae, cujas flores são extremamente reduzidas como resultado de aborto ou perda total de peças ou verticilos (Simpson, 1995; Vrijdaghs *et al.*, 2009).

A família Juncaceae é a segunda mais numerosa do clado cyperídeo, com cerca de 440 espécies e oito gêneros (Balslev, 1998; Kirschner *et al*., 2002a); apresenta ampla distribuição nas regiões temperadas e subtropicais, com poucos representantes nas regiões tropicais (Kirschner *et al*., 2002a,b,c). *Juncus* L.(ca. 300 spp.) e *Luzula* DC. (ca. 115 spp.) são os gêneros com maior riqueza de espécies e ambos possuem distribuição cosmopolita, com a maioria da espécies ocorrendo na zona temperada do hemisfério norte (Balslev, 1998; Kirschner e*t al*., 2002a,b).

Há uma variação considerável no arranjo das inflorescências em Juncaceae, com a maior parte dessa variação encontrada nos gêneros *Juncus* e *Luzula* (Balslev, 1996, 1998; Kirschner *et al*., 2002a). As flores em Juncaceae são glumáceas, inconspícuas como na maioria das espécies de Poales, actinomorfas, trímeras, homoclamídeas e monóclinas (Balslev 1996, 1998). O verticilo interno de estames pode estar ausente, característica de importância taxonômica para a família (Balslev, 1996, 1998). O androceu é isostêmone nas espécies de *Juncus* e diplostêmone em *Luzula* (Balslev, 1996, 1998). O gineceu é tricarpelar, súpero, com estilete simples, três estigmas e elevado por um ginóforo curto; em *Juncus* a placentação é parietal e o número de óvulos é variado, enquanto em *Luzula* a placentação é basal e o ovário é triovulado (Balslev, 1996, 1998; Oriani, Stützel & Scatena, 2012).

Dados de morfologia floral são encontrados nas revisões taxonômicas da família (Buchenau, 1890, 1906; Balslev, 1996, 1998; Kirschner *et al*., 2002a,b,c) e nos trabalhos de Eleuterius (1974), sobre a morfologia floral de *Juncus roemerianus* Salt Marsh, e de Schaeppi (1974), sobre a morfologia do gineceu de *Juncus effusus* L., *Juncus tenuis* Willd. e *Luzula nivea*. Dados de anatomia floral são escassos em Juncaceae e restritos aos trabalhos de Barnard (1958), com *Juncus articulatus* L., *Luzula campestres* (L.) DC. e *Juncus vaginatus* R.Br., e de Oriani, Stützel & Scatena (2012), envolvendo várias espécies de *Juncus* e *Luzula*, que mostra que a anatomia floral é uniforme nesses dois gêneros.

Thurniaceae inclui dois gêneros: *Thurnia*, gênero que inclui três espécies de ervas aquáticas restritas à região norte da América do Sul (Kubitzki, 1998) e *Prionium*, gênero monoespecífico e restrito à África de Sul, anteriormente incluído em Juncaceae (Balslev, 1998). É uma família muito pouco estudada, com flores actinomorfas, homoclamídeas, monoclinas e dispostas em inflorescências racemosas, globosas; as tépalas são livres e estão presentes dois verticilos de estames férteis, com filetes alongados; o gineceu é tricarpelar, trilocular, com um óvulo por lóculo; o ovário é súpero, com estilete alongado e três estigmas (Kubitzki, 1998). O único trabalho de anatomia floral da família, que analisou *Prionium serratum* (L.f.) Drège e *Thurnia sphaerocephala* (Rudge) Hook.f., mostra que as características anatômicas das tépalas diferenciam Thurniaceae de Juncaceae, enquanto que características do gineceu, como número de óvulos, extensão das zonas do ovário e presença ou não de intrusões na parede do ovário diferenciam as espécies entre si (Silva, Alves & Coan, 2020).

Para Cyperaceae há um maior número de trabalhos na literatura sobre anatomia e/ou desenvolvimento floral (p. ex. Snell, 1936; Blaser, 1941a,b; Vrijdaghs *et al.*, 2004, 2005a,b, 2006, 2009; Richards, Bruhl & Wilson, 2006; Reynders *et al.*, 2012; Prychid & Bruhl, 2013; Monteiro, Scatena & Oriani, 2016). A morfologia floral em Cyperaceae é bastante variada, com perianto podendo estar presente ou ausente e variando em número, tamanho e forma das partes; o número de estames também é variável e o gineceu pode ser trímero ou dímero (Snell, 1936; Blaser, 1941a; Vrijdaghs *et al.*, 2009). As peças do perianto podem ser vascularizadas ou não, sendo a perda da vascularização, segundo Blaser (1941a), uma condição derivada. Uma característica relevante com relação ao desenvolvimento floral em Cyperaceae refere-se ao desenvolvimento do perianto, que na maioria das espécies estudadas de Cyperoideae é tardio, iniciando-se apenas após o desenvolvimento dos estames e do gineceu (Vrijdaghs *et al.*, 2004, 2005a,b, 2006, 2009; Reynders *et al.*, 2012). Os estudos de

desenvolvimento floral também mostram que o gineceu em Cyperaceae se inicia como um primórdio anelar pela fusão congênita dos carpelos (Vrijdaghs *et al.*, 2005a, b, 2009), o que, segundo Reynders *et al.* (2012), combinado com o desenvolvimento bidirecional da vascularização do pistilo, teria facilitado o surgimento do gineceu dímero na família.

Para Juncaceae e Thurniaceae não há estudos sobre o desenvolvimento floral e não se sabe como é a sequência de iniciação das peças florais ou se o padrão de desenvolvimento do gineceu é semelhante ao observado em Cyperaceae. Assim, o estudo da organogênese floral mostra-se fundamental para responder perguntas como, por exemplo, se Juncaceae, Thurniaceae e Cyperaceae compartilham padrões de desenvolvimento floral.

Considerando a escassez de estudos ontogenéticos e de anatomia floral em Juncaceae e Thurniaceae, este trabalho tem como objetivo estudar o desenvolvimento e a vascularização floral em espécies de *Juncus* e *Luzula* (Juncaceae) e a vascularização floral de *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae), em uma abordagem comparativa, visando contribuir para o melhor entendimento da evolução floral no clado cyperídeo. Espera-se responder as seguintes perguntas: O desenvolvimento do gineceu em Juncaceae inicia-se com um primórdio anelar como observado em Cyperaceae? A vascularização das peças do perianto segue o mesmo padrão nas três famílias do clado cyperídeo?

MATERIAL E MÉTODOS

Foi estudada a vascularização floral em seis espécies de *Juncus* e cinco espécies de *Luzula* (Juncaceae), além de *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae). As espécies estudadas, áreas e dados de coleta estão apresentados na Tabela 1.

Inflorescências em diferentes fases de desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 (37% formaldeído, ácido acético glacial, 50% etanol, 1:1:18 v/v) (Johansen, 1940) e estocadas em etanol 70% para posterior estudo da anatomia e do desenvolvimento floral.

Material testemunho foi depositado no Herbarium Rioclarense do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (HRCB).

Para o estudo da vascularização floral, flores em antese foram incluídas em (2-hidroxietil)-metacrilato (Leica Historesin Embedding Kit) (Gerrits & Smid, 1983) e seccionadas em micrótomo rotativo (Leica RM 2245), com 7-10μm de espessura. As secções anatômicas foram coradas com ácido periódico – reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina em tampão fosfato 0,05% (O'Brien Feder & McCully, 1964; Feder & O'Brien, 1968) e montadas em lâminas permanentes com Entellan® (Merck). Os resultados foram documentados com capturador de imagem (Leica DFC 450) acoplado ao microscópio (Leica DM4000B), utilizando-se o programa de digitalização de imagens LAS (Leica Application Suíte V 4.0.0). Para a edição de imagens utilizou-se o programa Photoshop CS5.

Para o estudo do desenvolvimento floral, foram selecionadas as espécies: *Juncus microchephalus*, *Luzula luzuloides* e *Luzula sylvativa*, para as quais foi possível obter todos os estágios de desenvolvimento floral. Flores em diferentes fases de desenvolvimento, fixadas em FAA 50, foram dissecadas sob estereomicroscópio (Leica, MZ6) com auxílio de microagulhas, desidratadas em série etílica (30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%) e submetidas à secagem em ponto crítico com CO_2 (Balzers, CPD 050). As amostras foram então fixadas em stubs, metalizadas com ouro por um sistema de pulverização catódica (Bal-Tec, SCD 050) e observadas no microscópio (JEOL, JSM IT 300). As imagens foram obtidas utilizando-se o sistema de captura de imagens do microscópio.

Os diagramas que ilustram a vascularização floral de cada espécie foram feitos usando o programa Inkscape 1.1.

RESULTADOS

DESENVOLVIMENTO FLORAL

A sequência de iniciação das peças florais em *Juncus microcephalus* é centrípeta. Primeiramente iniciam-se as três tépalas externas, que têm formato de cúpula, sendo duas latero-adaxiais e uma abaxial (Fig. 1A, B). As tépalas desenvolvem-se rapidamente, protegendo as peças florais mais internas (Fig. 1C-F). Em posição alterna, aparecem as tépalas internas (Fig. 1C, D, asteriscos), seguidas dos estames, que surgem como protuberâncias arredondadas (Fig. 1G). Posteriormente, as protuberâncias que correspondem às tépalas internas se tornam mais alargadas (Fig. 1H, I).

O centro do meristema floral aumenta e forma uma depressão (Fig. 1H), onde o gineceu é iniciado como um primórdio anelar (Fig. 1I). Com o início do alongamento do gineceu, os septos do ovário se tornam evidentes, bem como a natureza carpelar do pistilo (Fig. 1J, K). No ápice de cada carpelo surgem os primórdios dos estigmas, opostos aos estames, sendo dois adaxiais em um abaxial (Fig. 1L). Após a iniciação dos estigmas, o ovário se alonga por crescimento intercalar (Fig. 2A-C). Concomitantemente ao alongamento do ovário, as tépalas internas também se alongam, envolvendo os estames e o gineceu (Fig. 2A-H). Em seguida, os estames começam a se diferenciar em anteras e filetes (Fig. 2G, H). Conforme os filetes se alongam e as tecas das anteras se desenvolvem, os estigmas também se alongam (Fig. 2I, J). Em estágios seguintes do desenvolvimento, observa-se o alongamento das anteras e do ovário e o enrolamento dos estigmas (Fig. 3A-E). O estilete torna-se distinguível com uma região mais estreita entre os estigmas e o ovário (Fig. 3E). Após o enrolamento dos estigmas, eles se tornam papilosos na superfície ventral, permanecendo acima das anteras (Fig. 3D, E). Somente na antese os estigmas se distendem.

Em *Luzula sylvatica*, a sequência de iniciação das peças florais também é centrípeta. As tépalas e estames surgem como protuberâncias arredondadas ao redor do primórdio do

gineceu, que é triangular (Fig. 4A-C). As três tépalas externas se alargam rapidamente na base, ficando ao redor das demais peças florais (Fig. 4B-D). As duas tépalas latero-adaxiais se desenvolvem um pouco mais rápido que a abaxial e se tornam triangulares (Fig. 4B, C). No primórdio triangular do gineceu, surgem três depressões que irão formar o lóculo do ovário, ao redor da placenta central (Fig. 4D, E). O ápice de cada carpelo se alonga, formando três protuberâncias unidas entre si logo abaixo do ápice, ao redor da placenta, tornando evidente a zona sinascidiada do gineceu (Fig. 4E, F). O ápice de cada carpelo continua se alongando, fechando o ovário e formando três estigmas triangulares e côncavos (Fig. 4G-L). Concomitantemente, as tépalas externas crescem, recobrindo as peças florais mais internas (Fig. 4G-L). As tépalas internas se alargam na base e se alongam, assumindo formato triangular, enquanto, nos estames, as anteras se diferenciam (Figs 4J-L, 5A, B). O ovário se alonga por crescimento intercalar, ao mesmo tempo em que as anteras e as tépalas internas se desenvolvem (Fig. 5C-E). As tépalas internas rapidamente ultrapassam os estames e gineceu, assumindo função protetiva (Fig. 5E, G). Após o alongamento das tépalas internas, das anteras, do ovário e dos estigmas, esses últimos começam a se contorcer (Fig. 5F-G). O estilete se alonga tardiamente, enquanto os três ramos estigmáticos tornam-se papilosos e enrolam-se entre si (Fig. 5H), distendendo apenas quando a flor encontra-se em antese.

O desenvolvimento do gineceu em *Luzula luzuloides* é semelhante ao observado em *L. sylvatica*. No primórdio triangular do gineceu, o ápice de cada carpelo se alonga, formando três protuberâncias unidas entre si logo abaixo do ápice, ao redor do meristema central (Fig. 6A). O ápice de cada carpelo continua se alongando, fechando o ovário e formando três estigmas triangulares e côncavos (Fig. 6B-E). Concomitantemente, as anteras começam a se diferenciar e as tépalas internas se alongam, assumindo formato triangular (Fig. 6E-G). O ovário se alonga por crescimento intercalar (Fig. 6H). As tépalas internas rapidamente ultrapassam os estames e o gineceu, assumindo função protetiva (Fig. 6I, J). Após o

alongamento das tépalas internas, das anteras, do ovário e dos estigmas, esses últimos começam a se contorcer (Fig. 6I, J). O estilete se alonga tardiamente, enquanto os três ramos estigmáticos tornam-se papilosos e enrolam-se entre si (Fig. 6K), distendendo na antese.

VASCULARIZAÇÃO FLORAL

O sistema vascular das flores das espécies aqui estudadas está descrito de forma acrópeta, da base para o ápice da flor, e esquematizado na Figura 7 para *Juncus microcephalus* (Fig. 7A), *Luzula campestris* (Fig. 7B), *L. multiflora* (Fig. 7C), *L. sylvatica* (Fig. 7D) e *Thurnia sphaerocephala* (Fig. 7E).

Juncus - Nas espécies de *Juncus* observam-se, no pedicelo, três grupos de feixes vasculares, que se unem centralmente (Fig. 8A). Esses feixes formam um plexo vascular central (Fig. 8B), do qual divergem os traços para todas as peças florais em diferentes alturas.

Os primeiros traços vasculares a divergirem são os das tépalas externas (Fig. 8C, linha vermelha contínua), seguidos pelos traços das tépalas internas, em posição alterna (Fig. 8D, linha amarela contínua) e dos estames (Fig. 8D, linha vermelha tracejada), que são opostos às tépalas externas. Cada tépala recebe três traços vasculares, sendo um mediano e dois laterais (Fig. 8D-F). Os estames são supridos por um único feixe vascular (Fig. 8D-F), que ascende até o conectivo.

Na base do ginóforo observam-se três feixes vasculares centrais, que correspondem aos feixes carpelares (Fig. 8D, E). Esses feixes se dividem para formar três feixes carpelares dorsais (Figs 8F, 9A), opostos aos estames, que irrigam o estilete (Fig. 9G) e os estigmas (Fig. 9H). Os três feixes centrais remanescentes se dividem em seis feixes carpelares ventrais (Fig. 9B, C), que se ramificam para vascularizar os óvulos. (Fig. 9C, D). O ovário consiste em uma zona sinascidiada fértil e curta (Fig. 9B, C) e de uma zona simplicada também fértil e alongada (Fig. 9D-F).

Luzula - Nas espécies de *Luzula*, o pedicelo apresenta três grandes feixes vasculares (Fig. 10A), que se unem formando um plexo central (Fig. 10B). No receptáculo os traços vasculares formam complexos (Fig. 10C, D) e posteriormente se individualizam, divergindo para os respectivos verticilos (Fig. 10E, F). Assim, no receptáculo, observam-se seis complexos vasculares, sendo três complexos tépalas-estames externos (círculos vermelhos) e três complexos tépalas-estames internos (círculos amarelos), além dos três traços carpelares centrais (Figs 10D, 12A, 13A). Em *Luzula campestris* e *Luzula pilosa*, os complexos tépalas-estames externos se dividem em quatro traços vasculares: três traços (um mediano e dois laterais) divergem para cada tépala externa (Fig. 10E, F, linha vermelha contínua) e um traço diverge para cada estame do verticilo externo (Fig. 10E, F, linha vermelha tracejada). Dos outros três complexos, em posição alterna, divergem três traços (um mediano e dois laterais) para cada tépala interna (Fig. 11 A, B, linha amarela contínua) e um traço para cada estame do verticilo interno (Fig. 11 A, B, linha amarela tracejada). Em *Luzula multiflora*, cada tépala externa recebe três traços (Fig. 12B-C, linha vermelha contínua), enquanto as tépalas internas recebem apenas um traço (Fig. 12B-C, linha amarela contínua). Já em *Luzula sylvatica* e *Luzula luzuloides*, tanto as tépalas externas quanto as tépalas internas recebem apenas um traço (Fig. 13B, C). O número de traços vasculares que cada tépala recebe é apresentado comparativamente para todas as espécies estudadas na Tabela 2.

Os feixes vasculares dos estames ascendem pelo filete (Figs 10F, 13D) até o conectivo. No ginóforo observam-se os feixes carpelares (Fig. 11B), que se ramificam em três feixes carpelares dorsais (Fig. 11C), opostos às tépalas e aos estames externos. Esses feixes vascularizam a parede do ovário (Fig. 11D-F) e ascendem pelo estilete (Fig. 11G) até os estigmas (Fig. 11H). Os feixes centrais remanescentes se dividem em seis feixes carpelares ventrais (Fig. 11D), sendo que três desses feixes vascularizam os óvulos e três ascendem pela

parede do ovário (Figs 11E-F, 13D), terminando na base do estilete. O ovário consiste em uma porção sinascidiada curta e fértil (Fig. 11E, F) e uma porção simplicada alongada e estéril (Figs 11F, 13D).

Thurnia sphaerocephala - Também em *Thurnia*, observa-se no receptáculo um plexo vascular central (Fig. 14A), do qual divergem os traços para todas as peças florais (Fig. 14B). Ainda no receptáculo, antes do início da separação das peças florais, os traços das tépalas, dos estames e dos carpelos se individualizam (Fig. 14B, C).

Os primeiros traços a divergirem são os das tépalas externas (Fig. 14B, linha vermelha contínua), seguidos dos traços das tépalas internas, em posição alterna (Fig. 14C, D; linha amarela contínua), e dos estames (Fig. 14C, D; linhas amarela e vermelha tracejadas). Cada tépala é vascularizada por apenas um feixe vascular (Fig. 14E, F). Logo após a separação das tépalas externas ocorre a ramificação dos traços carpelares em três traços carpelares dorsais e três traços carpelares ventrais (Fig. 14D, E). Em níveis superiores, observa-se a separação das tépalas internas, dos estames do verticilo externo, alternos às tépalas internas (Fig. 14E) e, em seguida, dos estames do verticilo interno, alternos às tépalas externas (Fig. 14F), cada qual suprido por um único feixe vascular. Os três feixes carpelares dorsais, opostos às tépalas externas, vascularizam a parede do ovário (Fig. 14F, G), ascendendo até os estigmas; os três feixes carpelares ventrais, opostos às tépalas internas, terminam vascularizando os óvulos (Fig. 14G, H). O ovário consiste de uma zona sinascidiada fértil curta (Fig. 14F, G) e uma zona simplicada alongada estéril (Fig. 14H).

DISCUSSÃO

DESENVOLVIMENTO E VASCULARIZAÇÃO DO PERIANTO

Nossos resultados revelam diferenças no desenvolvimento e na vascularização das peças do perianto entre *Juncus* e *Luzula*. A sequência de iniciação das peças florais é centrípeta em todas as espécies estudadas, porém em *Juncus*, as tépalas externas, que são rígidas e cupuliformes, têm crescimento rápido e envolvem completamente o meristema floral e as peças mais internas formadas subsequentemente. Já em *Luzula*, tanto as tépalas externas quanto as internas desenvolvem-se concomitantemente ao androceu e gineceu e quem exerce o papel de proteção do meristema floral e das peças florais no início do desenvolvimento são as brácteas florais. Não há estudos sobre o desenvolvimento floral em espécies de Thurniaceae, mas em Cyperoideae (Cyperaceae), o perianto, quando presente, tem desenvolvimento tardio, iniciando-se depois dos estames (Vrijdaghs *et al.*, 2004, 2006, 2009) e, da mesma forma que em *Luzula*, os primórdios das peças florais são protegidos pelas brácteas das inflorescências. Considerando que as flores de *Juncus* e de Cyperaceae em sua maioria são isostêmones, enquanto que em *Luzula* as flores são diplostêmones (Balslev, 1996, 1998; Goetghebeur, 1998), a presença ou não do perianto e seu desenvolvimento tardio parece não ter influenciado os processos de redução das peças e verticilos florais mais internos ao longo da evolução do grupo.

Enquanto em Juncaceae e Thurniaceae as flores são diclamídeas, com tépalas membranáceas, em Cyperaceae observa-se grande variação morfológica com relação ao perianto, ocorrendo tanto flores diclamídeas, com tépalas membranáceas, como flores sem perianto (Simpson, 1995; Goetghebeur, 1998). Ocorre também redução ou aumento em número ou modificações nas peças do perianto, que podem aparecer como escamas ou cerdas, vascularizadas ou não (Blaser, 1941a,b; Vrijdaghs *et al.*, 2004, 2006, 2009). Acredita-se que tenham ocorrido vários processos de redução ao longo da evolução da família, de tépalas membranáceas para escamas ou cerdas vascularizadas e posterior perda da vascularização. Blaser (1941a,b), em seus estudos sobre a vascularização floral em vários

gêneros de Cyperaceae, mostra que as tépalas externas, quando vascularizadas, recebem três ou um traço vascular, variando nas diferentes espécies. Já as tépalas internas recebem um único traço vascular.

Para as angiospermas em geral foi descrito um padrão de vascularização floral, no qual as sépalas recebem três traços vasculares, indicando sua origem foliar, enquanto as pétalas recebem um único traço vascular, relacionado à sua origem a partir dos estames (Eames, 1931; Puri, 1951; Endress, 2005). Em Poales, no entanto, esse padrão parece não existir, sendo que o número de traços que sépalas e pétalas recebem é bastante variável entre e dentro das famílias da ordem. Nas famílias com flores grandes, com perianto duplo, como Bromeliaceae, Rapateaceae e Mayacaceae, as sépalas podem receber três ou mais traços vasculares (Sajo, Rudall & Prychid, 2004; Ferrari & Oriani, 2017; Oriani & Scatena, 2019). Em Xyridaceae, as sépalas recebem mais de três traços vasculares em *Orectanthe* e *Abolboda* e um único traço vascular em *Xyris* (Sajo *et al.*, 2017). As pétalas recebem três traços vasculares ou mais em todas essas famílias. Já em famílias com flores menores, inconspícuas, como Eriocaulaceae e Cyperaceae, as sépalas ou tépalas externas podem receber três ou um único traço vascular, enquanto as pétalas ou tépalas internas recebem um único traço vascular (Blaser, 1941a,b; Rosa & Scatena, 2007; Silva *et al.*, 2021). A redução na vascularização foi relacionada ao menor tamanho das flores nessas famílias.

De acordo com Endress (1994), na maioria das eudicotiledôneas, as pétalas recebem apenas um traço vascular pelo fato de seus primórdios serem menores, possuírem base estreita e desenvolvimento tardio. Já as sépalas recebem vários traços vasculares porque seus primórdios são maiores e mais largos na base e possuem desenvolvimento rápido devido à sua função protetora (Endress, 1994). Nossos resultados, no entanto, mostram que em Juncaceae, que também apresenta flores pequenas, inconspícuas, tanto as tépalas externas quanto as internas recebem três traços vasculares em espécies de *Juncus* em algumas espécies

de *Luzula*, o que mostra que o número de traços que cada tépala recebe não têm relação com o tamanho do órgão, como suposto anteriormente para as angiospermas em geral. Em *Thurnia*, cujas flores são maiores em relação às de Juncaceae e Cyperaceae, as tépalas recebem um único feixe vascular. Como Thurniaceae é grupo-irmão do clado formado por Juncaceae e Cyperaceae (Linder & Rudall, 2005; Givnish *et al.*, 2018; Darshetkar *et al.*, 2019), acredita-se que tépalas vascularizadas por um único feixe vascular seja a condição ancestral nas cyperídeas, tendo ocorrido reversão para três traços em algumas Juncaceae e Cyperaceae. Essa reversão ocorreu tanto no verticilo externo do perianto, como observado aqui em algumas espécies de *Luzula*, quanto em ambos os verticilos, como observado em espécies de *Juncus* e alguns membros de *Luzula* e pode estar relacionada a uma menor duração do período de antese das flores, que requerem, com isso, menor suprimento de água e nutrientes. Outra interpretação é a de que ocorreram reduções (de três para um único traço vascular) de forma independente nas três famílias ao longo da evolução do clado.

A formação de um plexo vascular no receptáculo floral é uma característica compartilhada por Juncaceae, Thurniaceae e Cyperaceae e pode estar relacionada ao tamanho diminuto das flores. Os vasos condutores do xilema que irrigam as peças florais são iniciados dentro do receptáculo, onde se ligam aos feixes da ráquila (feixes receptaculares) e aos feixes que se iniciam no ápice das diferentes peças florais (Reynders *et al*., 2012). Provavelmente devido à extrema redução do eixo floral nas cyperídeas, podemos observar os traços das diferentes peças florais já individualizados no ápice do receptáculo.

DESENVOLVIMENTO E VASCULARIZAÇÃO DO ANDROCEU E GINECEU

A análise do desenvolvimento e da vascularização floral em Juncaceae mostrou que, nas espécies em que as flores são isostêmones, os estames do verticilo interno estão ausentes e não há vestígios de traços vasculares, ou seja, a condição isostêmone é resultado da perda

total do verticilo interno de estames, a partir de um ancestral diplostêmone, como também observado nas flores isostêmones de Cyperaceae (Vrijdaghs *et al.*, 2005a, 2009). De acordo com Vrijdaghs *et al.* (2005a), as flores típicas de Cyperoideae são tetracíclicas, com dois verticilos de três peças de perianto alternadas, um verticilo de estames alternados às tépalas externas e um gineceu trímero. Em Thurniaceae, as flores são diplostêmones (Kubitzki, 1998), portanto, considerando a posição filogenética dessas famílias, flores diplostêmones são provavelmente a condição ancestral do clado cyperídeo, tendo ocorrido reduções paralelas em Juncaceae e Cyperaceae. Vale ressaltar que, em Poales, a condição isostêmone derivou tanto da redução do verticilo interno de estames, como nas cyperídeas e em Mayacaceae (Oriani & Scatena, 2019), quanto da redução do verticilo externo de estames, como nas xyrídeas (Oriani *et al.*, 2012; Sajo *et al.*, 2017), não sendo, portanto, homóloga nas diferentes famílias.

Com relação ao gineceu, uma característica marcante em Cyperaceae é seu desenvolvimento a partir de um primórdio anelar, no qual não é possível distinguir os carpelos. Segundo Reynders *et al.* (2012), a formação do gineceu a partir de um primórdio anelar, combinada com o desenvolvimento bidirecional da vascularização do pistilo, possibilitou o desenvolvimento do gineceu livre das restrições estruturais próprias de uma organização carpelar típica, permitindo mudanças na posição dos primórdios dos estigmas e facilitando o aparecimento de gineceu dímero ao longo da evolução da família.

Em Juncaceae, nossos resultados mostram que as espécies estudadas não compartilham o mesmo padrão de desenvolvimento do gineceu entre si, tampouco com Cyperaceae. Apesar de em *Juncus* o gineceu se desenvolver a partir de um primórdio anelar, observa-se a formação dos septos na região de fusão dos carpelos, evidenciando sua natureza carpelar. Os septos são incompletos em grande parte da extensão do ovário, porém formam uma zona sinascidiada curta na base do gineceu, cujo desenvolvimento é atrasado. Em

Luzula, a porção sinascidiada dos carpelos é evidente desde o início do desenvolvimento do gineceu, que aparece como um primórdio triangular e logo surgem três depressões formando os lóculos do ovário. A análise anatômica mostrou que tanto em *Juncus* quanto em *Luzula* a zona sinascidiada do gineceu é curta, provavelmente como resultado do crescimento desigual da parede do ovário em relação ao eixo floral, como já demonstrado em outras angiospermas (Vasconcelos *et al.*, 2018; Ronse De Craene, 2021). A tendência evolutiva do clado parece ter sido a redução do crescimento do eixo floral e dos septos do ovário, culminando no gineceu de Cyperaceae, completamente unilocular, no qual provavelmente o processo de peltação foi completamente suprimido. Considerando essa hipótese, é provável que em Thurniaceae, que é mais basal, o desenvolvimento do gineceu seja mais semelhante ao observado em *Luzula*, com a zona sinascidiada evidente já no início do desenvolvimento do gineceu. Estudos futuros de desenvolvimento floral com espécies da família poderão confirmar essa hipótese.

Também para Xyridaceae foi demonstrado, através de análises anatômicas e do desenvolvimento do gineceu, aliadas à análise de evolução do estado de caráter ancestral, que houve uma tendência de aumento da porção unilocular do ovário pela redução dos septos ao longo da evolução da família (Nardi *et al.*, 2021). A placentação axilar é condição ancestral mais provável para a família, a partir da qual derivou diretamente a placentação parietal e central-livre e, partir dessa última, a placentação basal (Nardi *et al.*, 2021). Nessa perspectiva e considerando a posição filogenética das famílias no clado cyperídeo, o único óvulo com placentação basal em Cyperaceae pode ser interpretado como derivado de um gineceu com placentação axilar. Segundo Blaser (1941b), a vascularização do único óvulo de Cyperaceae por um feixe vascular composto (formado pela fusão dos feixes carpelares ventrais) e a posição assimétrica do óvulo em algumas espécies são evidências da origem a partir de um ancestral com placentação axilar ou central-livre. Nas espécies por ele estudadas, os feixes

carpelares ventrais percorrem a base do ovário centripetalmente e se unem na posição mediana, originando o suprimento vascular típico das placentas axilares ou central-livre.

Por outro lado, segundo Reynders *et al*. (2012), nas flores de Cyperoideae o feixe vascular do óvulo se conecta ao plexo vascular central do receptáculo independentemente dos feixes carpelares dorsais, o que reflete uma reorganização do desenvolvimento do gineceu. O posicionamento assimétrico do óvulo em algumas espécies, como *Cyperus laevigatus*, foi interpretado por esses autores como consequência de sua curvatura, já que o óvulo inicia-se ortótropo e se curva ao longo do desenvolvimento, tornando-se anátropo. Reynders *et al*. (2012) concordam com Snell (1936) de que a condição de Cyperoideae seria o estágio máximo de redução a partir do que se observa em Juncaceae. No entanto, segundo esses autores, a fusão congenital dos primórdios carpelares teria permitido uma nova organização do desenvolvimento do gineceu, onde o óvulo, único e basal, se dissociou da estrutura carpelar. Ainda segundo Reynders *et al*. (2012), o fato dos feixes vasculares da parede do ovário e do óvulo se separarem ainda no receptáculo, tornando-se feixes independentes antes de entrar no gineceu corrobora a ocorrência de primórdios separados para o óvulo e a parede do ovário no início da diferenciação do meristema floral e a hipótese de dissociação do óvulo com o gineceu. Nossos resultados de vascularização, no entanto, não corroboram essa hipótese, visto que o mesmo ocorre em Juncaceae e Thurniaceae, onde os feixes carpelares dorsais e ventrais se individualizam ainda no receptáculo, mas os óvulos não são dissociados dos carpelos, sendo a natureza carpelar da parede do ovário evidente desde o início do desenvolvimento do gineceu.

Reynders *et al*. (2012) afirmam ainda que a desorganização do tecido vascular no receptáculo das flores de Cyperoideae, formando um plexo vascular, reflete a presença do primórdio anelar do gineceu e que poderia ser interpretado como uma adaptação à dispersão do fruto, uma vez que sua posição coincide com a zona de abscisão do fruto maduro. Nossos

resultados não corroboram essas hipóteses, uma vez que também em Juncaceae e Thurniaceae o tecido vascular forma um plexo no receptáculo, no entanto o gineceu não apresenta o mesmo padrão de desenvolvimento (como observado aqui nas espécies de Juncaceae) e os frutos não se soltam e atuam como diásporos como em Cyperaceae, mas são deiscentes (cápsulas loculicidas) e liberam suas sementes por aberturas longitudinais.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, pela bolsa de doutorado concedida à LROS (processo nº 170850/2017-0) e pela bolsa de pós-doutorado concedida à AO (processo nº 157531/2018-0). O presente trabalho foi realizado também com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 (bolsa PNPD para AO).

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

Balslev H. 1996. Juncaceae. *Flora Neotropica Monographs* **68:** 1–167.

Balslev H. 1998. Juncaceae. In: Kubitzki K, ed. *The Families and genera of vascular plants*. Berlin, Germany: Springer, 252–260.

Barnard C. **1958.** Floral histogenesis in the monocotyledons. III. The Juncaceae. *Australian Journal of Botany* **6:** 285–298.

Blaser HW. **1941a.** Studies in the morphology of the Cyperaceae. I. Morphology of flowers. *Scirpoid* genera. *American Journal of Botany* **28:** 542.

Blaser HW. **1941b.** Studies in the morphology of the Cyperaceae. I. Morphology of flowers.

Rynchosporoid genera. *American Journal of Botany* **28:** 832–838.

Bouchenak-Khelladi Y, Muasya AM, Linder HP. **2014**. A revised evolutionary history of Poales: Origins and diversification. *Botanical Journal of the Linnean Society* **175:** 4–16.

Buchenau F. 1890. Monographia Juncacearum. *Botanische Jahrbücher für Systematik* **12:** 1–495.

Buchenau F. 1906. Juncaceae. In: Engler, HGA, ed. *Das Pflanzenreich 4*. Berlin: Wilhelm Engelmann, 1–284.

Darshetkar AM, Datar MN, Tamhankar S, Li P, Choudhary RK. 2019. Understanding evolution in Poales: Insights from Eriocaulaceae plastome. *PLoS One* **14:** 1–16.

Eames AJ. 1931. The vascular anatomy of the flower with refutation of the theory of carpel polymorphism. *American Journal of Botany* **18:** 147–188.

Eleuterius LN. 1974. Flower morphology and plant types within *Juncus roemerianus*. *Bulletin of Marine Science* **24:** 493–497.

Endress PK. **1994.** Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Plant Systematics and Evolution* **192:** 79–97.

Endress PK. 2005. Links between embryology and evolutionary floral morphology. *Current Science* **89:** 749–754

Feder N, O'Brien T. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* **55:** 123–142.

Ferrari RC, Oriani A. 2017. Floral anatomy and development of *Saxofridericia aculeata* (Rapateaceae) and its taxonomic and phylogenetic significance. *Plant Systematics and Evolution* **303:** 187–201.

Gerrits PO, Smid L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* **132:** 81–85.

Givnish TJ, Evans TM, Pires JC, Sytsma KJ. **1999.** Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: Evidence from rbcL sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **12:** 360–385.

Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, dePamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Duvall 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. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **97:** 584–616.

Givnish TJ, Zuluaga A, Spalink D, Soto Gomez M, Lam VKY, Saarela JM, Sass C, Iles WJD, de Sousa DJL, Leebens-Mack J, Chris Pires J, Zomlefer WB, Gandolfo MA, Davis JI, Stevenson DW, DePamphilis C, Specht CD, Graham SW, Barrett CF, Ané C. **2018.** 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* **105:** 1888–1910.

Goetghebeur P. 1998. Cyperaceae. In: Kubitzki K, ed. *The families and genera of vascular plants*. Berlin, Germany: Springer, 141–190.

Kirschner J, Balslev H, Ceska A, Swab JC, Edgar E, Garcia-Herran K, Hämet-Ahti L, Kaplan Z, Novara LJ, Novikov VS, Wilton A. 2002a. Juncaceae 1: *Rostkovia* to *Luzula,* species plantarum: Flora of the world. Canberra: Australian Biological Resources Study, 1–237.

Kirschner J, Balslev H, Clemants SE, Ertter B, Álvarez MCFC, Hämet-Ahti L, Miyamoto F, Noltie HJ, Novara LJ, Novikov VS, Simonov SS, Snogerup S, Wilson

KL. 2002b. Juncaceae 2: *Juncus* subg. *Juncus*, Species Plantarum: Flora of the world. Canberra: Australian Biological Resources Study, 1–336.

Kirschner J, Balslev H, Brooks RE, Clemants SE, Ertter B, Hämet-Ahti L, Álvarez M CFC, Novara LJ, Novikov VS, Simonov SS, Snogerup S, Wilson KL, Zika PF. 2002c. Juncaceae 3: *Juncus* subg. *Agathryon*, Species Plantarum: Flora of the world. Canberra: Australian Biological Resources Study, 1–192.

Kubitzki K. 1998. Thurniaceae. In: Kubitzki K, ed. T*he families and genera of vascular plants*. Berlin, Germany: Springer, 455–457.

Johansen DA. 1940. *Plant Microtechnique*. New Youk: McGraw–Hill Co.

Linder HP, Rudall PJ. 2005. Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **36:** 107–124.

Monteiro MM, Scatena VL, Oriani A. 2016. Anatomy and development of the reproductive units of *Mapania pycnostachya* and *Hypolytrum schraderianum* (Mapanioideae, Cyperaceae). *Australian Journal of Botany* **64:** 389-400.

Nardi KO, Campbell LM, Oriani A. 2021. Inferences on gynoecium evolution in *Xyris* (Xyridaceae, Poales) based on floral anatomy and development. *Botanical Journal of the Linnean Society* **197:** 396–419.

O'Brien TP, **Feder N**, **McCully ME. 1964.** Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **59:** 368–373.

Oriani A, Stützel T, Scatena VL. **2012**. Contributions to the floral anatomy of Juncaceae (Poales - Monocotyledons). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **207:** 334–340.

Oriani A, Scatena VL. **2019.** Floral organogenesis and vasculature in Mayacaceae, an enigmatic family of Poales. *Plant Systematics and Evolution* **305:** 549–562.

Prychid CJ, Bruhl JJ. 2013. Floral ontogeny and gene protein location rules out euanthial

interpretation of reproductive units in *Lepironia* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). *Annals of Botany* **112:** 161–177.

Puri V. 1951. The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. *Botanical Review* **17:** 471–553.

Reynders M, Vrijdaghs A, Larridon I, Huygh W, Leroux O, Muasya AM, Goetghebeur P. 2012. Gynoecial anatomy and development in Cyperoideae (Cyperaceae, Poales): congenital fusion of carpels facilitates evolutionary modifications in pistil structure. *Plant Ecology and Evolution* **145:** 96–125

Richards JH, Bruhl JJ, Wilson KL. 2006. Flower or spikelet? Understanding the morphology and development of reproductive structures in *Exocarya* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). *American Journal of Botany* **93:** 1241–1250.

Ronse De Craene LP. 2021. Gynoecium structure and development in core Caryophyllales: a matter of proportions. *Botanical Journal of the Linnean Society* **195:** 437–466.

Rosa MM, Scatena VL. 2007. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Annals of Botany* **99:** 131–139.

Sajo MG, Rudall PJ, Prychid CJ. 2004. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. *Plant Systematics and Evolution* **247:** 215–231.

Sajo MG, Oriani A, Scatena VL, Rudall PJ. 2017. Floral ontogeny and vasculature in Xyridaceae, with particular references to staminodes and stylar appendages. *Plant Systematics and Evolution* **303:** 1293–1310.

Schaeppi H. 1974. Vergleichend-morphologische untersuchungen am gynoeceum einiger Juncaceen. *Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich* **119:** 225–238.

Silva AL, Alves MVS, Coan AI. 2020. Comparative floral morphology and anatomy of

Thurniaceae, an early-diverging family in the cyperids (Poales, Monocotyledons). *Plant Systematics and Evolution* **306:** 53–67.

Silva AL, Stützel T, Trovó M, Coan AI. 2021. Floral structure of *Mesanthemum radicans* (Eriocaulaceae, Poales): morphological and anatomical novelties. *South African Journal of Botany* **139:** 306–317.

Simpson DA. 1995. Relationships within Juncales. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ, eds. *Monocotyledons: systematics and evolution*. Kew: Royal Botanic Gardens, 497–509.

Snell RS. 1936. Anatomy of the spikelet and flowers of *Carex*, *Kobresia* and *Uncinia*. *Bulletin of the Torrey Botanic Club* **63:** 277–295.

Stevens PF. 2001 onwards. Angiosperms Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/.

Vasconcelos TNC, Lucas EJ, Faria JEQ, Prenner G. 2018. Floral heterochrony promotes flexibility of reproductive strategies in the morphologically homogeneous genus *Eugenia* (Myrtaceae). *Annals of Botany* **121:** 161–174.

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Muasya AM, Smets E, Caris P. 2004. The nature of the perianth in *Fuirena* (Cyperaceae). *South African Journal of Botany* **70**: 587–594.

Vrijdaghs A, Caris P, Goetghebeur P, Smets E. 2005a. Floral ontogeny in *Scirpus*, *Eriophorum* and *Dulichium* (Cyperaceae), with special reference to the perianth. *Annals of Botany* **95:** 1199–1209.

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Muasya AM, Caris P, Smets E. 2005b. Floral ontogeny in *Ficinia* and *Isolepis* (Cyperaceae), with focus on the nature and origin of the gynophore. *Annals of Botany* **96:** 1247–1264.

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Smets E, Muasya AM. **2006.** The floral scales in *Hellmuthia*

(Cyperaceae, Cyperoideae) and *Paramapania* (Cyperaceae, Mapanioideae): An ontogenetic study. *Annals of Botany* **98:** 619–630.

Vrijdaghs A, Muasya AM, Goetghebeur P, Caris P, Nagels A, Smets E. 2009. A floral ontogenetic approach to homology questions within the Cyperoideae (Cyperaceae). *Botanical Review* **75:** 30–51.

Legendas

Figura 1. Estágios iniciais do desenvolvimento floral de *Juncus microcephalus*. A, B, Início do desenvolvimento das tépalas externas. C, Iniciação das tépalas internas (asteriscos). D-F, Rápido alongamento das tépalas externas, que recobrem as peças florais mais internas; note o atraso no desenvolvimento da tépala externa abaxial. G, Início do desenvolvimento das tépalas internas e dos estames. H, Iniciação do gineceu. I, Primórdio anelar do gineceu. J, K, Início do desenvolvimento do gineceu, com os septos do ovário evidentes. L, Iniciação dos estigmas. c, carpelo; fb, bráctea floral; fm, meristema floral; g, gineceu; it, tépala interna; ot, tépala externa; st, estame; o apóstrofo (’) indica posição abaxial. Barras: A-E, G, 50 µm; F, 100 µm; H-L, 20 µm.

Figura 2. Estágios sucessivos do desenvolvimento floral de *Juncus microcephalus*. A, Desenvolvimento das tépalas internas e dos estames. B, C, Alargamento das tépalas internas, envolvendo os estames e o gineceu e início do desenvolvimento dos estigmas, no ápice dos carpelos. D-F, Desenvolvimento dos estigmas. G, H, Início da diferenciação das anteras; note que as tépalas internas ultrapassam o androceu e gineceu neste estágio. I, J, Alongamento do ovário e dos filetes por crescimento intercalar. it, tépala interna; ot, tépala externa; st, estame; o apóstrofo (’) indica posição abaxial. Barras: A, E, F, 20 µm; B-D, 50 µm; G-J, 100 µm.

Figura 3. Estágios finais do desenvolvimento floral de *Juncus microcephalus*. A-C, Alongamento do ovário e torção dos estigmas; note que a linha de deiscência das anteras se torna evidente (em posição latrorsa). D, Detalhe dos estigmas, mostrando a face ventral papilosa. E, Flor em pré-antese, com anteras bem desenvolvidas e pistilo com ovário e estilete bem evidentes. Barras: A-C, E, 100 µm; D, 50 µm.

Figura 4. Estágios iniciais do desenvolvimento floral de *Luzula sylvatica*. A-C, Início do desenvolvimento das tépalas externas, tépalas internas e dos estames, que aparecem como protuberâncias arredondadas ao redor de um meristema central triangular. D, E Início da formação do gineceu, com o surgimento de três depressões ao redor da placenta central, as quais formarão o lóculo do ovário. F-H, Alongamento da parede do ovário ao redor da placenta central, note o alargamento e crescimento das tépalas externas. H, Início do desenvolvimento dos estigmas no ápice dos carpelos. I-L, Desenvolvimento dos carpelos, fechando o ovário e alongando os estigmas; note a diferenciação das anteras. it, tépala interna; ot, tépala externa; st, estame; o apóstrofo (’) indica posição abaxial. Barras: A-L, 50 µm.

Figura 5. Estágios sucessivos do desenvolvimento floral de *Luzula sylvatica*. A-C, Alongamento das tépalas internas e das anteras. D, Anteras com linha de deiscência bem evidentes (em posição latrorsa); note que as tépalas internas ultrapassam o androceu e gineceu. E, Alongamento dos estigmas. F, G, Início da torção dos estigmas; note o rápido crescimento das tépalas internas. H. Alongamento do estilete e contorção completa dos estigmas, que neste estágio (pré-antese) apresentam a face ventral papilosa. Barras: A, 50 µm; B-E, 100 µm; F-H, 200 µm.

Figura 6. Desenvolvimento floral em *Luzula luzuloides*. A, Ovário de desenvolvendo a partir de um primórdio triangular ao redor da placenta e iniciação dos estigmas. B-E, Desenvolvimento dos estigmas; note o alargamento e crescimento das tépalas internas. F, Tépalas internas com formato triangular, ultrapassando o androceu e o gineceu. G, Início da diferenciação das anteras. H. Alongamento do ovário e dos estigmas. I, J. Início da torção dos estigmas e alongamento do estilete e anteras; note também o rápido crescimento das tépalas internas. K. Flor em pré-antese, com anteras bem desenvolvidas, estilete alongado e estigmas completamente torcidos. it, tépala interna; ot, tépala externa; sg, estigma; st, estame; o apóstrofo (’) indica posição abaxial. Barras: A-H, 50 µm; I, 500 µm; J, K, 200 µm.

Figura 7. Representação esquemática da vascularização das flores de espécies de Juncaceae e de *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae). A, *Juncus microcephalus.* B, *Luzula campestres.* C, *Luzula multiflora.* D, *Luzula sylvatica.* E, *Thurnia sphaerocephala*. cb, feixe central; cp, plexo vascular central; dc, feixe carpelar dorsal; it, tépala interna; itt, traço da tépala interna; ot, tépala externa; ott, traço da tépala externa; st, estame; stt, traço do estame; vc, feixe carpelar ventral.

Figura 8. Seções anatômicas transversais seriadas da flor de *Juncus conglomeratus*, do pedicelo até a base do ginóforo. A, Pedicelo. B, Receptáculo, com um plexo vascular central. C, Divergência dos traços vasculares das tépalas externas (linha vermelha contínua). D, E, Divergência dos traços vasculares das tépalas internas (linha amarela contínua) e dos estames (linha vermelha tracejada). F, Individualização do ginóforo e divergência dos traços carpelares dorsais. gy, ginofóro; it, tépala interna; ot, tépala externa. Barras: A, B, 20 µm; C-F, 60 µm.

Figura 9. Seções anatômicas transversais seriadas do gineceu de *Juncus conglomeratus*, da base do ginóforo até os estigmas. A, Início da individualização das peças florais; note que cada tépala externa recebe três traços vasculares (linha vermelha contínua), cada tépala interna também recebe três traços vasculares (linha amarela contínua), e cada estame recebe um único traço vascular (linha vermelha tracejada). B, Peças florais individualizadas. C, Zona sinascidiada do ovário. D-F, Zona simplicada do ovário, com vários óvulos; os feixes carpelares dorsais irrigam a parede do ovário e os feixes carpelares ventrais irrigam os óvulos. G, Base do estilete. H, Estigmas. dc, feixe carpelar dorsal; it, tépala interna; ot, tépala externa; vc, feixe carpelar ventral. Barras: A, B, 60 µm; C-F, 40 µm; G, H, 20 µm.

Figura 10. Seções anatômicas transversais seriadas da flor de *Luzula campestris*, do pedicelo até o receptáculo. A, Pedicelo, com quatro feixes vasculares. B, Formação de um plexo vascular central no receptáculo. C, Início da divergência dos traços vasculares para as peças florais. D, Formação de três complexos tépala externa-estame (círculos vermelhos) alternos a três complexos tépala interna-estame (círculos amarelos). E, F, Saída dos traços vasculares para as tépalas externas (linha vermelha contínua) e estames externos (linha vermelha tracejada). itst complexo tépala interna-estame; otst, complexo tépala externa-estame. Barras: A, 20 µm; B-D, 30 µm; E, F, 60 µm.

Figura 11. Seções anatômicas transversais seriadas da flor de *Luzula campestris*, do ápice do receptáculo até os estigmas. A, Início da individualização das tépalas externas; note que cada tépala externa recebe três traços vasculares (linha vermelha contínua); e saída dos traços das tépalas internas (linha amarela contínua) e dos estames internos (linha amarela tracejada). B, Individualização do ginóforo. C, Detalhe do ginóforo, mostrando a divergência dos traços carpelares dorsais. D, Tépalas e estames individualizados e zona sinascidada do gineceu; note

a divisão dos feixes carpelares ventrais no centro do ovário, formando um anel vascular. E, Transição entre as zonas sinascidiada e simplicada do ovário; os feixes carpelares ventrais irrigam a placenta no centro do ovário e os feixes carpelares dorsais irrigam a parede do ovário. F. Zona simplicada do ovário, com três óvulos. G, Estilete. H, Estigmas. cb, feixes centrais; dc, feixe carpelar dorsal; it, tépala interna; ot, tépala externa; vc, feixe carpelar ventral. Barras: A, B, 60 µm; C-F, 40 µm; G, H, 20 µm.

Figura 12. Seções anatômicas transversais seriadas da flor de *Luzula multiflora*, do receptáculo até a altura do ginóforo. A, Formação de três complexos tépala externa-estame (círculos vermelhos) alternos a três complexos tépala interna-estame (círculos amarelos) no receptáculo. B, C, Divergência dos traços vasculares para as tépalas externas (linha vermelha contínua), estames externos (linha vermelha tracejada), tépalas internas (linha amarela contínua) e estames internos (linha amarela tracejada). D, Peças florais individualizadas; note que cada tépala externa recebe três feixes vasculares, enquanto cada tépala interna e cada estame recebe apenas um feixe vascular. gy, ginofóro; it, tépala interna; ot, tépala externa. Barras: A-D, 60 µm.

Figura 13. Seções anatômicas transversais seriadas da flor de *Luzula sylvatica*, do receptáculo até a base do gineceu. A, Formação de três complexos tépala externa-estame (círculos vermelhos) alternos a três complexos tépala interna-estame (círculos amarelos) no receptáculo. B, C, Divergência dos traços vasculares para as tépalas externas (linha vermelha contínua), estames externos (linha vermelha tracejada), tépalas internas (linha amarela contínua) e estames internos (linha amarela tracejada); note que cada tépala e cada estame recebe apenas um feixe vascular. D, Peças florais individualizadas; note que os feixes carpelares ventrais irrigam os óvulos e a parede do ovário. dc, feixe carpelar dorsal; gy,

ginofóro; it, tépala interna; itst, complexo tépala interna-estame; ot, tépala externa; otst, complexo tépala externa-estame; vc, feixe carpelar ventral. Barras: A-C, 60 µm; D, 40 µm.

Figura 14. Seções anatômicas transversais seriadas da flor de *Thurnia sphaerocephala*, do receptáculo até a altura mediana do ovário. A, Divergência dos traços das tépalas externas (linha vermelha contínua), a partir do plexo vascular central. B, Divergência dos traços das tépalas internas (linha amarela contínua). C, Divergência dos traços dos estames externos (linha vermelha tracejada) e dos estames internos (linha amarela tracejada). D, E, Individualização das tépalas e divergência dos traços carpelares dorsais. F, Saída dos feixes carpelares dorsais. F, Individualização dos estames e do gineceu. G, Zona sinascidiada do ovário, com três óvulos; os feixes carpelares ventrais irrigam os óvulos e os feixes carpelares dorsais irrigam a parede do ovário. H, Zona simplicada do ovário. dc, feixe carpelar dorsal; it, tépala interna; ot, tépala externa; ov, óvulo; st, estame; vc, feixe carpelar ventral. Barras: A-F, 60 µm; G, H, 40 µm.

Figura 1.

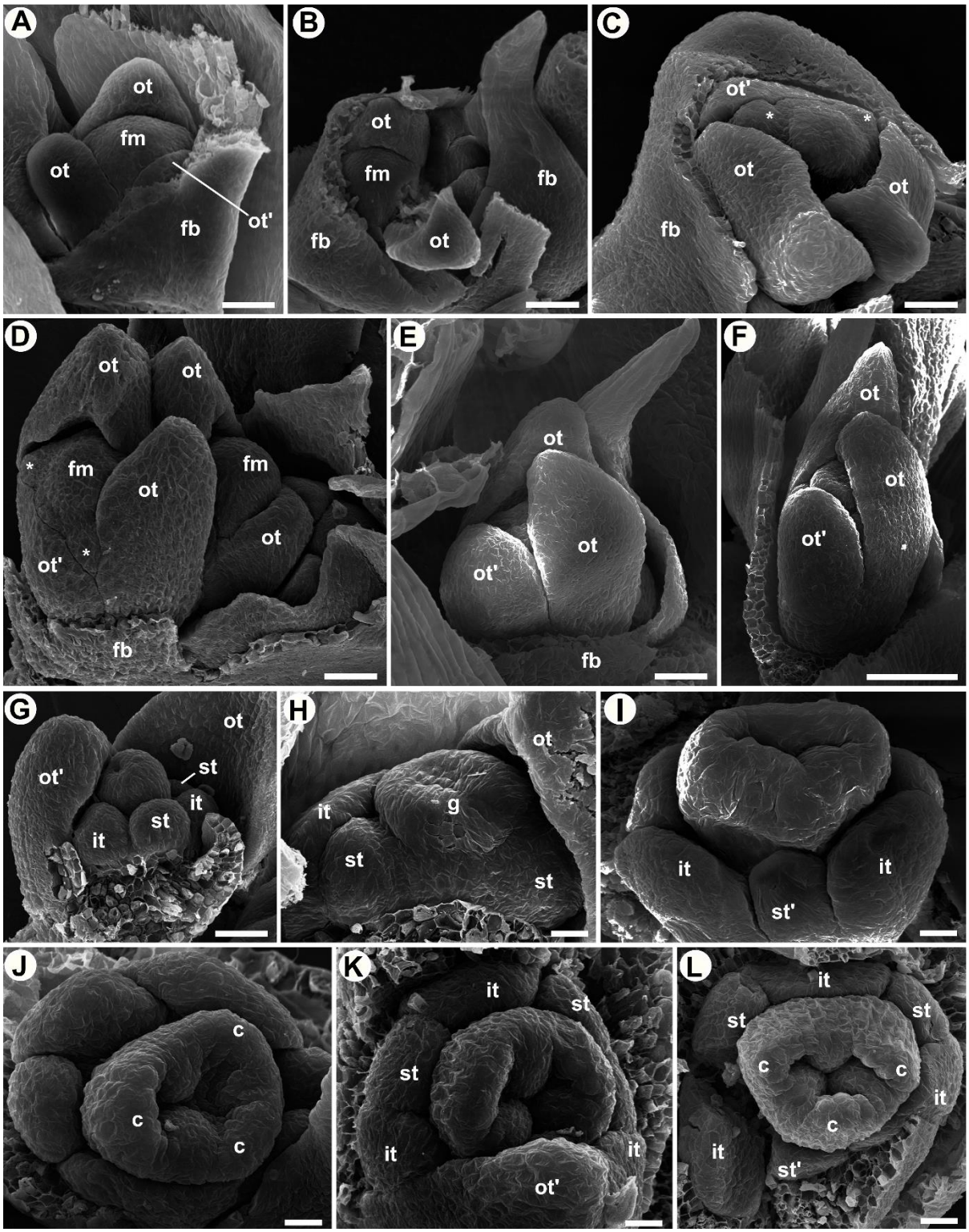

A
ot
fm
ot
fb
ot'
B
ot
fm
fb
fb
ot
C
ot'
*
*
ot
ot
fb
D
ot
ot
*
fm
fm
ot
ot
ot'
*
fb
E
ot
ot
ot'
fb
F
ot
ot
ot'
G
ot
ot'
st
it
st
it
H
ot
it
g
st
st
I
it
it
st'
J
c
c
c
K
it
st
st
it
it
ot'
L
it
st
st
c
c
it
c
it
st'

Figura 2.

