

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

**PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA APLICADA AO MANEJO E
CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS**

Juliana da Costa Silva

**PALINOLOGIA DE FRULLANIACEAE LORCH (MARCHANTIOPHYTA) DO
BRASIL**

Juiz de Fora

2015

Juliana da Costa Silva

**PALINOLOGIA DE FRULLANIACEAE LORCH (MARCHANTIOPHYTA) DO
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ecologia, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Título de Mestre em Ecologia Aplicada ao Manejo e Conservação de Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Pereira Luiz Ponzio

Juiz de Fora

2015

**PALINOLOGIA DE FRULLANIACEAE LORCH (MARCHANTIOPHYTA) DO
BRASIL**

Juliana da Costa Silva

Orientadora: Profa. Dra. Andrea Pereira Luiz Ponzo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ecologia, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Título de Mestre em Ecologia Aplicada ao Manejo e Conservação de Recursos Naturais.

Aprovada em 13 de Fevereiro de 2015.

Profa. Dra. Andrea Pereira Luiz Ponzo

Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF

Profa. Dra. Isabela Crespo Caldeira

Centro Universitário do Leste de Minas Gerais - Unileste

Prof. Dr. Lucas Matheus da Rocha

Universidade Federal de Uberlândia/ Campus Ituiutaba - UFU

Para minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e sustento. Por tudo;

À minha família e amigos, por todo amor, alegria, auxílio e incentivo;

À Pós-Graduação em Ecologia (PGEcol), pela formação e apoio logístico;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado concedida;

À Profa. Dra. Andrea Pereira Luiz Ponzio, pela orientação neste trabalho e pela contribuição em meu crescimento profissional, acadêmico e pessoal;

Aos amigos do Laboratório de Briófitas da Universidade Federal de Juiz de Fora, em especial, à Raquel Saar Rodrigues e Marcella de Almeida Passarella pela companhia, auxílio e aprendizado durante a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Daniel Pimenta, por compartilhar o espaço do Laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora para a realização das acetólises; e à Profa. MSc. Flávia Ferrari, pela participação nos procedimentos.

Ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) da Universidade Federal de Viçosa, onde foram realizadas as análises sob Microscopia Eletrônica de Varredura, e aos funcionários Karla e Gilmar pela atenção e prestatividade;

Aos curadores e funcionários do Herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora (CESJ), pelo auxílio com o material herborizado e aos curadores dos herbários Alexandre Leal Costa (ALCB), Herbarium Anchieta (Porto Alegre – Colégio Anchieta - PACA) da Universidade Unisinos, Herbário Geraldo Mariz (UFP) da Universidade Federal de Pernambuco e Herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) pelo empréstimo de material para a realização do presente estudo.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Também falou das árvores, desde o cedro que está no Líbano até o hissopo que nasce na parede; também falou dos animais, e das aves, e dos répteis e dos peixes.

E vinham de todos os povos a ouvir a sabedoria de Salomão e de todos os reis da terra que tinham ouvido de sua sabedoria.”

I Reis 4: 33 e 34

RESUMO

As hepáticas são plantas avasculares, criptogâmicas, com alternância de gerações heteromórficas em seu ciclo de vida e constituem uma linhagem monofilética, a divisão Marchantiophyta. Nessas plantas, o estabelecimento no ambiente ocorre através de reprodução assexuada ou sexuada, mas a produção e a germinação dos esporos permitem a colonização de novos ambientes e substratos. Possuem gametófitos folhosos ou talosos, achatados dorsiventralmente, rizóides unicelulares e esporófitos aclorofilados. As Frullaniaceae Lorch compreendem hepáticas folhosas, medianas a robustas, com características que podem ser interpretadas como adaptação ao epifitismo, como lóbulos sacados, seta curta e germinação endospórica. Estão representadas pelo gênero *Frullania* Raddi, com 38 espécies no Brasil. O presente trabalho teve por objetivos realizar o estudo palinológico das espécies de Frullaniaceae, através de estudos morfológicos e ultraestruturais dos esporos; analisar as estratégias ecológicas das espécies estudadas, relacionando-as à morfologia dos esporos e acompanhar os estágios germinativos e o desenvolvimento dos esporos de *Frullania ericoides* (Nees) Mont, sob diferentes concentrações do meio de cultura. Os resultados obtidos permitem observar que os esporos das espécies da família Frullaniaceae possuem tamanho do diâmetro maior variando de médio a grande (33,3 a 63,3 micrômetros). Foram observados dois tipos morfológicos distintos baseados na elaboração da ornamentação da superfície dos esporos. A espessura dos estratos do esporoderma permitiu separação das espécies em subgrupos, que não refletiram a classificação taxonômica atual. A germinação de *F. ericoides* foi endospórica, com divisão e proliferação celular, formando um protonema globoso, com ocorrência tardia da quebra da parede do esporo. Ao longo do período do estudo, os esporos submetidos aos tratamentos de concentração mais fraca apresentaram melhores resultados quanto ao desenvolvimento do protonema. Os filídios primordiais são fortemente côncavos, com margem inteira e parede celular fina. Os resultados deste estudo demonstraram a importância taxonômica e o potencial das técnicas de culturas de tecidos para os estudos de germinação de esporos de briófitas.