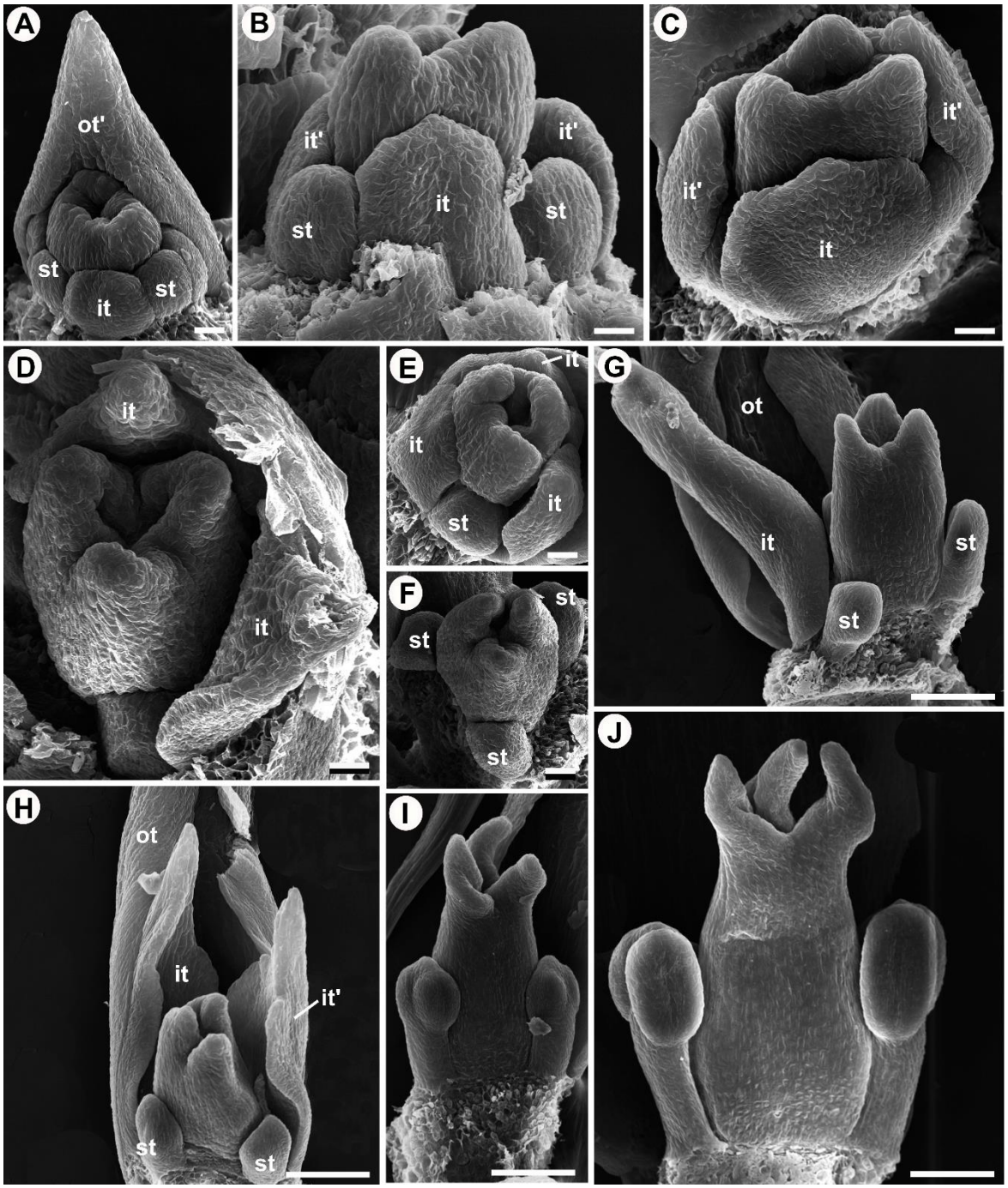

A
ot'
st
st
it
B
it'
it'
it
st
st
C
it'
it'
it
D
it
it
E
it
it
it
st
F
st
st
st
G
ot
it
st
st
H
ot
it
it'
st
st
I
J

Figura 3.

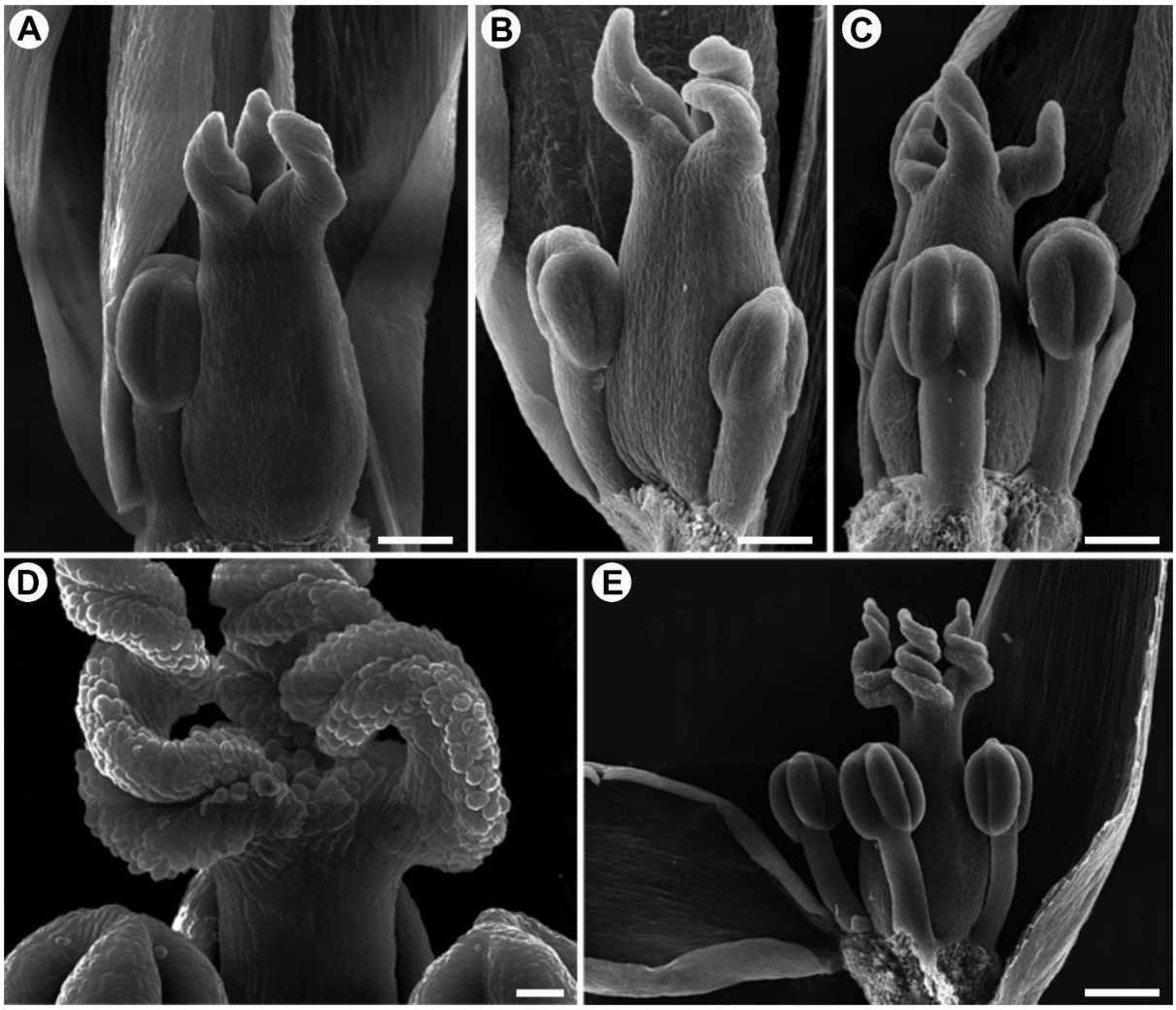


Figura 4.

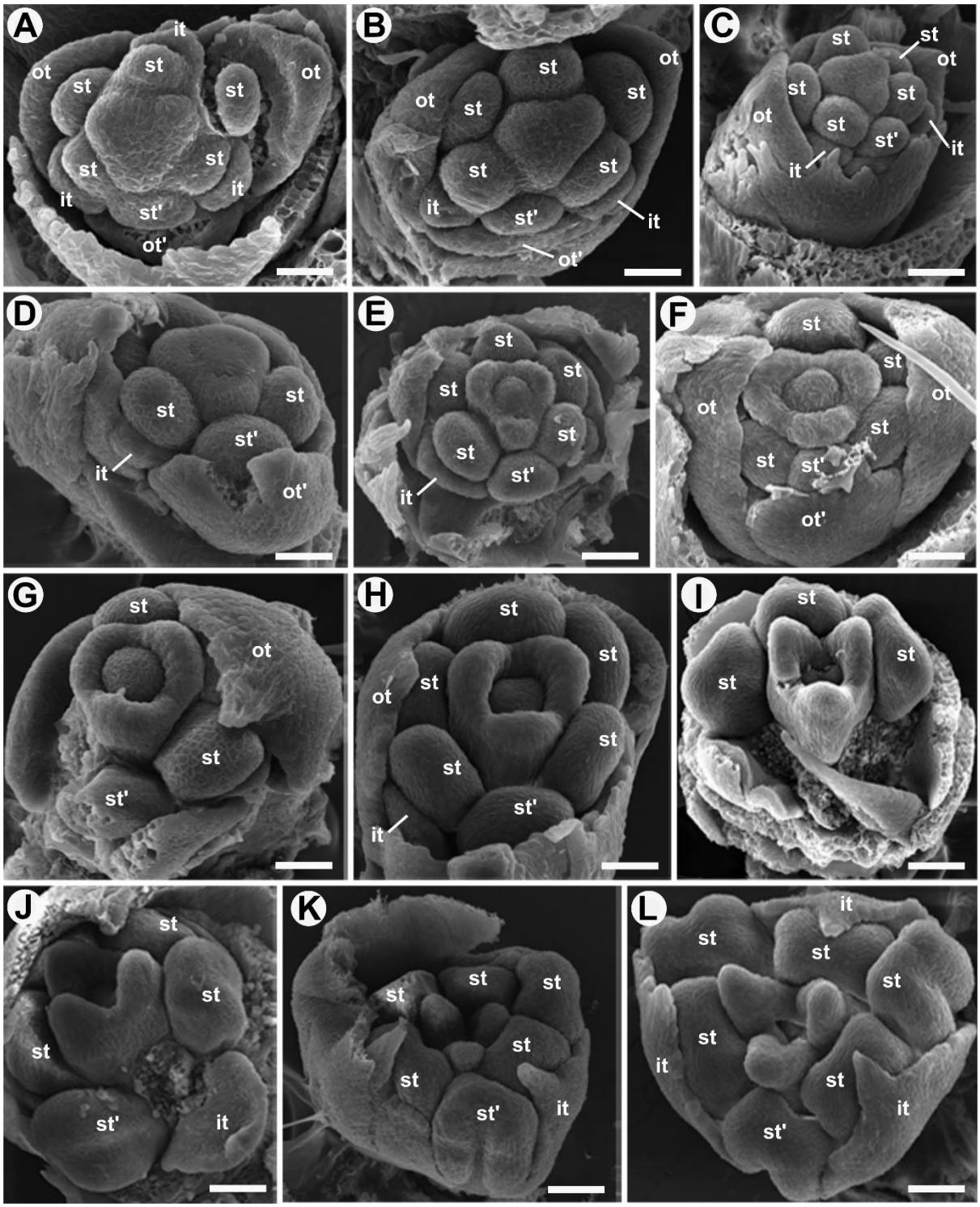

A
it
ot
st
st
st
ot
st
st
st
it
it
st'
ot'
B
st
ot
ot
st
st
st
st
it
st'
it
ot'
C
st
st
ot
st
st
ot
st
st'
it
it
D
st
st
st
st'
it
ot'
E
st
st
st
st
st
st
st'
it
F
st
st
ot
ot
st
st
st'
ot'
G
st
ot
st
st'
H
st
st
ot
st
st
st
st
st'
it
I
st
st
st
J
st
st
st
st
st'
it
K
st
st
st
st
st
st'
it
L
it
st
st
st
st
st
it
st
st
it
st'

Figura 5.

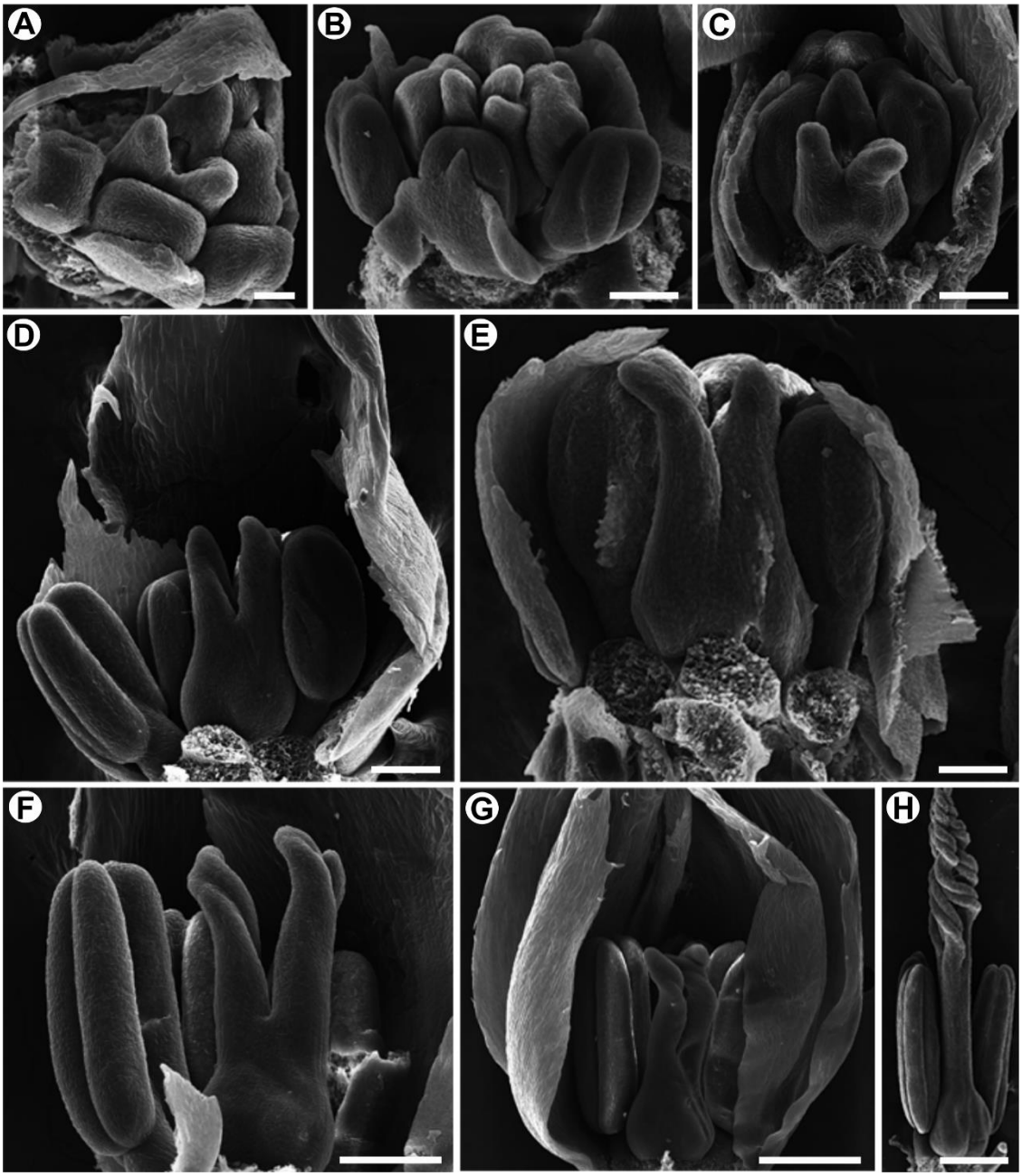


Figura 6.

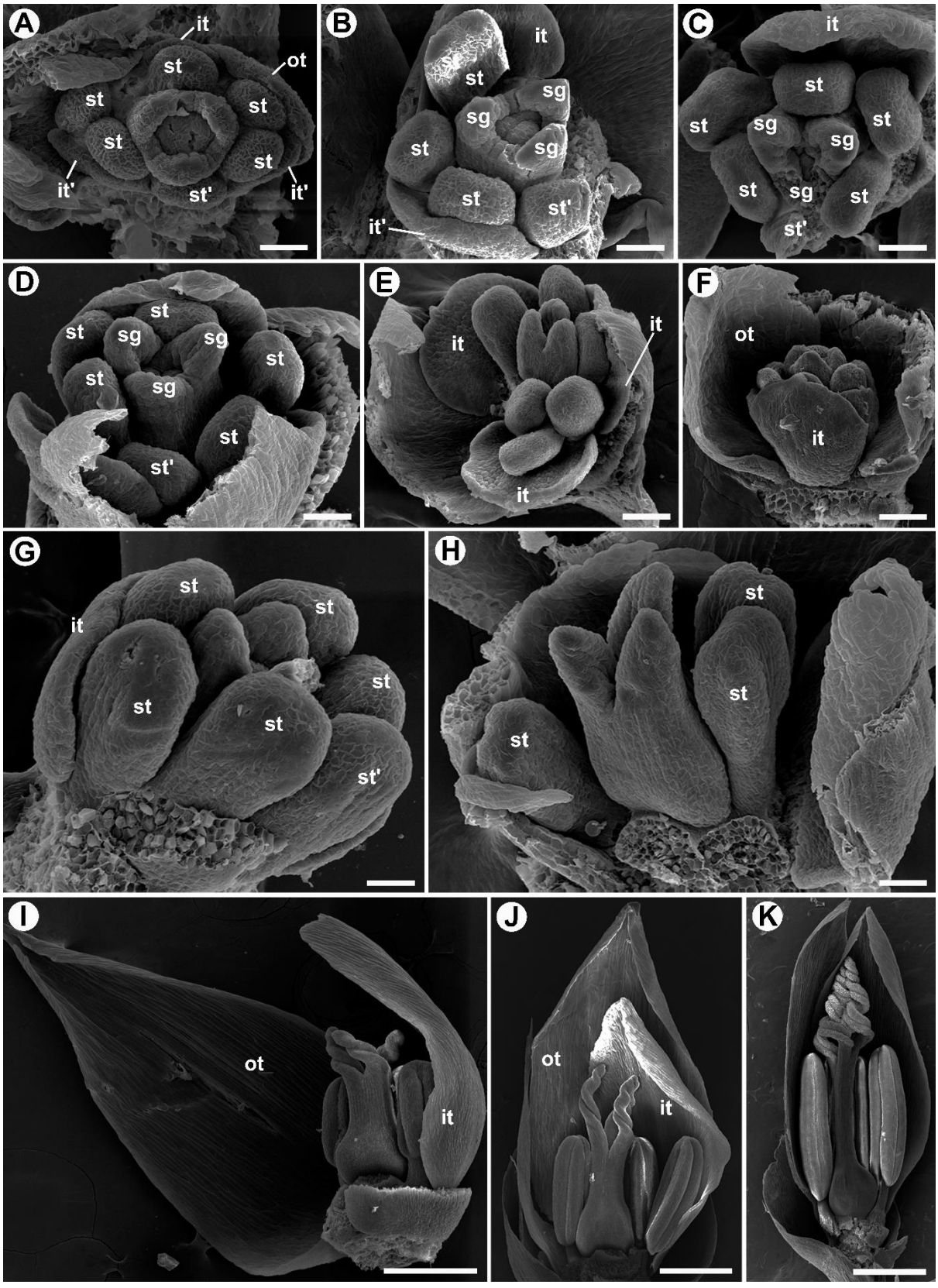

A
it
ot
st
st
st
st
st
st
it'
st'
it'
B
it
st
st
sg
sg
sg
st
st
st'
it'
C
it
st
st
sg
st
sg
st
st
sg
st
st'
D
st
st
sg
sg
st
st
sg
st
st'
E
it
it
it
F
ot
it
G
st
st
it
st
st
st
st
st'
H
st
st
st
I
ot
it
J
ot
it
K

Figura 7.

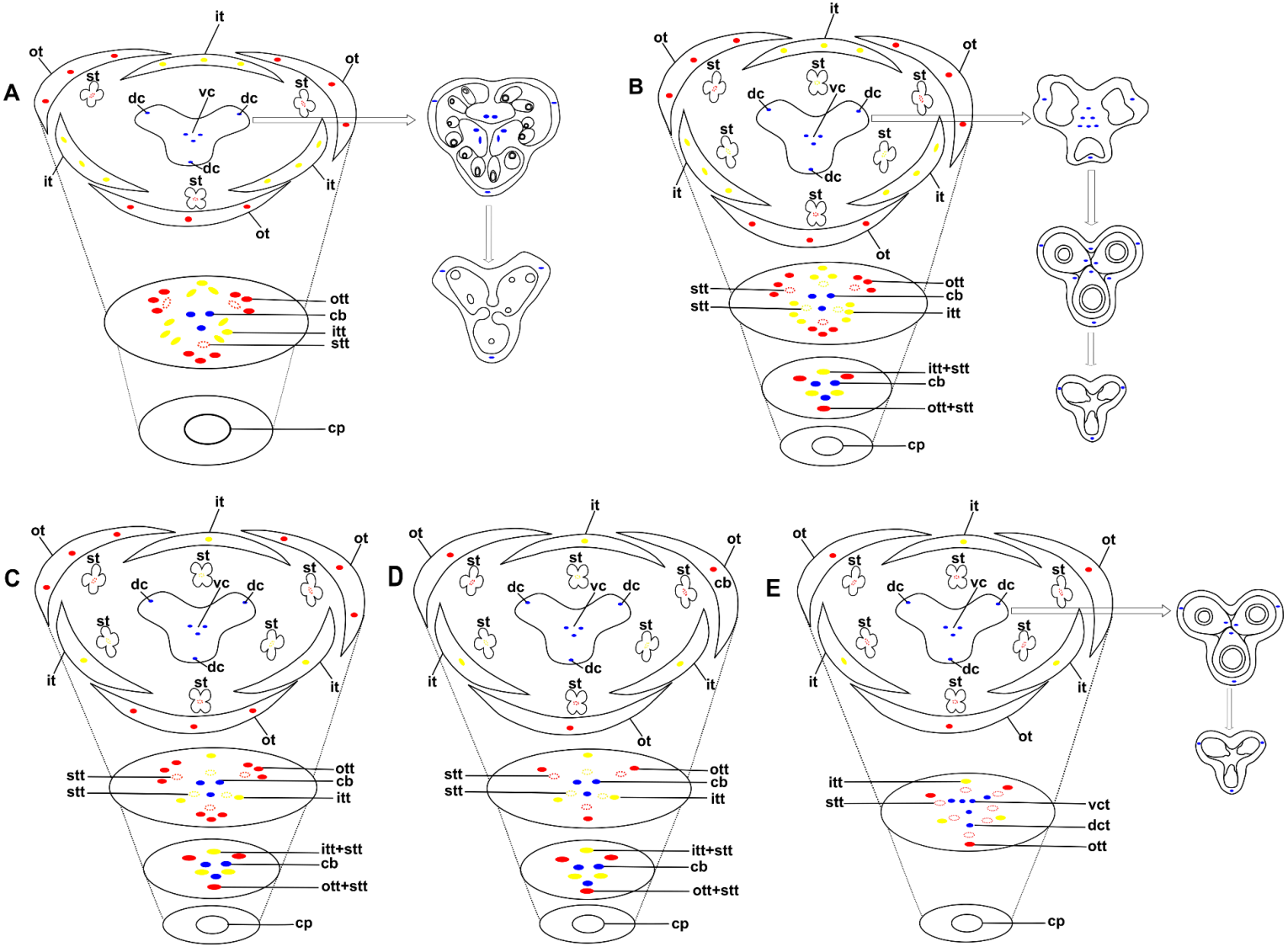


Figura 8.

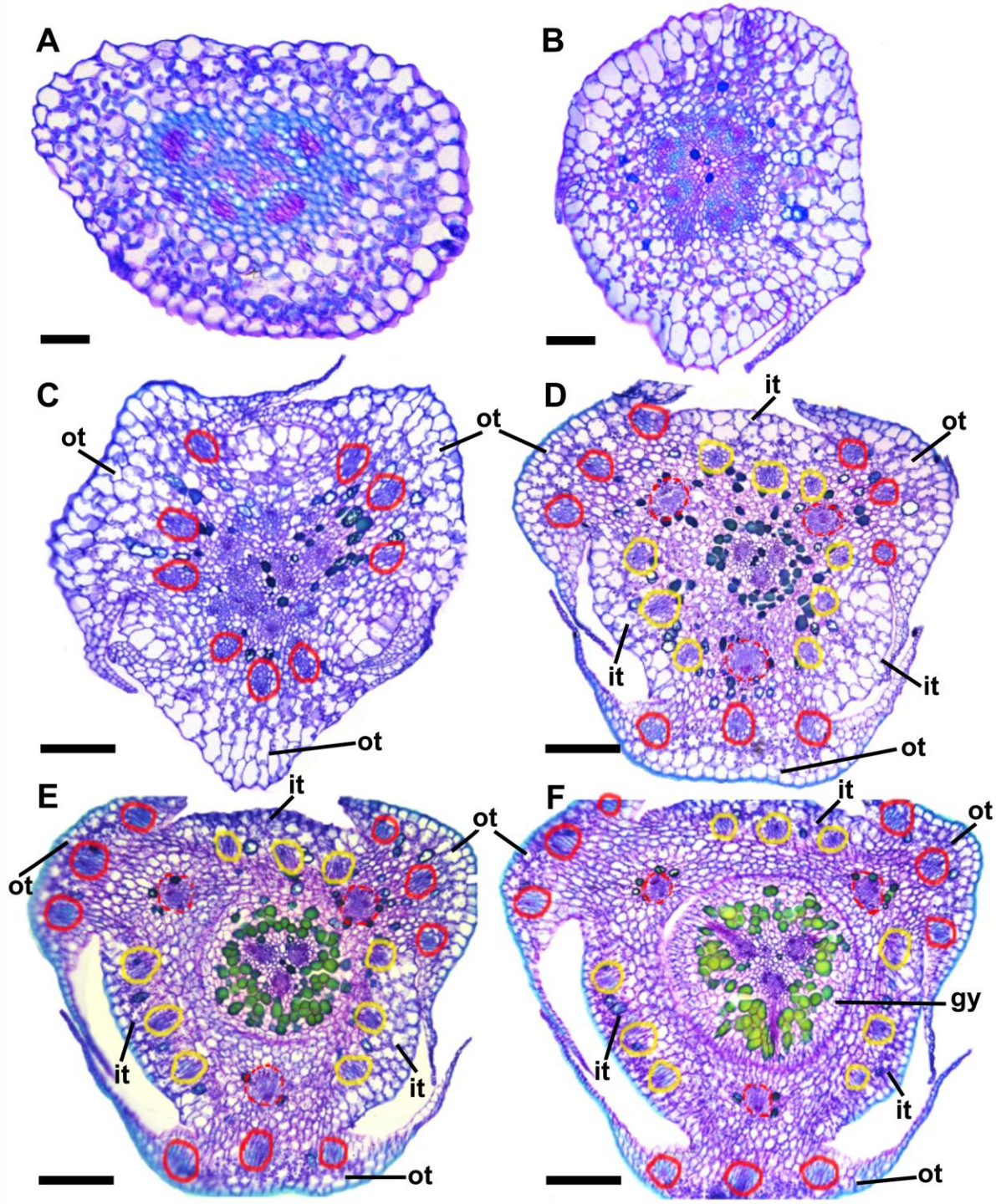


Figura 9.

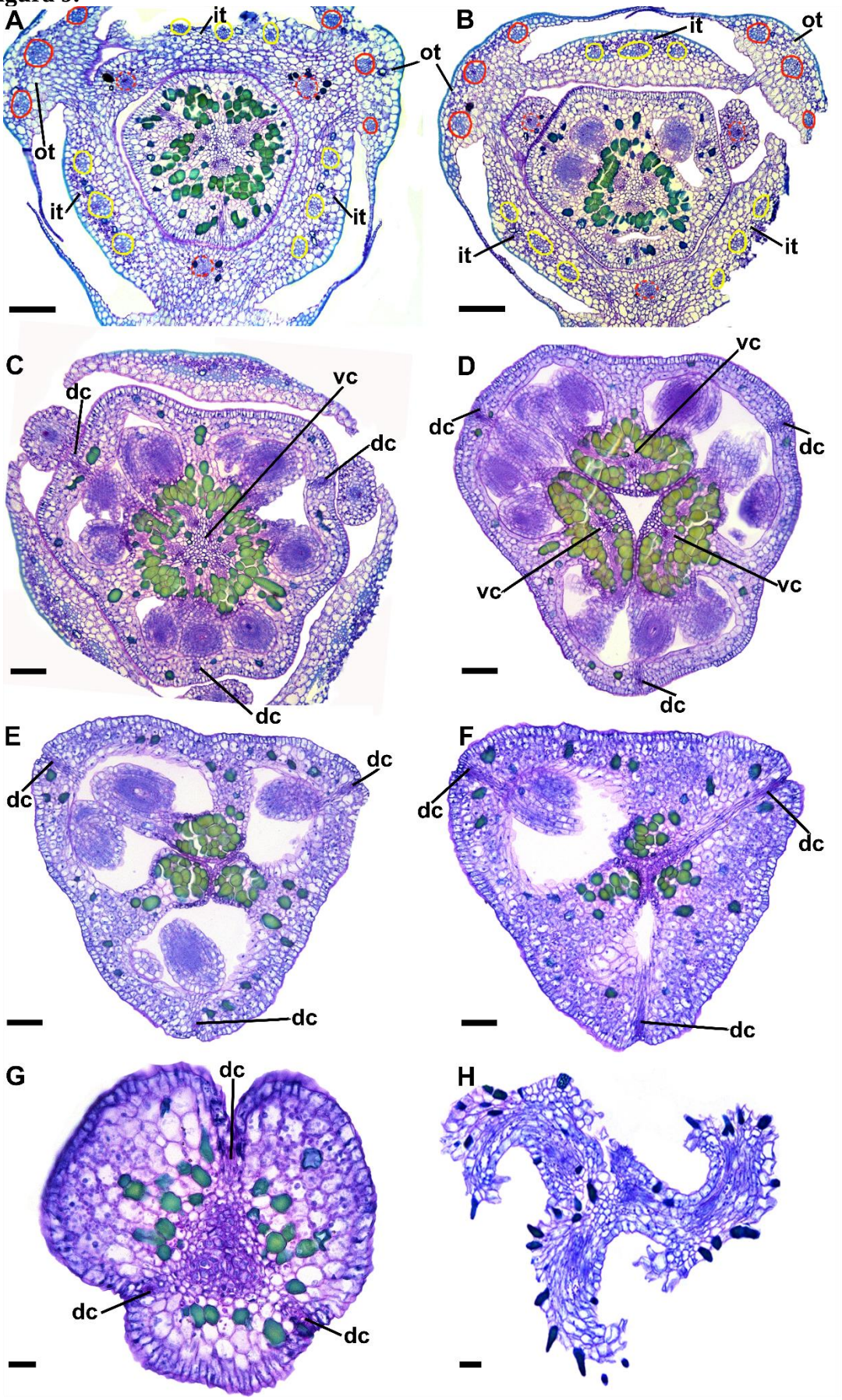

A
it
ot
ot
it
it
B
it
ot
ot
it
it
C
dc
vc
dc
dc
D
vc
dc
dc
vc
vc
dc
E
dc
dc
dc
F
dc
dc
dc
G
dc
dc
dc
H

Figura 10.

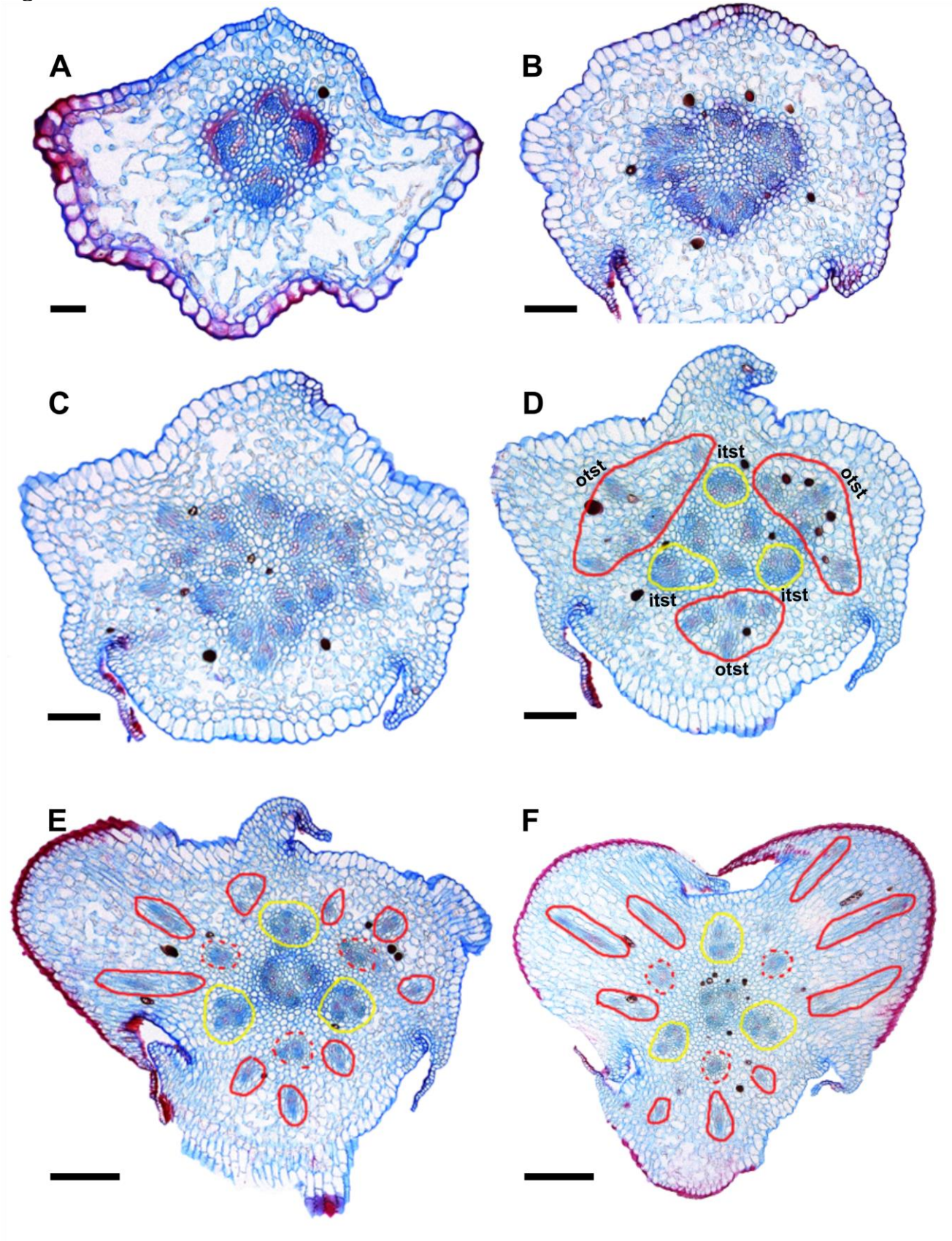


Figura 11.

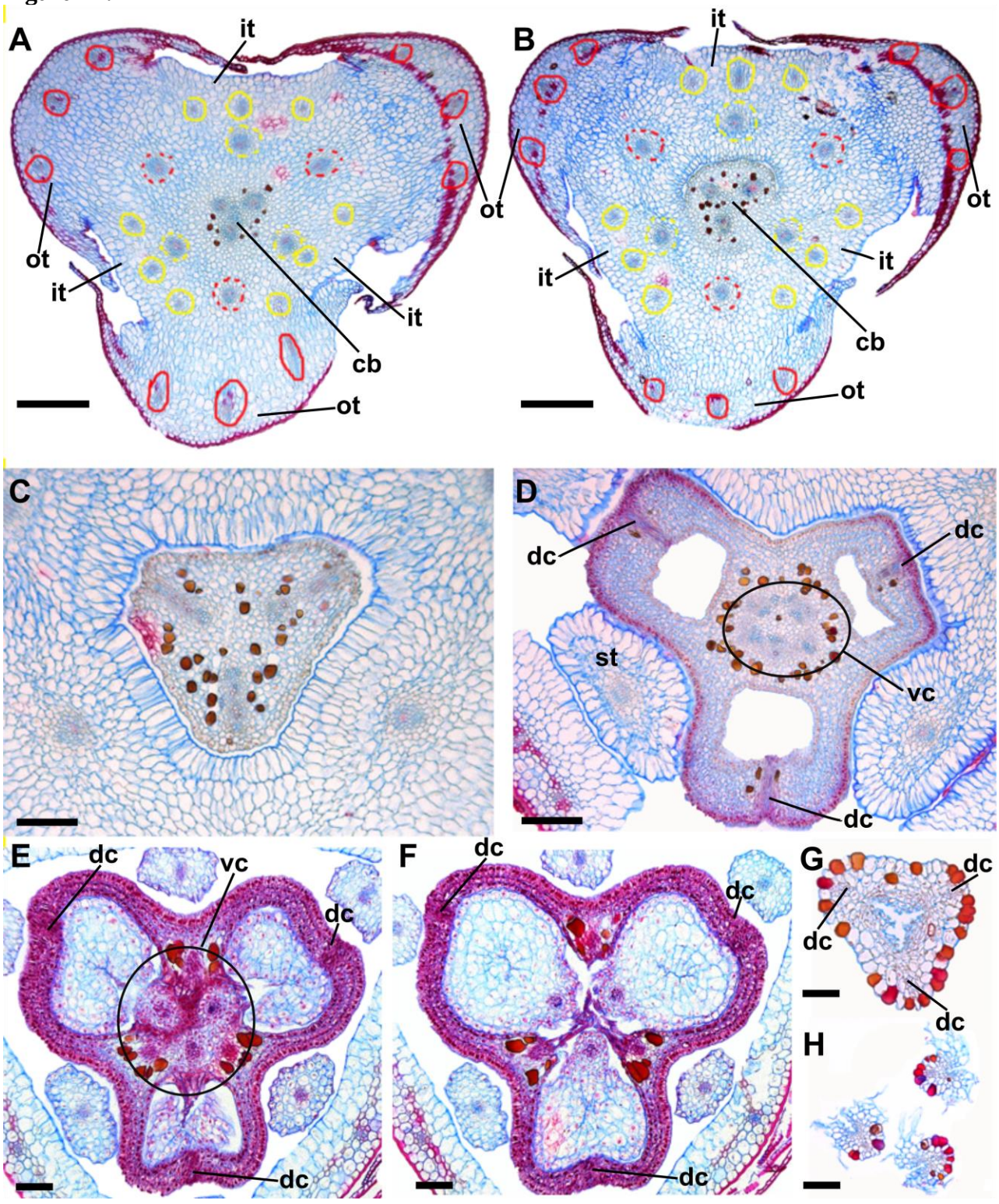

A
it
ot
ot
it
it
cb
ot
B
it
ot
it
it
cb
ot
C
D
dc
dc
st
vc
dc
E
dc
vc
dc
dc
F
dc
dc
dc
G
dc
dc
dc
H

Figura 12.

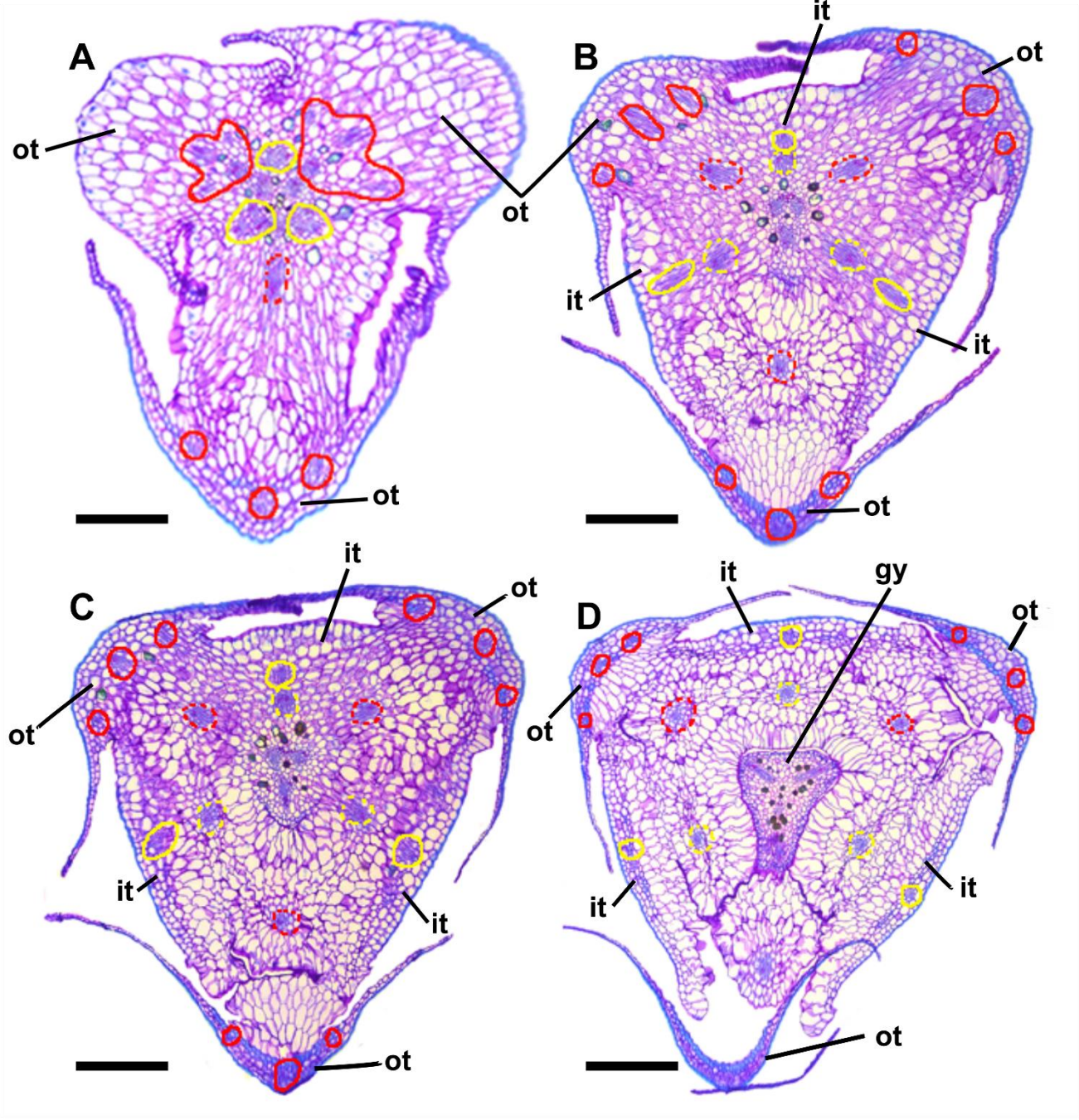


Figura 13.

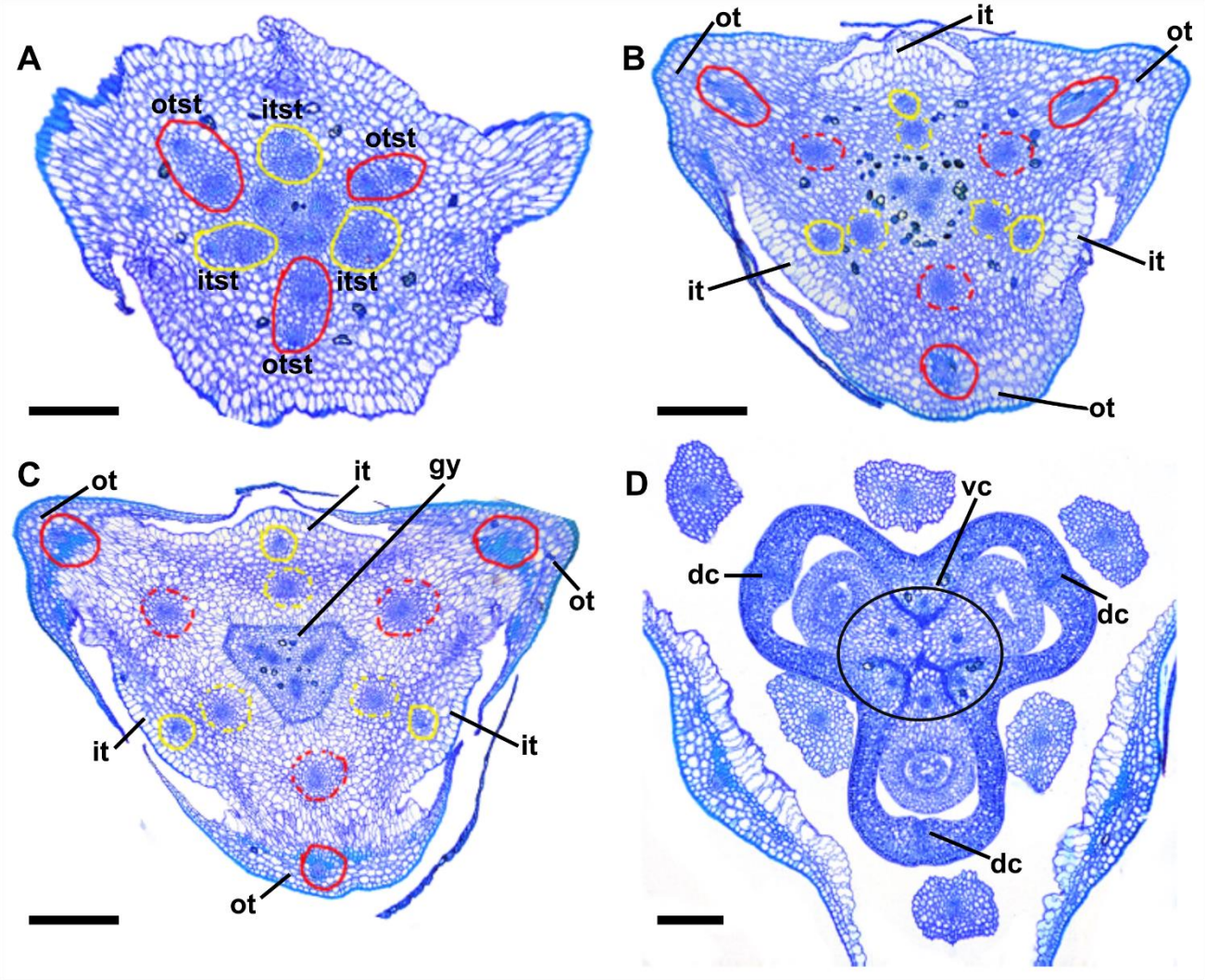

A
otst
itst
otst
itst
itst
otst
B
ot
it
ot
it
it
ot
C
ot
it
gy
ot
it
it
ot
D
vc
dc
dc
dc

Figura 14.

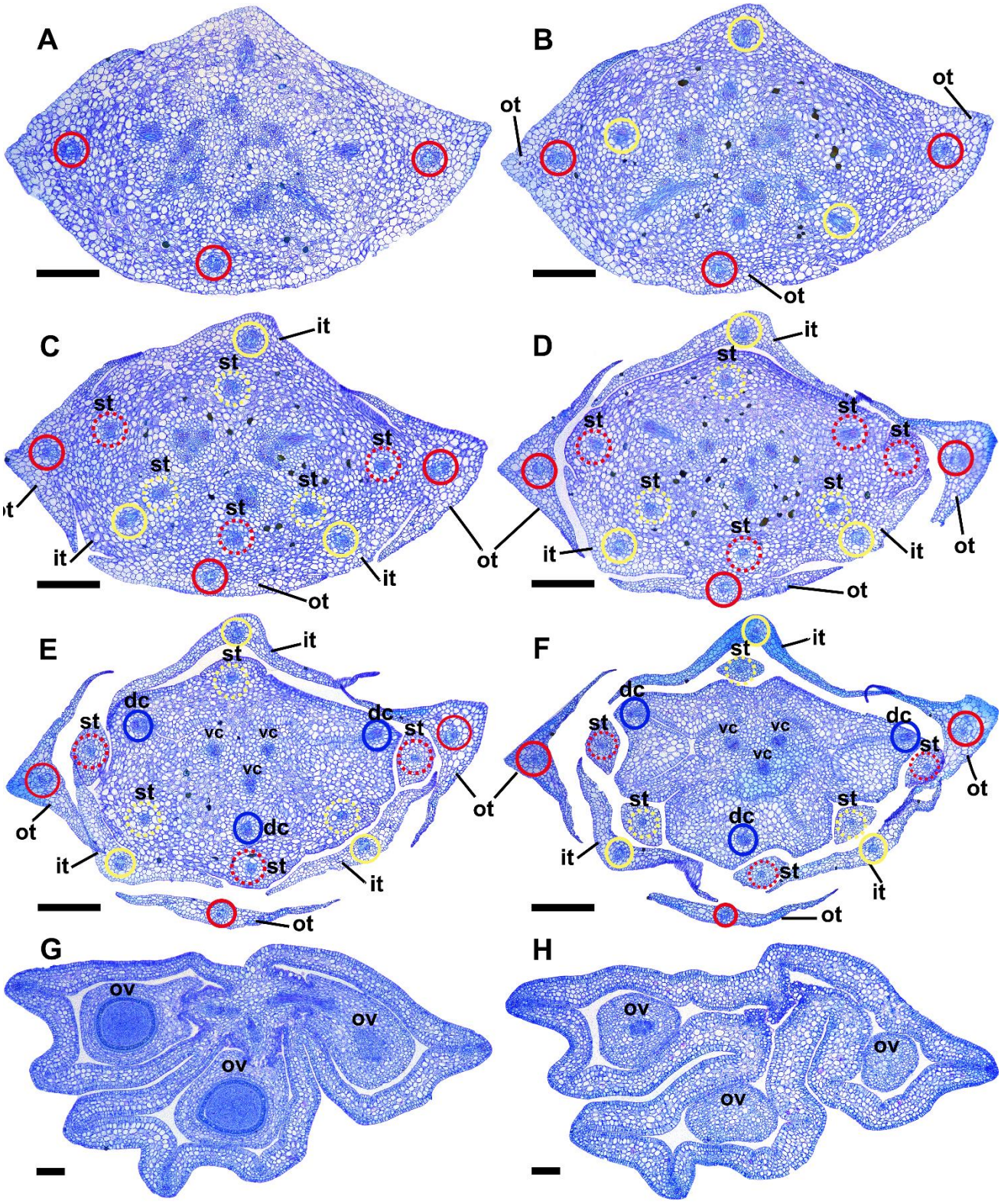

A
B
ot
ot
ot
C
it
st
st
st
st
st
st
it
it
ot
ot
D
it
st
st
st
st
st
st
it
it
ot
ot
E
it
st
dc
st
vc
vc
vc
dc
dc
st
st
ot
ot
dc
it
st
it
ot
F
it
st
dc
st
vc
vc
vc
dc
st
ot
st
st
dc
it
st
it
ot
G
ov
ov
ov
H
ov
ov
ov

Tabela 1. Espécies estudadas e dados de coleta

Espécies	Localização	Áreas de coleta	Vouchers
Juncus bulbosus L.	Bochum, Alemanha	Jardim Botânico	HRCB 52924
J. conglomeratus L.	Bochum, Alemanha	Floresta temperada	HRCB 52925
J. effusus L.	Bochum, Alemanha	Floresta temperada	HRCB 52923
J. micranthus Schrad. ex E. Mey	Itirapina, SP, Brasil	Campos úmidos	HRCB 49689
J. microcephalus Humb.	Itirapina, SP, Brasil	Campos úmidos	HRCB 49691
J tenuis Willd.	Bochum, Alemanha	Floresta temperada	HRCB 52926
Luzula campestris (L.) DC.	Vosges, França	Campos de altitude	HRCB 52920
L. luzuloides (Lam.) Dandy & E. Wilm.	Bochum, Alemanha	Floresta temperada	HRCB 52922
L. multiflora (Ehrh.) Lej.	Bochum, Alemanha	Floresta temperada	HRCB 52916
L. pilosa (L.) Willd.	Bochum, Alemanha	Floresta temperada	HRCB 52917
L. sylvatica (Huds.) Gaudin	Alsace, França	Floresta temperada	HRCB 52919
Thurnia sphaerocephala (Rudge) Hook.f.	Manaus, AM, Brasil	Floresta Amazônica	HRCB 77290

Tabela 2. Comparação do número de traços florais que as tépalas recebem em espécies de *Juncus* e *Luzula* (Juncaceae) e em *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae)

Espécies	Tépalas externas	Tépalas internas
Juncus bulbosus	3	3
J. conglomeratus	3	3
J. effusus	3	3
J. micranthus	3	3
J. microcephalus	3	3
J. tenuis	3	3
Luzula campestris	3	3
L. luzuloides	1	1
L. multiflora	3	1
L. pilosa	3	3
L. sylvatica	1	1
Thurnia sphaerocephala	1	1

CAPÍTULO 2

Organogênese floral de *Thurnia sphaerocephala* (Thurniaceae, Poales): contribuições para o entendimento do desenvolvimento floral no clado cyperídeo

Lucimara Reis de Oliveira Silva[1], Aline Oriani[1,2]

[1]Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Departamento de Biodiversidade, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (UNESP), Rio Claro 13506- 900, São Paulo, Brasil

[1,2]Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba 13418-900, São Paulo, Brasil

✉ Aline Oriani
alineoriani@yahoo.com.br

Manuscrito a ser submetido ao periódico *Journal of Plant Research*

Resumo

Thurniaceae compreende apenas quatro espécies e, juntamente com Juncaceae e Cyperaceae, compõe o clado cyperídeo (Poales). Este estudo teve como objetivo estudar o desenvolvimento floral de *Thurnia sphaerocephala*, comparando-o ao de outras espécies de cyperídeas, visando entender a evolução floral no clado, além de compreender quais processos ontogenéticos estão envolvidos com a formação de flores dímeras. Para tanto, flores em diferentes fases de desenvolvimento foram processadas seguindo-se técnicas usuais de microscopia eletrônica de varredura. Como resultados, observamos que a sequência de iniciação das peças florais é centrípeta. As tépalas têm desenvolvimento tardio, logo a função de proteção das peças florais mais internas no início do desenvolvimento é exercida pela bráctea floral. Flores trímeras e dímeras ocorrem na mesma inflorescência, sendo as flores dímeras resultado da perda das tépalas internas e dos estames internos latero-abaxiais e do carpelo abaxial. Nas flores dímeras, os estames internos latero-abaxiais podem estar ausentes, ou sofrerem aborto ao longo do desenvolvimento, formando estaminódios. O gineceu inicia-se como um primórdio triangular (nas flores trímeras) ou elíptico (nas flores dímeras), onde surgem três depressões que formarão os lóculos do ovário. O padrão de desenvolvimento do gineceu de *Thurnia sphaerocephala* difere do de Juncaceae e Cyperaceae, no entanto, o gineceu apresenta uma zona sinascidiada curta, com três óvulos e placentação axilar-basal, mais similar ao que ocorre nas espécies de *Luzula* (Juncaceae). Comparando as famílias de cyperídeas, a tendência evolutiva do clado foi a redução do crescimento do eixo floral e dos septos do ovário, reduzindo a zona sinascidiada do gineceu, que culminou no gineceu completamente unilocular e com placentação basal das Cyperaceae. A placentação axilar-basal é provavelmente a condição ancestral no clado, tendo evoluído para placentação parietal e basal.

Palavras chaves: Cyperídeas · dimeria · evolução floral · gineceu · perianto · Thuniaceae

Introdução

Thurniaceae é uma das famílias que pertence à ordem Poales e, juntamente com Juncaceae e Cyperaceae, compõe o clado cyperídeo (Bouchenak-Khelladi et al. 2014; Givnish et al. 2010, 2018; Linder and Rudall 2005). Nas análises filogenéticas de Poales baseadas em dados moleculares Thurniaceae emerge como grupo-irmão de Juncaceae e Cyperaceae (Bouchenak-Khelladi et al. 2014; Bremer 2002; Chase et al. 2006; Givnish et al. 2010, 2018; Linder and Rudall 2005). A família é pequena, compreendendo apenas dois gêneros e quatro espécies: *Prionium serratum*, restrita à África de Sul (Jones *et al.*, 2007); *Thurnia macrocephala* Schnee, *Thurnia sphaerocephala* (Rudge) Hook.f. e *Thurnia jenmanii* Hook.f, restritas à região norte da América do Sul, ocorrendo na Colômbia, Guiana Francesa, Guiana, Suriname, Venezuela e Brasil (Cutler 1965; Kubitzki 1998; Jones et al. 2007). Tais espécies são herbáceas e ocorrem em solos arenosos e pobres em nutrientes, geralmente em margens de rios ou lagos (Kubitzki 1998; Jones et al. 2007; Munro and Linder 1997;).

As espécies de Thurniaceae são perenes, com hábito rizomatoso robusto, com folhas grandes dispostas em rosetas e inflorescências racemosas, globosas, muito ramificadas. As flores são pequenas (ca. 0,5 mm), actinomorfas, trímeras, homoclamídeas, com tépalas livres, monoclinas e possuem dois verticilos de estames férteis com filetes alongados. O gineceu é tricarpelar, trilocular, com um óvulo por lóculo. O ovário é súpero, com estilete alongado e três estigmas (Kubitzki 1998).

Estudos sobre anatomia floral com espécies de Thurniaceae são escassos. A anatomia floral de *Prionium serratum* e *Thurnia sphaerocephala* foi analisada comparativamente por Silva et al. (2020), que demonstraram que essas espécies se diferenciam entre si por características do gineceu, como o comprimento das zonas sinacidiada e simplicada e presença ou não de intrusões na parede do ovário. Silva et al. (2020) também relatam a ocorrência de flores dímeras em *Thurnia sphaerocephala*, com número inconsistente de

estames, variando de quatro a seis. A vascularização floral de *Thurnia sphaerocephala* foi descrita no Capítulo 1, que mostraram que as tépalas são vascularizadas por apenas um feixe vascular, condição provavelmente plesiomórfica para o clado cyperídeo. Estudos sobre o desenvolvimento floral de espécies de Thurniaceae ainda são inexistentes e muito contribuirão para o entendimento da evolução floral no clado cyperídeo.

Para Juncaceae, Oriani et al. (2012) descrevem a anatomia floral de espécies de *Juncus* e *Luzula*, mostrando que existe uniformidade anatômica na família. Silva et al. (Capítulo 1) estudaram o desenvolvimento floral de espécies de *Juncus* e *Luzula*, os dois gêneros mais representativos de Juncaceae, mostrando diferenças no desenvolvimento do perianto, tal como o desenvolvimento tardio das tépalas em *Luzula*, bem como diferenças no desenvolvimento do gineceu. Enquanto em *Juncus* o gineceu se inicia como um primórdio anelar, com septos evidentes, em *Luzula* o gineceu surge como um primórdio triangular ao redor de uma placenta central (Silva et al. Capítulo 1).

Já para Cyperaceae, a maior família do clado, há um maior número de estudos sobre anatomia e desenvolvimento floral, tal como os de Blaser (1941a,b), que estudou a vascularização floral em várias espécies de diferentes gêneros, relatando a redução no número e na estrutura das peças do perianto, com posterior perda da vascularização. Estudos sobre o desenvolvimento floral com espécies de Cyperaceae foram realizados tanto com espécies da subfamília Cyperoideae (p.ex. Vrijdaghs et al. 2004, 2005a,b, 2009), como com espécies da subfamília Mapanioideae (p.ex. Monteiro et al. 2016, 2020; Prychid and Bruhl 2013; Richards et al. 2006; Vrijdaghs et al. 2006), com o objetivo de entender a natureza das estruturas florais e o padrão de desenvolvimento floral. Esses estudos relatam o desenvolvimento tardio do perianto em espécies de Cyperoideae, o qual se inicia apenas após o desenvolvimento dos estames e gineceu, além de esclarecerem questões sobre homologias. Reynders et al. (2012) estudaram a anatomia e o desenvolvimento do gineceu de espécies de

Cyperaceae, comparando espécies com gineceu trímero e dímero. Segundo os autores, o gineceu das flores de Cyperoideae se desenvolve a partir de um primórdio anelar em torno de uma zona meristemática central; esse primórdio anelar, resultado da fusão completa e congênita dos carpelos, teria possibilitado mudanças no número e na posição dos estigmas ao longo da evolução da família, resultando nos diferentes tipos de gineceu encontrados nas Cyperoideae, tais como: gineceu trímero, gineceu dímero achatado dorsiventralmente e gineceu dímero achatado lateralmente.

Dentre as famílias do clado cyperídeo, Thurniaceae e Juncaceae apresentam maior semelhança em relação à morfologia floral (Balslev 1998; Kubitzki 1998; Silva et al. Capítulo 1). As espécies de Cyperaceae apresentam maior diversidade floral (Goetghebeur 1998), incluindo espécies com flores monoclinas ou diclinas, com número variado de tépalas e estames, e gineceu trímero ou dímero (Reynders et al. 2012; Vrijdaghs et al. 2009, 2010). Acredita-se que ao longo da evolução da família ocorreram reduções, com a supressão de peças e verticilos, como a perda do verticilo interno de estames, e mudanças no gineceu de trímero para dímero, pela perda ou fusão dos carpelos (Blaser 1941a,b; Reynders et al. 2012; Vrijdaghs et al. 2005a, b, 2009). Ressalta-se que estudos ontogenéticos são importantes para responder perguntas relacionadas a mudanças evolutivas, além de apoiar ou descartar hipóteses geradas a partir de análises morfológicas, anatômicas e filogenéticas.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo estudar o desenvolvimento foral de *Thurnia sphaerocephala*, visando identificar tendências evolutivas para o clado cyperídeo. Buscamos responder as seguintes questões: (1) Em *Thurnia sphaerocephala* o desenvolvimento do perianto é atrasado em relação ao androceu e gineceu? (2) O desenvolvimento do gineceu em Thurniaceae é mais semelhante ao observado em Juncaceae ou em Cyperaceae? (3) Qual a via ontogenética que promove a formação de flores dímeras em *Thurnia sphaerocephala*?

Material e métodos

Inflorescências de *Thurnia sphaerocephala* (Rudge) Hook.f. foram coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke (Manaus, Amazonas, Brazil) em florestas de várzea e igapó. Os vouchers foram identificados e depositados no *Herbarium Rioclarense* (HRCB) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (Silva 511).

Inflorescências em diferentes fases de desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 (37% formaldeído, ácido acético glacial, 50% etanol, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940) e estocadas em etanol 70% para posterior estudo do desenvolvimento floral. Diferenças morfológicas foram analisadas e documentadas utilizando-se estereomicroscópio (Leica EZ4), com câmera digital acoplada (Canon Power Shot S80).

Para análise sob microscopia eletrônica de varredura, flores isoladas, dissecadas sob estereomicroscópio, foram desidratadas em série crescente de etanol (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), por cerca de 15 minutos em cada solução e, em seguida, submetidas à secagem ao ponto crítico em gás carbônico (Balzers CPD 050). As amostras foram então fixadas em stubs com fita adesiva, metalizadas com ouro por um sistema de pulverização catódica (Bal-Tec, SCD 050) e observadas ao microscópio (Jeol, JSM IT 300). As imagens foram obtidas utilizando-se o sistema de captura de imagens do microscópio. As análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica “Elliot Watanabe Kitajima”, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz ESALQ/USP.

Resultados

No eixo da inflorescência, os primórdios florais surgem nas axilas das brácteas florais, que apresentam filotaxia espiralada (Fig. 1A, B). As primeiras peças florais que se formam são as tépalas externas, sendo duas latero-adaxiais, triangulares, e uma abaxial, que surge posteriormente como uma protuberância achatada (Fig. 1A-H). Em seguida, observam-se os

primórdios das tépalas internas, em posição alterna às tépalas externas (Fig. 1I, J, asteriscos). Nota-se que após a formação das tépalas externas ocorre um alongamento do eixo floral, fazendo com que as peças do verticilo subsequente (tépalas internas) saiam em altura diferente (Fig. 1I, J). O primórdio da tépala interna adaxial é um pouco maior do que os primórdios das tépalas internas latero-abaxiais (Fig. 2A). Após o surgimento dos primórdios das tépalas internas, aparecem os primórdios dos três estames externos, opostos às tépalas externas, seguidos dos três estames internos, opostos às tépalas internas (Fig. 2B-F). O eixo floral continua se alongando, de forma que as peças dos diferentes verticilos não aparecem na mesma altura (Fig. 2C-F). As tépalas externas se desenvolvem, sendo que as latero-adaxiais assumem formato de cúpula (Fig. 2D-F).

Nas flores dímeras, formam-se as três tépalas externas, porém as duas tépalas laterais, que são cupuliformes, são deslocadas para baixo, em posição latero-abaxial (Fig. 3A-C). A tépala externa abaxial é menor e tem o mesmo formato que a tépala interna adaxial (Fig. 3A-F), assim como observado nas flores trímeras. Na grande maioria das flores dímeras, ocorre a supressão dos estames internos latero-abaxiais, opostos às tépalas internas, que também são suprimidas. Dessa forma, aparecem apenas quatro primórdios de estames: dois laterais e um abaxial (do verticilo externo) e o estame adaxial do verticilo interno (Fig. 3B, C, E, G, H). Porém, essa supressão não ocorre em todas as flores dímeras, podendo se formar cinco ou seis primórdios de estames (Fig. 3D, F, I), o que ocorre inclusive em flores dímeras de uma mesma inflorescência.

Após a iniciação dos estames, o meristema floral assume formato triangular nas flores trímeras (Fig. 2E) e formato elíptico nas flores dímeras (Figs. 2F, 3A-D). Neste estágio, as tépalas externas latero-adaxiais, que são cupuliformes, ainda não recobrem as peças florais mais internas e o meristema floral, que é protegido pela bráctea floral. O gineceu inicia-se com a formação de uma depressão em frente de cada carpelo, tornando evidente a formação

da zona sinascidiada do ovário (Figs. 3E-G, 4A-D). Após o início da formação do gineceu, as tépalas externas laterais se alongam, envolvendo completamente o botão floral (Figs. 3G, 4D). No ápice de cada carpelo surge uma protuberância que corresponde ao primórdio dos estigmas (Figs. 3H-L, 4E-F). Os carpelos então se alongam, fechando o ovário e formando os estigmas, livres entre si (Fig. 5A-F). Neste estágio os estames ainda estão indiferenciados e as tépalas internas apresentam-se mais alargadas (Fig. 5A-F). As tépalas externas laterais crescem, envolvendo completamente o androceu e o gineceu (Fig. 6A), seguido do crescimento das tépalas internas, que assumem formato de cúpula, envolvendo as peças florais mais internas (Figs. 6B-D, 7A).

Após o desenvolvimento das tépalas, os estigmas se alongam e se tornam conduplicados (Fig. 7A-C). As anteras começam então a se diferenciar (Fig. 7B, C) e também se alongam (Fig. 7D, E). Por fim, ocorre o alongamento dos filetes e do estilete, por crescimento intercalar (Fig. 7F).

A figura 8A mostra um detalhe do estame já desenvolvido, com antera com linha de deiscência longitudinal. Nos botões florais em pré-antese, nas flores dímeras, observamos que o número de estames variava de quatro (Fig. 8B) a seis (Fig. 8C-F). Algumas flores dímeras com quatro estames apresentavam vestígios de estames abortados (Fig. 8B, seta). As flores com cinco ou seis estames geralmente apresentavam um dos estames mal-formado, com filete curto ou ausente (Fig. 8C, seta), ou, mais comumente, com antera abortada, aparecendo como um estaminódio filiforme (Fig. 8D, E, seta). Observamos que em uma mesma inflorescência, a redução dos estames ocorre em flores mais centrais e os estames mal-formados ocorrem geralmente do mesmo lado em todas as flores.

Discussão

Nas inflorescências de *Thurnia sphaerocephala*, a sequência de iniciação dos primórdios das peças florais é centrípeta. Como em Juncaceae (Capítulo 1), em Thurniaceae os primórdios das tépalas aparecem antes dos primórdios dos estames e do gineceu. Apesar de iniciarem antes, observamos que o desenvolvimento das tépalas, especialmente das tépalas internas, é lento, sendo que as mesmas só envolvem completamente o androceu e o gineceu nos estágios mais finais do desenvolvimento floral, após a diferenciação do gineceu, como observado também em espécies de *Luzula* (Juncaceae) (Silva *et al.*, Capítulo 1). Assim, quem exerce função protetiva das peças florais no início do desenvolvimento da flor são as brácteas florais. Esse atraso no desenvolvimento do perianto é ainda mais acentuado em Cyperaceae, nas flores de espécies de Cyperoideae, nas quais o perianto somente se inicia após o desenvolvimento do androceu e do gineceu (San Martin 2014; Vrijdaghs et al. 2004, 2005a, 2009).

Enquanto em Cyperaceae o perianto é geralmente reduzido a cerdas, vascularizadas ou não (Vrijdaghs et al. 2009), em Juncaceae (Silva et al. Capítulo 1) e em Thurniaceae as tépalas são membranáceas, sendo as duas tépalas externas latero-adaxiais mais desenvolvidas em relação à tépala externa abaxial, que é menor e não cupuliforme. Observamos que nas flores dímeras de *Thurnia sphaerocephala* as tépalas externas mais desenvolvidas, cupuliformes, são ligeiramente deslocadas para o lado abaxial, o que provavelmente interfere no desenvolvimento dos verticilos mais internos, levando à supressão das tépalas internas e dos estames que se encontram nessa posição (latero-abaxiais). Durante o desenvolvimento floral existem diversos fatores que podem interferir na morfologia final das flores, sendo um desses fatores as restrições mecânicas exercidas pelas peças do verticilos vizinhos (Ronse De Craene 2018). A redução do merisma floral pode ter origem na perda, fusão, ou divisão de primórdios das diferentes peças florais, o que interfere no espaço disponível no meristema

floral, alterando o arranjo floral para iniciação das peças subsequentes (Ronse De Craene 2016). Dessa forma, o deslocamento das tépalas externas laterais pode ter levado à compressão do espaço onde os primórdios das tépalas e estames latero-abaxiais se estabeleciam, resultando na supressão desses primórdios.

Nossos resultados mostram que as flores dímeras resultam então da perda das tépalas internas e dos estames internos latero-abaxiais, bem como da perda do carpelo abaxial (Fig. 9). Acreditamos que a bráctea floral também exerça pressão mecânica sobre o meristema floral, já que os processos de redução ocorrem no lado abaxial, bem como o atraso no desenvolvimento da tépala externa abaxial.

Ressaltamos que nas flores dímeras o número de estames pode variar de quatro a seis, uma vez que pode ocorrer a supressão dos primórdios dos dois estames internos latero-abaxiais, de apenas um, ou de nenhum. A ausência de órgãos desde o início do desenvolvimento e aborto são os dois processos que provocam a redução estrutural ou funcional na flor (Mitchell and Diggle 2005). O aborto de estames, em geral, leva à formação de uma estrutura rudimentar, aparentemente não funcional na flor, sendo os estames rudimentares extremante instáveis em número e forma (Mitchell and Diggle 2005). Nossos resultados mostram que em *Thurnia sphaerocephala* ambos os processos reducionais ocorrem, já que os estames perdidos podem estar ausentes, ou sofrerem aborto ao longo do seu desenvolvimento. Nesse último caso, eles aparecem como protuberâncias vestigiais (se abortados no início do desenvolvimento), ou como estaminódios filiformes (se o aborto ocorrer no momento da diferenciação das anteras). Em algumas flores dímeras observamos ainda anteras sésseis ou com o filete bem curto, pelo aborto do filete. As causas dessas variações no desenvolvimento do androceu são desconhecidas, mas acreditamos que o sentido de maturação das flores na inflorescência e o espaço disponível para os meristemas florais interfiram no desenvolvimento floral, já que esses diferentes processos de redução dos

estames ocorrem em flores mais centrais da inflorescência e os estames mal-formados ocorrem geralmente do mesmo lado em todas as flores.

Fazendo uma análise comparativa dentro do clado cyperídeo, a perda dos estames do verticilo interno, bem como do estame externo abaxial é recorrente, tendo sido relatada tanto para espécies de Juncaceae como para espécies de Cyperaceae. Em Juncaceae, as flores isostêmones resultam da redução do verticilo interno de estames (Oriani et al. 2012; Silva et al. Capítulo 1). Já em Cyperaceae, o número de estames é variável entre e dentro das espécies, sendo comum a redução completa do verticilo interno e do estame abaxial do verticilo externo (p.ex. San Martin 2014; Vrijdaghs et al. 2009, 2011). No entanto, recentemente Silva et al. (Capítulo 3), analisando diferentes espécies de Cyperaceae, descreveram que a variação no número de estames (e também de tépalas) entre as espécies resulta de processos distintos de redução, com a perda de peças do perianto e do androceu em diferentes posições. Considerando que as variações no merisma podem afetar a flor como um todo (mudanças isômeras) ou apenas alguns verticilos (mudanças anisômeras) (Ronse De Craene 2016), as modificações anisômeras parecem ser mais comuns nas cyperídeas.

Com relação ao gineceu, verificamos que o padrão de desenvolvimento do pistilo em *Thurnia sphaerocephala* difere daquele observado em Juncaceae e em Cyperaceae. Enquanto em *Thurnia sphaerocephala* o pistilo inicia-se com a formação de três depressões que formarão os lóculos do ovário, com a zona sinascidiada do gineceu evidente desde o início do seu desenvolvimento, em *Juncus* o pistilo inicia-se como um primórdio anelar plicado, com os septos do ovário evidentes, enquanto em *Luzula* o pistilo inicia-se como um primórdio triangular ao redor de uma placenta central, com os septos também evidentes (Silva et al. Capítulo 1). Já em Cyperaceae, o primórdio do gineceu é anelar, e se desenvolve ao redor de um meristema central livre da parede do ovário, sem a formação de uma zona sinascidiada (Reynders et al. 2012; Vrijdaghs *et al.*, 2009). Segundo Silva *et al.* (Capítulo 1), no gineceu

maduro de *Juncus* e *Luzula* a zona sinascidiada é curta, provavelmente resultante do crescimento desigual da parede do ovário em relação ao eixo floral. Os resultados aqui obtidos para *Thurnia sphaerocephala* confirmam que a tendência evolutiva do clado foi a redução do crescimento do eixo floral e dos septos do ovário, culminando no gineceu de Cyperaceae, completamente unilocular, com placentação basal. Considerando o posicionamento filogenético de Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae, a placentação axilar-basal, como observado em *Thurnia sphaerocephala* e *Prionium serratum* (Silva et al. 2020), é provavelmente a condição ancestral no clado, a partir da qual derivaram as placentações parietal (em Juncaceae) e basal (em Juncaceae e Cyperaceae). A mudança de placentação axilar para parietal é uma tendência evolutiva observada também em outras famílias como Caryophyllaceae e Primulaceae (Eames 1961; Weberling 1989) e, inclusive em outras Poales, como Xyridaceae (Nardi et al. 2021).

De acordo com Nardi et al. (2021), que estudaram a anatomia e o desenvolvimento floral em várias espécies de Xyridaceae e realizaram análises de reconstrução de estado de caráter ancestral, a placentação axilar é a condição ancestral mais provável para a família, a partir da qual derivou diretamente a placentação parietal e central-livre e, partir dessa última, a placentação basal. Ainda segundo as autoras, houve uma tendência de aumento da porção unilocular do ovário pela redução dos septos ao longo da evolução da família, assim como observado para as cyperídeas. Em termos biológicos, a redução da zona sinascidiada pode favorecer a fecundação, uma vez que possibilita que os tubos polínicos tenham acesso a todos os óvulos do ovário.

Reynders et al. (2012) interpretam o gineceu dímero das flores de Cyperoideae como resultado da fusão congênita dos carpelos formando um primórdio anelar e do desenvolvimento bidirecional dos feixes vasculares que irrigam a parede do ovário. De acordo com os autores, essas duas características teriam possibilitado o desenvolvimento de

um gineceu livre das restrições típicas da organização carpelar, possibilitando a formação de estigmas em menor número e em diferentes posições e, com isso, o surgimento do pistilo dímero em Cyperaceae. Em *Thurnia sphaerocephala*, no entanto, a natureza carpelar do gineceu é evidente desde o início do desenvolvimento, sendo as flores com pistilo dímero resultado da perda do carpelo abaxial.

Blaser (1941a,b) hipotetizou uma flor ancestral para Cyperaceae, trímera e pentacíclica, semelhante às flores de Thurniaceae. De acordo com o autor, processos de redução teriam levado às variações na morfologia floral observada na família. Nossos resultados confirmam essa tendência evolutiva de perda total e/ou aborto de peças do perianto e do androceu, e mudança do gineceu trímero para dímero, pela perda do carpelo abaxial. Essas mudanças provavelmente ocorreram de forma independente em Thurniaceae e Cyperaceae.

Conclusões

Em *Thurnia sphaerocephala* a sequência de iniciação das peças florais é centrípeta, assim como em Juncaceae. Apesar do perianto ser iniciado antes, as tépalas têm desenvolvimento tardio, sendo a flor protegida pela bráctea floral no início do seu desenvolvimento. O padrão de desenvolvimento do gineceu difere nas três famílias das cyperídeas, sendo o que se observa em *Thurnia sphaerocephala* mais próximo ao observado nas espécies de *Luzula* (Juncaceae) (ambas apresentam gineceu com uma zona sinascidiada curta e três óvulos com placentação axilar-basal (*Thurnia*), ou basal (*Luzula*). A tendência evolutiva parece ter sido a redução do eixo floral e dos septos dos carpelos e, consequentemente, da zona sinascidiada do gineceu, culminando no gineceu completamente unilocular de Cyperaceae. A placentação axilar-basal observada em Thurniaceae é provavelmente a condição ancestral que derivou na placentação parietal em linhagens de Juncaceae (como em *Juncus*) e na placentação basal em

linhagens de Juncaceae (como em *Luzula*) e em Cyperaceae. A perda de peças do perianto, do androceu e do carpelo abaxial também é uma tendência evolutiva do clado e, em Thurniaceae, resulta na formação de flores dímeras pela perda das tépalas internas e dos estames internos latero-abaxiais, além da perda do carpelo abaxial.

Referências

Balslev (1998) Juncaceae. In: Kubitzki K (ed) The Families and genera of vascular plants. Springer, Berlin, Germany, pp 252–260

Blaser WH (1941a) Studies in the morphology of the Cyperaceae. Morphology of the flowers. *Scirpoid* genera. Am. J. Bot. 28:542–551

Blaser WH (1941b) Studies in the morphology of the Cyperaceae. I . Morphology of flowers. *Rhynchosporoid* genera. Am. J. Bot. 28:832–838

Bouchenak-Khelladi Y, Muasya AM, Linder HP (2014) A revised evolutionary history of Poales: Origins and diversification. Bot J Linn Soc 175:4–16. https://doi.org/10.1111/boj.12160

Bremer K (2002) Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). Evolution 56:1374–1387. doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01451.x

Chase MW, Fay MF, Devey DS, Maurin O, Ronsted N, Davies TJ, Pillon Y, Pertersen G, Seberg O, Tamura M, Asmussen CB, Hilu K, Borsch T, Davis JI, Stevenson DW, Pires JC, Givnish TJ, Sytsma KJ, McPherson MA, Graham SW, Rai HS (2006) Multigene analyses of monocot relationships: a summary. Aliso 22:63–75

Cutler DF (1965) Vegetative anatomy of Thurniaceae. Kew Bull 19:431–441. 10.2307/4108191

Eames AJ (1961) Morphology of the angiosperms. McGraw-Hill Co, New York

Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, dePamphilis CW, Graham SW,

Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Duvall 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 Missouri Bot Gard 97:584–616. https://doi.org/10.3417/2010023

Givnish TJ, Zuluaga A, Spalink D, Soto Gomez M, Lam VKY, Saarela JM, Sass C, Iles WJD, de Sousa DJL, Leebens-Mack J, Chris Pires J, Zomlefer WB, Gandolfo MA, Davis JI, Stevenson DW, DePamphilis C, Specht CD, Graham SW, Barrett CF, Ané C (2018) Monocot plastid phylogenomics, timeline, net rates of species diversification, the power of multi-gene analyses, and a functional model for the origin of monocots. Am J Bot 105:1888–1910. https://doi.org/10.1002/ajb2.1178

Goetghebeur P (1998) Cyperaceae. In: Kubitzki K (ed) The families and genera of vascular plants. Springer, Berlin, Germany, pp 141–190

Kubitzki K (1998) Thurniaceae. In: Kubitzki K (ed) The families and genera of vascular plants. Springer, Berlin, Germany, pp 455–457

Johansen DA (1940) *Plant Microtechnique*. McGraw–Hill Co, New Youk

Jones E, Simpson DA, Hodkinson TR, Chase MW, Parnell JAN (2007) The Juncaceae-Cyperaceae interface: a combined plastid sequence analysis. Aliso 23:55–61. 10.5642/aliso.20072301.07

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

Mitchell CH, Diggle PK (2005) The evolution of unisexual flowers: Morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. Am. J. Bot. 92:1068–1076. 10.3732/ajb.92.7.1068

Monteiro MM, Scatena VL, Oriani A (2016) Anatomy and development of the reproductive units of *Mapania pycnostachya* and *Hypolytrum schraderianum* (Mapanioideae, Cyperaceae). Aust J Bot 64: 389-400. doi: https://doi.org/10.1071/BT15281

Monteiro MM (2020) Desenvolvimento, anatomia e evolução de caracteres florais em Cyperaceae (Poales). Thesis, Universidade de São Paulo

Munro SL, Linder HP (1997) The embryology and systematic relationships of *Prionium serratum* (Juncaceae: Juncales). Am. J. Bot. 84:850–860.

Nardi KO, Campbell LM, Oriani A (2021) Inferences on gynoecium evolution in *Xyris* (Xyridaceae, Poales) based on floral anatomy and development. Bot J Linn Soc 197:396–419. 10.1093/botlinnean/boab031

Oriani A, Stützel T, Scatena VL (2012) Contributions to the floral anatomy of Juncaceae (Poales - Monocotyledons). Flora 207:334–340. 10.1016/j.flora.2012.03.001

Prychid CJ, Bruhl JJ (2013) Floral ontogeny and gene protein location rules out euanthial interpretation of reproductive units in *Lepironia* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). Ann Bot 112:161–177. doi: 10.1093/aob/mct111

Reynders M, Vrijdaghs A, Larridon I, Huygh W, Leroux O, Muasya AM, Goetghebeur P (2012) Gynoecial anatomy and development in Cyperoideae (Cyperaceae, Poales): congenital fusion of carpels facilitates evolutionary modifications in pistil structure. Plant Ecol Evol 145:96–125. 10.5091/plecevo.2012.675

Richards JH, Bruhl JJ, Wilson KL (2006) Flower or spikelet? Understanding the morphology and development of reproductive structures in *Exocarya* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). Am J Bot 93:1241-1250.

Ronse De Craene L (2016) Meristic changes in flowering plants: How flowers play with numbers. Flora 221:22-37. doi: https://doi.org/10.1016/j.flora.2015.08.005

Ronse De Craene L (2018) Understanding the role of floral development in the evolution of

angiosperm flowers: clarifications from a historical and physico-dynamic perspective. J Plant Res 131:367- 393. doi: https://doi.org/10.1007/s10265-018-1021-1

San Marti JAB (2014) Ontogenia floral do gênero *Eleocharis* R.Br. (Cyperaceae). Thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

Silva A de L, Alves MVS, Coan AI (2020) Comparative floral morphology and anatomy of Thurniaceae, an early-diverging family in the cyperids (Poales, Monocotyledons). Plant Syst. Evol. 306:53–67. 10.1007/s00606-020-01681-9

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Muasya AM, Smets E, Caris P (2004) The nature of the perianth in *Fuirena* (Cyperaceae). S Afr J Bot 70:587–594. 10.1016/S0254-6299(15)30196-4

Vrijdaghs A, Caris P, Goetghebeur P, Smets E (2005a) Floral ontogeny in *Scirpus*, *Eriophorum* and *Dulichium* (Cyperaceae), with special reference to the perianth. Ann Bot 95:1199- 1209. doi:10.1093/aob/mci132

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Muasya AM, Caris P, Smets E (2005b) Floral ontogeny in *Ficinia* and *Isolepis* (Cyperaceae), with focus on the nature and origin of the gynophore. *Annals of Botany* 96:1247–1264. https://doi.org/10.1093/aob/mci276

Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Smets E, Muasya AM (2006) The floral scales in *Hellmunthia* (Cyperaceae, Cyperoideae) and *Paramapania* (Cyperaceae Mapanioideae): an ontogenetic study. Ann Bot 98:619-630. doi: 10.1093/aob/mcl138

Vrijdaghs A, Muasya AM, Goetghebeur P, Caris P, Nagels A, Smets E (2009) A floral ontogenetic approach to questions of homology within the Cyperoideae (Cyperaceae). Bot Rev 75:30-51. doi:10.1007/s12229-008-9021-9

Vrijdaghs A, Reynders M, Larridon I, Muasya AM, Smets E, Goetghebeur P. (2010) Spikelet structure and development in Cyperoideae (Cyperaceae): A monopodial general model based on ontogenetic evidence. Ann Bot 105:555-571. doi: 10.1093/aob/mcq010

Vrijdaghs A, Reynders M, Muthama Muasya A, Larridon I, Goetghebeur P, Smets EF. (2011) Morphology and development of spikelets and flowers in *Cyperus* and *Pycreus* (Cyperaceae). Plant Ecol Evol 144:44-63. doi: 10.1093/aob/mcq010

Weberling F (1989) Morphology of flowers and inflorescences. Cambridge University Press, Cambridge

Legendas

Fig. 1 Estágios iniciais de desenvolvimento floral de *Thurnia sphaerocephala*, sob microscópio eletrônico de varredura. (A-C) Aspecto geral da inflorescência com primórdios florais. Note as brácteas florais dispostas espiraladamente no eixo da inflorescência. As brácteas externas latero-adaxiais estão destacadas em vermelho e o meristema floral em amarelo, (D-H) Meristema floral arredondado, mostrando a iniciação das tépalas externas. Note a iniciação tardia da tépala abaxial em relação às tépalas latero-adaxiais e o alongamento do eixo floral em (F). (I, J) Iniciação das tépalas internas. Abreviações: b – bráctea floral, fm – meristema floral, ia – eixo da inflorescência, ot – tépala externa, (') – posição abaxial, (*) primórdio da tépala interna. Barras de escala: 50 µm (A, D, E, H, J), 100 µm (B, C), 20 µm (F, G, I)

Fig. 2 Flores de *Thurnia sphaerocephala* em estágios sucessivos de desenvolvimento, sob microscópio eletrônico de varredura. (A) Iniciação das tépalas internas, (B-D) Iniciação dos estames, (E) Primórdio triangular do gineceu trímero, (F) Primórdio elíptico do gineceu dímero. Abreviações: b – bráctea floral, fm – meristema floral, it – tépala interna, ot – tépala externa, s – estame, (') – posição abaxial, (*) primórdio da tépala interna. Barras de escala: 50 µm (A-F)

Fig. 3 Estágios iniciais do desenvolvimento do gineceu nas flores dímeras de *Thurnia sphaerocephala*, sob microscopia eletrônica de varredura. (A-D) Iniciação dos estames e do gineceu, esse último como um primórdio elíptico no centro da flor, (E-G) Formação de duas depressões no primórdio do gineceu, que formarão os lóculos do ovário, (H-L) Alongamento do ápice dos carpelos para início da formação dos estigmas. Abreviações: c – carpelo, it – tépala interna, ot – tépala externa, s – estame, (') – posição abaxial. Barras de escala: 50 µm (A-L)

Fig. 4 Estágios iniciais do desenvolvimento do gineceu nas flores trímeras de *Thurnia sphaerocephala*, sob microscopia eletrônica de varredura. (A-D) Formação de três depressões no primórdio triangular do gineceu, as quais formarão os lóculos do ovário, (E, F) Alongamento do ápice dos carpelos para início da formação dos estigmas. Abreviações: c – carpelo, it – tépala interna, ot – tépala externa, s – estame, (') – posição abaxial. Barras de escala: 50 µm (A-F)

Fig. 5 Estágios sucessivos do desenvolvimento do gineceu nas flores de *Thurnia sphaerocephala*, sob microscopia eletrônica de varredura. (A) Gineceu com três depressões formando a zona sinascidiada, (B-F) Alongamento do ápice livre dos carpelos para fechamento do ovário e formação dos estigmas. Note o alargamento das tépalas internas. Abreviações: it – tépala interna, ot – tépala externa, s – estame, (') – posição abaxial. Barras de escala: 100 µm (A, C, E), 50 µm (B, D, F)

Fig. 6 Estágios sucessivos do desenvolvimento da flor de *Thurnia sphaerocephala*, sob microscopia eletrônica de varredura. (A) Alongamento das tépalas externas. Note o menor desenvolvimento da tépala abaxial em relação às tépalas latero-adaxiais, que são

cupuliformes, (B, C) Alongamento das tépalas internas e do ovário, (D) Tépalas internas assumem formato de cúpula e envolvem completamente o androceu e o gineceu. Abreviações: it – tépala interna, ot – tépala externa, s – estame, (') – posição abaxial. Barras de escala: 100 µm (A-C), 200 µm (D)

Fig. 7 Estágios finais de desenvolvimento da flor de *Thurnia sphaerocephala*, sob microscopia eletrônica de varredura. (A) Alongamento do ovário e dos estigmas, conduplicados, (B, C) Alongamento dos estigmas e diferenciação das anteras, (D, E) Alongamento dos filetes, (F) Alongamento do estilete. Barras de escala: 100 µm (A, B), 200 µm (C-F)

Fig. 8 Variações do androceu em flores dímeras de *Thurnia sphaerocephala*. (A) Detalhe do estame sob microscopia eletrônica de varredura, (B-F) Botões florais em pré-antese, sob estereomicroscópio, (B) mostrando um vestígio de estame completamente abortado, (C) estame com filete abortado, (D) estaminódios com anteras abortadas (E, F) e uma flor dímera com seis estames férteis. Abreviações: s – estame, setas – estames com má-formações. Barras de escala: = 20 µm (A), 0,4 mm (B-F)

Fig. 9 Diagramas florais de *Thurnia sphaerocephala*. (A) Flor trímera, (B) Flor dímera

Figura 1.

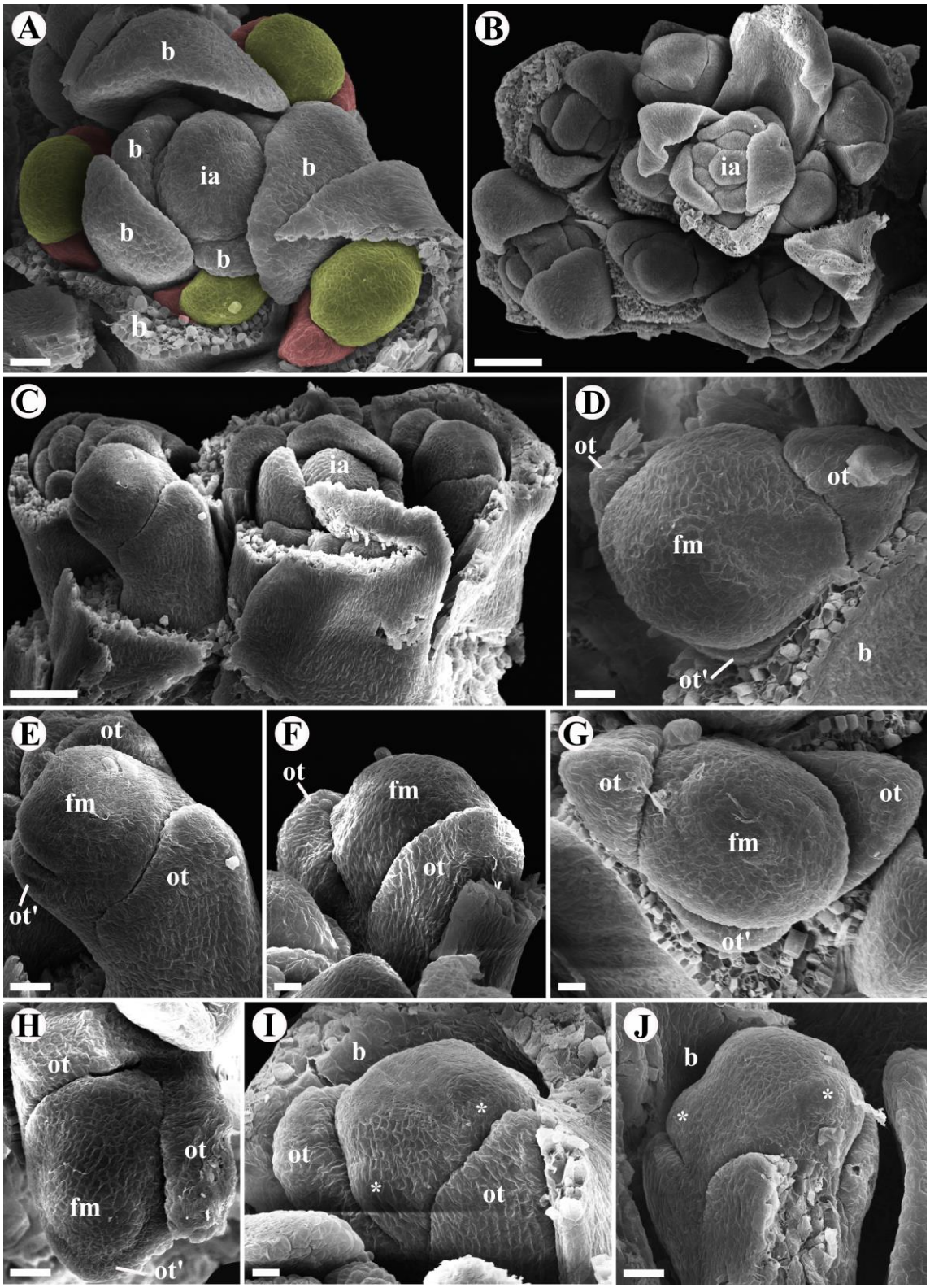

A
b
b
ia
b
b
b
b
B
ia
C
ia
D
ot
ot
fm
b
ot'
E
ot
fm
ot
ot'
F
ot
fm
ot
G
ot
ot
fm
ot'
H
ot
ot
fm
ot'
I
b
ot
*
*
ot
J
b
*
*

Figura 2.

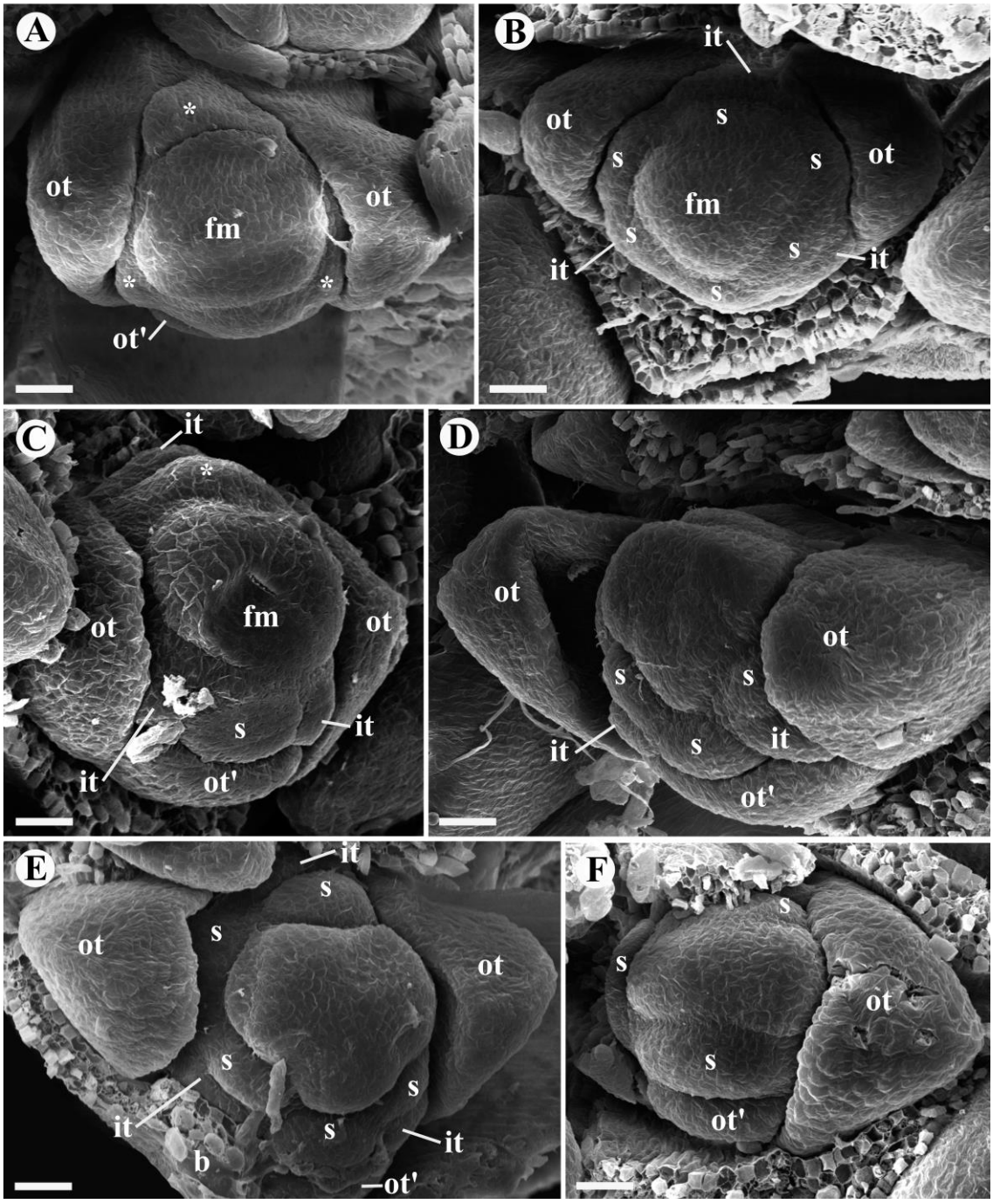

A
ot
fm
ot
ot'
B
it
ot
s
s
s
ot
fm
s
s
it
it
s
C
it
fm
ot
ot
s
it
it
ot'
D
ot
ot
s
s
it
s
it
ot'
E
it
s
s
ot
ot
s
s
s
it
s
it
b
ot'
F
s
s
ot
s
s
ot'

Figura 3.

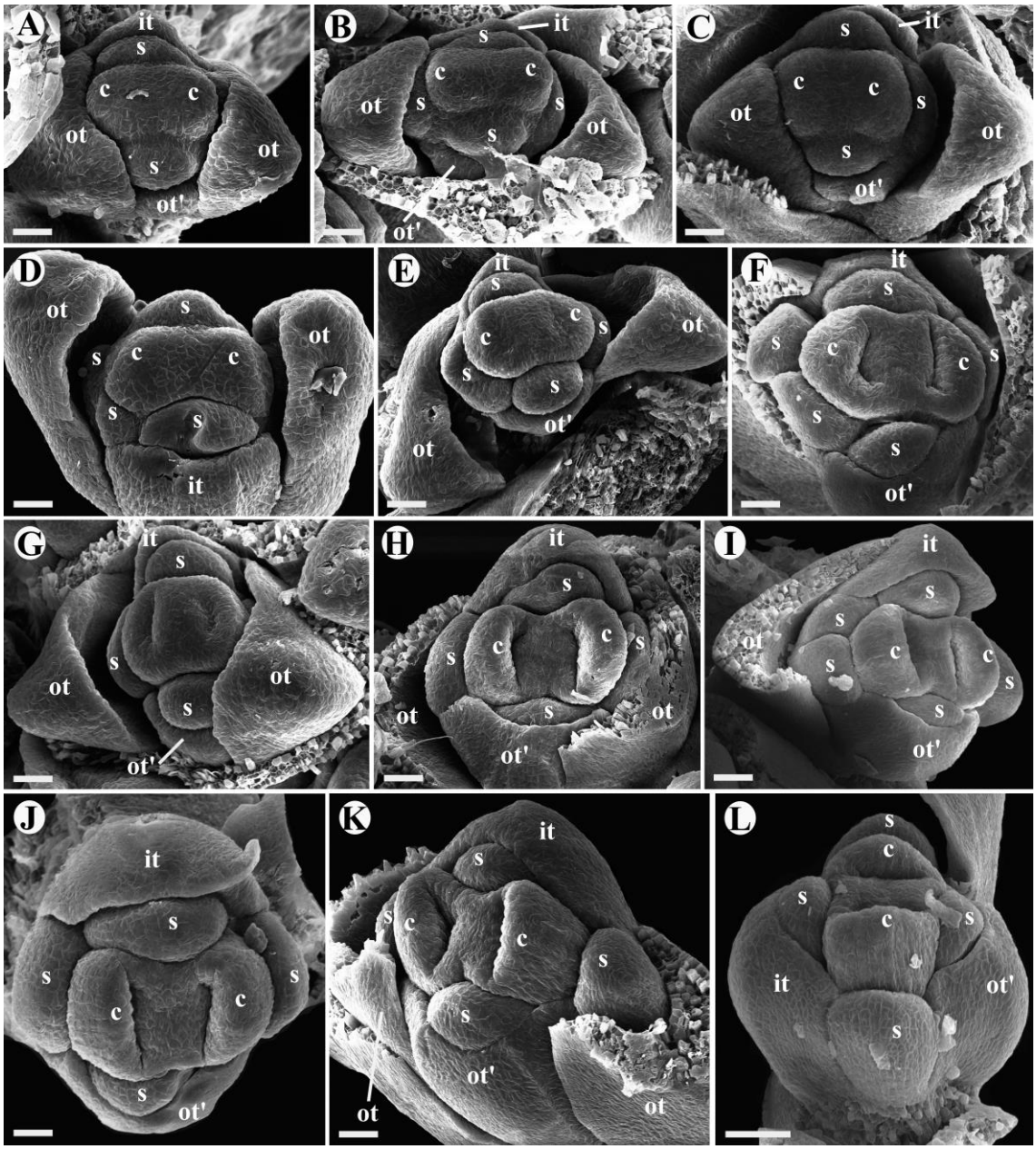

A
it
s
c
c
ot
ot
s
ot'
B
it
s
c
c
ot
s
s
ot
s
ot'
C
it
s
c
c
ot
s
ot
s
ot'
D
ot
s
s
c
c
ot
s
s
it
E
it
s
c
c
s
ot
s
s
ot'
ot
F
it
s
s
c
c
s
s
s
ot'
G
it
s
s
ot
ot
s
ot'
H
it
s
c
c
s
s
ot
ot
s
ot'
I
it
s
s
ot
c
c
s
s
s
ot'
J
it
s
s
s
c
c
s
ot'
K
it
s
s
c
c
s
s
ot'
ot
ot
L
s
c
s
c
s
it
ot'
s

Figura 4.

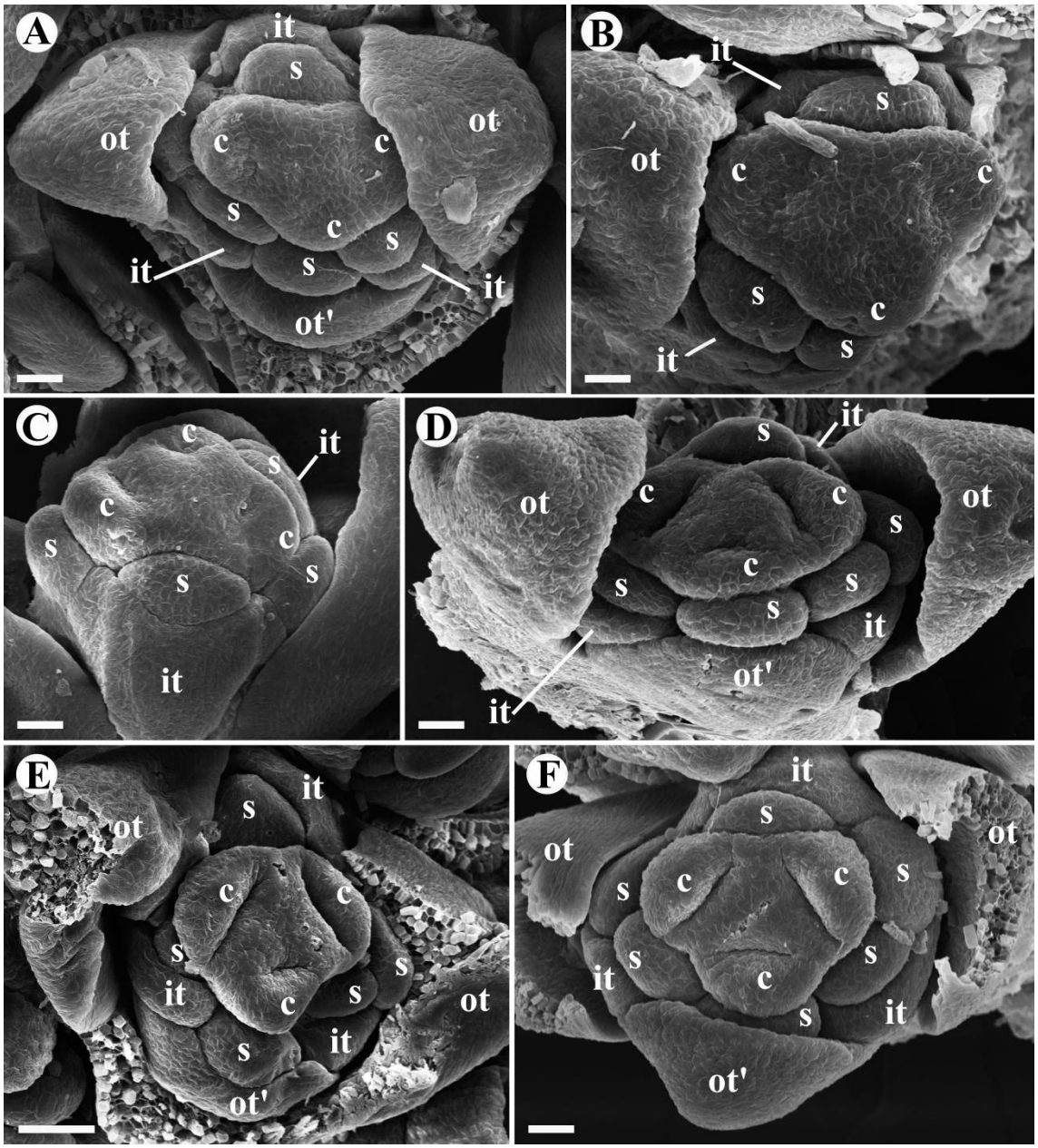

A
it
s
ot
c
c
ot
s
c
s
it
s
it
ot'
B
it
s
ot
c
c
s
c
it
s
C
c
it
s
c
s
c
s
s
it
D
s
it
ot
c
c
ot
s
c
s
s
s
it
ot'
it
E
it
s
ot
c
c
s
s
it
c
s
ot
s
it
ot'
F
it
s
ot
ot
s
c
c
s
s
s
it
c
s
it
ot'

Figura 5.