PALAVRAS-CHAVE: Esporos, *Frullania*, Frullaniaceae, Germinação, Hepáticas.

ABSTRACT

Liverworts are nonvascular and cryptogamic plants, with heteromorphic alternation of generations in their life cycle, consisting on a monophyletic lineage, the division Marchantiophyta. In these plants, establishment occurs by asexual or sexual reproduction, but the production and germination of spores enables colonization of new habitats and substrates. Marchantiophyta differ from the others divisions by leafy or thallose gametophyte, dorsi-ventral orientation, unicellular rhizoids and non chlorophyllous sporophytes. Frullaniaceae Lorch include leafy liverworts, median to robust, highly branched, with features that can be interpreted as adaptation to epiphytism, such as saccate lobes, short seta and intracapsular germination. The family includes cosmopolitan species, but it's more diverse in the tropics. There is one genus, *Frullania* Raddi, with 38 species in Brazil. This study aimed to perform palynological study of Frullaniaceae species through morphological and ultrastructural studies; and to evaluate the relationship of the features of the spores to ecological strategies of species, and to follow germination and sporeling development in *Frullania ericoides* (Nees) Mont., under different concentrations of culture media. The spores of Frullaniaceae species have larger diameter with size ranging from medium to large (33.3 to 63.3 micrometers). Two distinct morphological types, based on the spore surface ornamentation, were observed and are not related to the taxonomic organization of the family. The thickness of sporoderm strata allowed the separation of the species into two large groups, which also did not confirm the taxonomic classification. The germination was endosporic, showing cell division and proliferation, forming a globose protonema, without spore wall break. Throughout the period of study, the spores undergo the lowest concentration treatments showed better results of development. Primordial leaves are highly concave, with entire margins and a thick cell wall. The results of this study demonstrate the taxonomic importance and the potential of tissue culture techniques for bryophyte spore studies.

KEY-WORDS: *Frullania*, Frullaniaceae, Germination, Liverworts, Spores.

SUMÁRIO

Introdução Geral	11
Características Morfológicas	11
Frullaniaceae Lorch	13
Características Palinológicas	15
Objetivos	18
Organização da Dissertação	19
Referências Bibliográficas	20
Capítulo 1	27
Resumo	28
Abstract	29
Introdução	30
Material e Métodos	32
Material estudado	32
Microscopia de Luz	33
Microscopia Eletrônica de varredura	23
Análises Estatísticas	34
Análises Ecológicas	34
Resultados	36
Discussão	55
Conclusão	58
Espécimes Analisados	59
Referências Bibliográficas	63
Capítulo 2	70
Resumo	71

Abstract	72
Introdução	73
Material e Métodos	75
Coleta e Identificação	75
Esterilização	75
Preparação do Meio de Cultura	75
Inoculação e Condições de Cultura	76
Acompanhamento e Análise das Etapas de Germinação	77
Tratamento Estatístico	77
Resultados	78
Discussão	86
Conclusão	88
Referências Bibliográficas	89
Considerações Finais	95

INTRODUÇÃO GERAL

I. Características Morfológicas

As briófitas são plantas terrestres avasculares, criptogâmicas, que apresentam ciclo de vida com alternância de gerações heteromórficas e dominância da geração gametofítica: o gametófito é haploide, fotossintético, perene e de vida livre, enquanto que o esporófito é efêmero e depende nutricionalmente do gametófito (Gradstein *et al.*, 2001; Vanderpoorten & Goffinet, 2009).