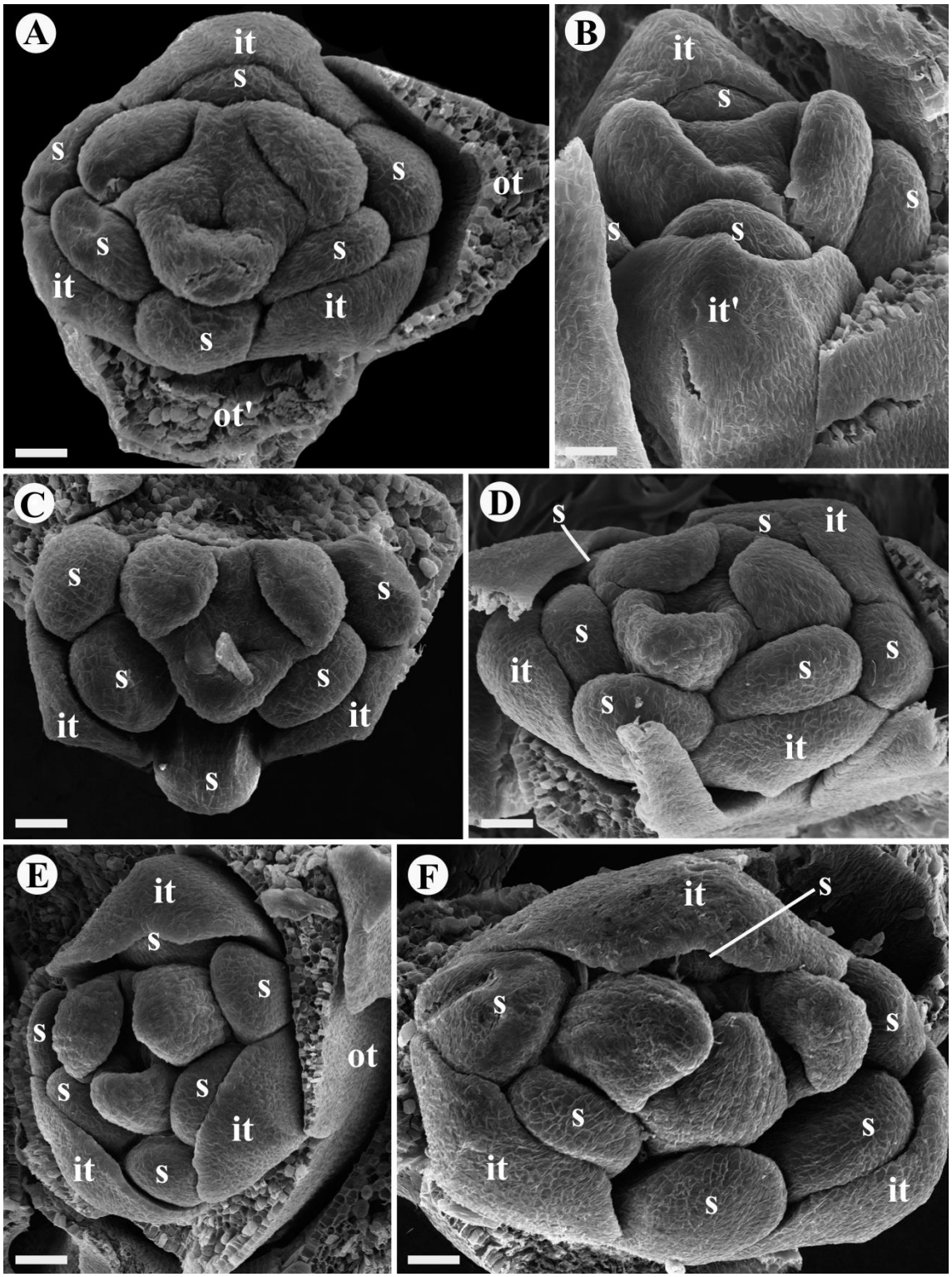

A
it
s
s
s
ot
s
s
it
it
s
ot'
B
it
s
s
s
s
it'
C
s
s
s
s
it
it
s
D
s
s
it
s
s
s
it
s
it
E
it
s
s
s
ot
s
s
it
it
s
F
it
s
s
s
s
s
it
s
it

Figura 6.

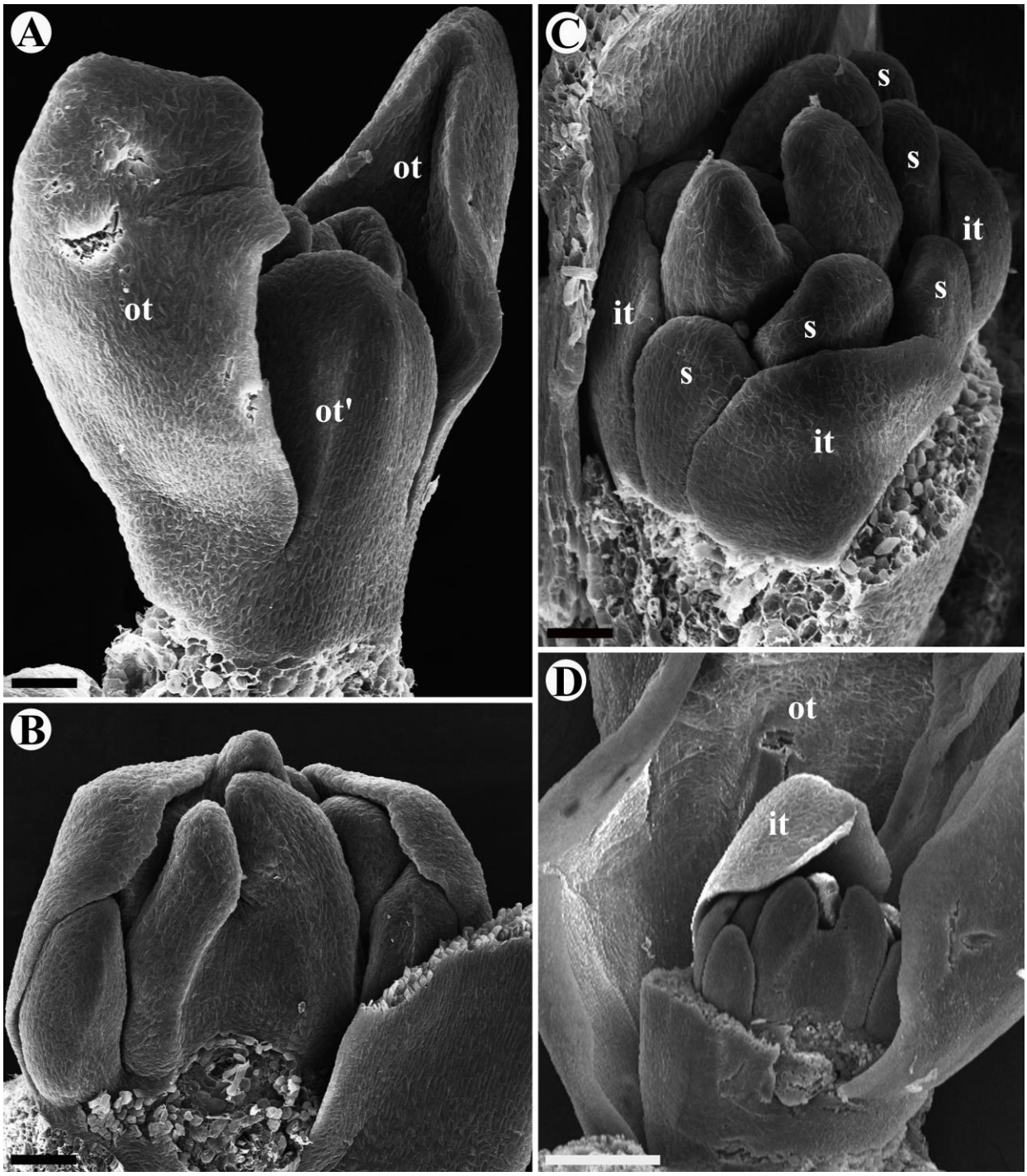


Figura 7.

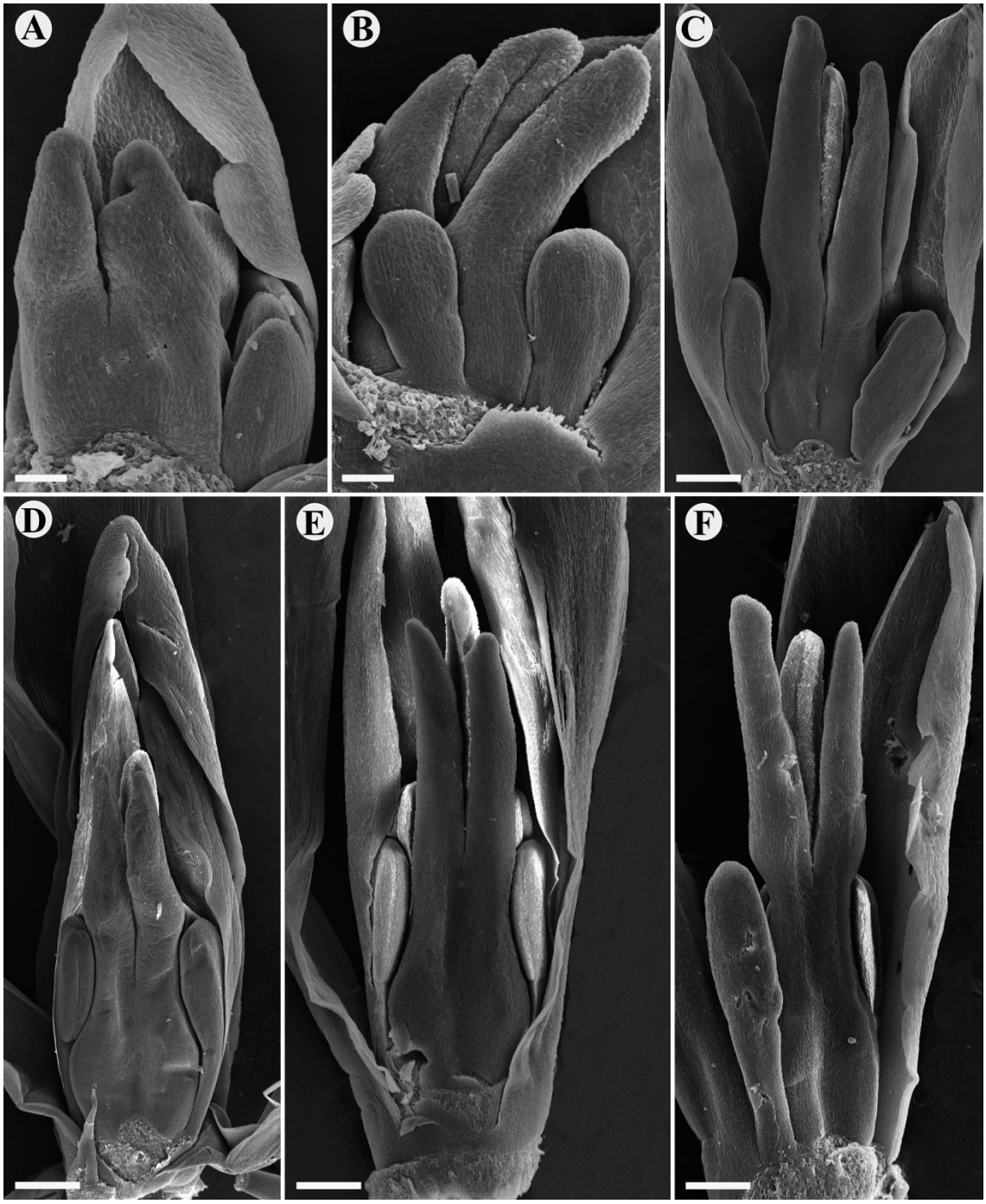


Figura 8.

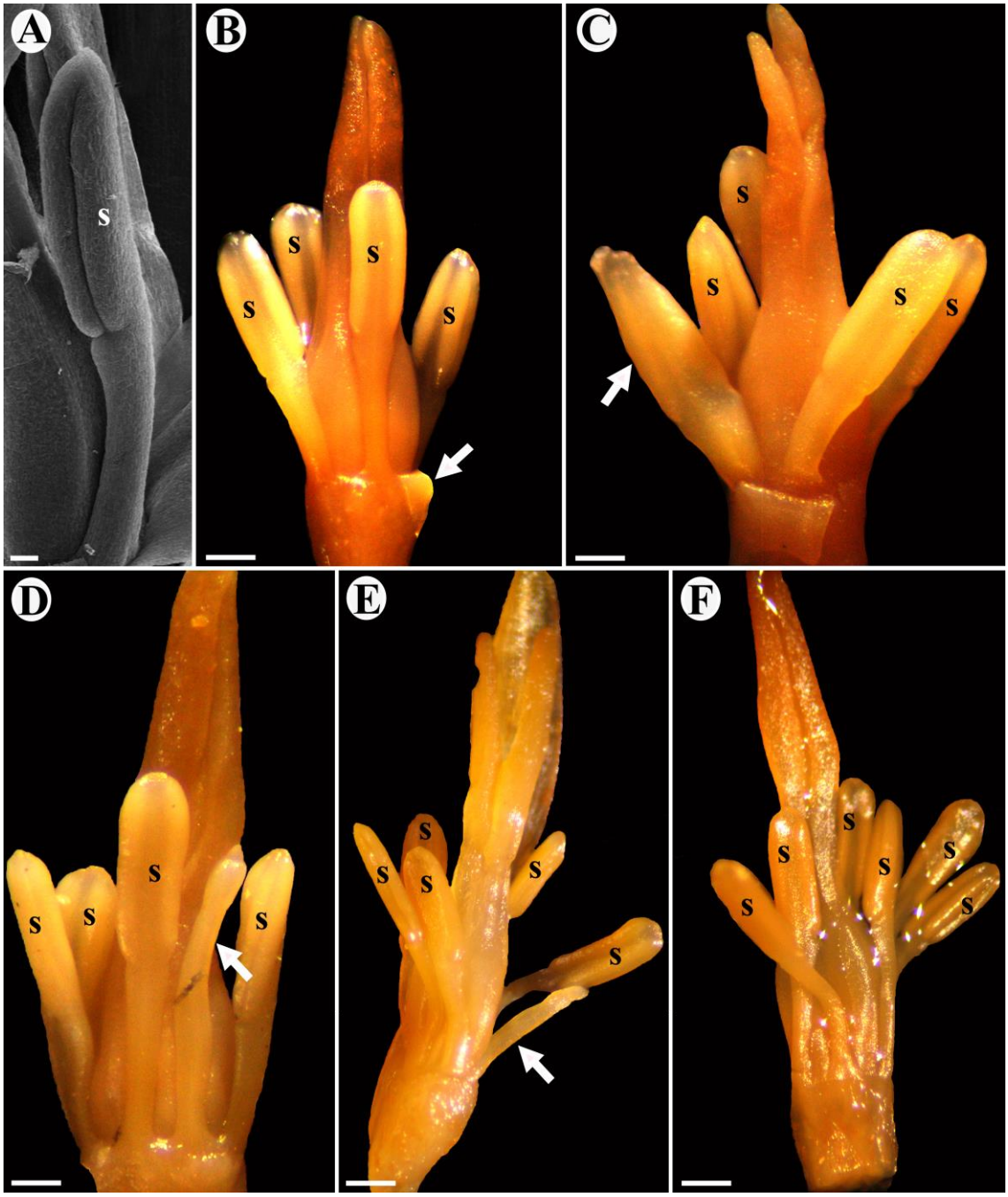
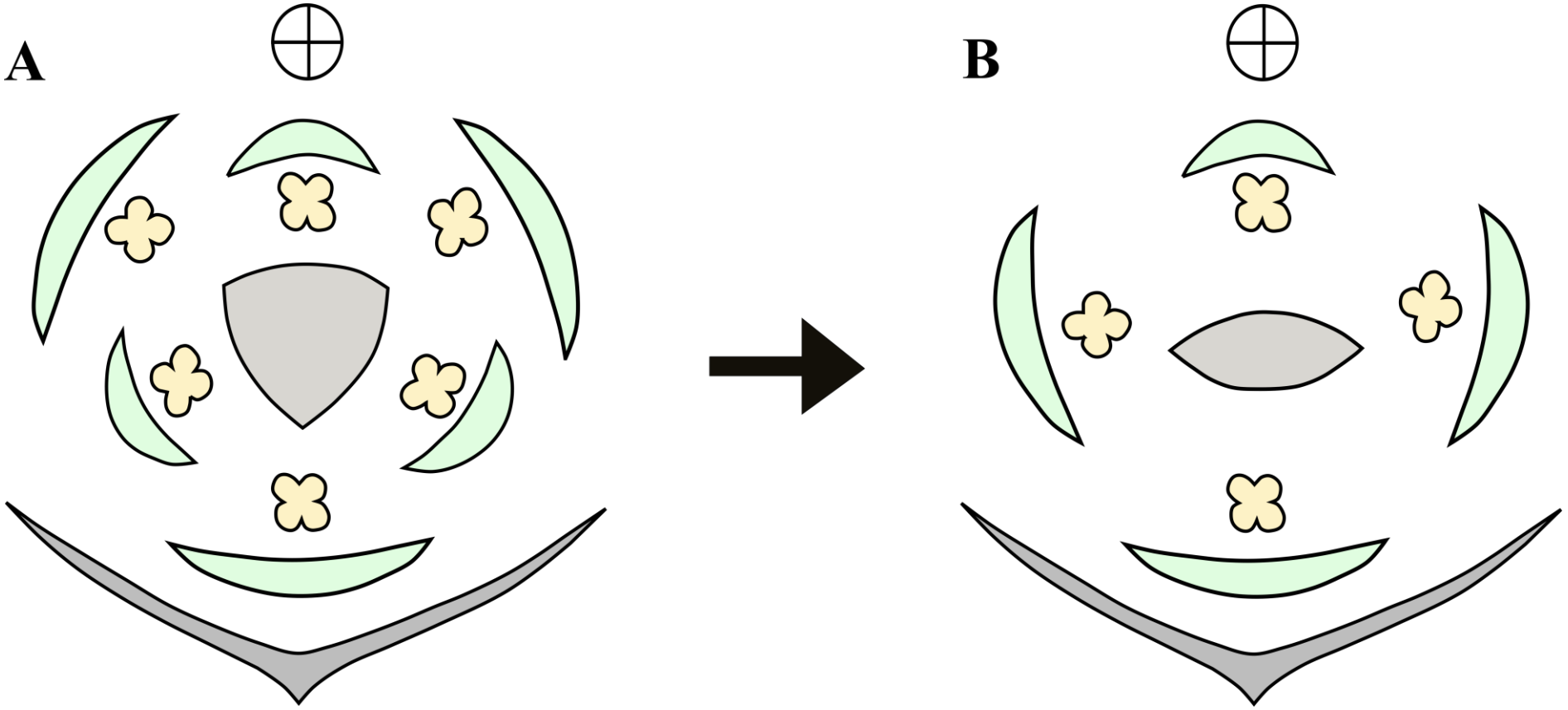


Figura 9.



CAPÍTULO 3

Entendendo as variações da morfologia floral em Cyperoideae (Cyperaceae, Poales) com base na anatomia

Lucimara Reis de Oliveira Silva[1], Rafael Trevisan[2] e Aline Oriani[1,3*]

[1] Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Departamento de Biodiversidade, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (UNESP), Rio Claro 13506- 900, São Paulo, Brasil

2 Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis 88040-900, Santa Catarina, Brasil

[3] Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba 13418-900, São Paulo, Brasil

* Autor para correspondêcia: alineoriani@yahoo.com.br

Manuscrito a ser submetido ao periódico *Plants*

Resumo

As espécies de Cyperoideae apresentam ampla variação morfológica em suas flores devido a processos de redução. Suas flores podem ser bissexuadas ou unissexuadas, aclamídeas ou não, com estames variando de 1-6 e gineceu tricarpelar ou bicarpelar, achatado dorsiventralmente ou lateralmente. Estudou-se a anatomia e a vascularização floral de *Fuirena robusta*, *Cyperus sesquiflorus, Pleurostachys stricta* e *Schoenoplectus californicus*, para entender os processos de redução que resultam em diferentes morfologias florais. Analisou-se também o desenvolvimento floral de *C. sesquiflorus*. Todas essas espécies apresentam espiguetas com flores bissexuadas, mas que variam em relação ao perianto, androceu e gineceu. Nossos resultados evidenciam a perda da tépala abaxial externa em *P. stricta*, a perda total do verticilo externo de tépalas em *F. robusta* e a perda das tépalas abaxiais (externa e internas) em *S. californicus*. As tépalas são vascularizadas em *F. robusta e P. stricta* e não vascularizadas em *S. californicus.* Em *C. sesquiflorus*, o perianto é ausente. Compostos fenólicos presentes nas células epidérmicas do receptáculo marcam os limites entre tépalas e estames, antes da individualização dessas peças. Os três estames presentes em *F. robusta e P. stricta* correspondem ao verticilo externo, enquanto que em *S. californicus* ocorre a perda dos estames adaxiais (externos e interno). Já em *C. sesquiflorus* ocorre a perda dos estames externos e do estame abaxial interno. O gineceu bicarpelar achatado lateralmente em *C. sesquiflorus* pode ser resultado da pressão exercida pelas glumas dispostas disticamente na espigueta. A flor mais distal da espigueta nesta espécie é estaminada pelo aborto do gineceu. A diversidade morfológica observada nas flores de Cyperoideae é resultado de processos distintos de redução que ocorreram provavelmente de forma independente nos diferentes clados da subfamília ao longo da evolução de Cyperaceae.

Palavras-chave: anatomia floral; desenvolvimento floral; gineceu; perianto; redução

1. Introdução

Cyperaceae Juss. é considerada a segunda maior família em riqueza de espécies da ordem Poales e a terceira maior família das monocotiledôneas [1,2]; apresenta 90 gêneros e cerca de 5.500 espécies com distribuição cosmopolita, ocorrendo em diferentes hábitats [3]. Com base em dados morfológicos e moleculares, a família atualmente está circunscrita em duas subfamílias: Mapanioideae (11 gêneros) e Cyperoideae (79 gêneros) [4,5,6,7], que se diferenciam entre si pelas unidades reprodutivas.

Em Cyperaceae as estruturas reprodutivas consistem de um eixo reprodutivo principal, do qual partem todas as ramificações, sendo o conjunto denominado sinflorescência. Cada ramificação da sinflorescência termina em um conjunto de unidades reprodutivas (coflorescência), que variam estruturalmente nas diferentes subfamílias [8,9]. Em Cyperoideae, os eixos laterais terminam em espiguetas, que apresentam flores verdadeiras, trímeras e com ampla variação morfológica [10,11,2,12]. Já nos representantes de Mapanioideae, as unidades reprodutivas são os espicóides, que correspondem a racemos abertos que apresentam flores estaminadas e uma flor pistilada distal, todas aperiantadas, formando um pseudanto [1,2].

As flores em Cyperoideae são bissexuadas ou unissexuadas, hipóginas, podendo o perianto estar ausente ou reduzido a cerdas, escamas ou pelos; apresentam 1-3 (-6) estames, com filetes livres e anteras basifixas. O gineceu é tricarpelar ou bicarpelar, achatado dorsiventralmente ou lateralmente; apresenta um único óvulo, placentação basal e 2-3 estigmas livres [2].

Blaser [10,11] relata modificações e reduções no número e na estrutura das peças do perianto, como demostrado para as espécies de *Scirpus* e *Eleocharis*, e a ausência do mesmo nos gêneros *Lipocarphinae*, *Lipocarpha* e *Hemicarpha.* Tais modificações vão desde estruturas foliares até estruturas semelhantes a cerdas. Esses processos ocorrem devido à

compressão do mesofilo e a persistência do feixe vascular, que, em estágios evolutivos avançados, também é perdido, sendo então o perianto reduzido a cerdas não vascularizadas, ou até mesmo ausente [10,11].

O gineceu bicarpelar, encontrado em diversos gêneros de Cyperaceae, teria derivado de um ancestral com gineceu tricarpelar, o que foi evidenciado por Blaser [10,11] com a vascularização floral, uma vez que este encontrou vestígios dos feixes vasculares do terceiro carpelo em flores com gineceu bicarpelar. A dimerização dos pistilos em Cyperaceae resulta em dois padrões: pistilo achatado dorsiventralmente ou pistilo achatado lateralmente. Esses processos de redução do gineceu ainda não são bem compreendidos. No achatamento dorsiventral, os estigmas estão posicionados lateralmente devido à redução do carpelo abaxial, enquanto que no achatamento lateral os estigmas estão na posição mediana e os dois carpelos adaxiais parecem ser substituídos por um único carpelo na posição mediana [10,11]. O gineceu se desenvolve a partir de um primórdio anelar, circundando uma zona meristemática central, que pode ser considerado, ao longo da evolução, como resultado de uma fusão congênita de carpelos [13]. De acordo com a interpretação de Reynders et al. [13], o primórdio anelar na parede do ovário, combinado com o desenvolvimento bidirecional dos feixes vasculares possibilita as mudanças no número e na posição dos estigmas, bem como as variações nos tipos de pistilo (pistilo achatado dorsiventralmente ou pistilo achatado lateralmente) encontrados nos representantes de Cyperoideae.

Na evolução da arquitetura floral dentro de Cyperaceae, tendências reducionais são consideradas derivadas [2,12,13]. As reduções afetam o número e tamanho das partes do perianto de um ou de ambos os verticilos. Blaser [10,11] hipotetizou uma flor ancestral para Cyperaceae com dois verticilos de perianto, um deles com três sépalas opostas aos estames externos, e o outro apresentando três pétalas opostas aos estames internos. Porém, ao longo da evolução ocorreu perda de um ou ambos os verticilos, ou a perda de algumas peças florais,

como relatado para algumas espécies dos gêneros *Dulichium, Rhynchospora, Scirpeae, Scirpinae, Eleocharis, Scirpus, Lipocarphinae, Lipocarpha e Hemicarpha* [10]. Lucero et al. [14] e Monteiro et al. [15] também relataram, para *Rhynchospora consanguinea*, a perda da sépala abaxial do verticilo externo. Semelhante ao perianto, os processos de redução/perda também afetam os estames dos representantes de Cyperaceae. O verticilo interno de estames geralmente está ausente, como demostrado nos gêneros *Cyperus*, *Scirpus*, *Eriophorum*, *Rhynchospora*, *Scleria* [10,11], *Ficinia, Isolepsis, Fuirena* [16,17,12] e também para *Rhynchospora consanguinea* [15]. Pode ainda ocorrer a perda do estame abaxial do verticilo externo, tal como observado por Vrijdaghs et al. [18] no gênero *Pycreus*.

As flores de Cyperaceae têm sido estudadas sob diferentes aspectos, incluindo anatômicos [p.ex. 10,11,19,15] e de desenvolvimento, principalmente com representantes de Cyperoideae [p.ex. 20,16,17,12,21,18,22]. Apesar do número considerável de estudos com as flores de Cyperaceae, ainda há lacunas no entendimento de sua estrutura, o que tem levado a diferentes interpretações da morfologia das flores e das relações evolutivas, principalmente devido a sua natureza reduzida e complexa [23,24]. Desse modo, estudos envolvendo a anatomia e desenvolvimento floral são fundamentais para compreensão das variações morfológicas encontradas na família.

Neste trabalho, foram escolhidas para o estudo anatômico das flores as espécies *Cyperus sesquiflorus* (Torr.) Mattf. & Kük, *Fuirena robusta* Kunth., *Pleurostachys stricta* Kunth. e *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Soják por apresentarem algumas das variações morfológicas observadas na família, tanto com relação ao perianto, quanto ao androceu e gineceu. Foi estudada a anatomia e a vascularização floral dessas espécies, bem como o desenvolvimento floral de *Cyperus sesquiflorus,* buscando compreender os processos de redução que culmiram na diversidade morfológica encontrada em Cyperoideae e, com isso, contribuir para o entendimento da evolução floral em Cyperaceae.

2. Resultados

2.1. Morfologia floral

As flores são bissexuadas em todas as espécies estudadas. O perianto é composto por cinco tépalas em *P. stricta* (Figura 1C) e por três tépalas em *F. robusta e S. californicus*, sendo uma adaxial e duas abaxiais em *F. robusta* (Figura 1B) e as três tépalas adaxiais em *S. californicus* (Figura 1D). Em *C. sesquiflorus* o perianto é ausente (Figura 1E). Ocorrem três estames (dois adaxiais e um abaxial) em *F. robusta (*Figura 1B) e *P. stricta (*Figura 1C), três estames abaxiais em *S. californicus* (Figura 1D) e dois estames abaxiais em *C. sesquiflorus (*Figura 1E). O gineceu é trímero em *F. robusta* (Figura 1B), dímero e achatado dorsiventralmente em *P. stricta* (Figura 1C) e *S. californicus* (Figura 1D), e dímero, achatado lateralmente em *C. sesquiflorus (*Figura 1E). A Figura 1A é uma representação da flor ancestral hipotética.

As principais diferenças entre as espécies com relação à morfologia floral estão indicadas na Tabela 1.

2.2. Vascularização floral

2.2.1. Fuirena robusta Kunth.

Em *Fuirena robusta*, observa-se a saída do traço vascular da gluma fértil, a partir do sistema vascular do eixo da espigueta (ráquila) (Figura 2A,B). Após a individualização da gluma, observam-se complexos vasculares (Figura 2C), que se unem formando um plexo vascular central no receptáculo, do qual divergem os traços que irão vascularizar as peças florais (Figura 2D). Ocorre a divergência simultânea dos três traços que irão vascularizar as tépalas (círculos amarelos) e dos três traços de estames (círculos vermelhos), em posição alterna (Figura 2D,E). A presença de compostos fenólicos nas células epidérmicas do receptáculo marca os limites entre tépalas e estames, antes de sua individualização (Figura 2E,F). Após a divergência dos traços do perianto e androceu, ocorre a saída dos traços

carpelares dorsais, opostos aos traços dos estames (Figura 2E,F). No centro do gineceu, o tecido vascular remanescente corresponde aos traços carpelares ventrais (Figura 2F), que irão vascularizar o óvulo (Figura 3A,B). Os feixes carpelares dorsais vascularizam a parede do ovário (Figura 2A,B) e o estilete (Figura 3C), terminando na base dos estigmas (Figura 3D). Cada tépala recebe um único feixe vascular (Figura 2A,B), que termina antes do ápice, que é filiforme (Figura 3C). Cada estame também é vascularizado por um único feixe (Figura 3A,B), que ascende até o conectivo (Fig. 3C,D). Compostos fenólicos estão presentes na epiderme das tépalas (Figura 3A,B), anteras e estigmas (Figura 3C,D), e ausentes nos filetes, ovário e estilete (Figura 3A-C).

2.2.2. Pleurostachys stricta Kunth.

No eixo da espigueta (ráquila), em secção transversal, observam-se vários complexos vasculares, que irão vascularizar as glumas e as flores, arranjadas em espiral (Figura 4A,B). Cada flor recebe três traços vasculares (Figura 4B), que se unem formando um plexo vascular central no receptáculo (Figura 4C). Do plexo vascular receptacular divergem simultaneamente os traços das duas tépalas externas adaxiais, das duas tépalas internas abaxiais e do estame abaxial (Figura 4D). Em seguida, divergem os traços dos dois estames adaxiais e da tépala interna adaxial (Figura 4E,F). Os compostos fenólicos nas células epidérmicas do receptáculo marcam os limites entre tépalas e estames, antes de sua individualização: eles estão presentes na epiderme abaxial na base das tépalas e ausentes nos filetes (Figura 4D-F). Cada tépala e cada estame recebe então um único feixe vascular (Figura 4E-G), que ascende até o ápice das tépalas e até o conectivo, rescpectivamente (Figura 4H). Compostos fenólicos ocorrem nas células epidérmicas das tépalas, em toda a sua extensão (Figura 4F-H), e na epiderme das anteras, na região dos microsporângios e do conectivo (Figura 4H). Após a individualização das tépalas e dos estames, observam-se três feixes vasculares remanescentes no gineceu (Figura 4F), sendo o feixe central o feixe do

óvulo (Figura 4G) e os laterais os feixes carpelares dorsais, que ascendem até os estigmas (Figura 4H).

2.2.3. Schoenoplectus californicus (C.A. Mey.) Soják

Em *Schoenoplectus californicus*, assim como em *Pleurotachys stricta*, observa-se que, após a divergência do traço da gluma fértil (Figura 5A), ocorre a saída de três traços para a flor (Figura 5B,C). Esses três traços se unem formando um plexo vascular central no receptáculo (Figura 5D), do qual divergem primeiramente os traços dos três estames, sendo um abaxial e dois latero-abaxiais (Figura 5E,F). Simultaneamente à divergência dos traços dos estames, inicia-se a individualização de duas tépalas latero-adaxiais (Figura 5E,F), seguida da individualização da tépala adaxial (Figura 5G,H), todas apresentando células com compostos fenólicos na epiderme abaxial e não vascularizadas (Figura 5H). Após a divergência dos traços dos estames, o plexo vascular central se reorganiza formando dois feixes carpelares dorsais laterais (Figura 5G,H) e um feixe central, que irriga o óvulo (Figura 6A). Os feixes carpelares dorsais ascendem a parede do ovário (Figura 6A-C), irrigando o estilete (Figura 6D) e os dois estigmas (Figura 6E). O feixe vascular dos estames ascende até o conectivo (Figura 6D,E). Compostos fenólicos ocorrem nas células epidérmicas das tépalas, em toda a sua extensão (Figura 6A-D) e na epiderme das anteras, na região do conectivo (Figura 6E).

2.2.4. Cyperus sesquiflorus (Torr.) Mattf. & Kük

Em *Cyperus sesquiflorus*, observa-se, no eixo da espigueta (ráquila), um único feixe vascular (Figura 7A), que se amplia e se divide com a saída do traço vascular para a gluma que subtende a flor bissexuada (Figuras 7B,C; 8A,B). Após a individualização dessa gluma, forma-se um plexo vascular central, do qual divergem os traços das peças florais; o feixe

vascular do eixo da inflorescência aparece em posição oposta ao feixe vascular que irriga a gluma (Figura 7C; 8C).

Do plexo vascular central, divergem primeiramente os traços dos estames (Figuras 7C). Após a individualização dos estames, o plexo vascular se organiza em dois feixes carpelares dorsais em posição dorsiventral e um feixe central (Figuras 7D,E), que corresponde ao feixe do óvulo (Figura 7F). Em níveis superiores, observa-se a individualização de outra gluma, em posição oposta à gluma que subtende a flor bissexuada, e a ráquila, também laminar (Figura 7G). Os feixes vasculares dos estames ascendem pelo conectivo até as anteras (Figura 7G) e os feixes carpelares dorsais irrigam o estilete (Figura 7G) e os dois estigmas, também em posição dorsiventral (Figura 7H). Em algumas espiguetas observamos o aborto dos dois estames da flor bissexuada (Figura 8D,E). No entanto, uma segunda flor estaminada se forma, em posição oposta à flor bissexuada. Nesse caso, o feixe vascular da ráquila se divide (Figura 8F), com a saída do traço vascular da gluma mais distal e de outros dois traços vasculares que adentram os estames (Figura 9A-D). Entre os estames observa-se uma estrutura circular, não vascularizada, que corresponde ao pistilo abortado (Figura 9D). Os feixes vasculares dos estames ascendem pelo conectivo até as anteras (Figura 9E,F).

2.2.5. Desenvolvimento floral de Cyperus sesquiflorus

As espiguetas, em *Cyperus sesquiflorus*, dispõem-se de forma espiralada no eixo da sinflorescência (Figura 10A). Cada espigueta é composta de um eixo (ráquila), com várias glumas dispostas disticamente, as duas mais proximais estéreis (Figura 10B) e as duas mais distais férteis (Figura 10C). As glumas apresentam a bainha fechada, envolvendo toda a espigueta (Figura 10A-C). No desenvolvimento da flor bissexuada observamos a formação dos dois estames, que aparecem na posição latero-abaxial, e do pistilo, no centro do meristema (Figura 10D-G). O gineceu se inicia como um primórdio anelar, ao redor do

meristema central que irá formar o óvulo (Figuras 10E,F; 11D,E). Já nos estágios iniciais de desenvolvimento da flor, os estames se desenvolvem mais rápido que o gineceu (Figura 10D-F). Na Figura 10G é possível observar as glumas férteis dispostas disticamente e duas flores se desenvolvendo, cada uma de um lado do eixo da espigueta (destacado em verde).

O eixo da espigueta, que se alonga acima da flor bissexuada, é alargado, com formato de gluma (Figura 11A,D,G,H). As bainhas das glumas férteis envolvem completamente a flor bissexuada (Figuras 10G; 11A-C). Nessa, em estágios seguintes do desenvolvimento, os estames se diferenciam em filetes e anteras basifixas (Figura 11B,C) e os filetes se alongam (Figura 11E, F). Concomitantemente, surgem duas projeções no ápice do gineceu, em posição dorsiventral, que correspondem aos primórdios dos dois estigmas (Figura 11F-H). Essas projeções então se alongam, formando os dois estigmas (Figura 11I,J), juntamente com o alongamento do ovário e do estilete, por crescimento intercalar (Figura 12A-E). Observa-se também o alongamento das anteras (Figura 12A-E).

Na ráquila, do lado oposto ao da flor bissexuada e acima dessa, desenvolve-se a flor unissexuada (Figuras 10G, 11J), na qual é possível observar o primórdio de dois estames laterais e do gineceu, ao centro (destacado em amarelo) (Figura 12E-G). O primórdio do gineceu, no entanto, aborta já no início do desenvolvimento, não formando uma estrutura anelar (Figura 12F,G). A flor unissexuada já desenvolvida apresenta apenas dois estames em posição lateral, enquanto a flor bissexuada apresenta dois estames latero-abaxiais e o pistilo achatado lateralmente com dois estigmas em posição dorsiventral (Figura 12H).

3. Discussão

Nossos resultados mostram que as espécies de Cyperaceae aqui estudadas apresentam diferentes características morfológicas e anatômicas, sendo as principais delas: redução (perda) de verticilos e peças do perianto, estames, carpelos, bem como a presença de vascularização do perianto e diferentes tipos de morfologia do gineceu.

Nas flores de Cyperoideae, o perianto é o verticilo que apresenta maior variação, tanto em relação à morfologia e anatomia, como em relação ao número e disposição de suas peças [10,12,21]. Das espécies estudadas, *Pleurostachys stricta* é a única espécie que apresenta os dois verticilos do perianto, sendo duas peças no verticilo externo e três peças do verticilo interno, com perda da tépala abaxial externa. Em *Fuirena robusta*, ocorreu a perda total do verticilo externo de tépalas, e, em *Schoenoplectus californnicus*, as tépalas abaxiais do verticilo externo e interno foram perdidas. Acreditamos que, ao longo da evolução, algumas peças do perianto foram suprimidas até sua completa ausência, como no caso de *C. sesquiflorus*.

A redução no número e na estrutura das partes do perianto é comumente relatada para Cyperaceae [10,11,16,17,12]. Em Cyperoideae, geralmente ocorre a perda da tépala abaxial do verticilo externo ou a perda total do verticilo, como relatado para espécies dos gêneros *Dulichium*, *Rhynchospora*, *Scirpeae*, *Scirpinae*, *Heleocharis Scirpus*, *Hypoletreae*, *Lipocarphinae*, *Lipocarpha* e *Hemicarpha* [10,11,14,15]. Já nossos resultados mostram que as perdas das peças do perianto não se dão sempre da mesma forma nas diferentes espécies, evidenciando que os processos de redução observados nas espécies de Cyperoideae não são homogêneos, tendo provavelmente ocorrido de maneira independente, nos diferentes clados, ao longo da evolução da subfamília.

Considerando as análises filogenéticas mais recentes de Cyperaceae [25,7], baseadas em dados moleculares, as espécies aqui estudadas pertencem a diferentes clados. Apenas *Fuirena robusta* e *Schoenoplectus californnicus* são mais relacionadas, pois estão incluídas na tribo Fuireneae. *Cyperus sesquiflorus* (tribo Cypereae) aparece em posição mais derivada em relação à *F. robusta* e *S. californnicus*. Já *Pleurostachys stricta* aparece como a mais basal, na tribo Rhynchosporeae. Nota-se que, ao longo da evolução, ocorreu a perda das peças do perianto, até sua total ausência, como mostrado aqui em *Cyperus sesquiflorus*.

O número de estames, assim como o perianto, pode variar nas flores de Cyperoideae [12,21,18]. Nas espécies estudadas, apenas *Cyperus sesquiflorus* não mantém a condição trímera do androceu, ocorrendo a perda do verticilo externo de estames e do estame adaxial interno. Em *Schoenoplectus californnicus*, ocorre a perda dos estames adaxiais do verticilo externo e interno. Já em *Fuirena robusta* e *Pleurostachys stricta*, o verticilo interno de estames foi suprimido. A perda total do verticilo interno também foi observada em representantes de outros gêneros como, por exemplo, *Cyperus*, *Scirpus*, *Eriophorum*, *Rhynchospora*, *Scleria* por Blaser [10,11], e também em *Ficinia*, *Isolepsis* e *Fuirena* por Vrijdaghs et al. [16,17,12].

Flores com perda do verticilo externo de estame e de estames no verticilo interno, como observado em *C. sesquiflorus*, são encontradas principalmente na tribo Cypereae [26]. Assim como ocorre com o perianto, os estames perdidos não são os mesmos nas diferentes espécies aqui estudadas, o que mostra que os processos de redução ocorreram de forma independente nos diferentes clados de Cyperoideae. Acreditamos que essas diferenças no número e na posição dos estames possam ser resultado da disponibilidade de espaço no meristema floral para a formação desses órgãos, além da influência mecânica da pressão exercida pelas glumas sobre o meristema floral. O tamanho e a forma do meristema floral estão correlacionados com o número de órgãos florais, ou seja, quanto maior o tamanho inicial do meristema, maior será o número de órgãos florais produzidos, resultando em um grande grau de variação morfológica, como demostrado em *Drimys winteri* [27] e para as espécies de *Eucryphia* [28]. Além disso, Vrijdaghs [18] e Monteiro [29] relatam que espiguetas altamente compactadas e a presença de glumas (brácteas) envolvendo o botão floral, como em *Cyperus eragrostis*, *Cyperus luzulae* e espécies de *Pycreus*, limitam a liberdade espacial para o surgimento, número e posição dos órgãos a serem formados em cada verticilo floral.

Há estudos que mostram que a disponibilidade de espaço no meristema floral, somada à interferência de órgãos externos (como as brácteas), afetam a formação dos primórdios das peças florais, tanto com relação ao número, como disposição e morfologia [27,30]. Em *C. sesquiflorus*, por exemplo, que apresenta apenas dois estames, as glumas são dispostas disticamente e suas bainhas fechadas acabam exercendo pressão sobre o primórdio floral, consequentemente afetando o espaço para a formação e posicionamento das peças do perianto e androceu. Além disso, o eixo da espigueta, em sua porção terminal, também tem o formato de uma gluma, envolvendo o primórdio da flor bissexuada e exercendo sobre ele uma pressão mecânica, que provavelmente interfere no desenvolvimento da flor, levando a um menor número de peças (ausência de perianto e apenas dois estames), além do pistilo dímero achatado lateralmente. Segundo Vrijdaghs and Smets [31], a filotaxia das glumas na espigueta em Cyperaceae afetam não só a morfologia da espigueta, como a morfologia floral.

Em relação à vascularização, as espécies aqui estudadas apresentam padrão de vascularização floral semelhante. Em *Fuirena robusta*, *Pleurostachys stricta* e *Schoenoplectus californicus*, os feixes vasculares se organizam em complexos vasculares, antes de formar um plexo vascular central no receptáculo, a partir do qual divergem os traços para as peças de cada verticilo floral, como observado em *Fuirena hispida* por Blaser [10], nas espécies de *Cyperus* [13] e de *Rhynchospora* [15]. Apenas em *Cyperus sesquiflorus* não ocorre a formação de complexos vasculares, apenas o plexo vascular central, o que provavelmente está relacionado à extrema redução floral observada nessa espécie. O padrão de vascularização observado em *C. sesquiflorus* também foi relatado para *Kyllinga nemoralis* por Reynders et al. [13] e para espécies as *Mapania pycnostachya* e *Hypolytrum schraderianum* (Mapanioideae), as quais apresentam espicóides formados por flores unissexuadas, que imitam uma única flor bissexuada [19].

Ainda com relação à vascularização, nossos resultados reforçam a hipótese de que houve uma redução de tamanho das peças do perianto, de membranáceas a cerdas vascularizadas, seguida da supressão da vascularização e, posteriormente, a perda total de peças ou do verticilo. Enquanto *Fuirena robusta* e *Pleurostachys stricta* apresentam tépalas vascularizadas, em *Schoenoplectus californicus* as tépalas são reduzidas a cerdas não vascularizadas e em *Cyperus sesquiflorus* o perianto é complemente suprimido. Nossas análises de desenvolvimento da espigueta de *C. sesquiflorus* mostram que ocorreu a perda total do perianto nessa espécie, sendo as tépalas ausentes, como uma condição provavelmente mais derivada, sem vestígios da vascularização.

Em relação ao gineceu, apenas em *Fuirena robusta*, que possui gineceu trímero, a parede do ovário é vascularizada por três feixes carpelares dorsais, dois adaxiais e um abaxial. Nas três espécies com gineceu dímero, a parede do ovário é vascularizada por dois feixes carpelares dorsais, que ascendem até os estigmas, sem vestígios da vascularização do terceiro carpelo, como observado em outras espécies de Cyperoideae [10,11,15]. Esses feixes carpelares dorsais são laterais nos pistilos achatados dorsiventralmente, como em *Pleurostachys stricta* e *Schoenoplectus californnicus*, e ocupam posição dorsiventral nos pistilos achatados lateralmente, como em *C. sesquiflorus*, alinhados com a posição dos estigmas, assim como foi relatado por Reynders et al. [13] para outras Cyperoideae.

De acordo com Blaser [10,11], o gineceu achatado dorsiventralmente se originou da perda do carpelo abaxial, evidenciada por vestígios da vascularização. Já segundo a hipótese de Reynders et al. [13], ao longo da evolução da família todo o desenvolvimento do gineceu foi reorganizado através da fusão congênita e completa dos carpelos, reduzindo a zona meristemática destinada a formar o gineceu a um primórdio anelar, com a perda de sua natureza carpelar. Segundo os autores, o desenvolvimento do gineceu a partir de um primórdio anelar, associada ao desenvolvimento bidirecional dos feixes vasculares, teria

possibilitado o surgimento de um gineceu livre das restrições carpelares, podendo os estigmas se desenvolverem em outras posições, o que explicaria o aparecimento dos pistilos dímeros achatados lateralmente, como ocorre em *Cyperus sesquiflorus* e em outras espécies, como no gênero *Pycreus* [18]. Acreditamos que nessas espécies o que interfere na morfologia do gineceu e da flor como um todo é o espaço disponível para o desenvolvimento do androceu e gineceu, combinado com o arranjo das glumas da espigueta, que têm disposição dística e bainha fechada envolvendo lateralmente o primórdio floral, impedindo que o pistilo se desenvolva de outra forma.

Chamamos a atenção para o fato de que em *Cyperus sesquiflorus* a espigueta pode apresentar, além da flor bissexuada, uma flor estaminada mais distal. Nossos resultados mostram que essa flor é estaminada pelo aborto do gineceu em estágios iniciais do seu desenvolvimento. Outra característica interessante é o fato do eixo da espigueta assumir o formato de uma gluma em sua porção mais distal, envolvendo o primórdio da flor bissexuada, contribuindo para a morfologia floral modificada observada nessa espécie. Por fim, chamamos a atenção também para a presença de compostos fenólicos nas peças florais. As flores de *Fuirena robusta*, *Pleurostachys stricta* e *Schoenoplectus californicus* apresentam peças florais com idioblastos contendo compostos fenólicos, que estão concentrados principalmente nas tépalas, nas anteras e nos estigmas, e que provavelmente atuam na proteção contra herbívoros e patógenos, como relatado para outras angiospermas [32,33]. Além disso, nessas três espécies estudadas, as células com compostos fenólicos marcam o limite entre as tépalas e os estames, antes da individualização dessas peças, já que os filetes não apresentam células com compostos fenólicos.

4. Material e Métodos

Foram estudadas as seguintes espécies de Cyperaceae: *Fuirena robusta* Kunth. (HRCB 77281) e *Cyperus sesquiflorus* (Torr.) Mattf. & Kük (HRCB 77279), cujas amostras

foram coletadas nos arredores da Lagoa Pequena (Florianópolis/SC), *Pleurostachys stricta* Kunth. (HRCB 77272), coletada na Unidade de Conservação Ambiental Desterro (Florianópolis/SC), e *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Soják (HRCB 75029), coletada na Estação Ecológica Juréia-Itatins/SP, todas com as devidas licenças de coleta. Os vouchers foram depositados no *Herbarium Rioclarense* (HRCB) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (UNESP).

Inflorescências em diferentes fases de desenvolvimento foram fixadas em FAA50 e armazenados em etanol 70% [34].

4.1. Microscopia de luz (ML)

Para estudo da anatomia e vascularização floral, unidades reprodutivas e flores em antese isoladas foram submetidas ao processo de desidratação em série n-butílica para posterior infiltração e inclusão em historresina (Leica Historesin Embedding Kit, Nussloch, Alemanha) [35]. O material incluído foi seccionado em micrótomo rotativo, com 6-8 µm de espessura. As secções foram coradas com ácido periódico – reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina [36,37] e montadas em lâminas permanentes com Entellan (Merck, Darmstadt, Alemanha). As fotomicrografias foram obtidas em microscópio Leica DM 4000B equipado com um dispositivo de captura (Leica DFC 450) e software de digitalização de imagens (Leica Application Suite v.4.0.0).

4.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para análise sob microscopio eletrônico de varredura, espiguetas e flores de *Cyperus sesquiflorus* em diferentes fases do desenvolvimento fixadas em FAA 50 foram desidratadas em série crescente de etanol (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), por cerca de 15 minutos em cada solução. Posteriormente, foram submetidas à secagem ao ponto crítico em gás carbônico (Balzers CPD 050). As amostras foram então fixadas em stubs com fita adesiva, metalizadas

com ouro por um sistema de pulverização catódica (Bal-Tec, SCD 050) e observadas ao microscópio (Jeol, JSM IT 300). As imagens foram obtidas utilizando-se o sistema de captura de imagens do microscópio. Tais análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica "Elliot Watanabe Kitajima", da ESALQ/USP.

Os diagramas que ilustram a arquitetura floral de cada espécie foram feitos usando o programa Inkscape 1.1.

5. Conclusões

A diversidade morfológica aqui observada nas flores de Cyperoideae é resultado de perdas de peças do perianto, do androceu e do gineceu, somada a mudanças na morfologia do pistilo. A perda de tépalas e estames em diferentes posições do perianto e androceu, respectivamente, nas diferentes espécies estudadas, evidenciam que esses processos de redução ocorreram de forma independente nos diferentes clados da subfamília. A estrutura da espigueta e consequente interferência das glumas no desenvolvimento do primórdio floral parece ser um dos principais fatores que determinam a morfologia floral em Cyperoideae.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, pela bolsa de doutorado concedida à LROS (processo nº 170850/2017-0) e pela bolsa de pós-doutorado concedida à AO (processo nº 157531/2018-0). O presente trabalho foi realizado também com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 (bolsa PNPD para AO).

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

1. Bruhl, J.J. Sedge genera of the world: relationships and a new classification of the Cyperaceae. *Austral. Syst. Bot.* **1995**, *8*, 125–305.
2. Goetghebeur, P. Cyperaceae. In: Kubitzki K, ed. The families and genera of vascular plants. Springer: Berlin, Germany **1998**; pp. 141–190.
3. Govaerts, R.; Koopman, J.; Simpson, D.; Goetghebeur, P.; Wilson, K.; Egorova. T.; Bruhl, J. World checklist of Cyperaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, **2021**. Kew Website at http://wcsp.science.kew.org/ Acesso em: 21 ago. 2021.
4. Simpson, D.A.; Muasya, A.M.; Alves, M.; Bruhl, J.J, Dhooge, S.; Chase, M.W.; Furness, C.A.; Ghamkhar, K.; Goetghebeur, P, Hodkinson, T.R, Marchant, A.D, Nieuborg, R.; Reznicek, A.A.; 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 *rbc*L analysis. *Aliso* **2007**, *23*, 72–83.
5. 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. *Bot. Rev.* **2009**, *75*, 2–21.
6. Hinchliff, C.E.; Roalson, E,H. Using supermatrices for phylogenetic inquiry: na example using the sedges. *Syst. Biol.* **2013**, *62*, 205-219.
7. Semmouri, I.; Bauters, K.; Léveille-Bourret, E.; Starr, J.R.; Goetghebeur, P.; Larridon, I. Phylogeny and systematics of Cyperaceae, the evolution and importance of embryo morphology. *Bot. Rev*. **2019**, *85*, 1-39.
8. Vegetti, A.C. Synflorescence typology in Cyperaceae. *Ann. Bot. Fenn*. **2003**, *40*, 35–46.
9. Guarise, N,J.; Vegetti, A,C. Processes responsible of the structural diversity of the Cyperaceae synflorescence: Hypothetical evolutionary trends. *Flora* **2008**, *203*, 640–647.
10. Blaser, W.H. Studies in the Morphology of the Cyperaceae. Morphology of the flowers.

Scirpoid genera. *Am. J. Bot*. **1941a**, *28*, 542–551.

11. Blaser, W,H. Studies in the Morphology of the Cyperaceae . I . Morphology of flowers. Rhynchosporoid genera. *Am. J. Bot.* **1941b**, *28*, 832–838.
12. Vrijdaghs, A.; Muasya, A.M.; Goetghebeur, P.; Caris, P.; Nagels, A.; Smets, E. A Floral Ontogenetic Approach to Questions of Homology within the Cyperoideae (Cyperaceae). *Bot. Rev.* **2009**, *75*, 30–51.
13. Reynders M.; Vrijdaghs A.; Larridon I.; Huygh W.; Leroux O.; Muasya, A.M; Goetghebeur, P. Gynoecial anatomy and development in Cyperoideae (Cyperaceae, Poales): Congenital fusion of carpels facilitates evolutionary modifications in pistil structure. *Plant Ecol Evol.* **2012**, *145*, 96–125.
14. Lucero, L.E.; Vegetti, A.C.; Reinheimer, R. Evolution and development of the spikelet and flower of *Rhynchospora* (Cyperaceae). *Int. J. Plant. Sci.* **2014**, *175*, 186-201.
15. Monteiro, M.M.; Scatena, V.L.; Oriani, A. Comparative floral anatomy of *Rhynchospora consanguinea* and *Rhynchospora pubera* (Cyperoideae, Cyperaceae). *Plant Syst. Evol*. **2017**, *303*, 283-297.
16. Vrijdaghs, A.; Caris, P.; Goetghebeur, P.; Smets, E. Floral ontogeny in *Scirpus*, *Dulichium* and *Eriophorum* (Cyperaceae), with special reference to the perianth. *Ann. Bot.* **2005a**, *95*, 1199-1209.
17. Vrijdaghs, A.; Goetghebeur, P.; Muasya, A.M.; Caris, P.; Smets, E. Floral ontogeny in *Ficinia* and *Isolepis* (Cyperaceae), with focus on the nature and origin of the gynophore. *Ann. Bot*. **2005b**, *96*,1247–1264.
18. Vrijdaghs, A.; Reynders, M.; Muasya A.M.; Larridon, I.; Goetghebeur, P.; Smets, E.F. Morphology and development of spikelets and flowers in *Cyperus* and *Pycreus* (Cyperaceae). *Plant Ecol Evol* **2011**, *144*, 44–63.

19. Monteiro, M.M.; Scatena, V.L.; Oriani, A. Anatomy and development of the reproductive units of *Mapania pycnostachya* and *Hypolytrum schraderianum* (Mapanioideae, Cyperaceae). *Aust. J. Bot*. **2016**, *64*, 389-400.

20. Vrijdaghs, A.; Goetghebeur, P.; Muasya, A.M.; Smets, E.; Caris, P. The nature of the perianth in *Fuirena* (Cyperaceae). *S. Afr. J. Bot*. **2004**, *70*, 587–594.

21. Vrijdaghs, A.; Reynders, M.; Larridon, I.; Muasya, A.M.; Smets, E.; Goetghebeur, P. Spikelet structure and development in Cyperoideae (Cyperaceae): A monopodial general model based on ontogenetic evidence. *Ann. Bot.* **2010**, *105*, 555–571.