As briófitas compartilham ancestralidade com as algas verdes, suportada por análises morfológicas e moleculares (Mishler & Churchill, 1984; Mishler *et al.*, 1991; Goffinet *et al.*, 2009). Estão organizadas em três divisões monofiléticas, que são: Bryophyta (musgos), Marchantiophyta (hepáticas) e Anthocerotophyta (antóceros) (Goffinet & Shaw, 2009). Formam o segundo maior grupo das embriófitas, com aproximadamente 18.000 espécies em todo o mundo, e apresentam uma grande diversidade no Neotrópico (Goffinet & Shaw, 2009). Para o Brasil, são reconhecidas cerca de 1530 espécies, sendo que a região Sudeste apresenta maior riqueza específica, com 1224 espécies presentes, mais do que 80% de representatividade do total para o país (Costa & Luiz-Ponzo, 2010).

Estas plantas apresentam ampla distribuição geográfica, sendo encontradas, geralmente, em locais úmidos e sombreados, mas podem tolerar condições ambientais extremas e serem encontradas em locais secos e expostos (Schofield, 1985; Lisboa, 1993; Glime, 2007.) Podem tolerar períodos de congelamento e de seca, ou se restabelecer após muito anos de desidratação (Schofield, 1985). Além disso, crescem sobre vários tipos substratos: rochas, troncos vivos e mortos, substratos artificiais, e ainda sobre outros grupos de plantas (Schofield, 1985; Lisboa, 1993; Glime, 2007). Não há registros de sua ocorrência em ambientes marinhos (Schofield, 1985; Lisboa, 1993; Costa, 2010).

A divisão Bryophyta inclui os musgos, que se caracterizam por apresentar gametófitos, geralmente, de simetria radial, formados por caulídios, filídios e rizoides multicelulares; os órgãos sexuais são superficiais; os esporófitos, em geral, apresentam pé, seta e cápsula com columela (Vanderpoorten & Goffinet, 2009).

A divisão Anthocerotophyta inclui os antóceros, que são plantas que apresentam gametófito sempre taloso, células contendo, com frequência, cloroplasto com pirenoide central; os esporófitos possuem pé e cápsula com columela, estômatos e pseudoelatérios (Gradstein & Costa, 2003; Glime, 2007; Renzaglia *et al.*, 2009).

A divisão Marchantiophyta inclui as hepáticas e se distingue das demais linhagens por apresentar achatamento dorsiventral do gametófito, que pode ser taloso ou folhoso; presença de rizóides unicelulares, esporófitos aclorofilados, cápsula sem estômatos, com deiscência em quatro valvas longitudinais e elatérios (Lemos-Michel, 2001; Gradstein & Costa, 2003; Glime, 2007, Crandall-Stotler *et al.*, 2009).

Marchantiophyta está dividida, taxonomicamente, em três classes: Haplomitriopsida Stotler & Crand.-Stotl., Marchantiopsida Gonquist, Takht & W. Zimm. e Jungermanniopsida Stotler & Crand.-Stotl (Crandall-Stotler *et al.*, 2009). A primeira classe inclui duas famílias, Treubiaceae Verd e Haplomitriaceae Dědeček, caracterizadas por apresentarem gametófito folhoso, secreção de mucilagem a partir das células epidérmicas e esporófitos grandes, protegidos por uma caliptra carnosa (Crandall-Stotler *et al.*, 2009). A classe Marchantiopsida inclui plantas talosas; talos diferenciados em tecido de reserva e fotossintetizante, com escamas ventrais e presentes, câmaras e poros; os gametângios estão em ramos especializados ou imersos no talo (Glime, 2007; Crandall-Stotler *et al.*, 2009). A classe Jungermanniopsida inclui plantas folhosas e talosas; se folhosas, os filídios apresentam uma célula de espessura, sem costa ou espessamento central; se talosas, talos uniestratificados, poros e escamas ausentes, espessamento central e feixe prosenquimático podem estar presentes (Gradstein & Costa, 2003; Glime, 2007; Crandall-Stotler *et al.*, 2009).

As hepáticas são plantas pequenas e herbáceas, com cerca de 5000 espécies distribuídas em 391 gêneros (Gradstein & Costa, 2003; Crandall-Stotler *et al.*, 2009). No Neotrópico, são registradas cerca de 1350 espécies, distribuídas em 188 gêneros (Gradstein *et al.*, 2001). Para o Brasil, são reconhecidas, atualmente, cerca de 630 espécies de hepáticas, sendo 86 endêmicas. A maioria das espécies ocorre em locais úmidos, muitas vezes, associadas a outros grupos de briófitas, em substratos variados, sendo encontradas, frequentemente, como corticícolas, epífilas ou rupícolas (Glime, 2007).

I.1. Frullaniaceae Lorch

A família Frullaniaceae possui distribuição mundial, alcançando maior diversidade e maior riqueza nos trópicos (Gradstein *et al.*, 2001; Henschel *et al.*, 2009). Possui cerca de 350 nomes específicos válidos (Gradstein *et al.*, 2001). É caracterizada por possuir plantas de hábito epifítico, especialmente corticícolas (Lemos-Michel, 2001; Gradstein e Costa, 2003; Yano e Peralta, 2008; Crandall-Stotler *et al.*, 2009). Os gametófitos variam de pequenos a grandes, apresentam coloração esverdeada, ocasionalmente, amarelo-esverdeadas a negras, ramificação irregular a pinada, ramos laterais tipo-*Frullania*. Os filídios são incubos, compilados a bilobados, trigônios geralmente cordados a triangulares, células isodiamétricas. O lóbulo forma um saco aquífero, galeado a cilíndrico e o estilete é multiforme; anfigastos bífidios, de tamanho variável; periantos terete a pluriplicados, lisos a rugosos, no ápice dos ramos; inflorescências masculinas em ramos curtos e geralmente sem filídios. As cápsulas são globosas, com duas a três camadas de células de espessura; a seta é hialina e a deiscência se dá por quatro fendas longitudinais (Stotler, 1969; Yuzawa, 1991; Lemos-Michel, 2001; Gradstein *et al.*, 2001; Uribe & Gradstein, 2003; Uribe, 2008, Crandall-Stotler *et al.*, 2009).

O nome genérico *Frullania* foi publicado pela primeira vez por Giuseppe Raddi, em 1822. Neste gênero, o autor incluiu duas espécies originalmente descritas para o gênero *Jungermannia* L., *Jungermannia tamarisci* L. e *Jungermannia dilatata* L., que foram renomeadas para *Frullania major* Raddi e *Frullania minor* Raddi, respectivamente. Estes dois nomes foram ainda tratados, anteriormente, por Gray (1821) como pertencentes ao gênero *Salviatus*. Atualmente, os nomes válidos para estas espécies são *Frullania tamarisci* (L.) Dumort e *Frullania dilatata* (L.) Dumort). Neste mesmo estudo, Raddi descreveu uma espécie adicional para o gênero, *Frullania brasiliensis* Raddi. Dumortier (1931) transferiu estas espécies para o gênero *Jubula* Dumort. No entanto, mais tarde este autor reclassificou-as como pertencente ao gênero *Frullania* Raddi.

Em 1884, no trabalho “Hepaticae of the Amazon and Andes”, Spruce dividiu o gênero *Frullania* em seis subgêneros baseados no padrão de ramificação, inserção dos filídios, forma e inserção do lóbulo e na morfologia do perianto: subgênero *Chonantheria* Spruce, subg. *Trachycolea* Spruce, subg. *Homotropantha* Spruce, subg.

Meteoriopsis Spruce, subg. *Thyopsiella* Spruce e subg. *Diastaloba* Spruce. Além disso, novas espécies foram descritas para o gênero *Frullania*.

A partir desse momento, vários autores adicionaram subgêneros para o gênero *Frullania* e, ainda, renomearam alguns subgêneros. Verdoorn (1930) propôs um novo subgênero, subg. *Sacoophora* Verdoorn. Hatorri (1972, 1986), no estudo das espécies de *Frullania* na Ásia, propôs vários novos subgêneros: subg. *Australes* Hatt., subg. *Diversitextae* Hatt., subg. *Fusiorielligerae* Hatt., subg. *Huerlimannia* Hatt., subg. *Mamillosae* Hatt., subg. *Orientales* Hatt. e subg. *Rostrate* Hatt. Stephani (1924) sugeriu a alteração do nome do subg. *Trachycolea* Spruce para subg. *Galeiloba* Steph.