22. Reutemman, A.G.; Vegetti, A.C.; Pozner, R. Structure and development of the style base in *Abildgaardia, Bulbostylis* and *Fimbristylis* (Cyperaceae, Cyperoideae, Abildgaardiae). *Flora* **2012**, *207*, 223-236

23. Browning, J.; Gordon-Gray, K.D. The inflorescence in southern African species of *Bolboschoenus* (Cyperaceae). *Ann. Bot. Fenn*. **1999**, *36*, 81-97.

24. Richards, J.H.; Bruhl, J.J.; Wilson, K.L. Flower or spikelet? Understanding the morphology and development of reproductive structures in *Exocarya* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). *Am. J. Bot*. **2006**, *93*, 1241–1250.

25. 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. *J. Biogeogr*. **2016**. *43*, 1893–1904.

26. Vrijdaghs, A.; Goetghebeur, P.; Smets, E.; Muasya, A.M. The floral scales in *Hellmuthia* (Cyperaceae, Cyperoideae) and *Paramapania* (Cyperaceae, Mapanioideae): An ontogenetic study. *Ann. Bot.* **2006**, *98*, 619–630.

27. Doust, A. The developmental basis of floral variation in *Drimys winteri* (Winteraceae). *Int J Plant Sci.* **2001**. *162*, 697–717.

28. Bull-Hereñu, K.; Ronse de Craene, L.; Pérez, F. Floral meristem size and organ number correlation in *Eucryphia* (Cunoniaceae). *J. Plant Res*. **2018**, *131*, 429–441.

29. Monteiro, M.M. Desenvolvimento, anatomia e evolução de caracteres florais em cyperaceae (Poales). PhD thesis, Universidade de São Paulo, Brasil, **2020**.

30. Ronse De Craene, L.P. Understanding the role of floral development in the evolution of angiosperm flowers: a clarification from different perspectives. *J Plant Res*. **2018**, *131*, 367–393.

31. Vrijdaghs, A.; Smets, E. Spatial constraints influence the shape of spikelets and flowers in Cyperoideae (Cyperaceae)**.** IBC-2017 Shenzhen, China. *Abstract Book 1*. **2017**, T2-22-03 p. 159.

32. Beckman, C.H. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants?. *Physiol. Mol. Plant Pathol*. **2000**, *57*, 101–110.

33. Barros, T.C.D.; Marinho, C.R.; Pedersoli, G.D.; Paulino, J.V.; Teixeira, S.P. Beyond pollination: diversity of secretory structures during flower development in different legume lineages. *Acta bot. bras*. **2017**, *31*, 358–373.

34. Johansen, D.A. Plant microtechnique. Mc Graw-Hill Book Co, New York. **1940**.

35. Gerrits, P.O.; Smid, L. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *J. Microsc.* **1983**, *132*, 81–85.

36. O'Brien ,T.P.; Feder, N.; McCully, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **1964**, *59*, 368–373.

37. Feder, N.; O'Brien, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. *Am. J. Bot.* **1968**, *55*, 123–142.

Legendas

Figura 1. Diagramas florais de diferentes espécies de Cyperoideae. (A) Representação de uma flor ancestral hipotética, de acordo com Blaser (1941a). (B) *Fuirena robusta*. (C) *Pleurostachys stricta*. (D) *Schoenoplectus californnicus*. (E) *Cyperus sesquiflorus.* Legenda: ⊕, eixo floral; em amarelo: tépalas; em cinza: gluma; em azul: estames; em verde: pistilo.

Figura 2. Secções transversais da ráquila até a base da flor de *Fuirena robusta.* (A-C) Saída do traço vascular da gluma fértil. (D) Divergência dos traços vasculares das tépalas (círculos amarelos) e dos estames (círculos vermelhos). Cada peça floral recebe um apenas um traço vascular. (E) Divergência dos feixes carpelares dorsais (círculos azuis). (F) Início da individualização das peças do perianto e do androceu. Barras = 25 µm (A-D), 50 µm (E,F).

Figura 3. Secções transversais da flor de *Fuirena robusta*, da base para o ápice. (A,B) Individualização das peças do perianto, androceu e gineceu. (C) Anteras e estilete. (D) Anteras e estigmas. Barras = 50 µm (A, B), 25 µm (C, D).

Figura 4. Secções transversais da ráquila e da flor de *Pleurostachys stricta*, da base para o ápice. (A) Ráquila. (B) Individualização da gluma e do receptáculo floral, com três complexos vasculares. (C) Formação de um plexo vascular central no receptáculo. (D) Saída dos traços das tépalas (círculos amarelos). (E) Início da individualização das tépalas e saída dos traços dos estames (círculos vermelhos). (F) Individualização dos estames e divergência dos feixes carpelares dorsais (círculos azuis). (G) Base da flor, com perianto, androceu e gineceu individualizados; note que cada tépala e cada estame recebe um feixe vascular. (H) Ápice da flor, mostrando as anteras e os estigmas. Barras = 100 µm (A), 25 µm (B,H), 50 µm (C-G).

Figura 5. Secções transversais da ráquila e da base da flor de *Schoenoplectus californicus*. (A) Saída do traço vascular da gluma fértil. (B) Individualização da gluma. (C) Receptáculo, com três complexos vasculares. (D) Formação de um plexo vascular central no receptáculo. (E,F) Início da individualização das tépalas não vascularizadas e saída dos traços dos estames (círculos vermelhos). (G) Início da individualização dos estames e saída dos traços carpelares dorsais (círculos azuis). (H) Peças florais individualizadas. Barras = 25 µm (A,B), 50 µm (C-H).

Figura 6. Secções anatômicas da flor de *Schoenoplectus californnicus*, da base para o ápice. (A,B) Tépalas, filetes e base do ovário, no qual se observa os feixes carpelares dorsais em posição lateral e um feixe central, que irriga o único óvulo. As tépalas não são vascularizadas. (C) Região mediana do ovário. (D) Anteras e estilete. (E) Anteras e estigmas. Barras = 50 µm (A-D), 25 µm (E).

Figura 7. Secções transversais da espigueta de *Cyperus sesquiflorus*, passando da base até o ápice da flor bissexuada. (A) Ráquila e glumas estéreis. (B) Saída do traço vascular da primeira gluma fértil. (C) Individualização da gluma fértil e saída dos traços dos estames (círculos vermelhos), a partir de um plexo vascular central. (D) Individualização dos estames e do pistilo. (E,F) Base do ovário, no qual se observa os feixes carpelares dorsais em posição dorsiventral e um feixe central, que irriga o único óvulo. (G) Anteras e estilete; note a individualização da segunda gluma fértil e a ráquila expandida, com formato de gluma. (H) Anteras e estigmas. ra, ráquila; glt, traço da gluma. Barras = 100 µm (A, C-H), 50 µm (B).

Figura 8. Secções transversais da espigueta de *Cyperus sesquiflorus*, passando na altura da saída da primeira gluma fértil até a altura da base do ovário da flor bissexuada. (A) Ráquila. (B) Saída do traço vascular da primeira gluma fértil. (C) Início da individualização da gluma fértil e formação de um plexo vascular central. (D) Gluma e pistilo individualizados, este último com três feixes vasculares, dois em posição dorsiventral (feixes carpelares dorsais) e um central (feixe do óvulo). Os estames são abortados. (E) Detalhe mostrando o estame abortado (seta). (F) Base do ovário, no início da porção simplicada; note a divisão do tecido vascular da ráquila, formando três complexos vasculares. Barras = 100 µm (A-D, F), 25 µm (E).

Figura 9. Secções transversais da espigueta de *Cyperus sesquiflorus*, passando na altura mediana do ovário da flor bissexuada até o ápice da flor unissexuada, que é mais distal. (A) Saída do traço da segunda gluma fértil e dos traços dos estames (círculos vermelhos). (B-D) Individualização dos dois estames laterais e do pistilo abortado, na posição central. (E) Detalhe dos filetes. (F) Detalhe das anteras protegidas pelas glumas. Barras = 100 µm (A), 50 µm (B-F).

Figura 10. Desenvolvimento das espiguetas e da flor bissexuada de *Cyperus sesquiflorus*, sob MEV. (A) Disposição espiralada das espiguetas no eixo da sinflorescência. O profilo de cada espigueta foi retirado. (B,C) Desenvolvimento das glumas, as duas mais proximais (incluindo o profilo) estéreis, seguidas de duas glumas férteis. (D-F) Início do desenvolvimento da flor bissexuada, na axila da primeira gluma fértil. O eixo da espigueta está destacado em verde. Note que o gineceu se desenvolve a partir de um primórdio anelar. (G) Espigueta com as duas glumas férteis, a flor bissexuada em desenvolvimento e, do outro lado da espigueta, os primórdios dos estames e do gineceu da flor unissexuada. gl, gluma; g, gineceu; s, estame; st, estigma. Barras = 100 µm (A-D,G), 50 µm (E,F).

Figura 11. Estágios sucessivos do desenvolvimento da flor bissexuada de *Cyperus sesquiflorus*, sob MEV. (A-C) Desenvolvimento dos estames em posição latero-abaxial, com a diferenciação das anteras que são bitecas, basifixas, com deiscência longitudinal. O eixo da espigueta está destacado em verde. (D,E) Detalhe do gineceu em início de desenvolvimento, surgimento com um primórdio anelar ao redor do meristema central. (F) Início do alongamento dos filetes e surgimento dos primórdios dos dois estigmas, no ápice do gineceu. (G-J) Alongamento dos filetes e dos estigmas. Note o formato de gluma do eixo da espigueta. gl, gluma; g, gineceu; ov, ovário; s, estame; st, estigma. Barras = 100 µm (A-C,G-J), 20 µm (D), 50 µm (E,F).

Figura 12. Estágios finais do desenvolvimento da flor bissexuada e início do desenvolvimento da flor unissexuada de *Cyperus sesquiflorus*, sob MEV. (A-D) Alongamento das anteras e dos estigmas. O ovário e o estilete também se alongam por crescimento intercalar. (E-G) Início do desenvolvimento da flor unissexuada, com dois primórdios de estames laterais e o primórdio do gineceu em posição central, como uma protuberância arredondada (destacada em amarelo). (H) Flor bissexuada em pré-antese, com dois estames latero-abaxiais e o pistilo achatado lateralmente com dois estigmas em posição dorsiventral. gl, gluma; ov, ovário; s, estame; st, estigma. Barras: 100 µm (A,C,E); B,D,F = 50 µm; G = 20 µm; H = 500 µm.

Figura 1.

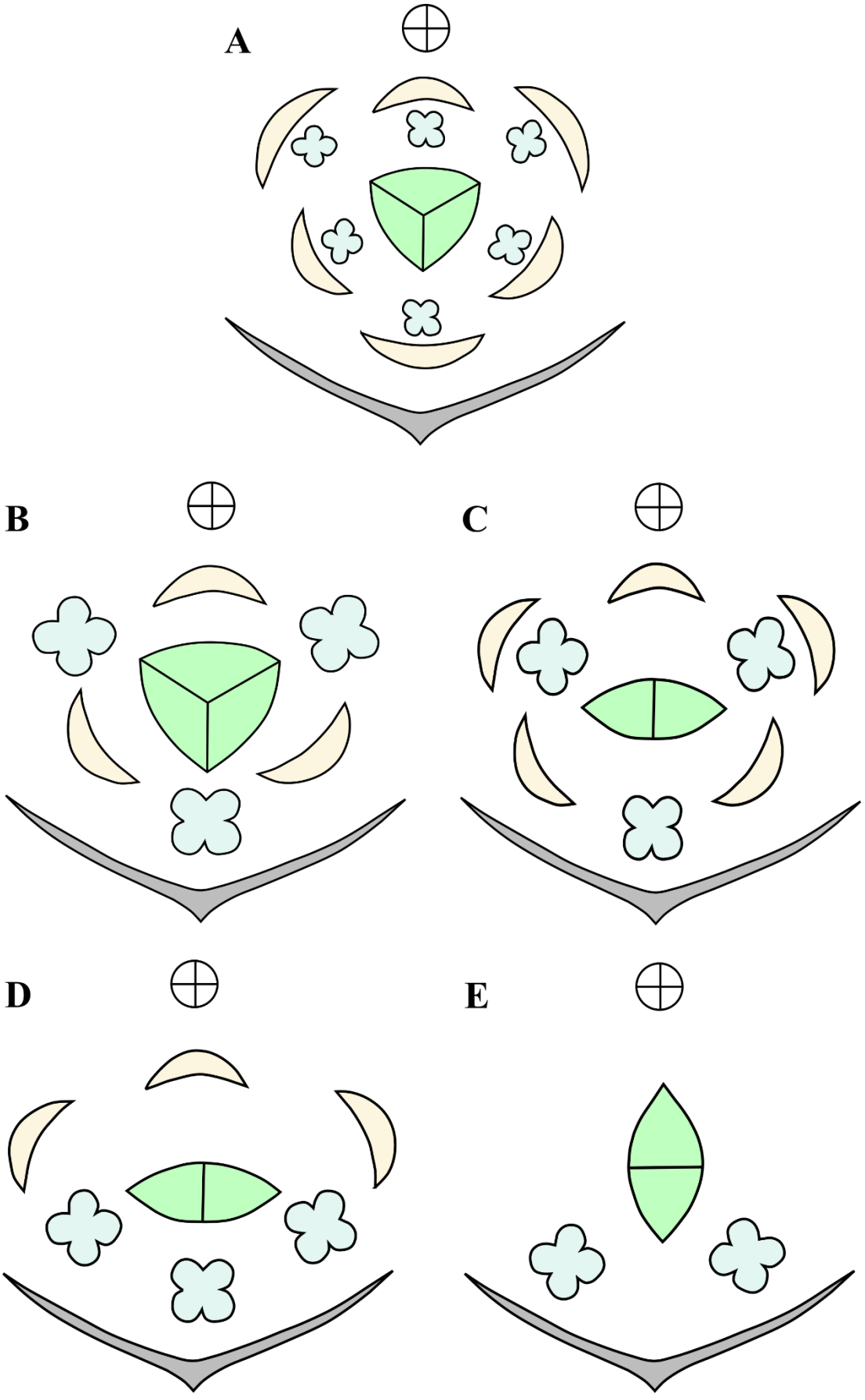


Figura 2.

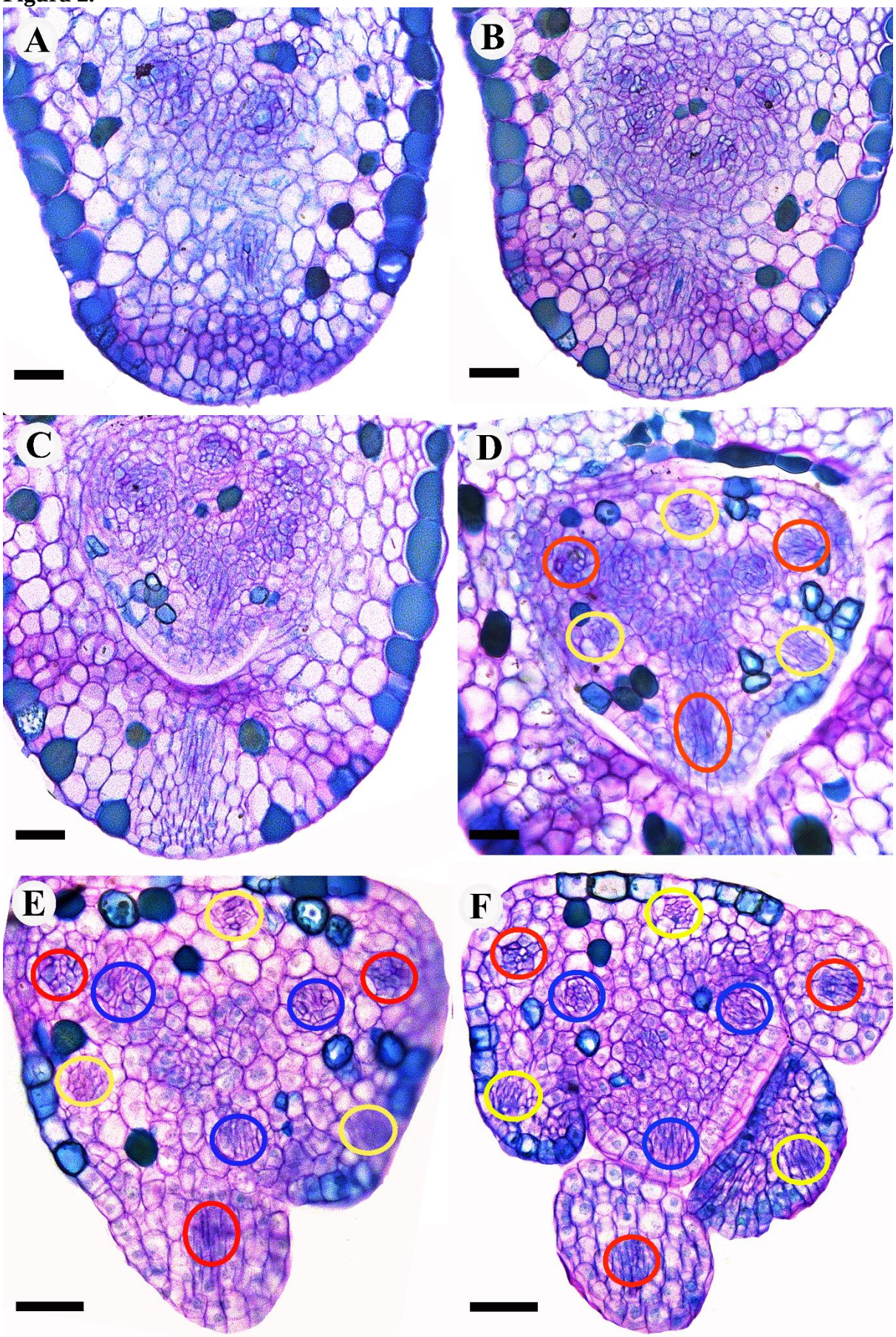


Figura 3.

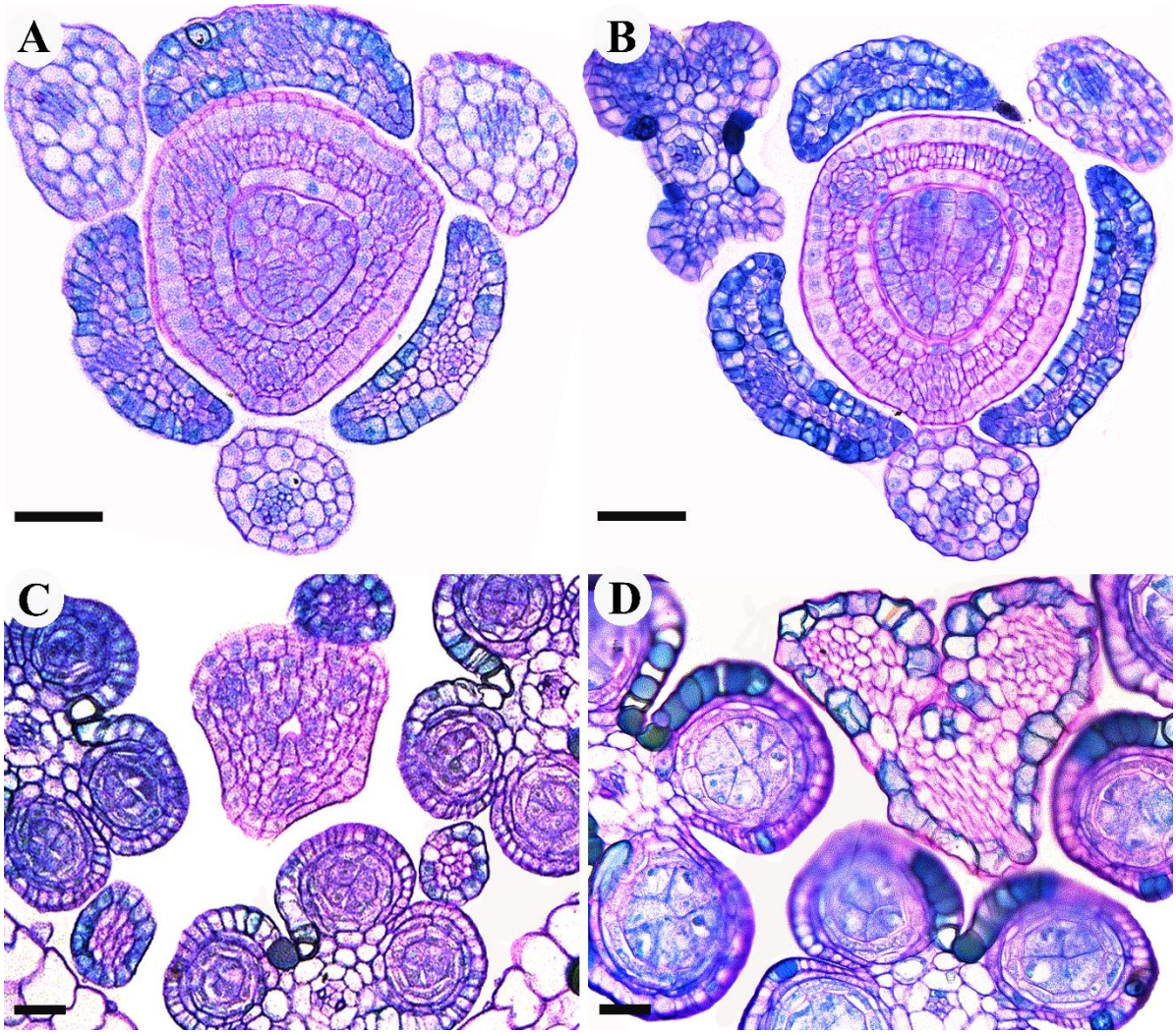


Figura 4.

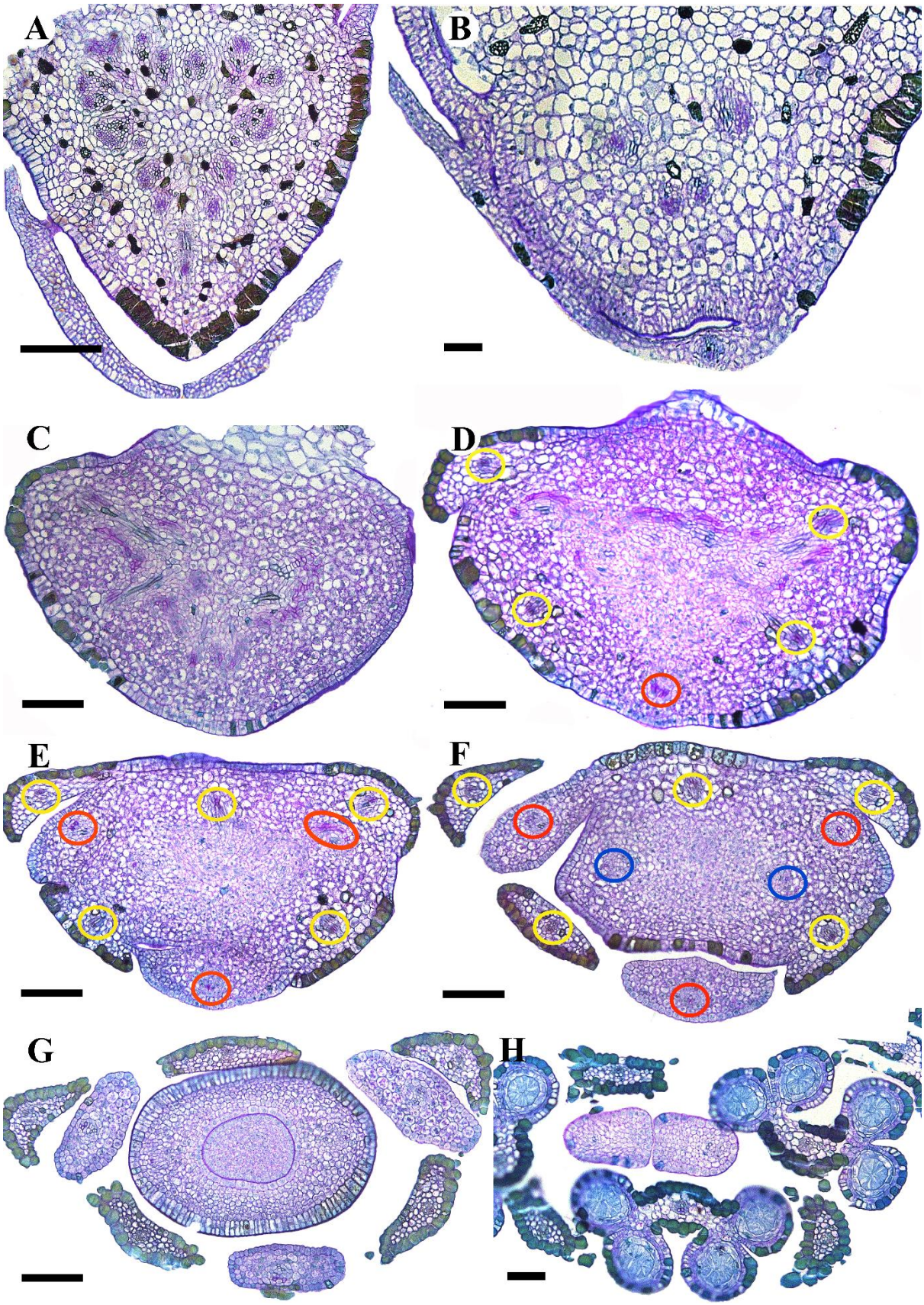


Figura 5.

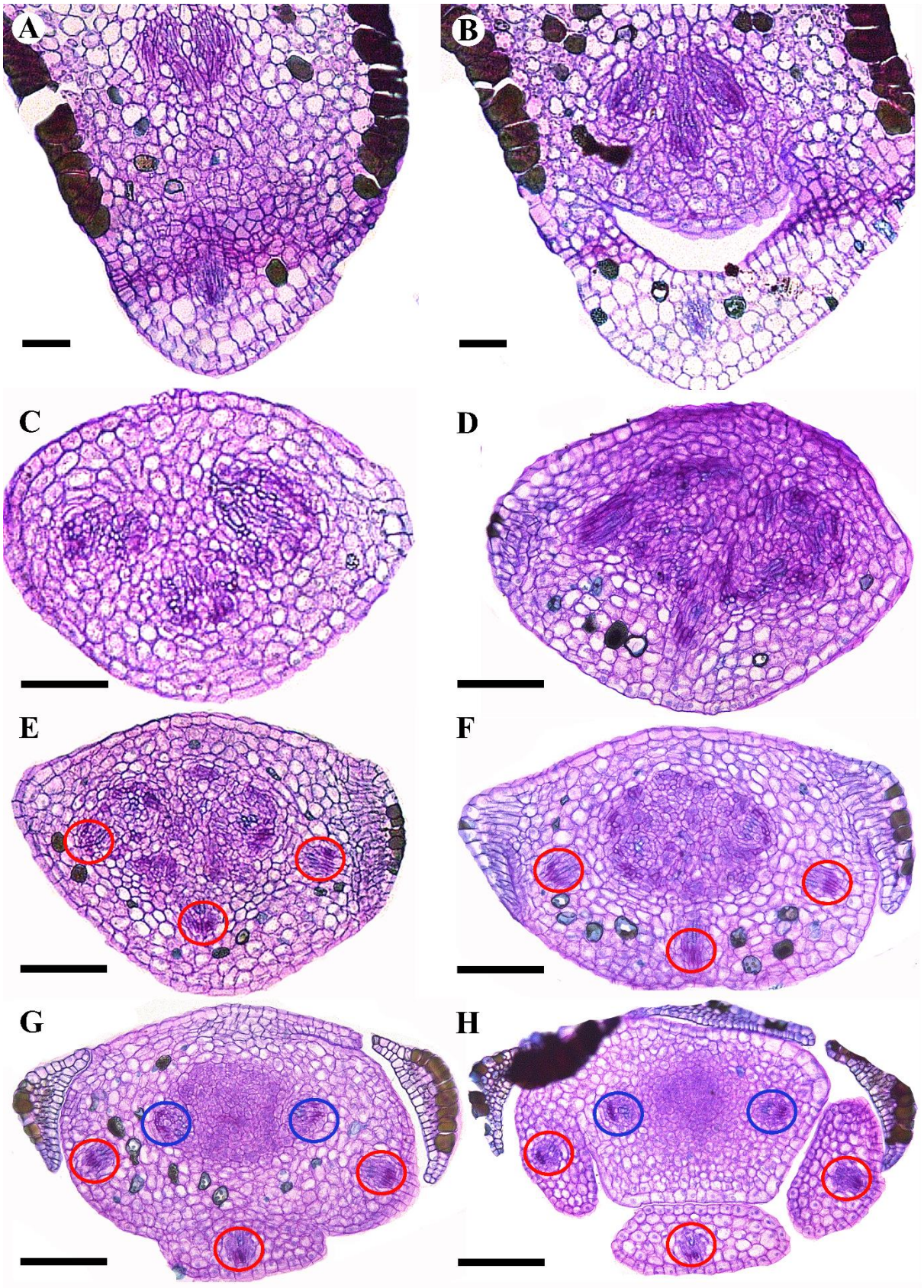


Figura 6.

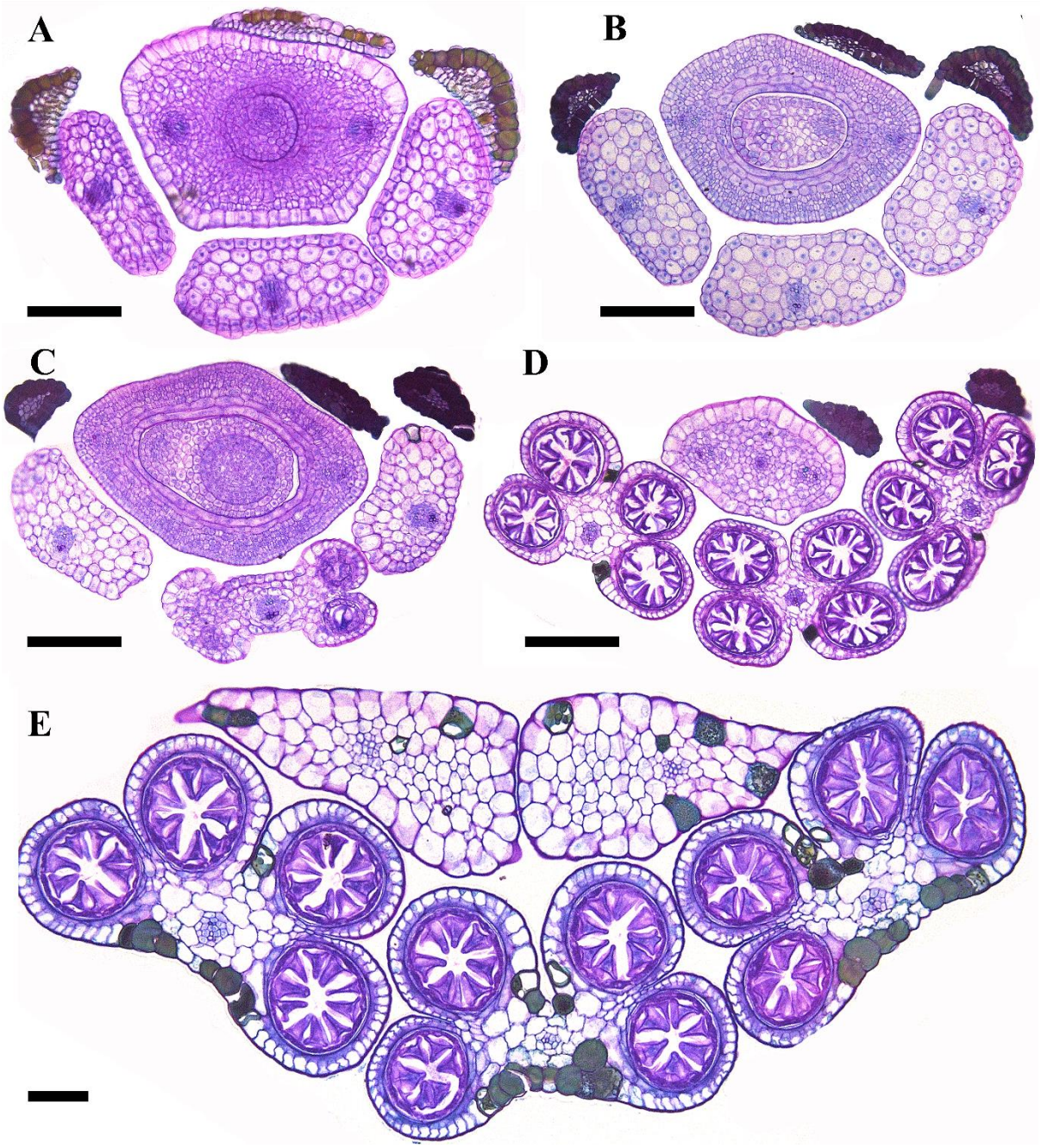


Figura 7.

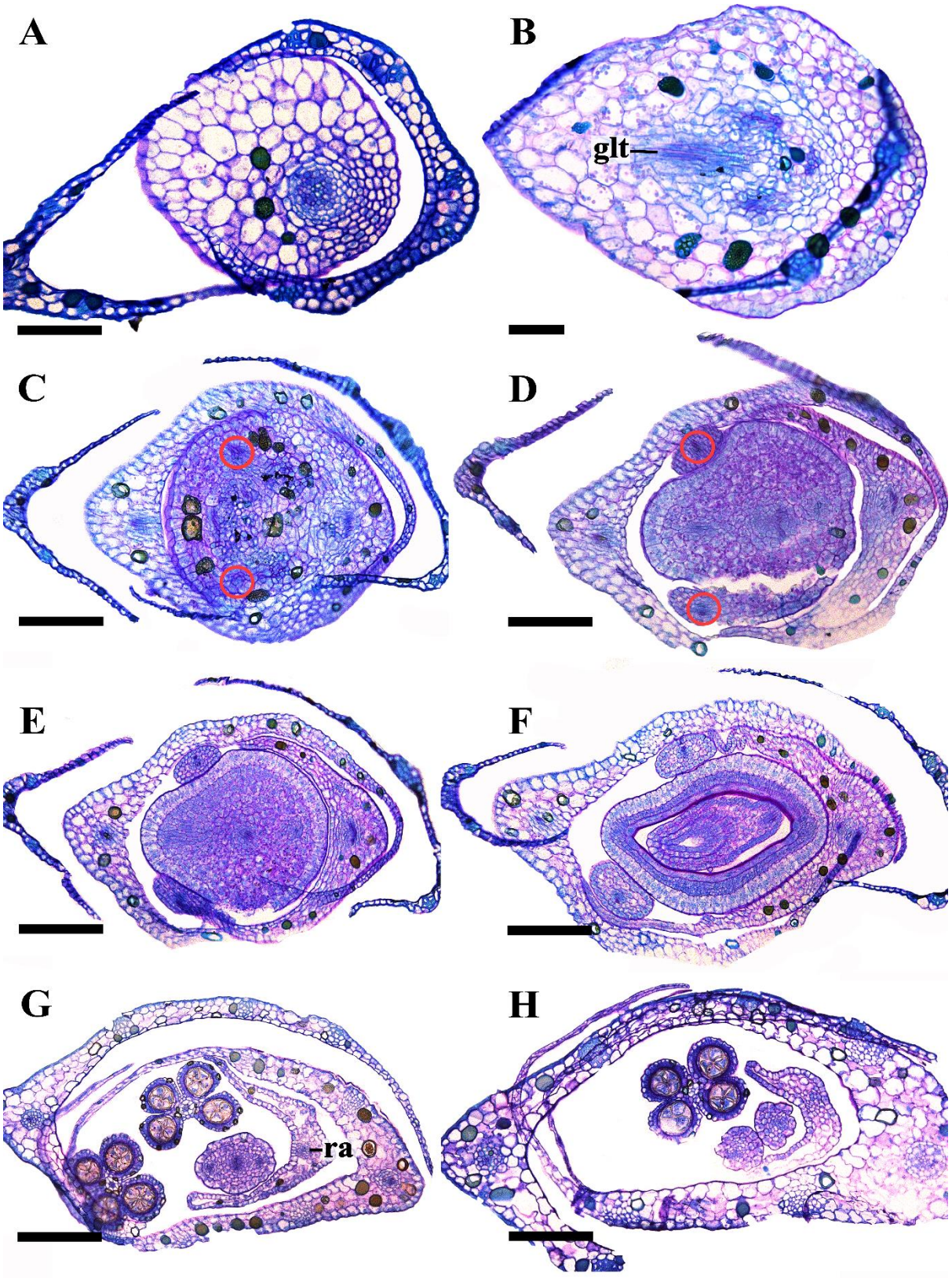


Figura 8.

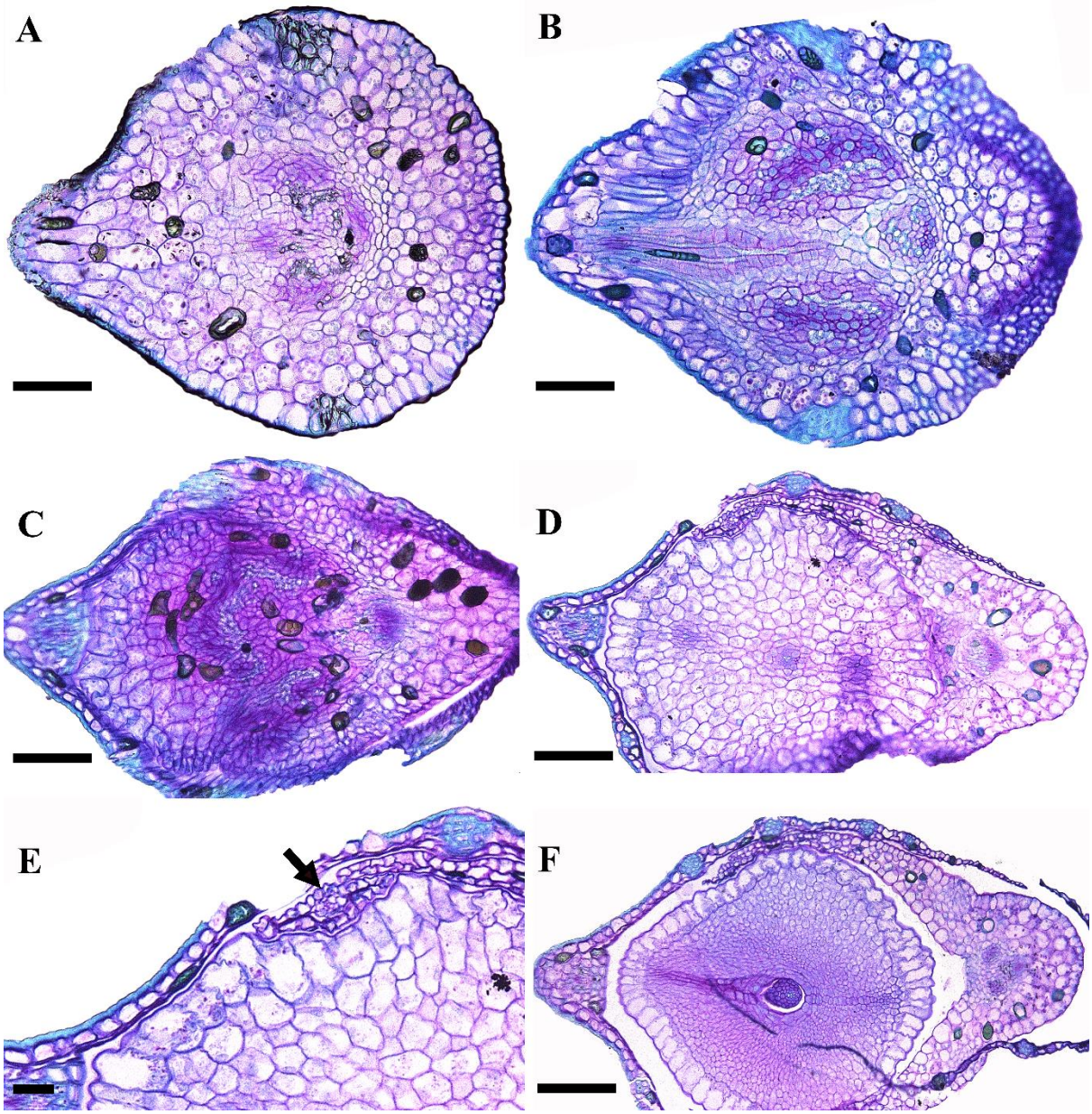


Figura 9.

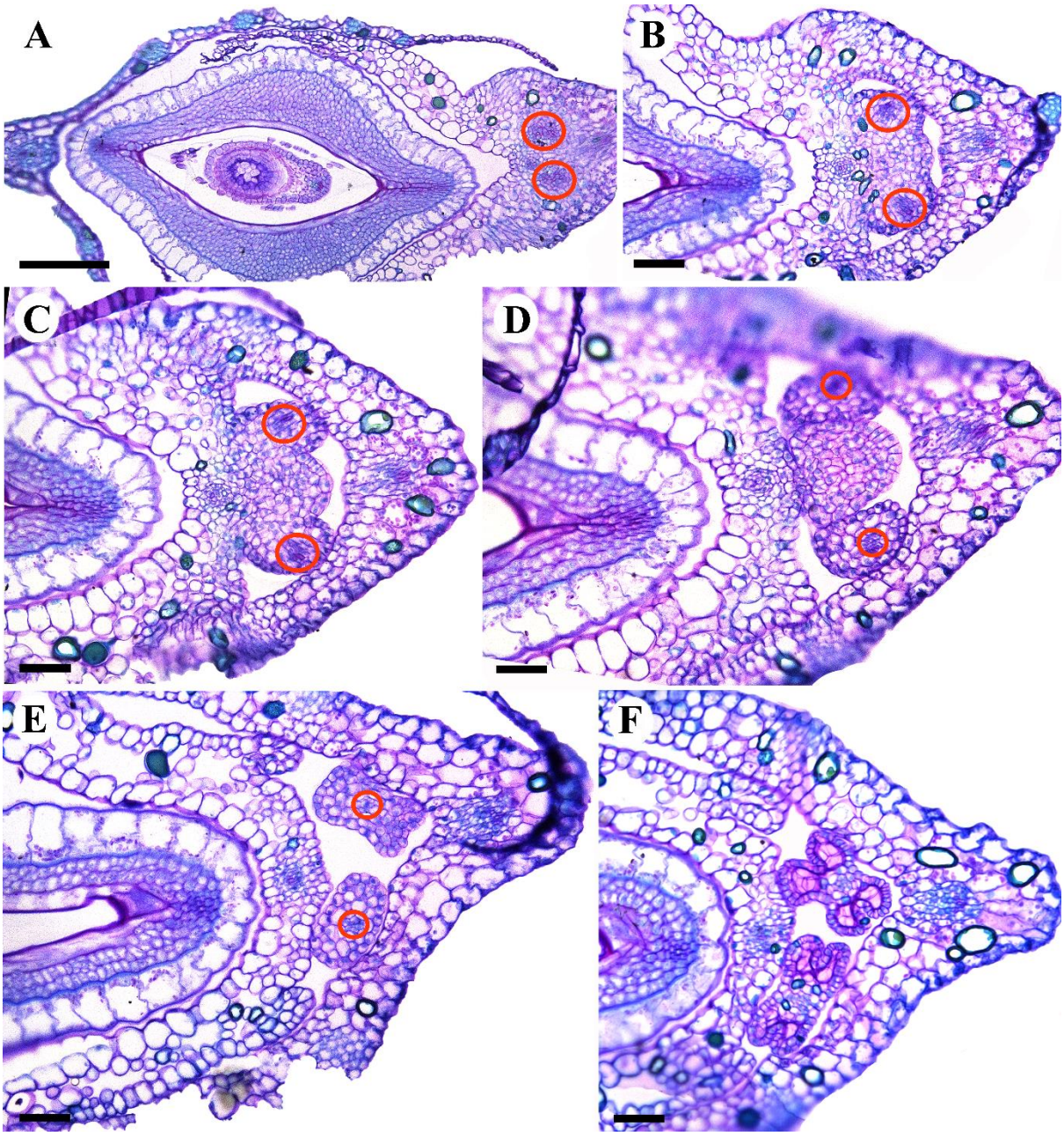


Figura 10.

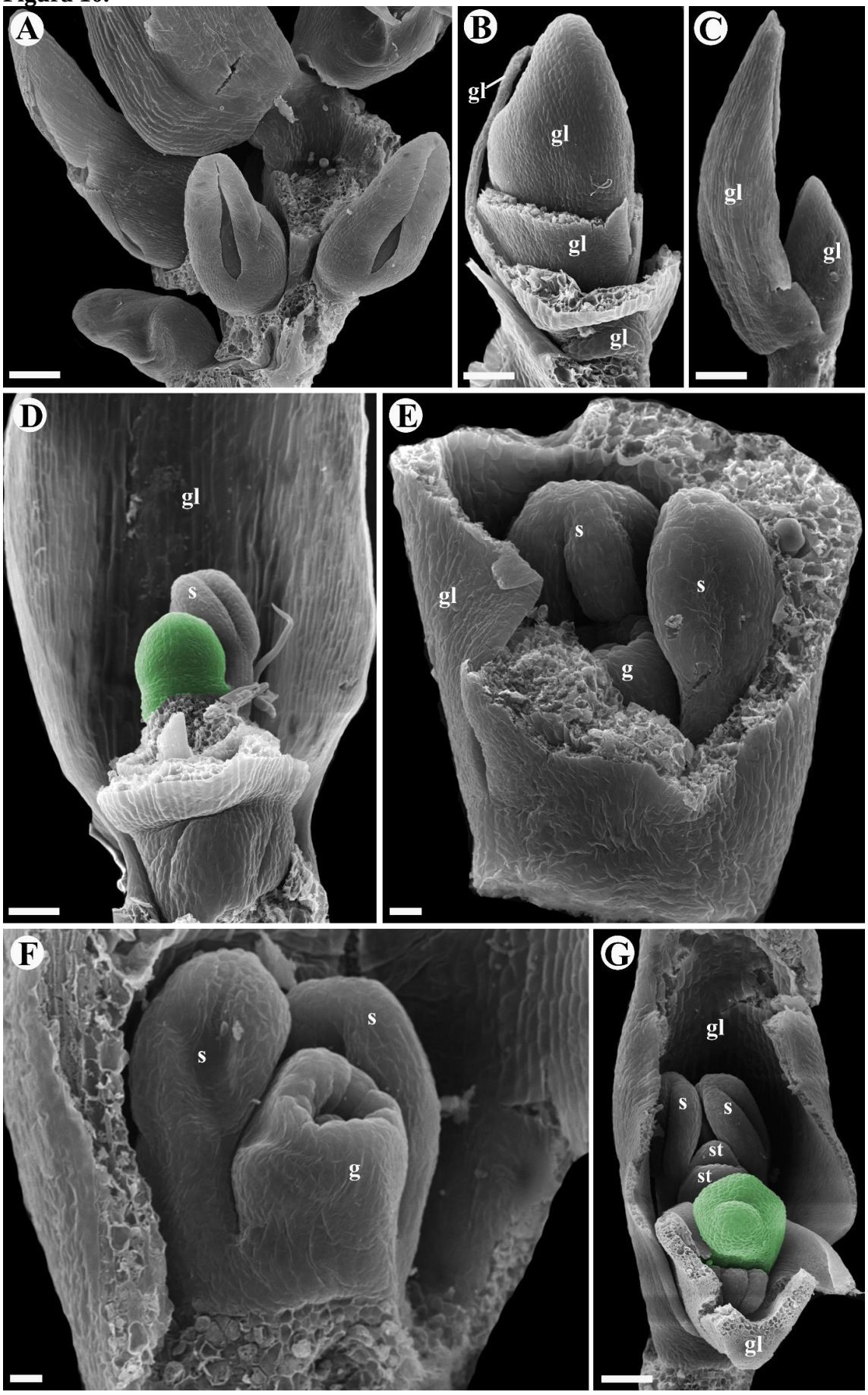


Figura 11.

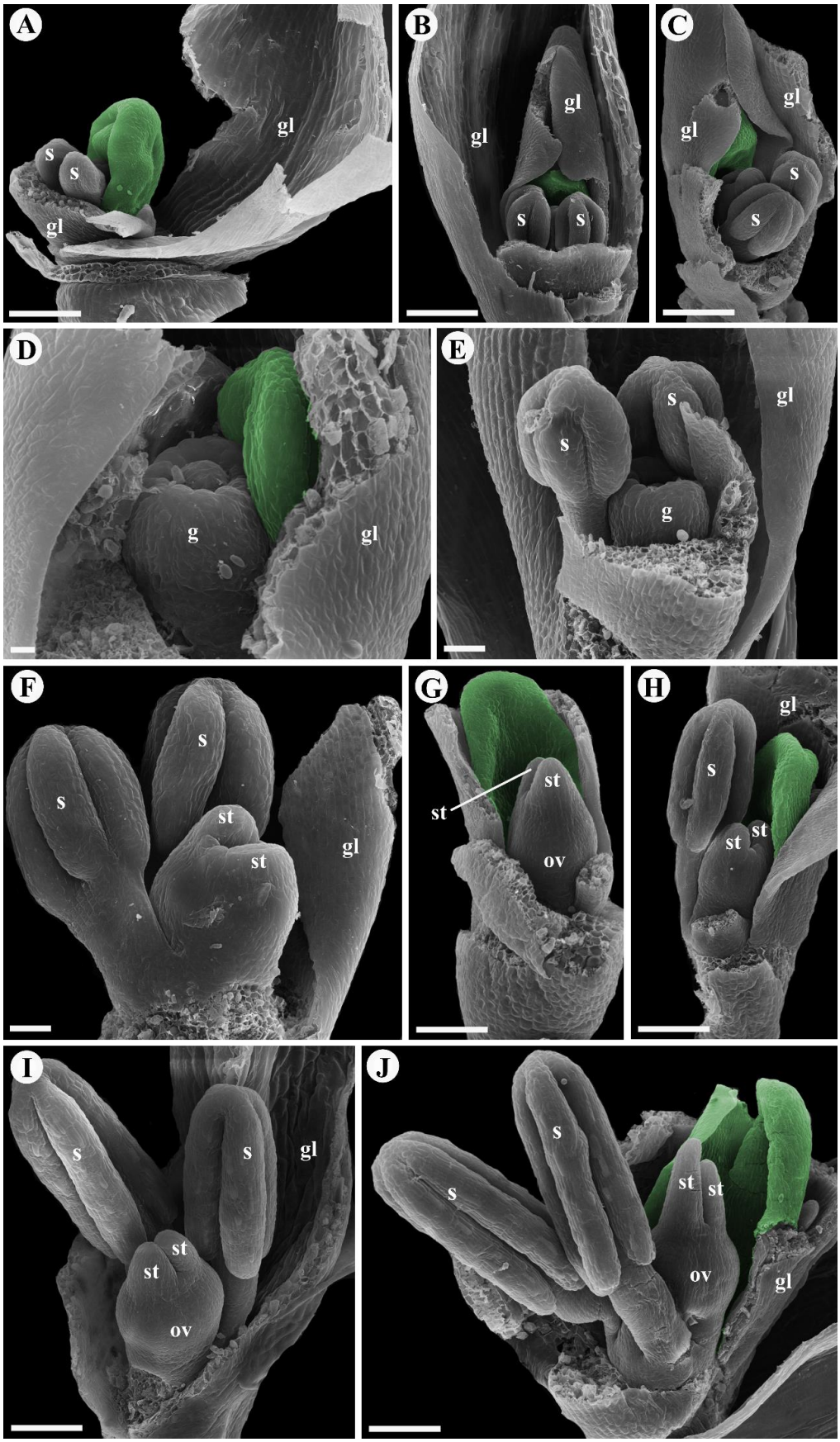

A
gl
s
s
gl
B
gl
gl
s
s
C
gl
gl
s
s
D
g
gl
E
s
s
gl
g
F
s
s
st
st
gl
G
st
st
ov
H
gl
s
st
st
I
s
s
gl
st
st
ov
J
s
s
st
st
ov
gl

Figura 12.

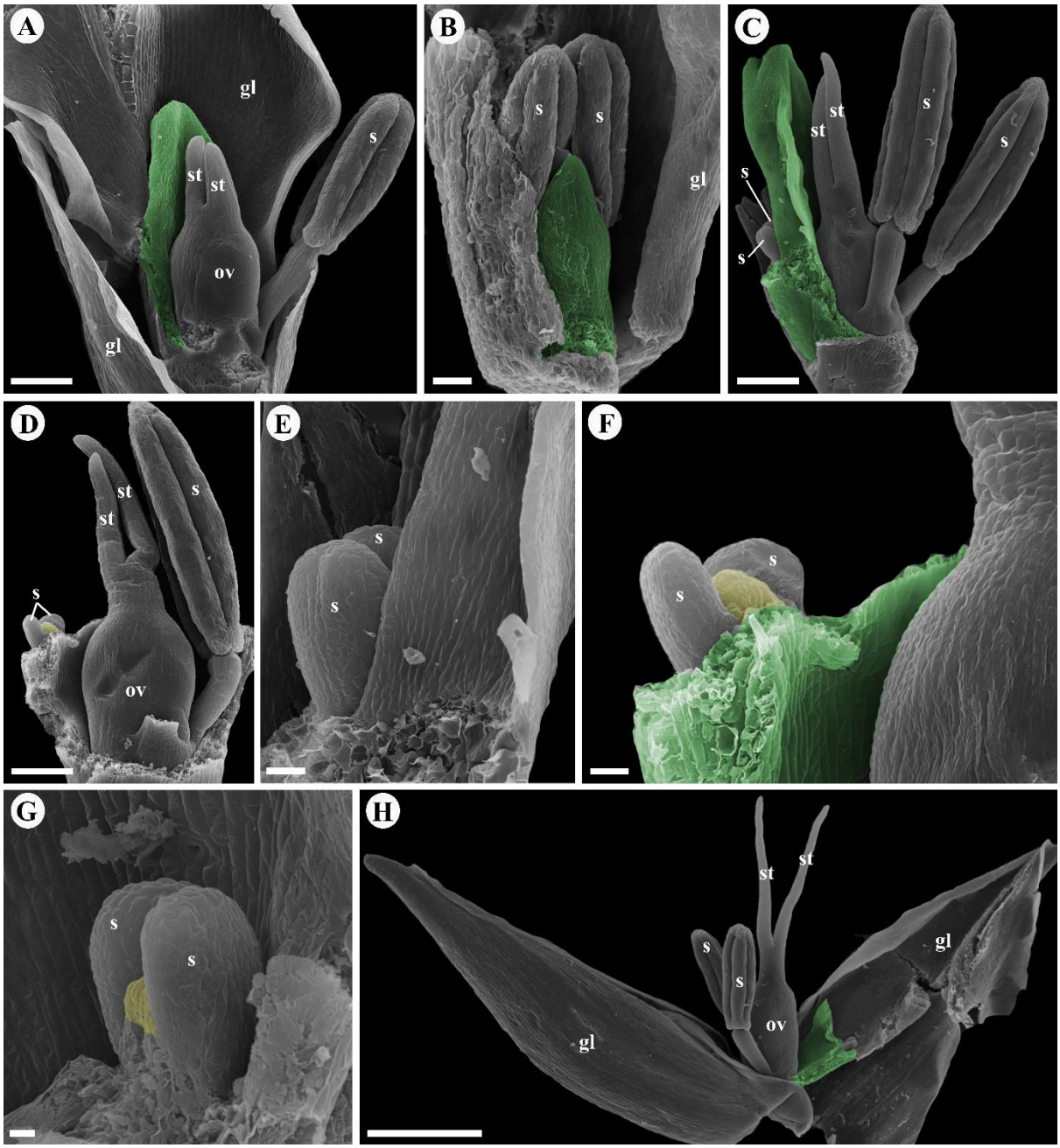

A
gl
s
st
st
ov
gl
B
s
s
gl
C
st
st
s
s
s
s
D
st
s
st
s
ov
E
s
s
F
s
s
G
s
s
H
st
st
s
s
ov
gl
gl

Tabela 1. Variação da morfologia floral nas espécies de Cyperaceae estudadas.