Outros estudos taxonômicos sobre os subgêneros de *Frullania* merecem destaque: Stotler (1969) realizou o estudo do subg. *Thyopsiella*, como subg. *Frullania*, para a América Latina, avaliando detalhadamente a morfologia, o desenvolvimento, e tratamento sistemático do gênero, além de apresentar descrição e ilustração das espécies pertencentes ao subgênero estudado; Yuzawa (1991) revisou o subg. *Chonantherlia*, destacando aspectos morfológicos e sistemáticos que circunscrevem este subgênero e a relação que ele possui com os demais subgêneros de *Frullania*, além de descrição completa, com ilustração, das espécies que pertencem a este subgênero. Uribe & Gradstein (2003) e Uribe (2004, 2006, 2008) estudaram o subg. *Meteoriopsis*. Os autores examinaram as espécies incluídas neste subgênero e reanalisaram a definição morfológica feita por Spruce (1884) para o subg. *Meteoriopsis*, propondo uma nova caracterização morfológica e reorganização das espécies dentro do gênero *Frullania*.

O gênero *Frullania* foi tratado como pertencente à família Jubulaceae H. Klinggr., juntamente com o gênero *Jubula* Dumort., devido à semelhança da divisão dos filídios em três partes distintas: lobo, lóbulo multiforme e estilete (Crandall-Stotler & Stotler, 2000; Gradstein *et al.*, 2001; Gradstein & Costa, 2003). No entanto, diferenças morfológicas, como forma do perianto, forma do lóbulo, posição da inflorescência masculina, morfologia das brácteas e o tipo de ramificação das inovações laterais indicavam sua separação (Stotler, 1969; Yuzawa, 1991).

Dados moleculares salientaram a distinção e culminaram na indicação de duas famílias independentes: Frullaniaceae e Jubulaceae. Atualmente, a família Frullaniaceae possui um gênero, *Frullania* Raddi, o qual inclui os antigos gêneros *Amphijubula* R. M.

Schust., *Neohattoria* Kamim., *Schusterella* S. Hatt., Sharp & Mizut. e *Steerea* S.Hatt. & Kamim.(Crandall-Stotler et al., 2009).

No Brasil, são reconhecidas 38 espécies, das quais cinco são endêmicas do país (Yano & Peralta, 2008; Costa, 2010; Costa & Luiz-Ponzo, 2010; Machado e Luiz-Ponzo, 2011; Yano e Peralta, 2011) e estão distribuídas em quatro subgêneros: subg. *Frullania* Spruce, subg. *Chonanthelia* Spruce, subg. *Diastaloba* Spruce e subg. *Homotropantra* Spruce.

II. Características Palinológicas

O esporo é a primeira célula da geração gametofítica das briófitas (Schofield, 1985) e é considerado uma estrutura com características evolutivas importantes na conquista do ambiente terrestre (Wellmann, 2004). Alguns aspectos morfológicos se desenvolveram para permitir a colonização do ambiente terrestre, tais como estômatos, cutículas, tecidos condutores e órgãos sexuais protegidos. No entanto, o desenvolvimento de uma parede resistente envolvendo o esporo proporcionou resistência e durabilidade, permitindo a dispersão no ambiente (Wellmann, 2004; Wallace *et al.*, 2011). O esporoderma desempenha função de proteção do conteúdo celular durante essa dispersão (Brown & Lemmon, 1988).

Em briófitas, a esporogênese é um evento reprodutivo de importância fundamental no ciclo de vida (Brown & Lemmon, 1988). No estudo da esporogênese em briófitas, Brown & Lemmon (1988) identificaram quatro estágios deste processo: (1) marcação precoce dos eventuais planos de clivagem durante a fase de tétrade de esporos, (2) divisão dos plastídios e sua migração para o centro do citoplasma (identificado em musgos e antóceros); (3) desenvolvimento de precursores da parede do esporo durante a meiose que vão estabelecer o padrão de ornamentação da exina e (4) desenvolvimento de um sistema de microtúbulos associados com o início da formação da parede do esporo e o desenvolvimento de zonas aperturais, assim como o direcionamento da polaridade dos esporos.

A produção dos esporos acontece em momentos diferentes do desenvolvimento do esporófito em cada divisão das briófitas. Nos musgos, a esporogênese se dá após o alongamento da seta (Gradstein *et al.*, 2001; Goffinet *et al.*, 2009). Em antóceros, a produção de esporos é contínua com o crescimento do esporófito, no qual a seta está

ausente (Gradstein *et al.*, 2001; Renzaglia *et al.*, 2009). Nas hepáticas, a produção e a maturação se dão antes do alongamento da seta (Gradstein *et al.*, 2001; Crandall-Stotler *et al.*, 2009)

O esporoderma das briófitas inclui três camadas, a intina, a exina e a perina, que possuem diferentes constituições químicas e aspectos estruturais (Olesen & Mogensen, 1978; Neidhart, 1979; Mogensen, 1983; Brown & Lemmon, 1988).

A intina é a camada mais interna da parede do esporo e mantém contato com o conteúdo celular. Está constituída por polissacarídeos, pectina e calose e pode variar em espessura ao longo da parede (Olesen & Mogensen, 1978; Neidhart, 1979; Brown & Lemmon, 1988). A intina está associada com a determinação do local preferencial de germinação do esporo e pode apresentar assimetria na espessura nos pólos proximal e distal (Erdtman, 1957; Olesen & Mogensen, 1978; Mogensen, 1983).

A exina é composta por esporopolenina e confere alta resistência mecânica e fisiológica ao esporo e resistência à degradação e dessecação (Neidhart, 1979). A formação da exina é iniciada no pólo distal do esporo, através da deposição de lamelas tripartidas, e é a primeira camada da parede a se desenvolver na formação do esporo (Neidhart, 1979; Mogensen, 1983; Brown & Lemmon, 1988). A perina é a camada mais externa e está ausente nas hepáticas. É composta por pectina e elementos de calose, sendo formada concomitantemente com a intina, através da ação das células do tecido esporógeno (Mogensen, 1983; Brown & Lemmon, 1988).

Ao longo dos anos, estudos sobre a morfologia e morfometria dos esporos, ultraestrutura, esporogênese e fases de germinação contribuíram para a compreensão da relevância taxonômica da palinologia para briófitas: Knox (1939), McClymont (1955), Erdtman (1957, 1965), Heckman (1970), Olsen & Mogensen (1978), Mogensen (1978), Neidhart (1979), Steinkamp & Doyle (1979), Mogensen (1983), Brown *et al.* (1986), Brown & Lemmon (1988), Estébanez *et al.* (1997), Luizi-Ponzo *et al.* (1997), Luizi-Ponzo & Barth (1998, 1999), Zhao *et al.* (2004), Luizi-Ponzo & Melhem (2006a, b), Yano & Luizi-Ponzo (2006, 2011), Rocha *et al.* (2008), Caldeira *et al.* (2009, 2013), Zhao *et al.* (2011), Alfayate *et al.* (2013), entre outros. No entanto, estudos que associam a morfologia dos esporos, os estágios germinativos e as estratégias adaptativas das espécies ainda são discretos, sobretudo, tratando-se de Frullaniaceae. Em geral, estes trabalhos restringem-se aos estudos da ultraestrutura e de aspectos gerais da germinação

(Erdtman, 1965; Schuster, 1966; Heckman, 1970; Nehira, 1983; Bisang, 1987; Nehira, 1988; Gupta & Udar, 1986; Zhang & Wu, 2006; Wu *et al.*, 2008; Zhao *et al.* 2011).

OBJETIVOS

Levando em consideração as informações anteriormente apresentadas, os objetivos deste trabalho são:

Objetivo geral:

Realizar o estudo palinotaxonômico das espécies de Frullaniaceae Lorch (Marchantiophyta) do Brasil.

Objetivos específicos:

1. Descrever a morfologia e a ultraestrutura dos esporos das espécies estudadas, sob microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, avaliando sua relevância taxonômica;
2. Analisar as estratégias ecológicas das espécies estudadas, considerando o tipo de substrato colonizado e as formas de vida apresentadas;
3. Acompanhar os estágios de germinação dos esporos de uma espécie selecionada, *Frullania ericoides* (Nees) Mont.;
4. Interpretar as relações entre as características palinológicas das espécies estudadas e suas estratégias ecológicas.

ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Os assuntos tratados nesta dissertação estão apresentados na forma de dois capítulos, organizados da seguinte forma:

1. **Resumo** (português);
2. **Abstract** (inglês);
3. **Introdução**;
4. **Material e Métodos**;
5. **Resultados**;
6. **Discussão**;
7. **Espécimes Examinados** (indicados no Capítulo 1);
8. **Conclusão**.
9. **Referências Bibliográficas**.

Ao final da dissertação, são apresentadas as **Considerações Finais**, observando os resultados obtidos nos capítulos que integram a dissertação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFAYATE, Carmen; RON, Eugenia; ESTÉBANEZ, Belén.; PÉREZ-BATISTA, Miguel Ángel. **Mature spores of four pleurocarpous mosses in the Canary Islands: ultrastructure and early germination stages.** *The Bryologist*, v. 116, n. 2, p. 97-112. 2013.