Espécies	Nº de tépalas	Nº de estames	Nº de estigmas	Forma do gineceu
Cyperus sesquiflorus	ausente	2	2	dímero, achatado lateralmente
Fuirena robusta	3	3	3	trímero
Pleurostachys strito	5	3	2	dímero, achatado dorsiventralmente
Schoenoplectus californicus	3	3	2	dímero, achatado dorsiventralmente

CAPÍTULO 4

Desenvolvimento do envoltório seminal e pós-seminal em *Juncus tenuis* (Juncaceae, Poales): aspectos ecológicos e evolutivos

Lucimara Reis de Oliveira Silva[1]·Aline Oriani[1,2]

[1] Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Departamento de Biodiversidade, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (UNESP), Rio Claro 13506- 900, São Paulo, Brasil

[2] Departamentos de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba 13418-900, São Paulo, Brasil

✉ Aline Oriani
alineoriani@yahoo.com.br

Manuscrito submetido ao periódico *Plant Systematics and Evolution*

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo analisar o desenvolvimento do envoltório da semente e pós-seminal de *Juncus tenuis* (Juncaceae), para entender aspectos ecológicos e evolutivos. Para tanto, sementes maduras foram colocadas para germinar em condições controladas e analisadas a cada 24 horas durante 60 dias. Sementes e plântulas em diferentes fases do desenvolvimento foram analisadas sob estereomicroscópio, microscopia de luz e eletrônica de varredura. O envoltório seminal é formado por endotégmen, endotesta e exotesta. O endotégmen é tanínifero e a exotesta é mucilaginosa. A porcentagem de germinação foi baixa, de 28%, o que pode estar relacionado à necessidade de condições específicas de luz, umidade e temperatura para a quebra da dormência A germinação é marcada pelo rompimento do envoltório seminal e emissão do fanerômero, seguido da formação do colar de rizoides e da raiz primária, cujo meristema se forma tardiamente, após o alongamento do fanerômero. O cotilédone do tipo fanerômero é característica compartilhada por Juncaceae e Thurniaceae e condição plesiomórfica mais provável no clado cyperídeo (Poales). Nossos resultados sobre o desenvolvimento pós-seminal de *J. tenuis* trazem descrições inéditas para a família em relação aos aspectos anatômicos da plântula nos estágios iniciais de desenvolvimento. A origem da camada mucilaginosa do envoltório seminal (exotesta) também é relatada aqui pela primeira vez e sua presença provavelmente está relacionada com a proteção, dispersão e germinação das sementes.

Palavras-chave: Cotilédone · Envoltório seminal · Fanerômero · Germinação · Plântula · Testa mucilaginosa

Introdução

Juncaceae Juss. é uma das famílias da ordem Poales, que integra com Thurniaceae e Cyperaceae o clado cyperídeo (Linder and Rudall 2005; Givnish et al. 2010, 2018; Bouchenak-Khelladi et al. 2014). A família é relativamente pequena, incluindo cerca de 440 espécies, com ampla distribuição nas regiões temperadas e subtropicais e com poucos representantes ocorrendo nas regiões tropicais (Kirschner et al. 2002a,b,c). A família está dividida em oito gêneros que são: *Juncus* e *Luzula*, com distribuição cosmopolita, *Distichia*, *Oxychloë* e *Patosia*, com distribuição restrita à América do Sul, *Marsippospermum* e *Rostkovia*, que ocorrem na América do Sul e Nova Zelândia, e *Oreojuncus*, que ocorre da Europa à Sibéria e da Groelândia aos Estados Unidos (Kirschner et al. 2002a,b,c; Drábková and Kirschner 2013).

Juncus L. é o maior gênero da família, com aproximadamente 300 espécies (Kirschner et al. 2002b,c). As espécies de *Juncus* são ervas cespitosas, rizomatosas, possuem frutos do tipo cápsula loculicida, a qual é unilocular, com numerosas sementes pequenas, elipsoides a ovoides, reticuladas ou lisas (Balslev 1998). O gineceu é tricarpelar, com placentação parietal, e os óvulos são anátropos e bitegumentados, cada tegumento composto por duas camadas de células (Balslev 1996, 1998; Oriani et al. 2012).

O desenvolvimento do óvulo e da semente de Juncaceae foi estudado por Zaman (1950) em *Juncus prismatocarpus* e *J. effusus*. Segundo o autor, em estágios mais avançados de desenvolvimento dos óvulos, a camada interna do tegumento interno começa a ficar mais espessa e com manchas vermelhas, porém, sem identificar a natureza do material. O envoltório das sementes é composto pelo endotégmen, cujas paredes internas das células apresentam espessamento conspícuo, e endotesta, sendo que a exotesta e o exotégmen são absorvidos ao longo do desenvolvimento da semente (Zaman 1950).

A germinação e a dispersão de sementes foram estudadas em *Juncus tenuis* por Salisbury (1974). O autor relata que a germinação da espécie é marcada pelo desenvolvimento de um coleto, que posteriormente desenvolve pêlos em sua volta, os quais irão dar suporte para a plântula. Salisbury (1974) e Balslev (1998) relatam a presença de uma camada mucilaginosa nas sementes de espécies de *Juncus*, quando umedecidas, mas sem análises de ontogenia e anatomia dessa camada. Segundo Salisbury (1974), a dispersão de *Juncus tenuis* é facilitada pela capacidade do envoltório seminal inchar e tornar-se pegajoso, aderindo facilmente aos dispersores. Contudo, outras estratégias de dispersão também estão presentes em *Juncus*. Balslev (1998) menciona que as sementes de algumas espécies de *Juncus* podem apresentar diferentes estratégias de dispersão, incluindo anemocoria e/ou hidrocoria.

Existem diversos estudos que abordam o desenvolvimento pós-seminal de monocotiledôneas, mas estudos com espécies de Juncaceae são escassos e a anatomia da plântula ainda não é conhecida. Dos poucos trabalhos encontrados na literatura, Tillich (1995) descreve o cotilédone de algumas espécies do gênero *Juncus* e *Luzula* constituído por um hiperfilo unifacial assimilador e alongado, com um pequeno haustório distal, e o hipofilo bifacial formando uma bainha fechada ventralmente. Já Tillich (2007) descreve a morfologia das plântulas de *Juncus maritimus* Lam., *Luzula nivea* (L.) DC., *Marsippospermum reichii* Buch. e *Rostkovia magellanica* Hook, relatando a formação de cotilédone do tipo fanerômero e de um hipocótilo curto em *Juncus* e *Luzula*, enquanto nas espécies de *Marsippospermum* e *Rostkovia* o hipocótilo é longo.

Para Tillich (2007), estudos que abordam o desenvolvimento pós-seminal nas monocotiledôneas podem contribuir com características importantes para auxiliar na taxonomia e filogenia, especialmente em Poales, cujos representantes apresentam diferentes tipos de cotilédone. Tillich (2007) propôs uma hipótese evolutiva do cotilédone em Poales, na

qual o tipo compacto seria a condição ancestral e que teria derivado em outros três tipos: hipofilo cotiledonar, fanerômero e o coleóptilo. No clado cyperídeo, que é composto por Juncaceae, Thurniaceae e Cyperaceae, o cotilédone do tipo fanerômero ocorre nas duas primeiras famílias, enquanto Cyperaceae apresenta cotilédone do tipo coleóptilo (Tillich 2007). O cotilédone do tipo fanerômero corresponde à parte proximal do hiperfilo cotiledonar, que se desenvolve em uma estrutura tubular que eleva a semente bem acima da superfície do solo, enquanto o coleóptilo, que também é uma estrutura tubular, é produzido pela atividade meristemática do tecido marginal da bainha cotiledonar e é geralmente curto (Tillich 2007).

As plântulas das monocotiledôneas, por apresentarem muitos estados de caráter derivados e uma alta diversidade, dificultam as análises morfológicas (Tillich 2007). Sendo assim, estudos com enfoque no desenvolvimento pós-seminal, associados a análises anatômicas e micromorfológicas, mostram-se relevantes para um melhor entendimento da estrutura das plântulas e evolução de caracteres no grupo.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo analisar o desenvolvimento do envoltório seminal e o desenvolvimento pós-seminal *de Juncus tenuis*, sob os aspectos morfológicos, micromorfológicos e anatômicos, visando trazer novas informações sobre a família. Buscamos responder as seguintes questões: Qual a origem da camada mucilaginosa do envoltório seminal de *Juncus tenuis*? Como é a estrutura anatômica do envoltório seminal e como ela pode estar associada ao modo de dispersão da espécie? *Juncus tenuis* compartilha o mesmo padrão morfológico de desenvolvimento pós-seminal com outras espécies da família já estudadas? Como é o desenvolvimento pós-seminal do ponto de vista anatômico?

Material e métodos

Material botânico

Sementes maduras de *Juncus tenuis* foram coletadas diretamente de frutos maduros, em

indivíduos ocorrendo em áreas abertas, beira de estradas e áreas antropizadas na região de Lagoa Pequena, município de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. As sementes foram selecionadas com o auxílio de estereomicroscópio e aquelas mal formadas foram eliminadas. As demais foram armazenadas em sacos de papel fechados e mantidas em temperatura ambiente. Também foram coletados flores e frutos em diferentes fases do desenvolvimento, que foram fixados em FAA 50 (37% formaldeído, ácido acético glacial, 70% etanol, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940) por 24 horas e, posteriormente, transferidos para etanol 70% para o estudo do desenvolvimento do envoltório seminal. Os vouchers foram identificados e depositados no Herbarium Rioclarense (HRCB) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (Silva & Trevisan 503).

Germinação de sementes e desenvolvimento pós-seminal

Para a análise do desenvolvimento pós-seminal, 100 sementes maduras foram colocadas para germinar em quatro placas de Petri, com 25 sementes em cada. As placas de Petri foram forradas com papel filtro umedecido com água destilada e acondicionadas em sala climatizada, com temperatura de 25±2ºC e luz fluorescente (≈40µmol.m^{-2}.s^{-1} PAR) constantes.

A observação das sementes foi realizada a cada 24 horas durante o período de 60 dias e a germinação foi considerada a partir da ruptura do envoltório seminal e emergência do fanerômero. A documentação dos resultados foi feita com imagens obtidas com câmera digital Canon Power Shot S80, acoplada ao estereomicroscópio Leica EZ4. As plântulas nas diferentes fases do desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 (37% formaldeído, ácido acético glacial, 70% etanol, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940) por 24 horas e, posteriormente, transferidas para etanol 70% para o estudo do desenvolvimento do envoltório seminal.

Microscopia de luz (ML)

Flores, frutos e plântulas em diferentes fases de desenvolvimento fixados em FAA 50 foram desidratados em série n-butílica, incluídos em (2-hidroxietil)-metacrilato (*Leica Historesin Embedding Kit*) (Gerrits and Smid 1983) e seccionados (5-7µm de espessura) em micrótomo rotativo (Leica, RM 2245). As secções anatômicas foram coradas com ácido periódico - reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina a 0,05% em borato de sódio (O'Brien et al. 1964; Feder and O'Brien 1968) e montadas em lâminas permanentes com Entellan (Merck). As secções anatômicas escolhidas foram registradas com capturador de imagens (Leica, DFC 450) acoplado ao microscópio (Leica, DM 4000B), utilizando-se o programa de digitalização de imagens LAS (Leica Application Suite V4.0.0). A terminologia aqui utilizada segue a proposta por Tillich (2007).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para análise sob microscopio eletrônico de varredura, sementes e plântulas em diferentes fases do desenvolvimento fixadas em FAA 50 foram desidratadas em série crescente de etanol (30%, 50%, 70%, 90% e 100%), por cerca de 15 minutos em cada solução. Posteriormente, foram submetidas à secagem ao ponto crítico em gás carbônico (Balzers CPD 050). As amostras foram então fixadas em stubs com fita adesiva, metalizadas com ouro por um sistema de pulverização catódica (Bal-Tec, SCD 050) e observadas ao microscópio (Jeol, JSM IT 300). As imagens foram obtidas utilizando-se o sistema de captura de imagens do microscópio. Tais análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica "Elliot Watanabe Kitajima", da ESALQ/USP.

Resultados

Desenvolvimento do envoltório seminal

Juncus tenuis Willd. apresenta gineceu tricarpelar, com óvulos anátropos, bitegumentados e placentação do tipo parietal. Os tegumentos externo e interno são compostos por duas

camadas de células retangulares com núcleo conspícuo e citoplasma denso (Fig. 1a-c) e delimitam a micrópila (Fig. 1b). Observa-se uma cutícula entre o tegumento externo e interno e entre o tegumento interno e o nucelo (Fig. 1a-c).

Os tegumentos do óvulo sofrem modificações durante a formação do endosperma e embrião (Fig. 1d-g). Após a fecundação, as células da camada interna do tegumento interno aumentam de tamanho e acumulam compostos fenólicos (Fig. 1c-e), dando origem ao endotégmem taninífero (Fig. 1d-g). As células da camada externa do tegumento interno não sofrem modificações evidentes até a fase em que o nucelo é consumido com a formação do endosperma (Fig. 1b-e), e, a partir desse ponto, começam a se desintegrar (Fig. 1f) e são completamente obliteradas na semente madura (Fig. 1g). A cutícula entre os tegumentos interno e externo torna-se mais espessa e sinuosa e sua composição química também sofre alterações, evidenciadas pela mudança de coloração (Fig. 1f, g). As células da camada interna do tegumento externo se alongam e se acomodam na sinuosidade da cutícula (Fig. 1f, g). As células da camada externa do tegumento externo, que formam a exotesta, alongam-se periclinalmente (Fig. 1d-f) e, na semente madura, tornam-se mucilaginosas, acumulando polissacarídeos, evidenciados pela reação positiva ao PAS (Fig. 1g).

Assim, as sementes maduras apresentam envoltório composto por endotégmen taninífero, endotesta e exotesta mucilaginosa (Fig. 1g). São formadas numerosas sementes por cápsula, as quais são elipsoides a ovoides, com coloração amarela-alaranjada e superfície sutilmente reticulada (Fig. 2a, b). A exotesta mucilaginosa pode ser observada sob microscopia eletrônica de varredura (Fig. 3b) e, como as paredes dessas células são finas, elas geralmente se rompem, restando apenas partes das paredes anticlinais (Fig. 3a).

Germinação e aspectos morfológicos do desenvolvimento pós-seminal

A porcentagem de germinação de *J. tenuis* foi de 28%. O tempo para o surgimento das diferentes estruturas da plântula está indicado na Tabela 1.

A germinação inicia-se entre 16-20 dias de embebição, com o rompimento do envoltório da semente e emergência do fanerômero, na região micropilar (Figs. 2a, b, 3a). O fanerômero curva-se em direção ao substrato e começa a se desenvolver em uma estrutura longa e cilíndrica, elevando a semente (Figs. 2c, 3b). Na extremidade do fanerômero, onde se encontra o eixo hipocótilo-radicular extremamente reduzido, diferencia-se um denso colar de tricomas longos (colar de rizoides), o qual aparece de dois a quatro dias após o surgimento do fanerômero (Figs. 2d, e, 3c, d). Posteriormente, a raiz primária começa a se desenvolver entre os tricomas do colar de rizoides (Fig. 2d, e). A raiz primária apresenta crescimento rápido e, em poucos dias, mostra-se bem desenvolvida e com muitos pelos absorventes (Figs. 2f, 3f). De dois a seis dias após o surgimento da raiz primária, inicia-se a formação de raízes adventícias (Figs. 2f, 3f). Após seis a dez dias do surgimento da primeira raiz adventícia (35-38 dias após a germinação), surge o eófilo (Figs. 2g, 3g), o qual apresenta formato lanceolado (Fig. 2g). Aproximadamente 40 dias após a germinação, o primeiro eofilo encontra-se totalmente expandido e começam a se formar mais raízes adventícias (Fig. 2g).

Aspectos anatômicos do desenvolvimento pós-seminal

Antes da germinação e após a embebição da semente, observa-se secreção de mucilagem na região micropilar (Fig. 4a). Nessa região, ocorre o rompimento do envoltório seminal com a protrusão do fanerômero (Fig. 4b, c). As células do fanerômero se dividem rapidamente, formando uma estrutura sólida e cilíndrica, que se alonga (Fig. 4d, e). As células da camada mais externa, que reveste a extremidade distal do fanerômero, alongam-se e se diferenciam no colar de rizoides (Fig. 4e). Internamente ao colar de rizoides, observa-se a organização do meristema subapical radicular, sendo possível distinguir os polos caulinar e radicular, dispostos no mesmo eixo do fanerômero (Fig. 4e, f). Após o desenvolvimento da raiz primária, o meristema apical caulinar torna-se distinto (Fig. 4g). As raízes adventícias, que têm origem endógena, se formam pela divisão de células do hipocótilo (Fig. 4h, i). As células

do meristema apical caulinar se dividem, alongando o epicótilo e originando os primeiros primórdios foliares, todos protegidos pela bainha cotiledonar (Fig. 4j).

Discussão

Desenvolvimento do envoltório seminal em Juncaceae e considerações ecológicas

O envoltório seminal em *Juncus tenuis* é formado por três camadas: endotégmen, endotesta e exotesta. O endotégmen é taninífero, assim como nas sementes de representantes de outras famílias de Poales, como em *Prionium serratum* (anteriormente em Juncaceae, mas agora em Thurniaceae) (Munro and Linder 1997); Xyridaceae (Oriani and Scatena 2014, 2017; Nardi et al. 2015); Eriocaulaceae (Scatena and Bouman 2001; Coan et al. 2010); Mayacaceae (Venturelli and Bouman 1986); Restionaceae (Rudall and Linder 1988); Centrolepidaceae (Hamann 1975); Rapateaceae (Venturelli and Bouman 1988); Poaceae (Nakamura et al. 2009); Bromeliaceae (Magalhães and Mariath 2012; Prado et al. 2014) e *Thurnia* (Thurniaceae) (Thimm 1985). Já em Cyperaceae, como descrito para espécies de *Rhynchospora*, são as células da exotesta que acumulam compostos fenólicos (Coan et al. 2008), mostrando que o endotégmen taninífero, apesar de comum em Poales, não é característica compartilhada por todas as cyperídeas.

Acredita-se que a presença de compostos fenólicos no envoltório da semente esteja relacionada com a função de proteção, especialmente do tecido de reserva, contra fungos e/ou herbívoros, a exemplo do que ocorre no carvalho (Steele et al. 1993). Além disso, esses compostos fenólicos podem atuar como inibidores da germinação (Mayer and Poljakoff-Mayber 1989), desempenhando assim função regulatória no processo germinativo.

O número de camadas que constituem o envoltório da semente tem valor taxonômico, pois diferencia as famílias de Poales, e até mesmo os gêneros, como relatado para Xyridaceae (Oriani and Scatena 2014, 2017; Nardi et al. 2015). Em *Juncus tenuis*, como demonstrado aqui, o envoltório da semente é composto por três camadas de células (endotégmen, endotesta

e exotesta), sendo que o exotégmen se desintegra durante o desenvolvimento da semente. Zaman (1950) também observou que em *Juncus prismatocarpus* e *J. effusus* a camada externa do tegumento interno é absorvida. Além disso, Zaman (1950) relata que a camada externa do tegumento externo é gradualmente absorvida, tornando-se praticamente ausente na semente, o que não é corroborado por nossos resultados, uma vez que nas sementes de *J. tenuis* a exotesta está presente e é mucilaginosa. Nas Cyperaceae a exotesta também está presente, sendo o envoltório seminal constituído por exotesta e endotégmen, porém nenhuma dessas camadas é mucilaginosa (Makde and Bhuskute 1987; Coan et al. 2008). O número de camadas no tegumento externo do óvulo pode variar em Cyperaceae, como demonstrado em espécies de *Hypolytrum* (cujo tegumento externo é constituído por três camadas de células) e em espécies de *Rhynchospora* (cujo tegumento externo apresenta apenas duas camadas) (Coan et al. 2008), sendo essa última configuração a mais comum para a família (Makde and Bhuskute 1987; Zhang 1999). No entanto essa variação no número de camadas do tegumento externo não é significativa, pois, durante o desenvolvimento das sementes, algumas camadas se desintegram e, no final da maturação das sementes, a testa é composta apenas pela exotesta. Em espécies de *Rhynchospora*, as células da exotesta possuem paredes finas e acumulam compostos fenólicos, já as células do endotégmen apresentam as paredes anticlinais e periclinal interna espessadas, enquanto em *Hypolytrum,* apenas as paredes anticlinais se espessam (Coan et al. 2008). Em *Thurnia* (Thurniaceae), a testa é formada por múltiplas camadas, cujas células possuem forma irregular e são completamente lignificadas, enquanto as células do endotégmen e exotégmen têm paredes finas e são preenchidas com taninos, de modo que os limites das células são quase imperceptíveis (Thimm 1985). Destacamos que envoltório seminal formado por exotesta, exotégmen e endotégmen é característica compartilhada por Juncaceae e Thurniaceae, tendo ocorrido redução do número

de camadas do envoltório seminal em Cyperaceae, provavelmente relacionada à presença de fruto indeiscente nessa família.

As características anatômicas do envoltório seminal das espécies de cyperídeas também podem estar relacionadas a fatores ambientais, já que as espécies que compõem o clado ocorrem em diferentes ambientes. As espécies de *Thurnia* são geralmente encontradas em áreas úmidas ou margens de riachos, sugerindo que a presença da testa com múltiplas camadas de células esclerenquimáticas seja uma adaptação a esse ambiente, evitando que a semente apodreça na água e, com isso, tornando-a viável por um maior período de tempo. Grande parte das espécies de Cyperaceae, por sua vez, é encontrada em áreas abertas e secas, e suas sementes, apesar de apresentarem menor número de camadas no envoltório seminal, são protegidas pelo pericarpo, uma vez que os frutos são indeiscentes. Trabalhos de anatomia do pericarpo em Cyperaceae mostram que este é geralmente constituído de tecido lignificado no mesocarpo (Shah 1968; Ragonese et al. 1984; Browning and Gordon-Gray 1993, 1996; Coan et al. 2008). Assim, a função de proteção mecânica da semente é transferida para o pericarpo, enquanto a testa, cujas células contêm compostos fenólicos (Coan et al. 2008), faz a função de proteção química contra predadores e microorganismos. Já *Juncus tenuis*, assim como outras espécies de Juncaceae, que também ocorrem em áreas secas e abertas, expostas à alta luminosidade, apesar de não apresentarem frutos indeiscentes e nem uma camada com células lignificadas no envoltório seminal, contam com uma testa mucilaginosa, a qual pode ajudar na proteção da semente contra dessecação. Acreditamos que a camada de cutícula entre o tégmen e a testa, que se espessa durante o amadurecimento da semente, faça a função de proteção mecânica.

Ressaltamos que a camada mucilaginosa das sementes de *Juncus tenuis* corresponde à exotesta, podendo ser denominada de sarcotesta (Corner 1976). Dentre as Poales, a presença de testa mucilaginosa nas sementes também foi relatada em espécies de Bromelioideae

(Bromeliaceae) (Silva et al. 2020). Nessas, assim como em *J. tenuis*, o número de camadas do tegumento externo do óvulo não aumenta durante o desenvolvimento da semente, mas suas células aumentam em volume pelo acúmulo de substâncias hidrofílicas, resultando na testa mucilaginosa. A natureza mucilaginosa da testa da semente de *J. tenuis* é observada logo após a embebição, quando a mucilagem torna-se visível a olho nu, aumentando a aderência da semente ao substrato. A ocorrência de uma substância pegajosa aderindo as sementes ao substrato também foi observada por Kraus et al. (1996) em experimentos de germinação de espécies de *Paepalanthus* (Eriocaulaceae) e as autoras sugerem que essa característica favoreça a adsorção de água.

Considerando que os representantes de *Juncus tenuis* ocorrem em ambientes geralmente abertos, em condições de alta luminosidade e também em áreas perturbadas, acredita-se que a presença de uma exotesta mucilaginosa, além de proteção contra dessecação, esteja relacionada com a regulação da germinação, mantendo uma concentração suficiente de água ao redor da semente. Como já demonstrado para outras espécies de angiospermas, a presença de envoltório seminal mucilaginoso facilita a germinação das sementes em solos com baixo potencial hídrico (Young et al. 1970; Sun et al. 2012), como os solos arenosos de vegetações campestres, onde muitas espécies de Juncaceae crescem.

Além de proteger a semente contra dessecação e regular a germinação, acreditamos que a presença de mucilagem no envoltório seminal também possa ser uma estratégia que auxilia na dispersão das sementes, dado que *Juncus tenuis* frutifica e dispersa suas sementes em períodos chuvosos (Salisbury 1974; Balslev and de Stefano 2015). Com isso, as sementes, ao entrarem em contato com a água, incham-se e podem formar grandes massas viscosas, fazendo com que as cápsulas se abram, como já sugerido para outras espécies de *Juncus* por Balslev (1996; 1998). Esse mecanismo também facilita a dispersão, auxiliando na fixação das sementes aos dispersores e, posteriormente, ao substrato, aumentando a probabilidade de

germinação. Como já relatado para outras espécies de angiospermas, dependendo da concentração de água, o envoltório mucilaginoso pode tornar-se extremamente pegajoso, funcionando como um adesivo e aumentando a aderência das sementes (Kreitschitz et al. 2015). De forma análoga ao que foi demonstrado para *Alyssum minus* (Brassicaceae) (Sun et al. 2012), acredita-se então que o envoltório mucilaginoso das sementes de *J. tenuis* exerça papel importante na dispersão, adesão das sementes ao substrato e hidratação, além de funcionar como reservatório de água para a germinação, especialmente em condições de stress hídrico. Isso talvez explique a ampla distribuição de *J. tenuis*, que ocorre nas Américas, no Japão, na Nova Zelândia e na Europa (Balslev and de Stefano 2015), crescendo em diferentes hábitats, inclusive em ambientes perturbados como estradas, alamedas, trilhas e até calçadas das áreas urbanas. Segundo Salisbury (1974), como o homem também pode atuar na dispersão de *J. tenuis*, levando as sementes aderidas a solas de sapatos ou pneus, sua distribuição é influenciada pela atividade e mobilidade urbana, o que é facilitado pela presença do envoltório seminal mucilaginoso. A relação entre a presença de envoltório mucilaginoso na semente e a capacidade de colonizar áreas perturbadas já foi demonstrada também em outras espécies herbáceas das famílias Brassicaceae, Euphorbiaceae, Lamiaceae, Onagraceae e Plantaginaceae, sendo a mucilagem apontada como uma vantagem ecológica já que essas sementes não requerem solo para germinar (Young and Evans 1973), aumentando inclusive o potencial invasor (Bangle et al. 2008).

Aspectos morfológicos, micromorfológicos e anatômicos do desenvolvimento pós-seminal em Juncaceae em um contexto ecológico e evolutivo

As sementes de *Juncus tenuis* são pequenas e muitas de suas características são visíveis apenas com o auxílio de um estereomicroscópio. Segundo Moles et al. (2005, 2007), o tamanho da semente afeta vários aspectos de sua ecologia, relacionando-se diretamente com o seu comportamento germinativo. Moles et al. (2005) relatam que as espécies que possuem

sementes pequenas são capazes de produzir mais sementes do que as espécies que possuem sementes grandes, em contrapartida, as espécies de sementes grandes têm plântulas que são melhores para tolerar estresses encontrados durante o seu estabelecimento. Ainda segundo os autores, o tamanho da semente também está correlacionado com as condições ambientais sob as quais as espécies se estabelecem.

As espécies com sementes pequenas geralmente estão associadas com ambientes abertos (Leishman and Westoby 1994; Seiwa and Kikuzawa 1996) ou ambientes perturbados (Fenner 1995), como ocorre com *Juncus tenuis*. Assim, acreditamos que suas sementes requeiram condições especiais para germinar, tais como luz e temperatura específicas, assim como relatado para outras espécies de monocotiledôneas, como algumas Xyridaceae e Eriocaulaceae (Garcia and Oliveira 2007) e algumas espécies de Velloziaceae (Mota and Garcia 2012), as quais, assim como *J. tenuis*, crescem em ambientes abertos e expostos à alta luminosidade. Assim, a falta de condições específicas de luz, temperatura e umidade seja talvez a razão da baixa taxa de germinação observada para *J. tenuis* no nosso experimento. Acreditamos também que a associação entre o tamanho da semente e a necessidade de luz para germinar seja uma estratégia ecológica, visto que sementes pequenas tendem a afundar menos, permanecendo nas camadas mais superficiais do solo e facilitando a emergência das plântulas. A aderência das sementes nas partículas superficiais do solo é facilitada pelo envoltório mucilaginoso. Além disso, a mucilagem pode atuar reduzindo a difusão de oxigênio para a semente, regulando assim sua dormência (Yang et al. 2012). Como descrito para *Juncus tenuis*, o desenvolvimento pós-seminal em Juncaceae é marcado pela ruptura do envoltório seminal, na região micropilar, e pelo desenvolvimento do fanerômero. As células da parte proximal do hiperfilo cotiledonar se dividem formando uma estrutura tubular alongada (fanerômero), que empurra o eixo embrionário para fora da semente. Os polos caulinar e radicular ficam evidentes apenas após o desenvolvimento do fanerômero. Esse

estabelecimento tardio dos polos caulinar e radicular não é uma característica comum nas angiospermas e é aqui descrito para Juncaceae pela primeira vez.

Após o desenvolvimento do fanerômero, um colar de rizóides se desenvolve na extremidade do eixo embrionário, antes da raiz primária aparecer, e faz a função de fixação ao substrato e início da absorção (Tillich 2007). O colar de rizoides se diferencia dos pelos radiculares, pois o primeiro é formado pela diferenciação da epiderme na região do colar, enquanto os últimos se diferenciam da protoderme, formada a partir do meristema subapical radicular (Tillich 2007). O colar de rizoides, que é a primeira estrutura a ter contato com o substrato, é considerado uma característica evolutiva derivada, e aumenta as chances de estabelecimento da plântula no ambiente, desempenhando a função de mantê-la em firme contato com o substrato, ajudando na absorção de água e íons, enquanto a raiz principal ainda não está desenvolvida (Tillich 2000). Diferentemente de algumas Poales em que a raiz primária não se desenvolve ou aborta no início do desenvolvimento (Kraus et al. 1996; Tillich 2007; Corredor et al. 2015; Mascarenhas and Scatena 2021), em Juncaceae a raiz primária, bem como raízes adventícias, se desenvolvem alguns dias após a formação do colar de rizoides e assumem a função de fixação e absorção desempenhadas por este.

Com relação ao cotilédone, segundo Tillich (2007) este apresenta duas regiões: o hipofilo, correspondente à parte basal e bifacial do cotilédone, e o hiperfilo, que é a parte distal ao hipofilo bifacial. O hiperfilo pode ser inteiramente haustorial, ficando retido na semente, ou sofrer alongamento, formando uma estrutura cilíndrica do tipo apócole ou fanerômero. O apócole é curto e restrito a plântulas hipógeas de palmeiras com germinação remota (que enterra a plúmula) (Tillich 2007). Já o fanerômero é mais alongado e eleva a semente bem acima da superfície do solo, como ocorre em Juncaceae e em outras famílias de monocotiledôneas (Tillich 2007).

Em *Juncus tenuis* apenas a porção mais distal do hiperfilo fica retida no interior da semente durante o desenvolvimento da plântula, com função haustorial, enquanto a porção proximal do hiperfilo se alonga formando o fanerômero. A presença do fanerômero pode ser considerada como adaptação ecológica, favorecendo a germinação, pois o fato do fanerômero elevar a semente bem acima da superfície do solo facilita a captação de luz e, consequentemente, propicia um melhor desenvolvimento da plântula. O fanerômero é uma estrutura especializada, que, além do alongamento considerável entre a semente e a bainha cotiledonar, é o primeiro órgão de assimilação da plântula (Tillich 2007).

O fanerômero, além de estar presente em Juncaceae e Thurniaceae, também ocorre em outras famílias de Poales, tais como Typhaceae, nas famílias do clado restiídeo (Restionaceae, Centrolepidaceae e Anarthriaceae) e também em representantes de outras ordens, como Alismatales (Tillich 2007). Em Poales, o fanerômero derivou do cotilédone compacto, considerado o estado de caráter ancestral na ordem (Tillich 2007), e teve provavelmente várias origens independentes, considerando que ocorre em famílias de diferentes clados.

No clado cyperídeo, estudos filogenéticos com base em dados morfológicos e moleculares mostram Thurniaceae como grupo-irmão do clado formado por Juncaceae e Cyperaceae (p.ex. Bremer 2002; Linder and Rudall 2005; Chase et al. 2006; Givnish et al. 2010, 2018; Bouchenak-Khelladi et al. 2014). Assim, considerando a posição filogenética dessas famílias, o cotilédone do tipo fanerômero é a condição plesiomórfica mais provável no clado cyperídeo, dada sua ocorrência em Thurniaceae e Juncaceae.

Conclusões

Em *Juncus tenuis*, o envoltório seminal é formado por endotégmen taninífero, endotesta e uma exotesta mucilaginosa. A camada mucilaginosa do envoltório seminal corresponde à exotesta, pois tem origem a partir da camada externa do tegumento externo do óvulo e sua

origem é descrita aqui pela primeira vez. Sugerimos que a presença da exotesta mucilaginosa facilite a embebição da semente, ajudando no processo germinativo, bem como possa estar relacionada com a dispersão por animais. O endotégmen taninífero provavelmente atua na proteção química da semente, enquanto a proteção mecânica se dá pela cutícula espessa presente entre o tégmen e a testa.

Nossos resultados mostram que *Juncus tenuis* compartilha o mesmo padrão de desenvolvimento pós-seminal e o mesmo tipo de cotilédone com as outras espécies da família. A germinação é marcada pelo afastamento dos tecidos do envoltório seminal na região micropilar e protrusão do fanerômero. Os polos caulinar e radicular evidenciam-se tardiamente, apenas após o alongamento do fanerômero. Esse estudo traz dados anatômicos inéditos para a família sobre o desenvolvimento do envoltório seminal e da plântula e mostra-se importante para o entendimento de aspectos ecológicos e evolutivos de Juncaceae.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de doutorado concedida à LROS (processo nº 170850/2017-0) e pela bolsa de pós-doutorado concedida à AO (processo nº 157531/2018-0). O presente trabalho foi realizado também com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001 (bolsa PNPD para AO).

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

Balslev H (1996) Juncaceae. Fl. Neotrop. Monogr 68:1–167

Balslev H (1998) Juncaceae. In: Kubitzki K. (ed) The families and genera of vascular plants. Flowering plants - Monocotyledons Alismatanae and Commelinanae (except

Gramineae), Springer, Berlin, pp 252–260

Balslev H, de Stefano RD (2015) The family Juncaceae in Mexico. Acta Bot Mex 111:61–164. https://doi.org/10.21829/abm111.2015.182

Bangle DN, Walker LR, Powell EA (2008) Seed germination of the invasive plant *Brassica tournefortii* (Sahara mustard) in the Mojave Desert. West North Am Nat 68:334–342.

Bouchenak-Khelladi Y, Muasya AM, Linder HP (2014) A revised evolutionary history of Poales: Origins and diversification. Bot J Linn Soc 175:4–16. https://doi.org/10.1111/boj.12160

Bremer K (2002) Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). Evolution 56:1374–1387. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01451.x

Browning J, Gordon-Gray KD (1993) Studies in Cyperaceae in Southern Africa. 21: The taxonomic significance of the achene and its embryo in *Bolboschoenus*. South African J Bot 59:311–318. https://doi.org/10.1016/s0254-6299(16)30734-7

Browning J, Gordon-Gray KD (1996) Studies in Cyperaceae in Southern Africa. 30: Aspects of the relationship between *Cyathocoma* and *Costularia*. South African J Bot 62:250–257. https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30653-0

Chase MW, Fay MF, Devey DS, Maurin O, Ronsted N, Davies TJ, Pillon Y, Pertersen G, Seberg O, Tamura M, Asmussen CB, Hilu K, Borsch T, Davis JI, Stevenson DW, Pires JC, Givnish TJ, Sytsma KJ, McPherson MA, Graham SW, Rai HS (2006) Multigene analyses of monocot relationships: a summary. Aliso 22:63–75. https://doi.org/10.5642/aliso.20062201.06

Coan AI, Alves M V., Scatena VL (2008) Comparative study of ovule and fruit development in species of *Hypolytrum* and *Rhynchospora* (Cyperaceae, Poales). Plant Syst Evol 272:181–195. https://doi.org/10.1007/s00606-007-0636-9

Coan AI, Stützel T, Scatena VL (2010) Comparative embryology and taxonomic

considerations in Eriocaulaceae (Poales). Feddes Repert 121:268–284. https://doi.org/10.1002/fedr.201000016

Corner EJH (1976) The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press, Cambridge

Corredor BAD, Escobar DFE, Scatena VL (2015) Morfología de semillas y desarrollo post-seminal de especies de *Comanthera* (Eriocaulaceae). Rev Biol Trop 63:1127–1135. https://doi.org/10.15517/rbt.v63i4.16956

Drábková LZ, Kirschner J (2013) *Oreojuncus*, a new genus in the Juncaceae. Preslia 85:483–503.

Feder N, O' Brien TP (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. Amer J Bot 55:123–142. https://doi.org/10.2307/2440500

Fenner M (1995) Ecology of seed banks. In: Kigel J, Galili G (eds) Seed Development and Germination, Academic Press, New York, pp 507–543

Garcia Q, Oliveira P (2007) Germination patterns and seed longevity of monocotyledons from the Brazilian campos rupestres. Seed Sci Biotechnol 1:35–41

Gerrits PO, Smid L (1983) A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. J Microsc 132:81–85. https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1983.tb04711.x

Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, Pamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Duvall 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 Missouri Bot Gard 97:584–616. https://doi.org/10.3417/2010023

Givnish TJ, Zuluaga A, Spalink D, Gomez MS, Lam VKY, Saarela JM, Sass C, Iles WJD, Sousa DJL, Leebens-Mack J, Pires JC, Zomlefer WB, Gandolfo MA, Davis JI, Stevenson DW, Pamphilis C, Specht CD, Graham SW, Barrett CF, Ané C (2018)

Monocot plastid phylogenomics, timeline, net rates of species diversification, the power of multi-gene analyses, and a functional model for the origin of monocots. Am J Bot 105:1888–1910. https://doi.org/10.1002/ajb2.1178

Hamann U (1975) Neue Untersuchungen zur Embryologie und Systematik der Centrolepidaceae. Bot. Jahrb. Syst. 96:154–191

Johansen DA (1940) Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, New York

Kirschner J, Balslev H, Ceska A, Swab JC, Edgar E, Garcia-Herran K, Hämet-Ahti L, Kaplan Z, Novara LJ, Novikov VS, Wilton A (2002*a*) Juncaceae 1: *Rostkovia* to *Luzula*, Species Plantarum: Flora of the world, ABRS, Canberra

Kirschner J, Balslev H, Clemants SE, Ertter B, Álvarez MCFC, Hämet-Ahti L, Miyamoto F, Noltie HJ, Novara LJ, Novikov VS, Simonov SS, Snogerup S, Wilson KL (2002*b*) Juncaceae 2: *Juncus* subg. *Juncus,* Species Plantarum: Flora of the world, ABRS, Canberra

Kirschner J, Balslev H, Brooks RE, Clemants SE, Ertter B, Hämet-Ahti L, Álvarez MCFC, Novara LJ, Novikov VS, Simonov SS, Snogerup S, Wilson KL, Zika PF (2002*c*) Juncaceae 3: *Juncus* subg. *Agathryon*, Species Plantarum: Flora of the world, ABRS, Canberra

Kraus JE, Scatena, VL, Lewinge ME, Trench KUS (1996) Morfologia externa e interna de quatro espécies de *Paepalanthus* Kunth (Eriocaulaceae) em desenvolvimento pós-seminal. Bol Bot Univ São Paulo 15:45–53

Kreitschitz A, Kovalev A, Gorb SN (2015) Slipping vs sticking: Water-dependent adhesive and frictional properties of *Linum usitatissimum* L. seed mucilaginous envelope and its biological significance. Acta Biomater 17:152–159. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.01.042

Leishman MR, Westoby M (1994) The role of large seed size in shaded conditions:

Experimental evidence. Funct Ecol 8:205. https://doi.org/10.2307/2389903

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

Magalhães RI, Mariath JEA (2012) Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). Plant Syst Evol 298:1881–1895. https://doi.org/10.1007/s00606-012-0688-3

Makde KH, Bhuskute SM (1987) Embryology of *Kyllinga monocephala* (Cyperaceae) and its systematic position. Plant Syst Evol 156:143–150. https://doi.org/10.1007/BF00936069 https://doi.org/10.1590/2175-78602005568705

Mascarenhas AA, Scatena VL (2021) Seed morphology and post-seminal development in *Leiothrix* Ruhland (Eriocaulaceae, Poales). Feddes Repert 132, 9–19. https://doi.org/10.1002/fedr.202000022

Mayer AM, Poljakoff-Mayber (1989) The Germination of Seeds. Pergamon Press, Oxford

Moles AT, Ackerly, DD, Webb CO, Tweddle JC, Dickie JB, Westoby M (2005) A brief history of seed size. Science 307:576–580. https://doi.org/10.1126/science.1104863

Moles AT, Ackerly DD, Tweddle JC, Dickie JB, Smith R, Leishman MR, Mayfield MM, Pitman A, Wood JT, Westoby M (2007) Global patterns in seed size. Glob Ecol Biogeogr 16: 109-116. https://doi.org/10.1111/j.1466-822x.2006.00259.x

Mota LAS, Garcia QS (2012) Germination patterns and ecological characteristics of *Vellozia* seeds from high-altitude sites in south-eastern Brazil. Seed Sci Res 23:67–74. https://doi.org/10.1017/S0960258512000256

Munro SL, Linder HP (1997) The embryology and systematic relationships of *Prionium serratum* (Juncaceae : Juncales) Am. J. Bot. 84:850–860

Nakamura AT, Longhi-Wagner HM, Scatena VL (2009) Desenvolvimento de óvulo, fruto e semente de espécies de Poaceae (Poales). Revista Brasil. Bot. 32:165–175.

https://doi.org/ 10.1590/s0100-84042009000100016

Nardi KO, Scatena VL, Oriani A (2015) Development of ovule, fruit and seed of *Xyris* (Xyridaceae, Poales) and taxonomic considerations. Bot J Linn Soc 177:619–628. https://doi.org/10.1111/boj.12265

O'Brien TP, Feder N, McCully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59:368–373

Oriani A, Stützel T, Scatena VL (2012) Contributions to the floral anatomy of Juncaceae (Poales - Monocotyledons). Flora Morphol Distrib Funct Ecol Plants 207:334–340. https://doi.org/10.1016/j.flora.2012.03.001

Oriani A, Scatena VL (2014) Ovule, fruit and seed development in *Abolboda* (Xyridaceae, Poales): Implications for taxonomy and phylogeny. Bot J Linn Soc 175:144–154. https://doi.org/10.1111/boj.12152

Oriani A, Scatena VL (2017) Ovule, fruit, and seed development of *Orectanthe sceptrum* and its systematic relevance to Xyridaceae (Poales). Int J Plant Sci 178:104–116. https://doi.org/10.1086/689617

Prado JPC, Schimidt EC, Steinmacher DA, Guerra MP, Bouzon ZL, Vesco LLD, Pescador R (2014) Seed morphology of *Vriesea friburgensis* var. *paludosa* L.B. Sm. (Bromeliaceae). Hoehnea 41:553–562. https://doi.org/10.1590/2236-8906-08/2013

Ragonese AM, Guaglianone ER, Struttmatter CD (1984) Desarrolo del pericarpio com cuerpos de sílice de dos espécies de *Rhynchospora* Vahl (Cyperaceae). Darwiniana 25:27–41.

Rudall PJ, Linder HP (1988) Megagametophyte and nucellus in Restionaceae and Flagellariaceae. Am J Bot 75:1777. https://doi.org/10.2307/2444732

Salisbury EJ (1974) The reproduction of *Juncus tenuis* (*Juncus* macer) and its dispersal. Trans Bot Soc Edinburgh 42:187–190. https://doi.org/10.1080/03746607408685277

Scatena VL, Bouman F (2001) Embryology and seed development of *Paepalanthus* sect. Actinocephalus (Koern.) Ruhland (Eriocaulaceae). Plant Biol 3:341–350. https://doi.org/10.1055/s-2001-16467

Seiwa K, Kikuzawa K (1996) Importance of seed size for the establishment of seedlings of five deciduous broad-leaved tree species. Vegetatio 123:51–64. https://doi.org/10.1007/BF00044887

Shah CK (1968) Development of pericarp and seed coat in the Cyperaceae. Naturaliste Canadien 95:39–48.

Silva KR, Stützel T, Oriani A (2020) Seed development and its relationship to fruit structure in species of Bromelioideae (Bromeliaceae) with fleshy fruits. Bot J Linn Soc 192:868–886. https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz111

Steele MA, Knowles T, Bridle K, Simms EL (1993) Tannins and partial consumption of acorns: Implications for dispersal of oaks by seed predators. Am Midl Nat 130:229–238. https://doi.org/10.2307/2426123

Sun Y, Tan DY, Baskin CC, Baskin JM (2012) Role of mucilage in seed dispersal and germination of the annual ephemeral *Alyssum minus* (Brassicaceae). Aust J Bot 60:439–449. https://doi.org/10.1071/BT11314

Tillich HJ (1995) Seedlings and systematic in monocotyledons. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds) Monocotyledons: systematic and evolution, Roy Bot Gard, Kew, pp 303–352

Tillich HJ (2000) Ancestral and derived character states in seedlings of monocotyledons. In: Wilson K.I, Morrison DA (eds) Monocots: systematics and evolution, CSIRO, Melbourne, pp 221–228

Tillich HJ (2007) Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (monocotyledons). Ann Bot 100:1413–1429.

https://doi.org/10.1093/aob/mcm238

Thimm U (1985) ZurEmbriologie, Blüten- und Fruchtanatomie der isolierten Juncales-Gattungen *Prionium* and *Thurnia*. MSc Thesis, Ruhr-Universität Bochum, Bochum.

Venturelli M, Bouman F (1986) Embryology and seed development in *Mayaca Fluviatilis* (Mayacaceae). Acta Bot Neerl 35:497–516. https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1986.tb00489.x

Venturelli M, Bouman f (1988) Development of ovule and seed in Rapateaceae. Bot J Linn Soc 97:267–294. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1988.tb01584.x

Yang X, Baskin JM, Huang Z (2012) More than just a coating: Ecological importance, taxonomic occurrence and phylogenetic relationships of seed coat mucilage. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 14:434–442. https://doi:10.1016/j.ppees.2012.09.002

Young JA, Evans RA, Gifford RO, Eckert Jr RE (1970) Germination characteristics of three species of Cruciferae. Weed Sci 18:41–48

Young JA, Evans RA (1973) Mucilaginous seed coats. Weed Sci. 21:52–54.