BISANG, Irene. **The sporeling development in *Frullania tamarisci* (L.) Dum.** *Journal of Bryology*. 14: 761-763. 1987.

BROWN, Roy C.; LEMMON, Betty E. **Sporogenesis in Bryophytes.** *Advances in Bryology*, v. 3, p. 159-223. 1988.

CALDEIRA, Isabela Crespo; ESTEVES, Vânia Gonçalves Lourenço; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. **Morfologia dos esporos de Sematophyllaceae Broth. ocorrentes em três fragmentos de Mata Atlântica, no Rio de Janeiro, Brasil.** *Revista Brasileira de Botânica*, v. 32, n. 2, p. 299-306. 2009.

CALDEIRA, Isabela Crespo; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; ESTEVES, Vânia Gonçalves Lourenço. **Palynology of selected species of *Fissidens* Hedw. (Bryophyta).** *Plant Systematics and Evolution*. v. 299, p. 187- 195. 2013.

COSTA, Denise Pinheiro. Hepáticas. In: Forzza, Rafaela Campostrini et al. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil.** IPJBRJ. Rio de Janeiro. v. 1, p. 61-68. 2010.

COSTA, Denise Pinheiro; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. As Briófitas do Brasil. In: Forzza, Rafaela Campostrini et al. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil.** IPJBRJ. Rio de Janeiro. v l. 1, 61-68 pp. 2010.

COSTA, Denise Pinheiro. Hepáticas *in* **Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB128467>>. Acesso em: 05 Jan. 2015

CRANDALL-STOTLER, Barbara; STOTLER, Raymond E. Morphology and Classification of the Marchantiophyta. In: SHAW, Jonathan A.; GOFFINET, Bernard. (Ed.) **Bryophyte Biology.** Cambridge University Press. United Kindom. 2000.

CRANDALL-STOTLER, Barbara; STOTLER, Raymond E.; LONG, David G. Morphology and Classification of the Marchantiophyta. In: SHAW, Jonathan A. & GOFFINET, Bernard. (ed.) **Bryophyte Biology**. Cambridge, Cambridge University Press, v.2 , p. 1-54. 2009.

DUMORTIER, Barthélemy Charles. **Sylloge Jungermannidearum Europae Indigenarum**. Earum Genera et species systematics complectens. p. 100. 1831.

ERDTMAN, Gunnar. **Pollen and spore morphology/plant taxonomy - Gymnospermae, Pteridophyta, Bryophyta** (Illustrations). An introduction to palynology II. Stockholm: Almqvist & Wiksell/Gebbers Förlag AB. 151p. 1957.

ERDTMAN, Gunnar. **Pollen and Spore Morphology and Plant Taxonomy. Gymnospermae, Bryophyta** (Text). An Introduction to Palynology III. Stockholm: Almqvist & Wiksell. 1965.

GLIME, Janice M. Physiological Ecology. In:_____. **Bryophyte Ecology**. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. 2007. v1. Disponível em: <http://www.bryoecol.mtu.edu/>

GOFFINET, Bernard; BUCK, William. R.; SHAW, A. Jonathan. Morphology, Anatomy and Classification of Bryophyta. In: SHAW, A. Jonathan; Goffinet, Bernard. (ed.) **Bryophyte Biology**. Cambridge, Cambridge University Press. p. 55-138. 2009.

GRADSTEIN, Stephan Robbert; COSTA, Denise Pinheiro. **The Hepaticae and Anthocerotae of Brazil**. Memoirs of the New York Botanical Garden. v.87, p. 318. 2003.

GRADSTEIN, Stephan Robbert; CHURCHILL, Steven P.; SALAZAR-ALLEN, Noris. **Guide to the Bryophytes of Tropical America**. Memoirs of the New York Botanical Garden. v. 86, p. 577. 2001.

GRAY, Samuel Frederick. **A natural arrangement of British Plants**. v 1, p. 824. 1821.

GUPTA, A. & UDAR, Ram. **Palyno-taxonomy of selected Indian Liverworts.** Bryophytorum Bibliotheca. J. Cramer, Berlin – Stuttgart. v. 29, p. 202. 1986.

HATTORI, Shinji. **Notes on Asiatic species of the genus *Frullania*, Hepaticae.** Journal of Hattori Botanical Laboratory. v. 36, p. 109-140. 1972.