Zaman BYB (1950) The embryology of *Juncus prismatocarpus* Br. and *J. effusus* Linn. Proc Indian Acad Sci B 31:223–234

Zhang SR (1999) The embryology of the genus *Kobresia* (Cyperaceae). Acta Bot Yunn 21:466–470

Legendas

Fig. 1 Desenvolvimento do envoltório da semente em *Juncus tenuis*. **a, b, c** Óvulos em sucessivos estágios de desenvolvimento, antes (**a**) e após a fecundação (**b, c**), em secção longitudinal. **d, e** Detalhes dos tegumentos do óvulo após a fecundação, em secções longitudinal e transversal, respectivamente. **f** Detalhe do envoltório seminal, na semente imatura, em secção transversal. **g** Detalhe do envoltório seminal, na semente madura, em secção longitudinal. Legendas: ct, cutícula; en, endosperma; nu, nucelo; te, integumento externo; ti, integumento interno; ■, endotegmen; ●, exotegmen; ▲, endotesta;✶, exotesta. Barras: **a, b, c** = 50 μm; **d, e, f, g** = 25 μm

Fig. 2 Aspectos morfológicos do desenvolvimento pós-seminal em *Juncus tenuis*. **a, b** Ruptura do envoltório seminal e emergência do fanerômero. **c** Desenvolvimento do fanerômero. **d** Diferenciação do colar de rizoides. **e** Alongamento do fanerômero e início do desenvolvimento da raiz primária. **f** Desenvolvimento da raiz primária e início do desenvolvimento de raízes adventícias. **g** Plântula com o primeiro eofilo em desenvolvimento e várias raízes adventícias. Legendas: cr, colar de rizoides; eo, eofilo; fn, fanerômero; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: **a, b, c** = 1,0 mm; **d** = 1,2 mm; **e, f, g** = 1,5 mm

Fig. 3 Aspectos micromorfológicos do desenvolvimento pós-seminal em *Juncus tenuis*. **a** Início da germinação, com a emergência do fanerômero. **b** Desenvolvimento do fanerômero e início da diferenciação do colar de rizoides em sua extremidade; note a testa mucilaginosa da semente. **c** Plântula apresentando fanerômero alongado e colar de rizoides longos e densos. **d** Detalhe do colar de rizoides e início do desenvolvimento da raiz primária entre os rizoides. **e** Desenvolvimento da raiz primária. **f** Raiz primária desenvolvida e início do desenvolvimento de raízes adventícias. **g** Plântula com o primeiro eofilo em desenvolvimento. Legendas: cr,

colar de rizoides; eo, eofilo; fn, fanerômero; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: **a, b, d, e** = 100 μm; **c, f** = 200 μm; **g** = 500 μm

Fig. 4 Aspectos anatômicos do desenvolvimento pós-seminal em *Juncus tenuis*. **a** Semente embebida, com testa mucilaginosa e secreção de mucilagem na região micropilar. **b, c** Emergência do fanerômero. **d** Desenvolvimento do fanerômero. **e** Formação do colar de rizoides e diferenciação do polo caulinar e radicular. **f** Detalhe do eixo hipocótilo-radicular, com meristema subapical radicular organizado. **g** Organização do meristema apical caulinar. **h, i** Desenvolvimento da raiz primária e início da formação de raiz adventícia a partir de células do hipocótilo. **j** Detalhe do meristema apical caulinar, com primórdios foliares protegidos pela bainha cotiledonar. Legenda: bc, bainha cotiledonar; cr, colar de rizoides; em, embrião; fn, fanerômero; m, mucilagem; mac, meristema apical caulinar; pc, polo caulinar; pr, polo radicular; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: **a, b, c** = 100 μm; **d =** μm **25**; **c, e** = 50 μm; **f, g, h i, j** = 25 μm

Figura 1

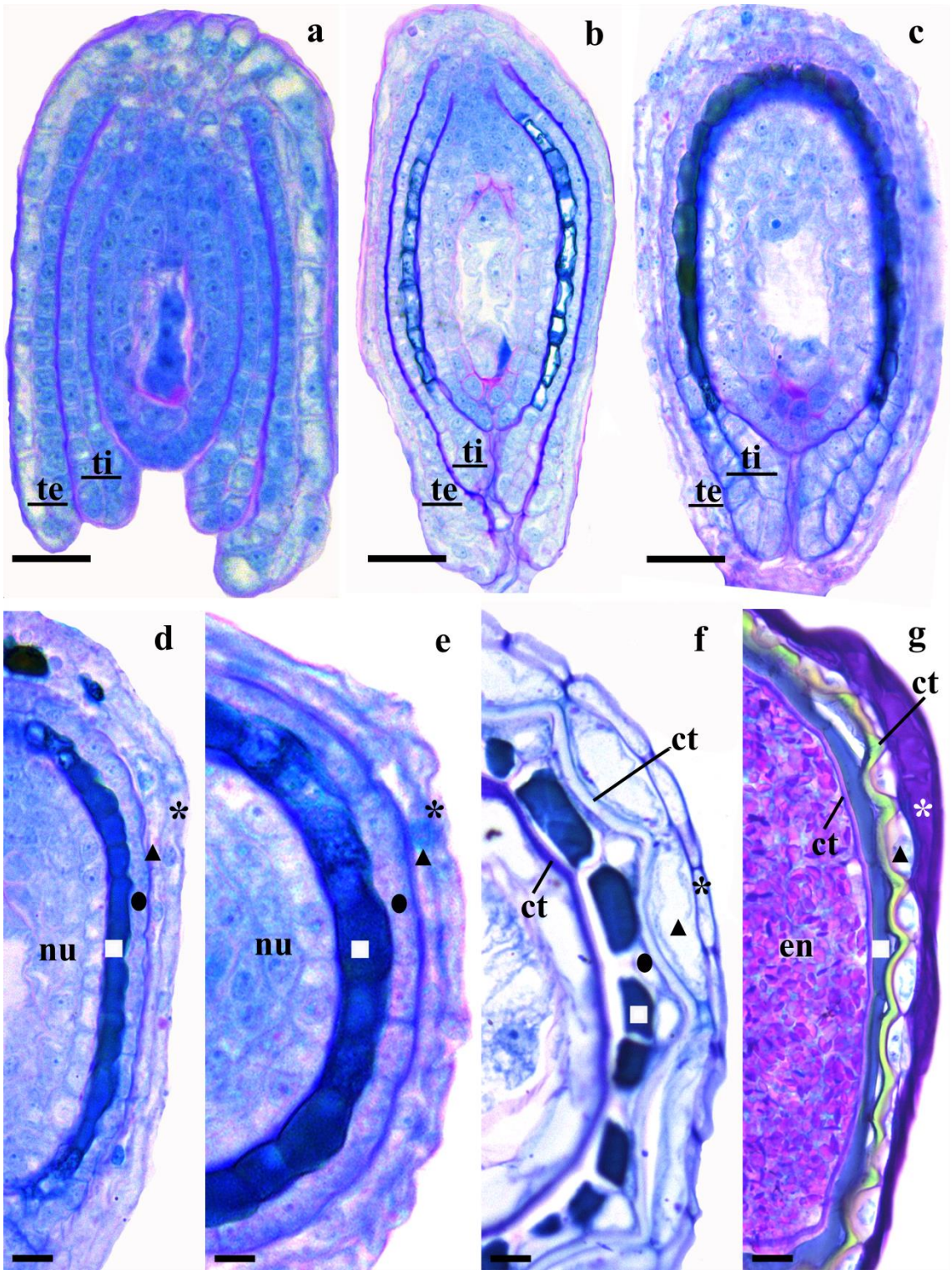


Figura 2

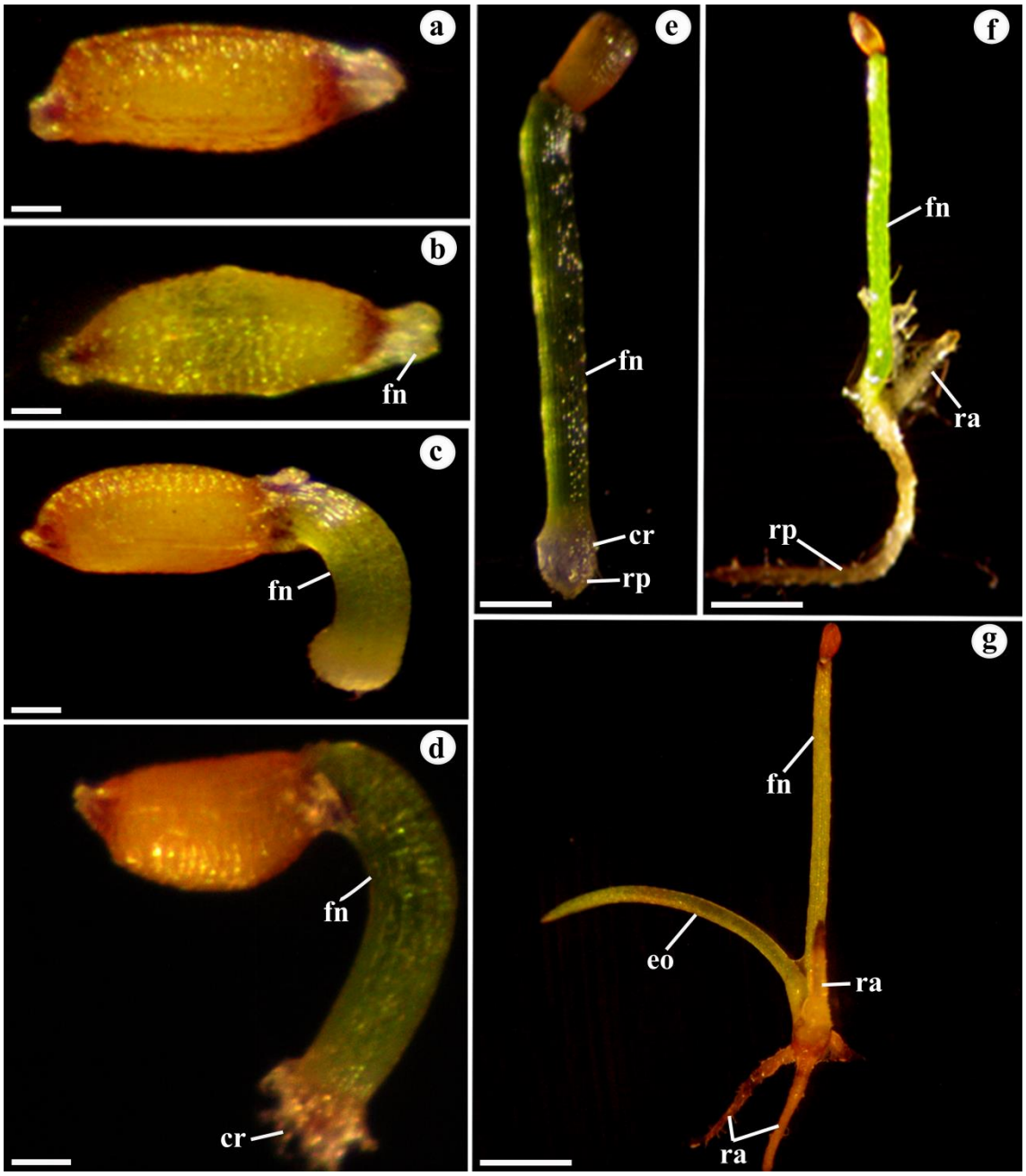


Figura 3

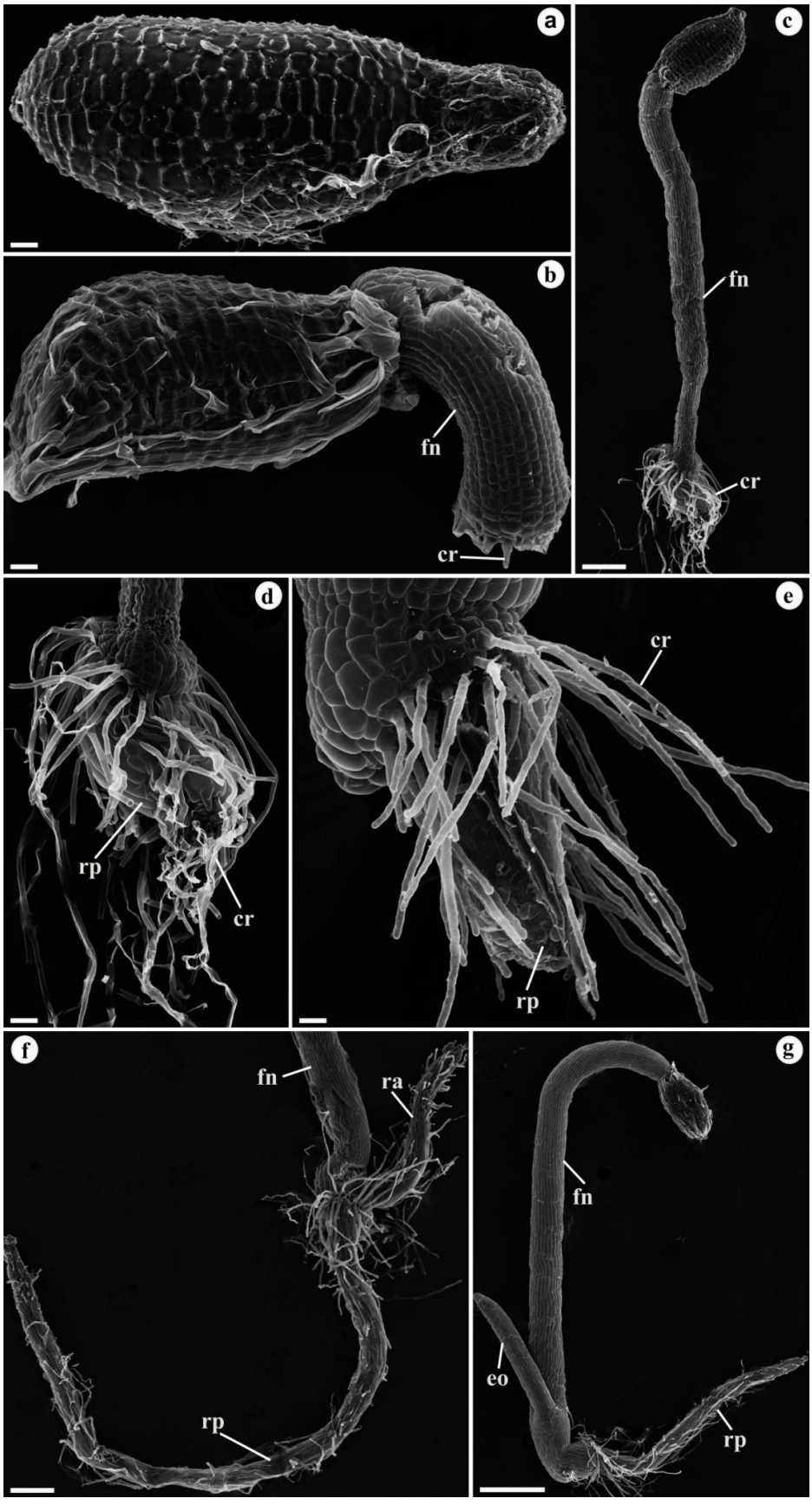


Figura 4

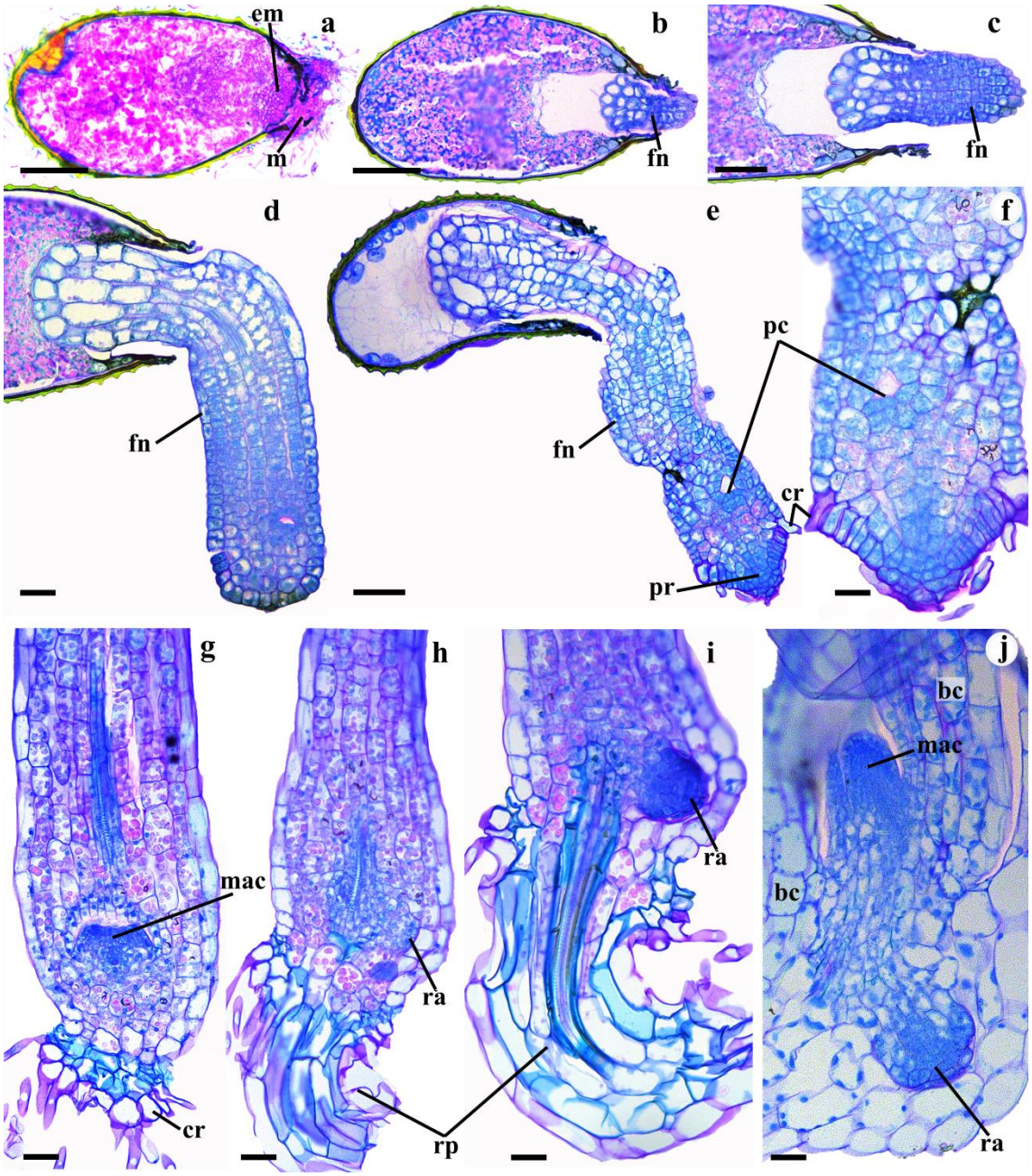


Tabela 1: Tempo para surgimento das diferentes estruturas da plântula em *Juncus tenuis*

Tempo para o surgimento das estruturas	**Dias**
Fanerômero	16-20
Colar de rizóides	18-24
Raiz primária	23-26
Raiz adventícia	25-32
1ª folha	35-38
2ª e 3ª raiz adventícia	42-47

CAPÍTULO 5

Entendendo o desenvolvimento pós-seminal em espécies de Cyperaceae (Poales) em uma perspectiva anatômica

Lucimara Reis de Oliveira Silva[1], Rafael Trevisan[2] e Aline Oriani[1,3]

[1] Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Departamento de Biodiversidade, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (UNESP), Rio Claro 13506- 900, São Paulo, Brasil

[2] Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis 88040-900, Santa Catarina, Brasil

[3] Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba 13418-900, São Paulo, Brasil

✉ Aline Oriani
alineoriani@yahoo.com.br

Manuscrito submetido ao periódico *Protoplasma*

Resumo

Considerando a representatividade de Cyperaceae nos ecossistemas campestres e sua diversidade morfológica, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o desenvolvimento pós-seminal de diferentes espécies, descrevendo aspectos morfológicos, micromorfológicos e anatômicos das plântulas em um contexto ecológico e evolutivo. Para tanto, 100 sementes de cada espécie estudada, coletadas em ambientes naturais, foram colocadas para germinar em condições controladas e analisadas a cada 24 horas durante um mês. Amostras em diferentes fases do desenvolvimento pós-seminal foram fixadas e analisadas sob microscopia de luz e eletrônica de varredura. Enquanto as sementes de algumas espécies parecem apresentar dormência, em outras, a embebição e a germinação ocorreram entre quatro a quinze dias após a montagem dos experimentos. A porcentagem de germinação variou de 31% a 68% entre as espécies estudadas. A primeira estrutura a se desenvolver é o coleóptilo, que se alonga como uma estrutura tubular, envolvendo, em sua base, o meristema apical caulinar, que se torna evidente apenas após o início da germinação. O desenvolvimento pós-seminal foi semelhante nas espécies analisadas, o que mostra a uniformidade da família no início do desenvolvimento dos indivíduos, apesar da grande diversidade morfológica observada na fase adulta. Considerando o posicionamento filogenético de Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae dentro do clado cyperídeo, o cotilédone do tipo coleóptilo é provavelmente a condição derivada no clado, tendo derivado diretamente do cotilédone do tipo fanerômero, pelo maior desenvolvimento do hipofilo em relação ao hiperfilo cotiledonar.

Palavras-chave: Aquênio; Cyperídeas; Coleóptilo; Germinação; Plântulas; Sementes

Introdução

Cyperaceae Juss. apresenta grande diversidade morfológica e inclui cerca de 5.500 espécies em 90 gêneros (Govaerts et al. 2021). A família tem distribuição cosmopolita, mas a maioria das espécies se concentra na África e nos neotrópicos (Bruhl 1995; Goetghebeur 1998; Govaerts et al. 2021).

Com base em estudos filogenéticos, combinando dados morfológicos e moleculares, Cyperaceae atualmente está dividida em duas subfamílias: Mapanioideae e Cyperoideae (Simpson et al. 2007; Muasya et al. 2009; Semmouri et al. 2019). Os gêneros mais ricos em número de espécies são: *Carex* L. (2002 spp.), *Cyperus* L. (947 spp.), *Fimbristylis* Vahl (320 spp.), *Rhynchospora* Vahl (364 spp.), *Bulbostylis* Kunth (224 spp.), *Eleocharis* R. Br. (296 spp.) e *Scleria* Berg. (258 spp.) (Govaerts et al. 2021), todos eles incluídos em Cyperoideae.

As espécies de Cyperaceae apresentam alta diversidade morfológica, possuem hábito herbáceo, são anuais ou perenes, podem ser cespitosas e formar touceiras densas, rizomatosas ou estoloníferas, formando escapos de tamanhos variados, e são encontradas em diferentes ambientes que vão desde locais secos a alagados. Em geral, as espécies dessa família possuem folhas com bainhas fechadas e flores inconspícuas, agrupadas em inflorescências (Goetghebeur 1998; Judd et al. 2009). Os frutos são do tipo aquênio e são considerados fonte de caracteres com relevância taxonômica, auxiliando tanto na diferenciação supragenérica quanto infragenérica (Bruhl 1995; Goetghbeu 1998). O formato dos aquênios, tamanho, coloração, ornamentação, presença ou não de estilopódio e de apêndices como cerdas hipóginas são usados na taxonomia de Cyperaceae (Vitta 2005).

Estudos sobre a anatomia e o desenvolvimento do fruto em Cyperaceae, realizados com diferentes espécies, mostram que o número de camadas do pericarpo varia (Shah 1968), bem como o formato das células do exocarpo (Browning and Gordon-Gray 1996, 1993), sendo que essas variações têm valor taxonômico. Segundo Shah (1968) o mesocarpo em

espécies de *Bulbostylis*, *Cyperus*, *Kyllinga* e *Carex* geralmente torna-se bastante esclerificado. Há também relatos de formação de corpos silicosos na parede periclinal interna das células do exocarpo em espécies de *Rhynchospora* (Ragonese et al. 1984; Coan et al. 2008) e de *Bolboschoenus*, *Cyathocoma* e *Costularia* (Browning and Gordon-Gray 1996, 1993). Coan et al. (2008) descrevem que em espécies de *Rhynchospora* o aquênio é rígido com mesocarpo constituído por fibras transversais e longitudinais, enquanto que em *Hypolytrum* o aquênio é fibroso-esponjoso com mesocarpo parenquimatoso diferenciado em duas regiões, uma com células de paredes finas e outra com células de paredes espessadas. Os autores relacionam essas características do pericarpo com ambiente em que as espécies ocorrem, ligando o aquênio fibroso-esponjoso a ambientes mais úmidos.

Segundo Lye (2000), que analisou as características morfológicas dos frutos de várias espécies de Cyperaceae, com o objetivo de auxiliar na delimitação de espécies e contribuir para o entendimento da estrutura e função dos diásporos, as células de paredes espessadas e as camadas espessas de cera epicuticular no pericarpo são importantes para a proteção da semente e do embrião, pois parecem ser resistentes a altas temperaturas e a danos causados por predadores e patógenos, garantindo, assim, que o aquênio chegue a um habitat adequado para que a semente germine e a plântula se estabeleça no ambiente.

Embora existam vários estudos com plântulas de monocotiledôneas, especialmente em Poales, são poucos aqueles que tratam do desenvolvimento pós-seminal e abordam a morfologia das plântulas em espécies de Cyperaceae. Esses estudos são restritos aos de Tillich (2007, 1995) e Martins and Scatena (2013). Tillich (2007) analisou a morfologia das plântulas de *Elyna myosuroides* (Vill.) Fritsch., *Isolepis setacea* (L.) R. Br. e *Mapania cuspidata* (Miq.) Uitt., descrevendo o cotilédone como do tipo coleóptilo, sendo essa a primeira estrutura a emergir da semente e que funciona como o primeiro órgão assimilador. Martins and Scatena (2013) estudaram o desenvolvimento pós-seminal de *Cyperus laxus*

Lam. (não Kranz) e *Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl (Kranz), mostrando que essas espécies apresentam o mesmo padrão de desenvolvimento descrito por Tillich (2007). Além disso, as autoras descreveram a origem dos tecidos em diferentes órgãos vegetativos dessas espécies.

Sobre germinação de sementes de Cyperaceae, Mendonça et al. (2015) avaliaram os efeitos de aspectos físicos das sementes de *Fimbristylis dicothoma* sobre sua germinação e dormência, e relataram que o tamanho e a cor da semente podem afetar seu desempenho germinativo. Segundo os autores, as sementes de cor clara não apresentam dormência e as sementes de tamanho médio apresentam maior porcentagem e velocidade de germinação. Já Monteiro (2020) estudou o desenvolvimento e a função do estilopódio em espécies de *Bulbostylis*, *Cyperus*, *Eleocharis*, *Fimbristylis* e *Rhynchospora*, mostrando que essa estrutura pode estar associada com a germinação, facilitando a entrada de água nas sementes e aumentando a taxa e a velocidade de germinação.

Muitas espécies de Cyperaceae são consideradas plantas daninhas, como por exemplo, espécies de *Bulbostylis*, *Cyperus*, *Eleocharis*, *Fimbristylis* e *Pycreus* (Carvalho 2013) e plantas invasoras, como espécies de *Carex*, *Cyperus*, *Eleocharis* e *Fimbristylis* (Groth 1983). Embora pouco se saiba sobre sistemas de reprodução em Cyperaceae, estudos mostram que muitas espécies de plantas daninhas, incluindo Cyperaceae, apresentam tanto reprodução assexuada (por meio de propagação vegetativa) quanto reprodução via sementes (Trevisan and Boldrini 2006; Braccini 2011; Carvalho 2013; Demeda et al. 2018). Geralmente, espécies que apresentam os dois tipos de reprodução são perenes, apresentam alto potencial infestante e são de difícil controle (Carvalho 2013). Além disso, várias espécies invasoras apresentam algum tipo de estratégia para sobreviver, como a dormência das sementes. Esse mecanismo permite que as populações possam sobreviver a longos períodos de condições adversas, contribuindo para a sua perpetuação em diferentes ecossistemas, como já demonstrado em espécies de *Cyperus* e *Carex* (Leck and Schütz 2005; Pitelli and Pitelli 2008).

Trabalhos sobre germinação e desenvolvimento de plântulas em espécies de monocotiledôneas se concentram, principalmente, naquelas consideradas economicamente importantes. Porém, estudos mais abrangentes revelam que as características morfológicas das plântulas de monocotilêdoneas podem ser utilizadas, também, como ferramenta para entender a evolução do grupo (Tillich 1995, 2000, 2007).

De acordo com Tillich (2007), as plântulas das monocotiledôneas têm estrutura complexa, são muito mais diversas que as das demais angiospermas e apresentam frequentemente estados de caráter derivados, tornando difícil a interpretação de sua morfologia. Tillich (2007) descreve quatro tipos de cotilédones em Poales: compacto, coleóptilo, hipofilo cotiledonar laminar e fanerômero. O cotilédone compacto caracteriza-se por apresentar uma bainha cotiledonar curta que envolve o nó cotiledonar e um hiperfilo haustorial. O hipofilo cotiledonar é a parte basal e bifacial do cotilédone e pode ser desenvolvido formando uma estrutura semelhante a uma lâmina (hipofilo cotiledonar laminar). O cotilédone também pode se diferenciar em um coleóptilo, uma estrutura tubular produzida pela atividade meristemática do tecido marginal da bainha cotiledonar. Já o fanerômero corresponde à porção proximal do hiperfilo cotiledonar alongada. Tillich (2007) propõe uma hipótese evolutiva do cotilédone em Poales, na qual o tipo compacto seria a condição ancestral e que teria originado diretamente os outros três tipos. Tillich (2007), por análises comparativas, também define os termos e propõe uma padronização da terminologia usada para descrição das estruturas do embrião e das plântulas de monocotiledôneas, possibilitando descrições mais precisas e permitindo, assim, o estabelecimento de homologias.

No clado das cyperídeas, composto por Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae (Linder and Rudall 2005; Givnish et al. 2010, 2018; Bouchenak-Khelladi et al. 2014), o cotilédone do

tipo fanerômero é encontrado nas espécies de Juncaceae e Thurniaceae; somente Cyperaceae apresenta cotilédone do tipo coleóptilo (Tillich 1995, 2007).

Assim, considerando a diversidade morfológica de Cyperaceae, a grande riqueza de espécies e a escassez de estudos de desenvolvimento pós-seminal, análises anatômicas mostram-se relevantes para um melhor entendimento sobre a estrutura e o desenvolvimento das plântulas e seu estabelecimento no ambiente. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi analisar a germinação e o desenvolvimento pós-seminal em espécies de Cyperaceae, descrevendo aspectos morfológicos, micromorfológicos e anatômicos, a fim de caracterizar a plântula nas diferentes fases do desenvolvimento. Buscamos responder a seguinte pergunta: As espécies estudadas de diferentes gêneros de Cyperaceae compartilham o mesmo tipo de cotilédone e o mesmo padrão de desenvolvimento pós-seminal?

Material e métodos

Material botânico

Foram estudadas as seguintes espécies de Cyperaceae: *Cyperus sesquiflorus* (Torr.) Mattf.& Kuk (HRCB 77283), *Lagenocarpus minarum* (Nees) Boeck. (HRCB 77243), *Rhynchospora rugosa* (Vahl) Gale. (HRCB 77250), *Lagenocarpus bracteosus* C.B.Clarke. (HRCB 77263), *Lagenocarpus rigidus* Nees. (HRCB 77244), *Scleria distans* Poir. (HRCB 77259) e *Scleria latifolia* Sw. (HRCB 77275). Os gêneros aqui analisados pertencem a diferentes clados e não são proximamente relacionados (Hinchliff and Roalson 2013; Muasya et al. 2009; Semmouri et al. 2019; Simpson et al. 2007; Spalink et al. 2016). As amostras de *Lagenocarpus minarun*, *Rhynchospora rugosa*, *Lagenocarpus bracteosus*, *Lagenocarpus rigidus* e *Scleria distans* foram coletadas nos campos rupestres da Serra do Cipó (Minas Gerais, Brasil), enquanto que as amostras de *Cyperus sesquiflorus* e *Scleria latifolia* foram coletadas em áreas de campos úmidos, em Florianópolis (Santa Catarina, Brasil), com as devidas

permissões de coleta. Para todas as espécies estudadas, foram coletados frutos maduros (aquênios), que foram acondicionados em sacos de papel. Também foram coletados indivíduos em fase de frutificação como material testemunho, que foi depositado no *Herbarium Rioclarense* (HRCB) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista. A identificação das espécies foi feita com base em chaves diagnósticas de Vitta (2005) para *Lagenocarpus minarun*, *Lagenocarpus bracteosus* e *Lagenocarpus rigidus*, Trevisan et al. (2007) para *Cyperus sesquiflorus*, Vitta and Prata (2009) para *Rhynchospora rugosa* e Pereira-Silva et al. (2019) para *Scleria distans* e *Scleria latifolia.*

Germinação das sementes e desenvolvimento pós-seminal

Para a análise do desenvolvimento pós-seminal, 100 frutos maduros de cada espécie foram colocados para germinar em quatro placas de Petri, com 25 sementes em cada. As placas de Petri foram forradas com papel filtro umedecido com água destilada e acondicionadas em sala climatizada, com temperatura de 25±2ºC e luz fluorescente (≈40µmol.m^{-2}.s^{-1} PAR) constantes.

A observação dos frutos foi realizada a cada 24 horas e a germinação foi considerada a partir da abertura do aquênio e a protrusão do eixo embrionário ou do coleóptilo. O desenvolvimento das plântulas também foi analisado a cada 24 horas, durante um mês. A documentação dos resultados foi feita com imagens obtidas com câmera digital Canon Power Shot S80, acoplada ao estereomicroscópio Leica EZ4. Para a edição de imagens utilizou-se o programa Photoshop CS5.

Microscopia de luz (ML)

Plântulas em diferentes fases de desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 (37% formaldeído, ácido acético glacial, 50% etanol, 1:1:18 v/v; Johansen 1940) por 24 horas e posteriormente transferidas para álcool 70%, para o estudo anatômico e micromorfológico.

Para análise sob microscopia de luz, o material fixado foi incluído em (2-hidroxietil)-metacrilato (*Leica* Historesin *Embedding Kit*) (Gerrits and Smid 1983) e seccionado (5-7µm de espessura) em micrótomo rotativo (RM 2245, Leica). As secções anatômicas foram coradas com ácido periódico - reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina a 0,05% em borato de sódio (Feder and O'Brien 1968; O'Brien et al. 1964) e montadas em lâminas permanentes com Entellan (Merck). As secções anatômicas escolhidas foram registradas com capturador de imagens (Leica, DFC 450) acoplado ao microscópio (Leica, DM 4000B), utilizando-se o programa de digitalização de imagens LAS (Leica Application Suite V4.0.0). A terminologia aqui utilizada segue a proposta por Tillich (2007).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para análise sob microscopia eletrônica de varredura, as amostras fixadas em FAA 50 foram desidratadas em série crescente de etanol (30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%), por cerca de 15 minutos em cada solução. Posteriormente, foram submetidas à secagem ao ponto crítico em gás carbônico (Balzers CPD 050). As amostras foram então fixadas em stubs, metalizadas com ouro por um sistema de pulverização catódica (Bal-Tec, SCD 050) e observadas no microscópio (Jeol, JSM IT 300). Imagens foram obtidas utilizando-se o sistema de captura de imagens do microscópio. Tais análises foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica "Elliot Watanabe Kitajima", da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/USP.

Resultados

Germinação e aspectos morfológicos e micromorfológicos do desenvolvimento pós-seminal

De todas as sementes coletadas, apenas as de *Lagenocarpus minarum*, *Cyperus sesquiflorus* e *Rhynchospora rugosa* germinaram. Para *Lagenocarpus bracteosus*, *Lagenocarpus rigidus*, *Scleria distans* e *Scleria latifolia* a taxa de germinação foi nula.

Os aquênios de *Lagenocarpus minarum* são obovoides a obpiramidais, com três depressões laterais (Figs. 1A, B, 3A). Já os aquênios de *Cyperus sesquiflorus* são obovoides (Figs. 4A, 5A) e os de *Rhynchospora rugosa*, biconvexos (Fig. 6A, B). Esses últimos possuem cerdas periânticas ultrapassando o fruto e apresentam um estilopódio persistente (Fig. 6A, C). O tempo para início da germinação (ruptura dos tecidos do pericarpo) e para o surgimento das diferentes estruturas da plântula em *Cyperus sesquiflorus*, *Lagenocarpus minarum* e *Rhynchospora rugosa* estão indicados na Tabela 1. O período para embebição e início da germinação foi maior em *Rhynchospora rugosa* (aproximadamente 15 dias), mas, após a germinação, o tempo para surgimento dos órgãos foi semelhante ao observado nas demais espécies estudadas.

A taxa de germinação foi de 36% em *Lagenocarpus minarum*, 68% em *Cyperus sesquiflorus* e 31% em *Rhynchospora rugosa*. Observou-se que os frutos apresentavam-se pegajosos e aderentes ao papel filtro logo após a embebição.

Após a embebição da semente também foi observado um intumescimento na região basal (proximal) do aquênio, que corresponde à região micropilar da semente (Figs. 1A, 3A, 4A, 5A). A germinação inicia-se com a ruptura dos tecidos do pericarpo e do envoltório seminal nessa região.

Observaram-se algumas diferenças no início da germinação nas espécies estudadas. Em *Lagenocarpus minarum* ocorre primeiro a protrusão do eixo embrionário (Figs. 1A, 2B), na extremidade do qual se diferencia um colar de rizoides (Figs. 1B, C, 2C). Em seguida, desenvolvem-se o coleóptilo e a raiz primária, em direções opostas (Figs. 1D, E, 2D, E). Entre o coleóptilo e a raiz primária permanece o colar de rizoides (Fig. 2E). O coleóptilo e a

raiz primária então se alongam; o primeiro como uma estrutura tubular, verde, fotossintetizante (Fig. 1F-H). Na raiz primária diferenciam-se os pelos absorventes, na zona pilífera (Fig. 1I).

Em *Cyperus sesquiflorus* o início da germinação se dá pela emergência do coleóptilo (Figs. 4B, 5B). Na base do hipocótilo observa-se a formação do colar de rizoides (Figs. 4B, 5B) e posterior desenvolvimento da raiz primária, em direção oposta ao coleóptilo (Figs. 4C, D; 5D). O coleóptilo se alonga mais rapidamente do que a raiz primária, formando uma estrutura tubular, fotossintetizante, com um apêndice em sua extremidade distal (Figs. 4E-G, 5C-E). A raiz primária também se alonga, apresentando pelos absorventes na região pilífera (Figs. 4E, 5E).

Já em *Rhynchospora rugosa,* o coleóptilo emerge junto com a raiz primária (Figs. 6A, C, 7A). Os rizoides são observados apenas em microscopia eletrônica de varredura, saindo de dentro da semente, na base da raiz primária em desenvolvimento (Fig. 7A). Apesar da raiz primária começar a se formar precocemente, ainda dentro da semente, ela aborta já no início do seu desenvolvimento, enquanto o hipocótilo se alonga (Figs. 6F-H, 7B, C).

Nas três espécies estudadas, o coleóptilo se desenvolve envolvendo o meristema apical caulinar, do qual se origina a primeira folha (eófilo), que também se alonga, ficando envolvida pelo coleóptilo apenas na sua base (Figs. 2F, 3A-D, 4F-H, 5E, 6E, G, H). Na figura 6D é possível observar o meristema apical caulinar envolto pelo coleóptilo, ainda transparente. Durante o desenvolvimento do coleóptilo e a expansão e diferenciação das primeiras folhas, observa-se que a raiz primária começa a se degenerar em *Lagenocarpus minarum* (Fig. 3D, E) e em *Cyperus sesquiflorus* (Fig. 4H). Raízes adventícias se desenvolvem a partir do mesocótilo (Figs. 2G, 3D, E, 4H, 6H). Posteriormente, surge a segunda folha (Fig. 3E, F). A plântula, com a primeira folha totalmente expandida e a segunda em desenvolvimento, apresenta 1-3 raízes adventícias (Figs. 3G, 6H).

Posteriormente, com a segunda e a terceira folha totalmente expandidas, inicia-se o estágio de planta jovem (Fig. 4I).

Aspectos anatômicos do desenvolvimento pós-seminal

Sob microscopia de luz, observa-se, em *Lagenocarpus minarum*, a ruptura do pericarpo e do envoltório seminal e a protrusão do eixo embrionário (Fig. 8A). A protrusão do eixo embrionário ocorre pelo alongamento do cotilédone, como resultado da divisão das células do hiperfilo (Fig. 8A, B). Neste estágio, os polos caulinar e radicular não são evidentes. Observa-se então o desenvolvimento do coleóptilo (hipofilo cotiledonar) e um alargamento na base do eixo (Fig. 8B, C), onde posteriormente se diferenciam os rizoides (Fig. 8D). O hiperfilo cotiledonar é haustorial e permanece dentro da semente (Fig. 8C). O meristema apical caulinar e o meristema subapical radicular se organizam posteriormente, em um eixo perpendicular ao hiperfilo cotiledonar (Fig. 8F). O meristema apical caulinar é envolvido pelo coleóptilo (Fig. 8E-G).

Em *Cyperus sesquiflorus* pode-se observar o embrião no interior da semente, de tamanho reduzido, imerso no endosperma amilífero (Fig. 9A). A germinação se inicia com a emergência do coleóptilo, que é empurrado para fora da semente pela divisão das células do hiperfilo cotiledonar (Fig. 9B, C). Na base do coleóptilo ocorre um alargamento do eixo e a diferenciação dos rizoides, assim como a organização dos meristemas caulinar e radicular (Fig. 9B-C). Posteriormente ocorre o desenvolvimento da raiz primária e em, seguida, da primeira folha plumular, envolvida pelo coleóptilo (Fig. 9E, F). O hiperfilo cotiledonar fica retido dentro da semente e se alonga em direção à calaza, conforme o endosperma vai sendo consumido (Fig. 9F). Raízes adventícias se formam a partir do mesocótilo, que é extremamente reduzido (Fig. 9F).

Em *Rhynchospora rugosa*, a organização dos meristemas caulinar e radicular ocorre ainda dentro da semente (Fig. 10 A, B). A germinação se inicia com a emergência simultânea

do coleóptilo e da raiz primária (Fig. 10C). Logo em seguida, observa-se a formação de primórdios foliares e de raízes adventícias a partir do mesocótilo (Fig. 10D, E). A raiz primária aborta já no início do desenvolvimento e aparece como um calo, com células de paredes mais escuras (Fig. 10F). O hiperfilo cotiledonar fica retido no interior da semente e assume formato discoide pelo aumento de tamanho de suas células, que passam a ocupar o espaço deixado endosperma, o qual vai sendo consumido conforme a plântula se desenvolve (Fig. 10G).

Discussão

Os resultados aqui obtidos mostram que *Lagenocarpus minarum* e *Rhynchospora rugosa* apresentaram baixa porcentagem de germinação em comparação à *Cyperus sesquiflorus*. Acredita-se que as espécies que obtiveram baixa taxa de germinação, ou taxa de germinação nula, possuam algum tipo de dormência ou requeiram alguma condição especial para germinação. Acredita-se que a maior taxa de germinação observada em *Cyperus sesquiflorus* esteja relacionada ao ambiente, pois essa espécie normalmente ocorre em ambientes úmidos, favorecendo a embebição das sementes, enquanto *Lagenocarpus minarum* e *Rhynchospora rugosa* são encontradas em ambientes secos (Vitta 2005; Vitta and Prata 2009).

Como o fruto é indeiscente, do tipo aquênio, é possível que o pericarpo também atue na limitação ou exclusão de algum suprimento importante para que ocorra a germinação das sementes. Essa limitação pode ser dada pelas células do exocarpo, que possuem corpos silicosos nas paredes periclinais internas, e/ou pelas células do mesocarpo, que apresentam paredes lignificadas, como demonstrado nos trabalhos de anatomia do fruto de Cyperaceae (Shah 1968; Browning and Gordon-Gray 1993, 1996; Ragonese et al. 1984; Coan et al. 2008). Além disso, a superfície do aquênio da maioria das espécies de Cyperaceae é ornamentada por papilas, glândulas e/ou tricomas e, às vezes, ceras cuticulares (Lye 2000), características que podem estar relacionadas à regulação intrínseca da quantidade de água

e/ou oxigênio que entra para a semente, podendo até mesmo inibir a germinação. Acredita-se que o pericarpo tenha um papel maior na proteção da semente e regulação da germinação do que o próprio envoltório seminal, o qual é constituído pela exotesta, com células inconspícuas, com paredes finas, e pelo endotégmen, com células de paredes parcialmente espessadas (Makde and Bhuskute 1987; Coan et al. 2008).

Ressalta-se que a germinação é um dos momentos mais críticos para o estabelecimento das plantas, podendo ser afetada tanto por fatores intrínsecos como extrínsecos. Para que ocorra a germinação das sementes, é necessário a interação de vários fatores e, dentre os fatores extrínsecos, pode-se citar a disponibilidade de luz e a temperatura (Baskin and Baskin 2014). As sementes de *Lagenocarpus bracteosus*, *Lagenocarpus rigidus* e *Scleria distans*, que não germinaram, foram coletadas em áreas de campos rupestres, onde ficam expostas a altas luminosidades e a amplas flutuações de temperatura (Kraus et al. 1994; Scatena et al. 1996). Assim, é possível que tais sementes requeiram condições específicas para a quebra de dormência, como uma adaptação ao ambiente que essas espécies ocorrem.

Monteiro (2020) realizou um estudo com o objetivo de investigar uma possível influência do estilopódio (espessamento na base do estilete, muitas vezes persistente no fruto), em *Bulbostylis hirtella* Nees, *Cyperus surinamensis* Vahl ex Kunth, *Eleocharis sellowiana* Kunth, *Fimbristylis dichotoma* Hook.f. e *Rhynchospora albiceps* Kunth, na taxa e velocidade de germinação das sementes. Esse estudo revelou que nas espécies em que o estilopódio é persistente no fruto as taxas de germinação são maiores. Com base nesses resultados, Monteiro (2020) hipotetizou que o estilopódio, quando persistente no fruto, tem função de facilitar a captação de água para a germinação. No entanto, considerando nossos resultados, das três espécies que germinaram, *Cyperus sesquiflorus* foi a que apresentou maior porcentagem de germinação (68%), porém essa espécie não possui o estilopódio. Em contrapartida, *Rhynchospora rugosa*, a única espécie aqui estudada que apresenta estilopódio,

o qual é persistente no fruto, foi a que obteve menor porcentagem de germinação (31%). Assim, acreditamos que em *Rhynchospora rugosa* o estilopódio não tenha influência na germinação, mas desempenhe algum papel na dispersão. O estilopódio, junto a outras estruturas florais, como as cerdas do perianto, que já são conhecidas por promover a dispersão (Goetghebeur 1998), pode ser considerado uma estrutura facilitadora da dispersão pelo vento, aumentando a resistência entre o ar e o fruto e, assim, prolongando o tempo de queda, ou pode funcionar como uma estrutura flutuante para a dispersão do diásporo.

Quanto ao sistema de reprodução em Cyperaceae, ainda pouco conhecido, alguns estudos sobre biologia reprodutiva, diversidade genotípica e germinação da semente revelam que várias espécies apresentam estratégia reprodutiva mista, ou seja, envolvendo tanto a reprodução sexuada quanto reprodução assexuada (por meio de rizomas, estolões, tubérculos entre outros), aumentando, assim, a sua propagação (Kral 1978; Goetghebeur 1998; Ivey and Richards 2001; Braccini 2011; Demeda et al. 2018;). Pode-se destacar *Eleocharis laeviglumis* R.Trevis. & Boldrini, *Fuirena robusta* Kunth (Kral 1978; Trevisan and Boldrini 2006), *Carex jamaicense* Crantz, (Ivey and Richards 2001) e algumas espécies de *Carex* L. (Friedman and Barrett 2009) como exemplos de espécies que possuem as duas estratégias de reprodução.

Considerando os nossos resultados, *Lagenocarpus minarum* e *Rhynchospora rugosa*, apesar de apresentarem baixa porcentagem de germinação de sementes, formam grandes populações e, provavelmente, isso ocorra pela capacidade de se propagarem vegetativamente, já que essas espécies apresentam estrutura subterrânea, tais como os rizomas, os quais possuem gemas e podem dar origem a várias novas plantas, formando grandes populações clonais. *Lagenocarpus minarum* apresenta o hábito característico semelhante a uma palmeira jovem, enquanto *Cyperus sesquiflorus* (que apresentou maior taxa de germinação) e *Rhynchospora rugosa* apresentam hábito cespitoso, o que indica que a porcentagem de germinação provavelmente não tem relação com o hábito da planta. Estudos genéticos de

população e sobre a fisiologia das sementes são necessários para melhor entendimento da biologia reprodutiva dessas espécies.

Comparando a porcentagem de germinação e o tempo médio para a formação da plântula em Cyperaceae com outras famílias de Poales que também são herbáceas e ocorrerem no mesmo ambiente, como Poaceae (Nakamura and Scatena 2009), Eriocaulaceae (Corredor et al. 2015; Mascarenhas and Scatena 2021), Bromeliaceae (Silva 2018) e Xyridaceae (Nardi 2018), observa-se que a porcentagem de germinação nessas famílias é bem maior, sendo geralmente superior à 80%. No entanto, após a germinação, o tempo médio para formação da plântula até o surgimento da primeira folha é semelhante. Essas famílias apresentam diferentes tipos de cotilédone (Tillich 2007, 1995), o que nos leva a inferir que o tipo de cotilédone não interfere no tempo de formação da plântula.

Nossos resultados mostram que o desenvolvimento pós-seminal e a estrutura das plântulas são semelhantes entre espécies de Cyperaceae estudadas, com a única diferença de que, em *Lagenocarpus minarum*, a germinação começa com a protrusão do eixo embrionário, seguido do coleóptilo, enquanto *Cyperus sesquiflorus* e *Rhynchospora rugosa* a germinação começa com a emergência do coleóptilo. Essa diferença provavelmente ocorre devido a um maior desenvolvimento do hiperfilo cotiledonar, que empurra o eixo embrionário para fora da semente, juntamente com um atraso na organização dos meristemas apicais caulinar e radicular em *Lagenocarpus minarum*, enquanto que em *Rhynchospora rugosa* essa organização ocorre ainda dentro da semente, logo após a embebição, como demonstrado nos nossos resultados de anatomia, inéditos para a família.

A raiz primária tem crescimento tardio e limitado, sendo que a mesma só se inicia após a diferenciação dos rizóides na região do colar. Os rizoides são diferenciados dos pelos radiculares pelo maior comprimento, densidade e/ou longevidade (Tillich 2007). O colar de rizoides é considerado uma característica evolutiva derivada, aumentando as chances de

sobrevivência da plântula no ambiente, pois auxilia no contato com o substrato e na absorção de água e íons (Tillich 2000). De acordo com Tillich (2000), a presença da raiz primária em monocotiledôneas é uma condição ancestral para o grupo. A redução da ramificação, do crescimento e do período de permanência da raiz primária pode ser entendida como uma característica derivada, sendo sua completa ausência o último passo evolutivo (Tillich 1995, 2000). Dentre as Poales, a raiz primária aborta no início do desenvolvimento na maioria das famílias, como em Xyridaceae, Thurniaceae e Cyperaceae (Tillich 2007), e está ausente em Eriocaulaceae, Mayacaceae, Poaceae e em algumas espécies de Tillandsioideae (Bromeliaceae) (Scatena et al. 2006; Tillich 2007; Silva and Scatena 2011) e de Rapateaceae (Tillich 2007). Em Xyridaceae, Thurniaceae e Cyperaceae a raiz primária se degenera e é substituída pelas raízes adventícias (Tillich 2007). No clado cyperídeo, apenas as plântulas de Juncaceae apresentam raiz primária longa e bem desenvolvida, pois em Cyperaceae e Thurniaceae a raiz primária se degenera logo no início do desenvolvimento.

O cotilédone, que é uma estrutura que apresenta diversos estados de caráter em Poales, pode ser analisado em um contexto evolutivo. Ele é constituído de duas regiões: uma que correspondente à sua parte basal e bifacial, denominada hipofilo, e outra que corresponde à sua porção distal, unifacial, denominada hiperfilo. O hipofilo pode ser reduzido (cotilédone compacto), ou desenvolvido em uma estrutura laminar aberta (hipofilo cotiledonar laminar) ou fechada, o coleóptilo, ao passo que o hiperfilo pode aparecer reduzido, como haustório, ou desenvolvido em uma estrutura tubular, como o apócole ou o fanerômero (Tillich 2007).

Na maioria das famílias de Poales o cotilédone é do tipo compacto (Tillich 1995, 2007). Em Cyperaceae, nossos resultados mostram que o cotilédone é do tipo coleóptilo, assim como observado por Tillich (1995, 2007) e Martins and Scatena (2013) para outras espécies da família. Além de Cyperaceae, o coleóptilo também está presente em Joinvilleaceae (Tillich 2007) e Poaceae (Tillich 2007; Nakamura and Scatena 2009), ambas

as famílias pertencentes ao clado “graminídeo”, e em algumas espécies de Restionaceae (Tillich 2007), do clado restiídeo, indicando que esse tipo de cotilédone provavelmente teve várias origens independentes na ordem.

Segundo Tillich (2007), os diferentes tipos de cotilédone que ocorrem em Poales (hipofilo laminar, coleóptilo e fanerômero) derivaram diretamente o tipo compacto. Ainda segundo Tillich (2007), uma troca direta de um tipo de cotilédone derivado para outro é quase impossível por questões morfológicas, ou seja, um coleóptilo não pode ter sido derivado de um fanerômero ou vice-versa, pois para que esse processo aconteça é necessário que ocorra uma reversão para o estágio de cotilédone compacto. Nas análises filogenéticas de Poales, Thurniaceae emerge como grupo irmão de Cyperaceae + Juncaceae (p.ex. Linder and Rudall 2005; Givnish et al. 2018, 2010; Bouchenak-Khelladi et al. 2014). Visto que o cotilédone é do tipo fanerômero em Thurniaceae e Juncaceae, este é o estado de caráter ancestral mais provável no clado cyperídeo. Assim, acreditamos que o coleóptilo em Cyperaceae possa ter derivado diretamente a partir do fanerômero, pelo maior desenvolvimento do hipofilo e não mais do hiperfilo cotiledonar.

O desenvolvimento de um coleóptilo pode ser considerado uma vantagem para a plântula, pois essa estrutura serve de proteção para as primeiras folhas, principalmente se a semente estiver enterrada (Tillich 2000). Essa proteção faz-se necessária uma vez que plântulas com coleóptilos longos geralmente produzem, desde o início, eofilos foliares, os quais são mais sensíveis a danos do que as escamas ou catafilos (Tillich 2000). Dessa forma, nas famílias cujos representantes ocorrem, em sua maioria, em ambientes abertos, com solos arenosos e com alta incidência luminosa, como Cyperaceae, Poaceae e Restionaceae, o coleóptilo pode ser interpretado como uma das estratégias adaptativas que favorecem o estabelecimento das plântulas nessas condições.

A combinação do desenvolvimento do coleóptilo e desenvolvimento tardio da raiz primária é considerada uma característica particular de Cyperaceae dentre as Poales (Tillich 2007). Tillich (2007) também relata, para Cyperaceae, o surgimento de um apêndice no ápice do coleóptilo, no entanto, dentre as espécies aqui estudadas, essa estrutura foi observada apenas em *Cyperus sesquiflorus.* Acredita-se que tal estrutura seja uma pequena extensão do coleóptilo, no topo de sua abertura distal, que corresponde ao lobo mediano da bainha (Tillich 2007). Esse apêndice também foi observado em espécies de outras famílias de monocotiledôneas, como em *Acorus* (Acoraceae, Acorales), e representa um alto grau de evolução do cotilédone (Tillich 2000). Nas análises filogenéticas mais recentes de Cyperaceae (p.ex. Muasya et al. 2009; Hinchliff and Roalson 2013; Spanlik et al. 2016; Semmouri et al. 2019), com base em dados moleculares e morfológicos, *Cyperus sesquiflorus* aparece em posição mais derivada em relação à *Lagenocarpus minarum* e *Rhynchospora rugosa*. No entanto, acredita-se que esse apêndice, no topo do coleóptilo, tenha surgido diversas vezes de forma independente dentro das Cyperaceae, já que essa estrutura também foi observada nas espécies estudadas por Tillich (2007), que aparecem em clados distintos e mais basais.

Considerando a alta diversidade morfológica encontrada nas espécies de Cyperaceae e de ambientes e habitats nos quais estão distribuídas, que vão desde ambientes aquáticos até campos secos (Goetghebeur 1998), esperava-se encontrar diferenças mais significativas no desenvolvimento pós-seminal das espécies estudadas. No entanto, a estrutura do embrião e da plântula, até o momento, mostrou-se uniforme na família, considerando nossos resultados e os da literatura (Tillich 2007; Martins and Scatena 2013). Assim, conclui-se que as características do embrião e da plântula são conservadas e que, aparentemente, não estão correlacionadas com fatores ambientais ou com o hábito do indivíduo adulto.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, pela bolsa de doutorado concedida à LROS (processo nº 170850/2017-0) e pela bolsa de pós-doutorado concedida à AO (processo nº 157531/2018-0). O presente trabalho foi realizado também com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 (bolsa PNPD para AO).

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

Baskin CC, Baskin JM (2014) Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic/Elsevier, San Diego

Bouchenak-Khelladi Y, Muasya AM, Linder HP (2014) A revised evolutionary history of Poales: origins and diversification. Bot J Linn Soc 175:4–16. https://doi.org/10.1111/boj.12160

Braccini AL (2011) Banco de sementes e mecanismo de dormência em sementes de plantas daninhas. In: Oliveira Júnior RS, Constantin J, Inoue MH (ed) Biologia e manejo de plantas daninhas. Omnipax, Curitiba, 37–66

Browning J, Gordon-Gray KD (1993) Studies in Cyperaceae in southern Africa. 21: The taxonomic significance of the achene and its embryo in *Bolboschoenus*. South African J Bot 59:311–318. https://doi.org/10.1016/s0254-6299(16)30734-7

Browning J, Gordon-Gray KD (1996) Studies in cyperaceae in southern Africa. 30: Aspects of the relationship between *Cyathocoma* and *Costularia*. South African J Bot 62:250–257. https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30653-0

Bruhl JJ (1995) Sedge genera of the world: relationships and a new classification of the

Cyperaceae. Aust Syst Bot 8:125–305. https://doi.org/10.1071/SB9950125

Carvalho LB (2013) Plantas daninhas. Lages, SC

Coan AI, Alves MV, Scatena VL (2008) Comparative study of ovule and fruit development in species of *Hypolytrum* and *Rhynchospora* (Cyperaceae, Poales). Plant Syst Evol 272:181–195. https://doi.org/10.1007/s00606-007-0636-9

Corredor BAD, Escobar DFE, Scatena VL (2015) Morfología de semillas y desarrollo post-seminal de especies de *Comanthera* (Eriocaulaceae). Rev Biol Trop 63:1127–1135. https://doi.org/10.15517/rbt.v63i4.16956

Demeda CLB, Seger GDDS, Steiner N, Trevisan R (2018) Reproductive phenology and germination of *Eleocharis laeviglumis* R. Trevis. & Boldrini (Cyperaceae). Acta Bot Brasilica 32:487–492. https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0200

Feder N, O'Brien T (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. Am. J. Bot. 55:123–142. https://doi.org/10.2307/2440500

Friedman J, Barrett SCH (2009) Wind of change: New insights on the ecology and evolution of pollination and mating in wind-pollinated plants. Ann Bot 103:1515–1527. https://doi.org/10.1093/aob/mcp035

Gerrits PO, Smid L (1983) A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. J Microsc 132:81–85. https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1983.tb04711.x

Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, Depamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomefer WB, Briggs BG, Duvall 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 Missouri Bot Gard 97:584–616. https://doi.org/10.3417/2010023

Givnish TJ, Zuluaga A, Spalink D, Soto Gomez M, Lam VKY, Saarela JM, Sass C, Iles

WJD, de Sousa DJL, Leebens-Mack J, Chris Pires J, Zomlefer WB, Gandolfo MA, Davis JI, Stevenson DW, dePamphilis C, Specht CD, Graham SW, Barrett CF, Ané C (2018) Monocot plastid phylogenomics, timeline, net rates of species diversification, the power of multi-gene analyses, and a functional model for the origin of monocots. Am J Bot 105:1888–1910. https://doi.org/10.1002/ajb2.1178

Goetghebeur P (1998) Cyperaceae. In: Kubitzki K (ed) The families and genera of vascular plants. Flowering plants - Monocotyledons Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae), Springer, Berlin, pp 141–190

Govaerts R, Koopman J, Simpson D, Goetghebeur P, Wilson K, Egorova T, Bruhl J (2021). World checklist of Cyperaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew Website at http://wcsp.science.kew.org/. Accessed 26 April 2021

Groth D (1983) Estudos morfológicos das unidades de dispersão de seis espécies invasoras da família Cyperaceae. Planta Daninha 6:25–38

Hinchliff CE, Roalson E (2013) Using supermatrices for phylogenetic inquiry: an example using the sedges. Syst Biol 62:205–219. https:// doi:10.1093/sysbio/sys088

Ivey CT, Richards JH (2001) Genotypic diversity and clonal structure of everglades sawgrass, *Cladium jamaicense* (Cyperaceae). Int J Plant Sci 162:1327–1335. doi:10.1086/323476

Johansen DA (1940) Plant microtechnique. Mc Graw Hill Book, New York

Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ (2009) Sistemática vegetal: um enfoque filogenético. Artmed, Porto Alegre

Kral R (1978) A synopsis of Fuirena (Cyperaceae) for the Americas North of South America. SIDA 7:309–354

Kraus JE, Sajo MG, Dias-Leme CL, Wanderley MGL (1994) Aspectos morfológicos do desenvolvimento pós-seminal em espécies de Xyris L. (Xyridaceae). Hoehnea 21:29–38

Leck MA, Schütz, W (2005) Regeneration of Cyperaceae, with particular reference to seed ecology and seed banks. Perspect Plant Ecol Evol Sys 7:95–133. https://doi.org/10.1016/j.ppees.2005.05.001

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

Lye KA (2000) Achene structure and function of structure in Cyperaceae. In: Wilson KL, Morrison DA (eds) Monocots: systematics and evolution. CSIRO, Melbourne, pp 615–628

Makde KH, Bhuskute SM (1987) Embryology of *Kyllinga monocephala* (Cyperaceae) and its systematic position. Plant Syst Evol 156:143–150. https://doi.org/10.1007/BF00936069

Martins S, Scatena VL (2013) Developmental anatomy of *Cyperus laxus* (non-Nranz) and Fimbristylis dichotoma (Kranz) (Cyperaceae, Poales) and tissue continuity. An Acad Bras Cienc 85:605–613. https://doi.org/10.1590/S0001-37652013005000032

Mascarenhas AAS, Scatena VL (2021) Seed morphology and post-seminal development in *Leiothrix* Ruhland (Eriocaulaceae, Poales). Feddes Repert 132:9–19. https://doi.org/10.1002/fedr.202000022

Mendonça GS, Martins CC, Martins D, Lopes MTG (2015) Physical and physiological aspects of seeds of *Fimbristylis dicothoma* as related to germination and dormancy . Rev. Ciência Agronômica 46:539–545. https://doi.org/10.5935/1806-6690.20150036.

Monteiro MM (2020) Desenvolvimento, anatomia e evolução de caracteres florais em Cyperaceae (Poales). PhD thesis, Universidade de São Paulo

Muasya AM, Simpson DA, Verboom GA, Goetghebeur P, Naczi RFC, Chase MW, Smets E (2009) Phylogeny of cyperaceae based on DNA sequence data: Current progress and future prospects. Bot Rev 75:2–21. https://doi.org/10.1007/s12229-008-9019-3

Nakamura AT, Scatena VL (2009) Desenvolvimento pós-seminal de espécies de Poaceae

(Poales). Acta Bot Brasilica 23:212–222. https://doi.org/10.1590/s0102-33062009000100023

Nardi KO (2018) Embriogênese e desenvolvimento pós-seminal de Xyridaceae e Mayacaceae e anatomia floral de *Xyris*, com ênfase na evolução de caracteres. PhD thesis, Universidade Estadual Paulista

O'Brien TP, Feder N, McCully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59:368–373

Pereira-Silva L, Luchetta K, Tavares AS, Trevisan R (2019) Sinopse de Cyperaceae na baixada do Maciambú, Parque Estadual da Serra do Tabuleiro, Santa Catarina, Brasil. Rodriguésia 70:e03382017. http://doi.org/10.1590/2175-7860201970062

Pitelli RA, Pitelli RLCM (2008) Biologia e ecofisiologia das plantas daninhas. In: Vargas L, Roman ES (ed) Manual de manejo e controle de plantas daninhas, Embrapa, Bento Gonçalves, pp 11–38

Ragonese AM, Guaglianone ER, Struttmatter CD (1984) Desarrolo del pericarpio com cuerpos de sílice de dos espécies de *Rhynchospora* Vahl (Cyperaceae). Darwiniana 25:27–41

Scatena VL, Lemes-Filho JP, Lima AAA (1996) Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de S*yngonanthus elegans* e *S. niveus* (Eriocaulaceae). Acta Bot Bras 10:85-91

Scatena VL, Segecin S, Coan AI (2006) Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the "Campos Gerais", Paraná, southern Brazil. Braz Arch Biol Technol 49:945–951

Semmouri I, Bauters K, Léveillé-Bourret É, Starr JR, Goetghebeur P, Larridon I (2019) Phylogeny and systematics of cyperaceae, the evolution and importance of embryo morphology. Bot Rev 85:1–39. https://doi.org/10.1007/s12229-018-9202-0

Shah C.K (1968) Development of pericarp and seed coat in the Cyperaceae. Naturaliste

Canadien 95:39–48

Silva IV, Scatena VL (2011) Seed morphology and early seedling stages in Bromeliaceae from the Amazon. Rodriguesia 62:263–272. https://doi.org/10.1590/2175-7860201162204

Silva KS (2018) Caracteres vegetativos e reprodutivos e desenvolvimento pós-seminal em Bromeliaceae. PhD thesis, Universidade Estadual Paulista

Scatena, V.L., Menezes, N.L. de, Stützel, T., 1993. Embryology and seedling development in *Synagonanthus rufipes* Silveira (Eriocaulaceae). Beitrage zur Biol. der Pflanzena.

Simpson D, Muasya M, Alves M, Bruhl J, Dhooge S, Chase M, Furness C, Ghamkhar K, Goetghebeur P, Hodkinson T, Marchant A, Reznicek A, Nieuwborg R, Roalson E, Smets E, Starr J, Thomas W, Wilson K, Zhang X (2007) Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence Data–a New rbcL Analysis. Aliso 23:72–83. 569 https://doi.org/10.5642/aliso.20072301.09

Spalink D, Drew BT, Pace MC, Zaborsky JG, Starr JR, Cameron KM, Givnish TJ, Sytsma KJ (2016) Biogeography of the cosmopolitan sedges (Cyperaceae) and the area-richness correlation in plants. J Biogeogr 43:1893–1904. https://doi.org/10.1111/jbi.12802

Tillich HJ (1995) Seedlings and systematics in monocotyledons. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds) Monocotyledons: systematics and evolution Royal Botanical Gardens, Kew, pp 303-352

Tillich HJ (2000) Ancestral and derived character states in seedlings of monocotyledons. In: Wilson KI, Morrison DA (eds) Monocots: systematics and evolution. CSIRO, Melbourne, pp 221-228

Tillich HJ (2007) Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (monocotyledons). Ann Bot 100:1413–1429. https://doi.org/10.1093/aob/mcm238

Trevisan R, Boldrini II (2006) A new species of *Eleocharis* R. Brown (Cyperaceae) from southern Brazil. Novon 16:155–157. https://doi.org/10.3417/1055-3177

Trevisan R, Lüdtke R, Boldrini II (2007) O gênero *Kyllinga* Rottb. (Cyperaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Rev Bras Biociências 5:27–36

Vitta FA (2005) Revisão taxonômica e estudos morfológicos e biossistemáticos em *Cryptangium* Schrad. ex Nees e *Lagenocarpus* Nees (Cyperaceae: Cryptangieae). PhD thesis, Universidade de Campinas

Vitta FA, Prata AP (2009) Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Cyperaceae. Bol Botânica 27: 43–62. https://doi.org/10.11606/issn.2316-9052.v27i1p43-62

Legendas

Fig. 1. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Lagenocarpus minarum*. **A.** Protrusão do eixo embrionário; **B, C.** Alongamento do eixo embrionário e diferenciação do colar de rizóides; **D, E.** Início do desenvolvimento do coleóptilo e da raiz primária; **F, G.** Alongamento do coleóptilo e da raiz primária; **H.** Detalhe do coleóptilo tubular; **I.** Detalhe da raiz primária. Legendas: cp, coleóptilo; rp, raiz primária. Barras: A, B, D, F, G: 2,0 mm; C, E: 1,5 mm; H, I: 3,0 mm.

Fig. 2. Desenvolvimento pós-seminal de *Lagenocarpus minarum*, sob microscopia eletrônica de varredura. **A.** Início da germinação; **B.** Protrusão do coleóptilo; **C.** Alongamento do coleóptilo e diferenciação do colar de rizoides. **(D)** Desenvolvimento do colar de rizóides; **E.** Formação da raiz primária; **F.** Formação da primeira folha; **G.** Formação das raízes adventícias. Legendas: cp, coleóptilo; cr, colar de rizóides; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A, F: 200 µm; B-E: 100 µm; G: 500 µm.

Fig. 3. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Lagenocarpus minarum*. **A.** Alongamento do coleóptilo e formação da primeira folha; **B, C.** Desenvolvimento da primeira folha. **D.** Formação das raízes adventícias; **E, F.** Desenvolvimento da segunda folha e da raiz primária; **G.** Plântula apresentando duas folhas desenvolvidas e raízes adventícias. Legendas: cp, coleóptilo; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A: 1,0 mm; B-D: 1,5 mm; E: 2,5 mm; F: 2,0 mm; G: 3,0 mm.

Fig. 4. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Cyperus sesquiflorus*. **A.** Início da germinação; **B.** Protrusão do coleóptilo; **C.** Alongamento do coleóptilo e formação da raiz primária; **D, E.** Formação do colar de rizóides, alongamento do coleóptilo e da raiz primária; **F, G.** Formação da primeira folha e do apêndice do coleóptilo; **H.** Formação das raízes adventícias; **I.** Plântula apresentando duas folhas desenvolvidas e raízes adventícias. Legendas: ap, apêndice; cp, coleóptilo; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A-D: 1,5 mm; E-H: 2,5 mm; I: 3,0 mm.

Fig. 5. Desenvolvimento pós-seminal de *Cyperus sesquiflorus*, sob microscopia eletrônica de varredura. **A.** Início da germinação; **B.** Protrusão do coleóptilo e diferenciação do colar de rizóides; **C, D.** Alongamento do coleóptilo e formação da raiz primária; **E.** Formação da primeira folha. Legendas: cp, coleóptilo; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A: 200 µm; B-D: 100 µm; E: 500 µm.

Fig. 6. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Rhynchospora rugosa*. **A, B.** Protrusão do coleóptilo e da raiz primária; **C.** Alongamento do coleóptilo e da raiz primária; **D.** Detalhe do coleóptilo envolvendo o meristema apical caulinar; **E.** Formação da primeira folha; **F.** Raiz primária abortada; **G.** Desenvolvimento da primeira folha; **H.** Plântula

apresentando duas folhas desenvolvidas e raízes adventícias. Legendas: cp, coleóptilo; est, estilopódio; rp, raiz primária. As setas indicam as cerdas periânticas. Barras: A-C, F: 1,5 mm; D: 2,0 mm; E: 2,5 mm; G, H: 3,0 mm.

Fig. 7. Desenvolvimento pós-seminal de *Rhynchospora rugosa*, sob microscopia eletrônica de varredura. **A.** Protrusão do coleóptilo e surgimento do colar de rizóides; **B.** Formação da raiz primária e alongamento do coleóptilo; **C.** Desenvolvimento da primeira folha. Legendas: cp, coleóptilo; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A, B: 200 µm; C: 500 µm.

Fig. 8. Anatomia do desenvolvimento pós-seminal de *Lagenocarpus minarum.* **A.** Detalhe mostrando alongamento do coleóptilo; **B** Desenvolvimento do coleóptilo e início da formação da raiz primária; **C.** Detalhe mostrando o coleóptilo e a raiz primária; **D.** Detalhe mostrando o colar de rizóides; **E, F.** Detalhe mostrando o desenvolvimento da primeira folha; **G.** Formação da raiz primária e desenvolvimento da primeira folha. Legenda: cp, coleóptilo; cr, colar de rizóides; es, envoltório seminal; hi, hiperfilo cotiledonar haustorial; mac, meristema apical caulinar; mar, meristema subapical radicular; pe, pericarpo; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A, B, D-F: 25 µm; C, G: 50 µm.

Fig. 9. Anatomia do desenvolvimento pós-seminal de *Cyperus sesquiflorus.* **A.** Embrião reduzido em relação ao tamanho da semente; **B.** Desenvolvimento do coleóptilo e formação do colar de rizoides; **C.** Detalhe mostrando alongamento do coleóptilo; **D.** Detalhe mostrando o meristema apical caulinar e o colar de rizoides; **E, F.** Emergência da primeira folha e surgimento da raiz primária. Legenda: círculo vermelho, embrião; cp, coleóptilo; cr, colar de rizóides; en, endosperma; es, envoltório seminal; hi, hiperfilo cotiledonar haustorial; mac,

meristema apical caulinar; mar, meristema subapical radicular; pe, pericarpo; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A, C-E: 50 μm; B, F: 100 μm.

Fig. 10. Anatomia do desenvolvimento pós-seminal de *Rhynchospora rugosa*. **A.** Protrusão do coleóptilo; **B, C.** Detalhe mostrando alongamento do coleóptilo e o meristema apical caulinar e radicular; **C.** Detalhe mostrando a emergência da primeira folha e da raiz primária; **D, E.** Desenvolvimento da primeira folha e a formação da raiz adventícia; **F, G.** Plântula com a primeira folha totalmente expandida e raiz primária diferenciada. Legenda: cp, coleóptilo; es, envoltório seminal; hi, hiperfilo cotiledonar haustorial; mac, meristema apical caulinar; mar, meristema subapical. radicular; pe, pericarpo; ra, raiz adventícia; rp, raiz primária. Barras: A-F: 50 μm; G: 100 μm.

Figura 1

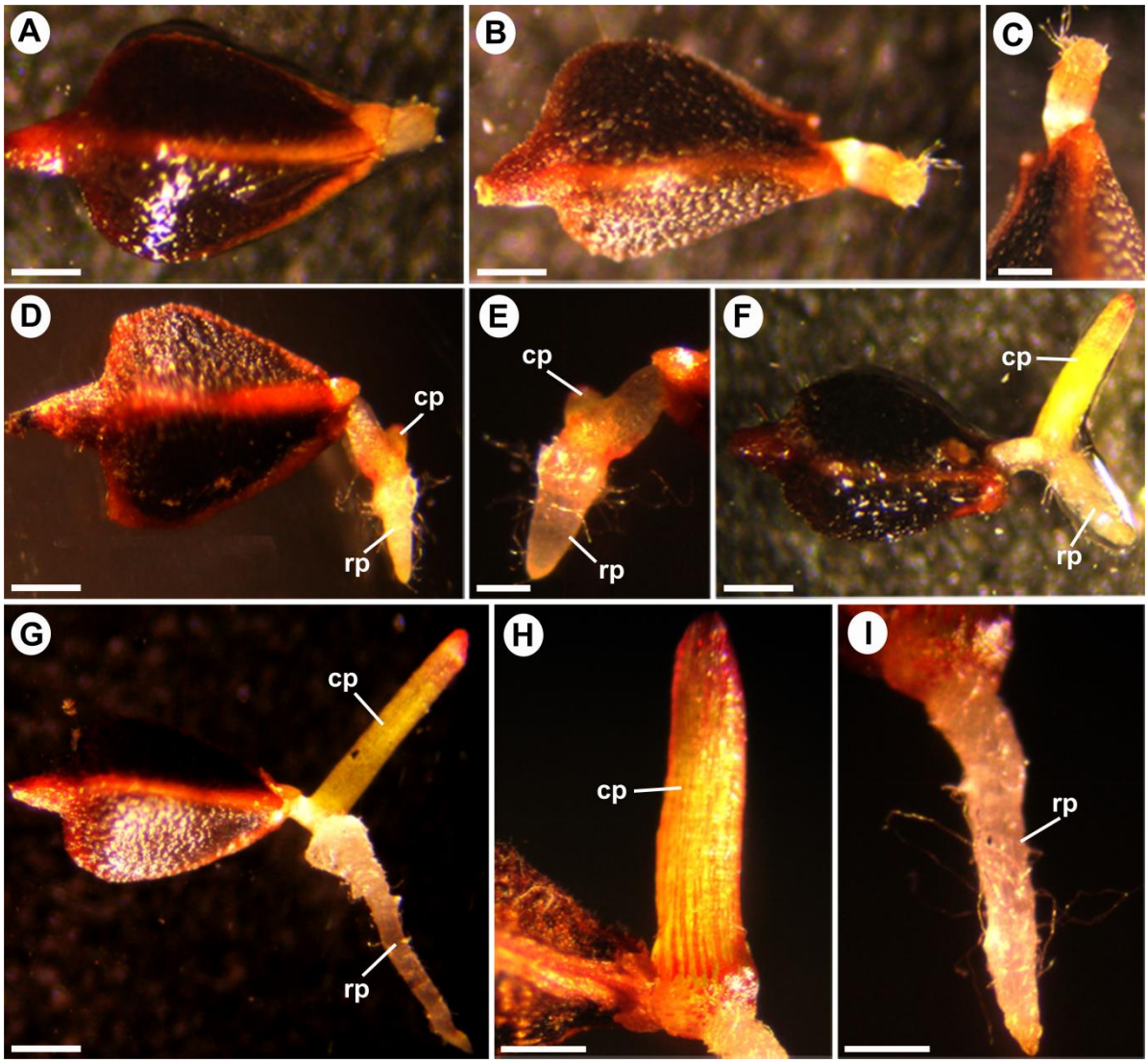


Figura 2

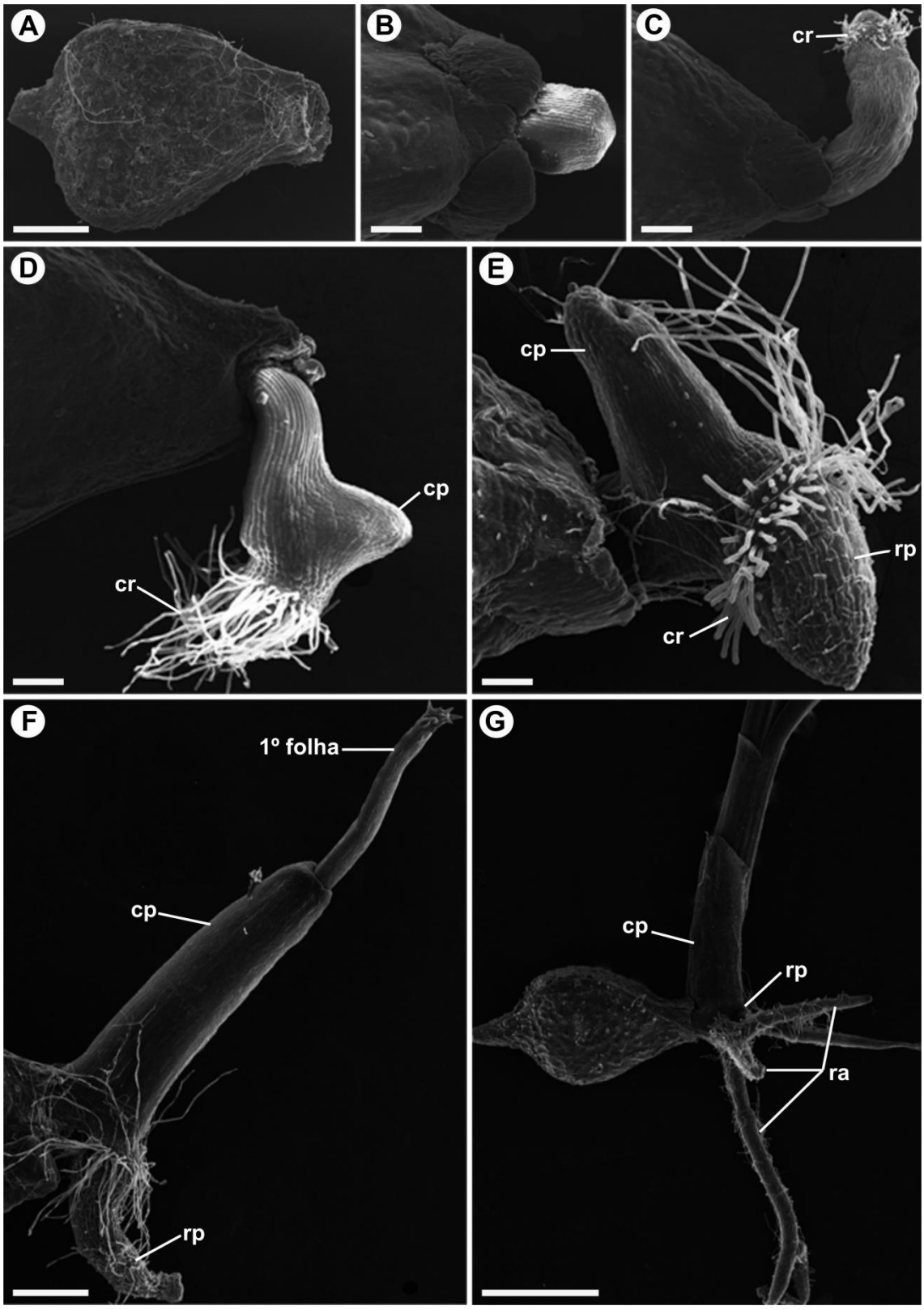


Figura 3

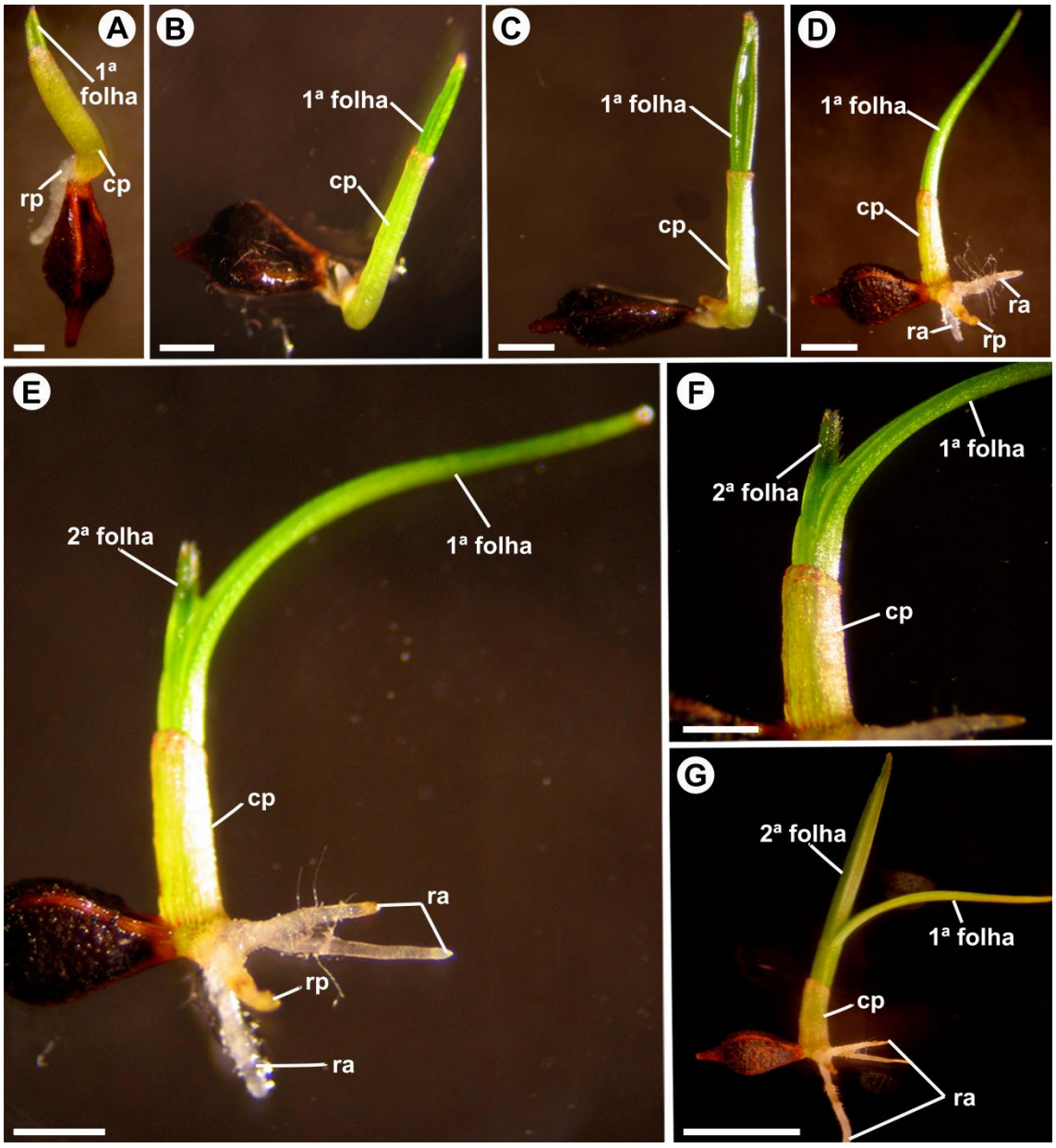

A
1ª folha
rp
cp
B
1ª folha
cp
C
1ª folha
cp
D
1ª folha
cp
ra
ra
rp
E
2ª folha
1ª folha
cp
ra
rp
ra
F
2ª folha
1ª folha
cp
G
2ª folha
1ª folha
cp
ra

Figura 4

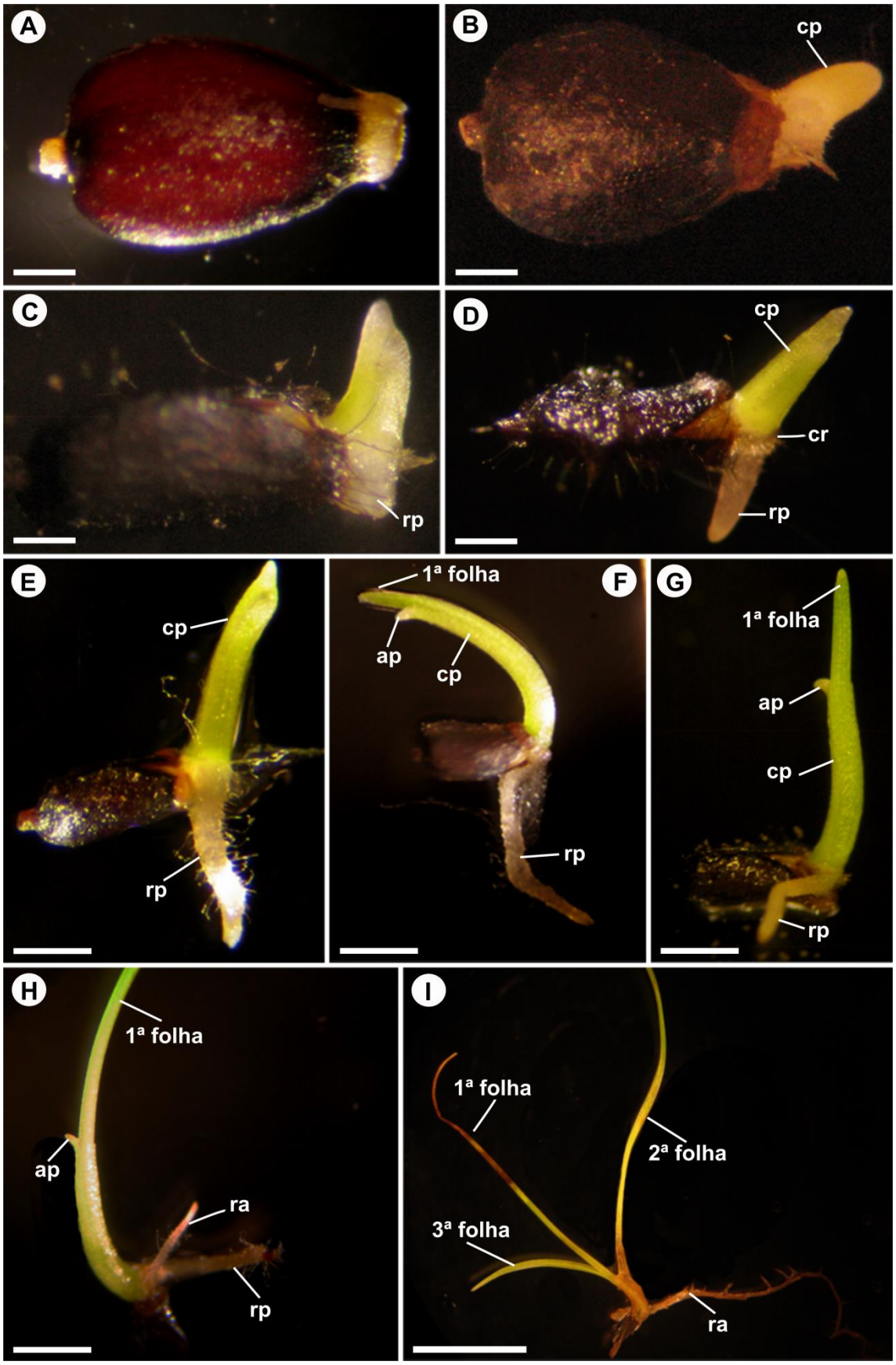

A
B
cp
C
rp
D
cp
cr
rp
E
cp
rp
1ª folha
F
ap
cp
rp
G
1ª folha
ap
cp
rp
H
1ª folha
ap
ra
rp
I
1ª folha
2ª folha
3ª folha
ra

Figura 5

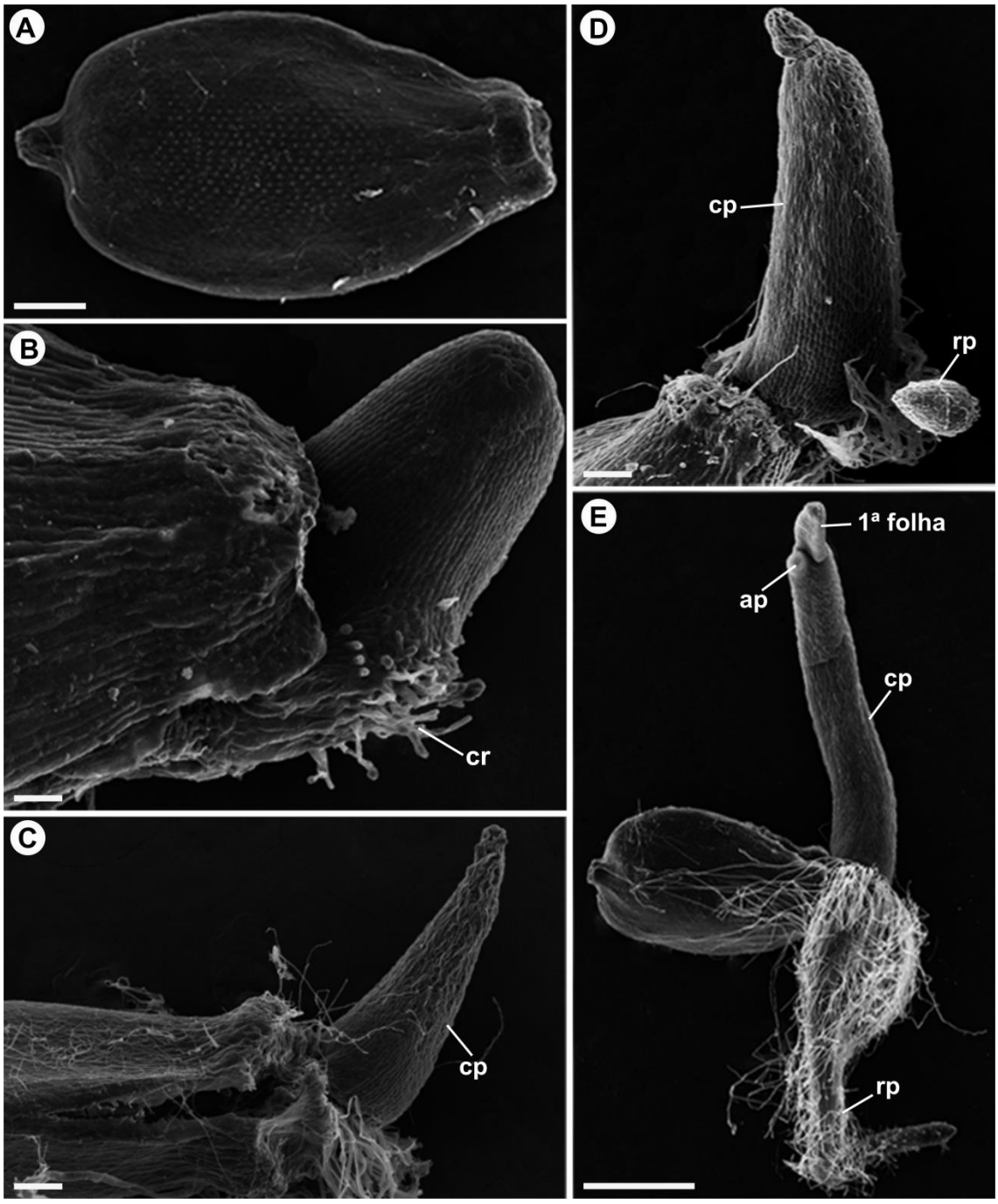


Figura 6

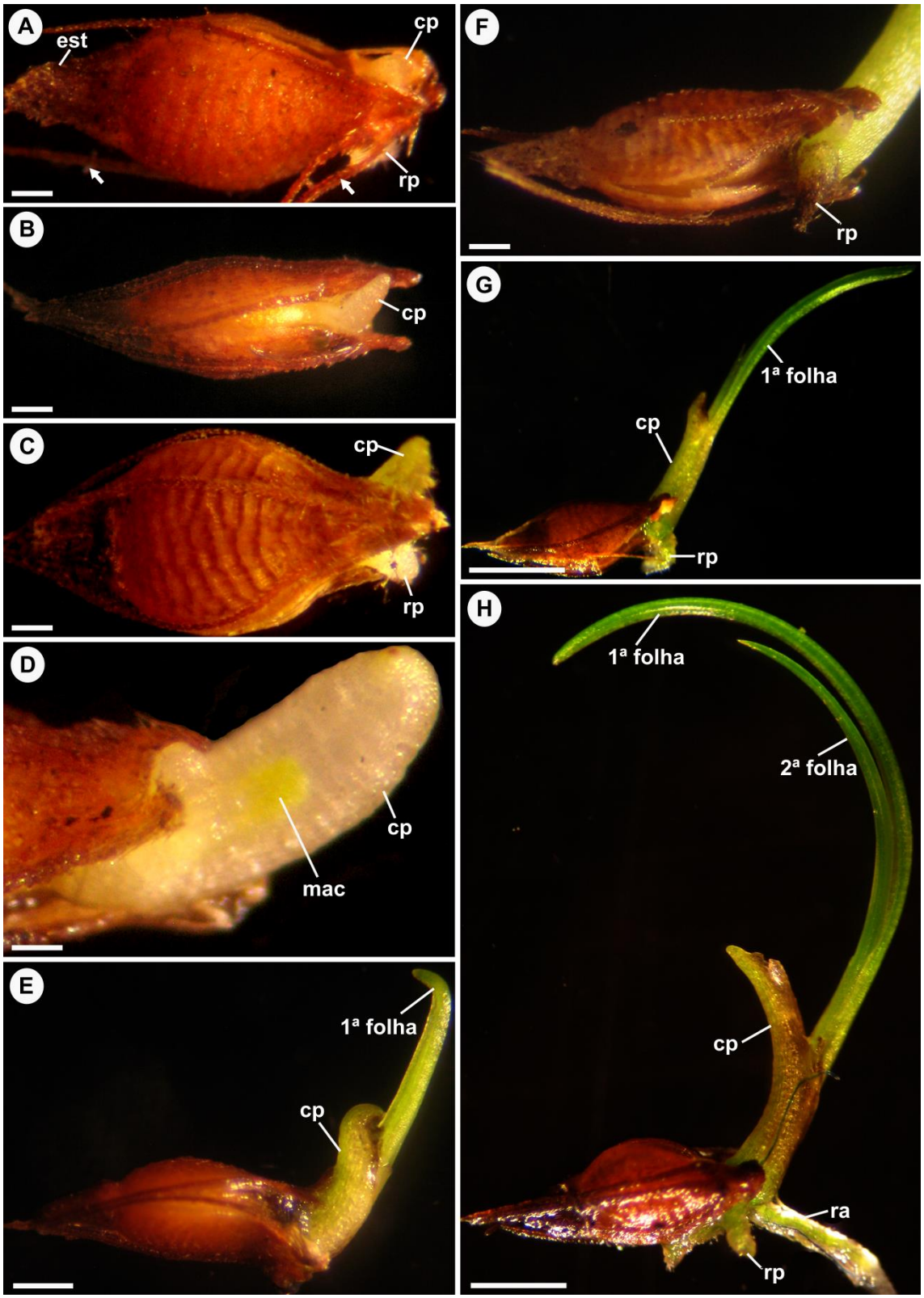

A
est
cp
rp
B
cp
C
cp
rp
D
cp
mac
E
1ª folha
cp
F
rp
G
1ª folha
cp
rp
H
1ª folha
2ª folha
cp
ra
rp

Figura 7

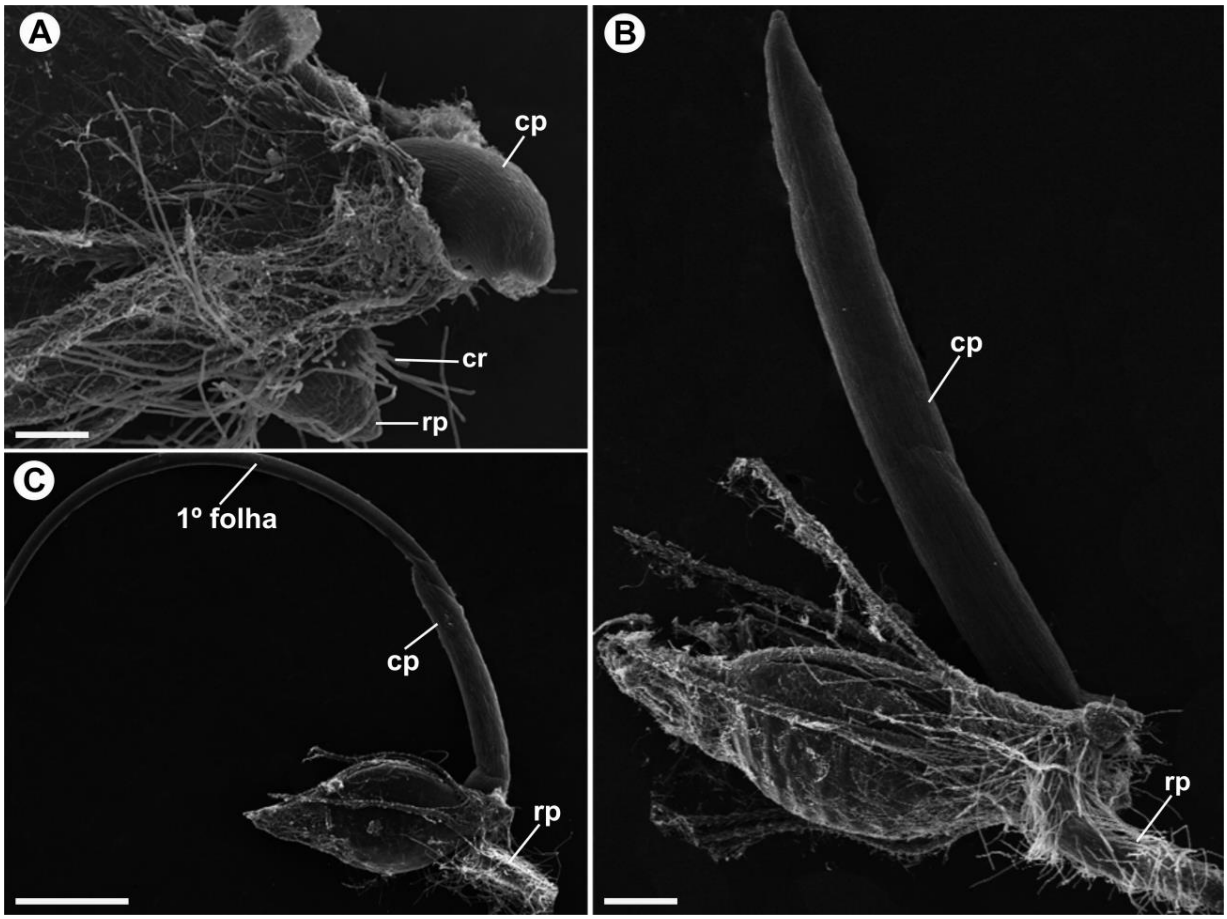


Figura 8

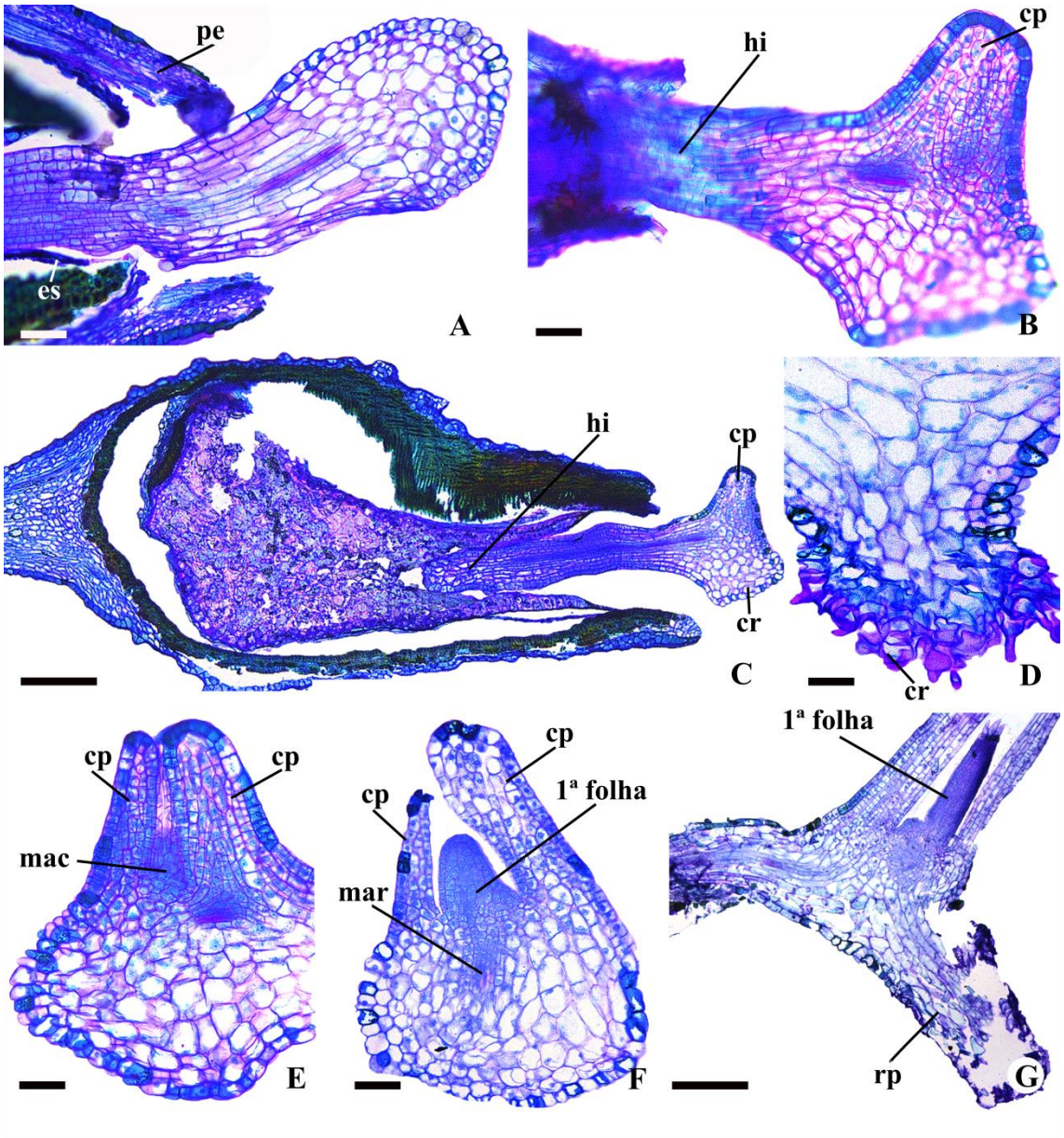

pe
es
A
hi
cp
B
hi
cp
cr
C
cr
D
cp
cp
mac
E
cp
cp
1ª folha
mar
F
1ª folha
rp
G

Figura 9

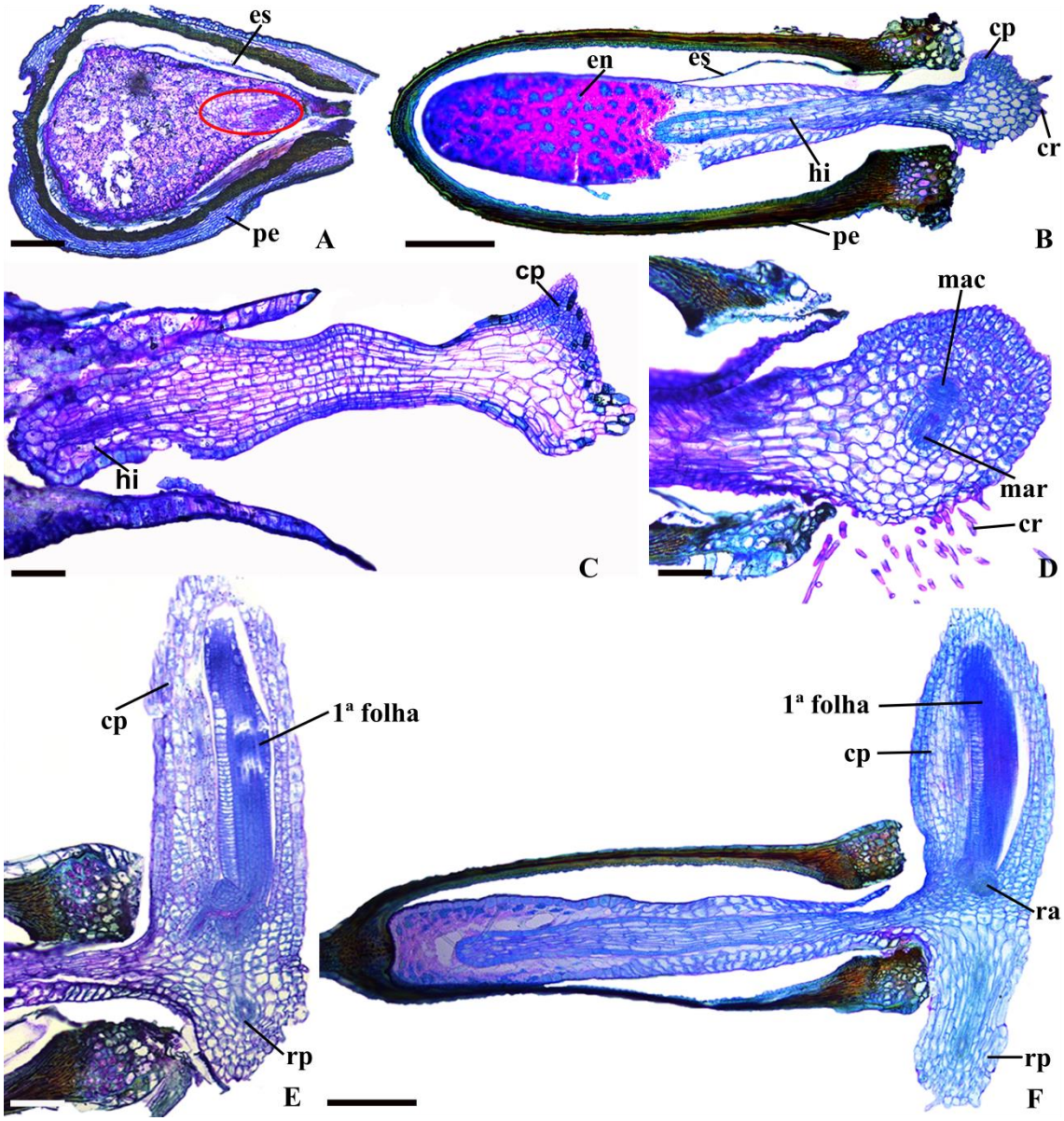

es
pe
A
en
es
cp
cr
hi
pe
B
cp
hi
C
mac
mar
cr
D
cp
1ª folha
rp
E
1ª folha
cp
ra
rp
F

Figura 10

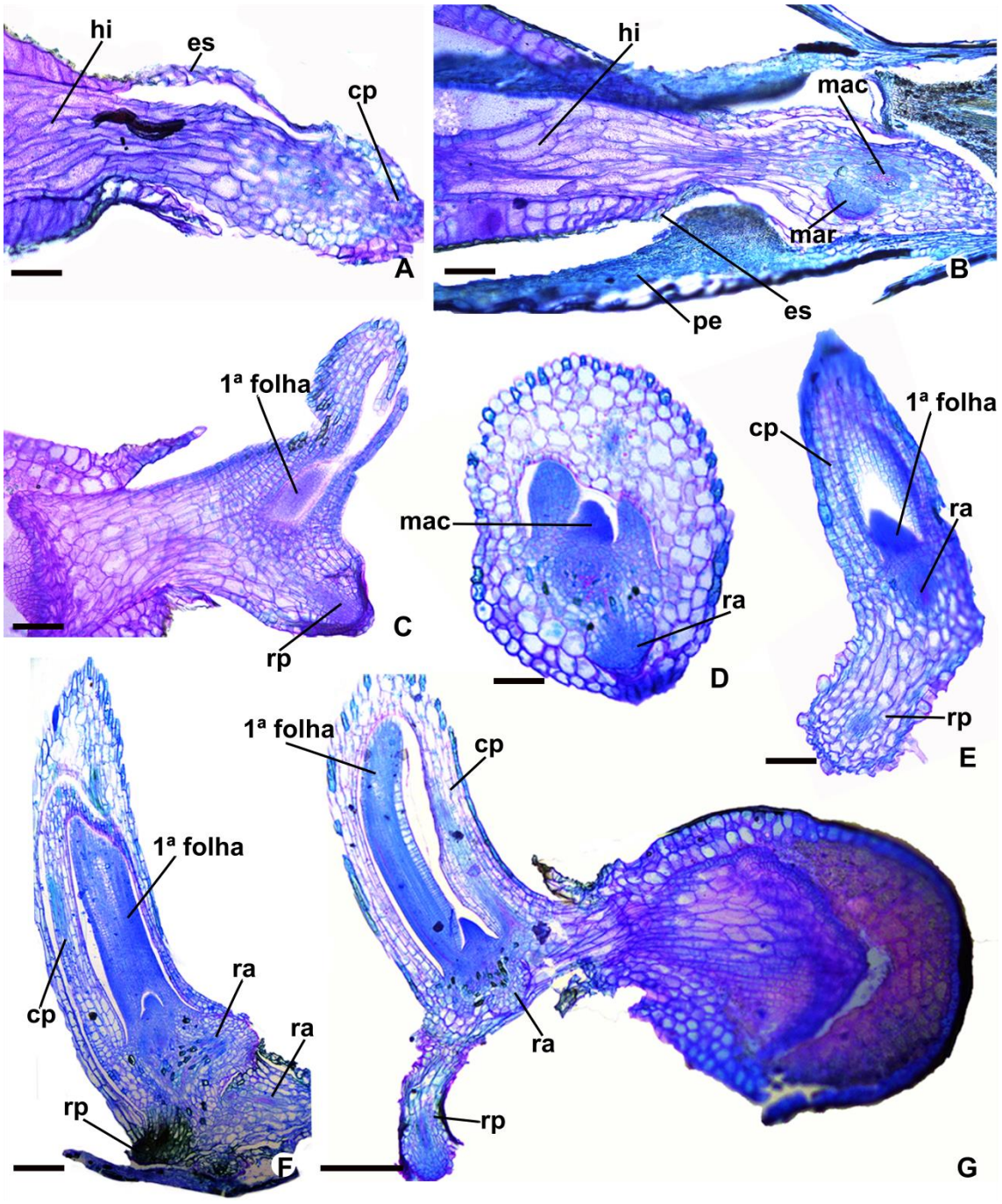

hi
es
cp
A
hi
mac
mar
B
pe
es
1ª folha
C
rp
mac
ra
D
1ª folha
cp
ra
rp
E
1ª folha
cp
ra
cp
ra
rp
F
1ª folha
cp
ra
rp
G

Tabela 1: Tempo para início da germinação e para surgimento das diferentes estruturas de plântulas em espécies de Cyperaceae

	Lagenocarpus minarum	***Cyperus sesquiflorus***	***Rhynchospora rugosa***
Tempo para início da germinação (dias)	4-12	2-20	15-27
Tempo para o surgimento das estruturas (em dias)			
Coleóptilo	5-14	3-22	16-29
Colar de rizóides	7-17	4-24	17-31
Raiz primária	9-21	5-25	19-32
1ª folha	10-25	7-15	23-32
1ª raiz adventícia	11-23	9-17	24-35
2ª folha	13-28	10-29	36-41

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho traz informações sobre a anatomia, a vascularização e o desenvolvimento floral de forma comparada em espécies do clado cyperídeo. Além disso, apresenta dados anatômicos inéditos do desenvolvimento pós-seminal em espécies de Juncaceae e Cyperaceae.

- Há variação no número de traços vasculares que as tépalas recebem nas três famílias do clado. Nas espécies de *Juncus* as tépalas recebem três traços vasculares, enquanto em *Luzula* ocorre variação entre as espécies, podendo suas tépalas receberem três ou apenas um traço. Já as tépalas de *Thurnia sphaerocephala* e as de Cyperaceae recebem um único traço vascular. Essa é provavelmente a condição ancestral no clado, tendo ocorrido reversões em Juncaceae;

- O desenvolvimento floral nas espécies de cyperídeas mostrou algumas diferenças, principalmente em relação ao perianto e ao gineceu. As espécies de *Luzula* e *Thurnia sphaerocephala* apresentaram desenvolvimento tardio das tépalas internas. Em relação ao desenvolvimento do gineceu, em *Juncus* e em Cyperaceae o mesmo inicia-se a partir de um primórdio anelar, porém em *Juncus* os septos são evidentes. Já em *Luzula* o gineceu surge como um primórdio triangular ao redor de uma placenta central e em *Thurnia sphaerocephala* como um primórdio sólido onde se formam depressões;

- A redução de peças florais e de verticilo é frequente na evolução floral de Cyperaceae, porém, nas espécies analisadas, as reduções diferem das encontradas anteriormente para outras espécies de Cyperaceae, indicando que, provavelmente, essas reduções ocorreram de forma independente nos diferentes clados da família;

- A redução de peças florais também foi observada em *Thurnia sphaerocephala*. A perda das tépalas internas latero-abaxiais, dos estames internos latero-abaxiais e do carpelo

abaxial origina flores dímeras. Além disso, os estames nas flores dímeras podem variar de quatro a seis, com diferentes graus de aborto;

- A redução estrutural no androceu das flores de *Thurnia sphaerocephala* é causada por dois processos: a não formação do primórdio ou o aborto;

- O gineceu trímero é uma caraterística ancestral no clado cyperídeo e a sua evolução em direção à dimeria ocorreu em representantes de Thurniaceae e Cyperaceae;

- A forma e disposição das glumas na espigueta é provavelmente uma das causas do pistilo dímero achatado lateralmente em *Cyperus sesquiflorus*;

- A presença de compostos fenólicos nas diferentes peças florais de *Fuirena robusta*, *Pleurostachys stricta* e *Schoenoplectus californicus* deve estar associada com a proteção contra a herbivoria e com a atração de agentes polinizadores;

- Em relação ao desenvolvimento pós-seminal, o cotilédone do tipo fanerômero é característica compartilhada por Juncaceae e Thurniaceae, e condição plesiomórfica mais provável no clado cyperídeo;

- Acredita-se que o cotilédone do tipo coleóptilo derivou do fanerômero devido a um maior desenvolvimento do hipofilo cotiledonar em relação ao hiperfilo;

- A redução da raiz primária e presença de coleóptilo nas plântulas de Cyperaceae são considerados caracteres derivados em relação às demais famílias do clado;

- O envoltório mucilaginoso presente nas sementes de *Juncus tenuis* corresponde à testa, pois tem origem do tegumento externo do óvulo. O aspecto mucilaginoso das sementes pode estar relacionado com a proteção e com a dispersão zoocórica.

Perspectivas futuras:

- Considerando a grande diversidade morfológica de Cyperaceae, pretende-se ampliar os estudos sobre vascularização e desenvolvimento floral em espécies mais basais, para melhor entender a evolução floral na família;

- Estudar a anatomia e o desenvolvimento pós-seminal em Thurniaceae para compreender como se deu a evolução do cotilédone no clado cyperídeo;

- Analisar, comparativamente, a anatomia e o desenvolvimento pós-seminal em espécies da subfamília Mapanioideae, a fim de entender a diversidade morfológica da família Cyperaceae.