HATTORI, Shinji. **A synopsis of new Caledonian Frullaniaceae.** Journal of Hattori Botanical Laboratory. v. 60, p. 203 – 237. 1986.

HECKMAN, Caroline A. **Spore Wall Structure in the Jungermanniales.** Grana. v. 10 (2), p. 109-119. 1970.

HENTSCHEL, Jörn., VON KONRAT, Matthew J., PÓCS, Tamás, SCHAFER-VERWIMP, Alfons, SHAW, Jonathan A., SCHNEIDER, Harald; HEINRICHS, Jochen. **Molecular insights into phylogeny and subgeneric classification of *Frullania Raddi* (Frullaniaceae, Porellales).** Molecular Phylogenetics and Evolution. v. 52, p. 142-156. 2009.

KNOX, Erick M. **The spores of the Bryophyta compared with those of Carboniferous age.** Transactions and Proceedings of the Botanical Society of Edinburgh. v. 32, p. 477-487. 1939.

LEMOS-MICHEL, Eunice. **Hepáticas Epífitas sobre o pinheiro-brasileiro no Rio Grande do Sul.** Porto Alegre. Editora da Universidade. p. 191. 2001.

LISBOA, Regina Célia Lobato. **Musgos Acrocárpicos do estado de Rondônia.** Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi/Editora Superiores. p. 272. 1993.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; BARTH, Ortrud Monika.; LISBOA, Regina Célia Lobato. **Estudos Palinológicos em Briófitas.** In: P. L. LISBOA. (Org.). Caxiuana. Belém: MPEG/MTC/CNPq. p. 305- 318. 1997.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; BARTH, Ortrud Monika. **Spore morphology of some Bruchiaceae species (Bryophyta) from Brazil.** Grana. v. 37, p. 222-227. 1998.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; BARTH, Ortrud Monika. **Spore morphology of some Dicranaceae species (Bryophyta) from Brazil.** Grana. v. 38(1), p. 42-49. 1999.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. & MELHEM, Therezinha Sant`Anna. **Spore morphology and ultrastructure of the tropical moss *Helicophyllum torquatum* (Hook.) Brid. (Helicophyllaceae) in relation to systematics and evolution.** Cryptogamie, Bryologie. v. 27, p. 413-420. 2006a.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. & MELHEM, Therezinha Sant`Anna. **Palinotaxonomia de Rhachithecaceae (Bryophyta) do Brasil.** Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo. v. 18, p. 91-99. 2006b.

MACHADO, Priscila de Souza & LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. **Urban Bryophyte from a Southeastern Brazilian Area (Juiz de Fora - Minas Gerais).** Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo. v. 21, p. 223-261. 2011.

MCCLYMONT, John W. **Spores studies in the Musci with special reference to the genus Bruchia.** The Bryologist. v. 58, p. 287 – 306. 1955.

MISHLER, Brent D. & CHUIRCHILL, Steven P. **A cladistics approach to the phylogeny of the “Bryophytes”.** Britonia. v. 36, p. 406 – 424. 1984.

MISHLER, Brent D.; LEWIS, L. A.; BUCHHEIM, M. A.; RENZAGLIA, K. S.; GARBARY, D. J.; DELWICHE, C. F.; ZECHMAN, F. W.; KANTZ, T. S.; CHAPMAN, R. L. **Phylogenetic relationships of the “green algae” and “Bryophytes”.** Annals Missouri Botanical Garden. 1991.

MOGENSEN, Gert Steen. **Spore development and germination in Cinclidium (Mniaceae, Bryophyta), with special reference to spore mortality and false anisospory.** Canadian Journal of Botany. 56:1032-1060. 1978.

MOGENSEN, Gert Steen. The spore. In: Schuster, R. M. (ed.). **New Manual of Bryology.** v. 1, p. 324-342. 1983.

NEHIRA, Kinuto. Germination and protonemata.. In: Glime, Janice M. (ed.), **Methods in Bryology.** The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan. p. 113–117. 1988.

NEIDHART, H. V. Comparative studies of sporogenesis in bryophytes. In: Clarke, G. C. S. & Duckett, Jeffrey G. **Bryophyte Systematics**. London, Academic Press. Systematics Association Special Volume. 14: 251-280. 1979.

OLESEN, Peter; MOGENSEN, Gert Steen. **Ultrastructure, histochemistry and notes on germination stages of spores in selected mosses**. The Bryologist 81(4): 493-516. 1978.

RADDI, Giuseppe. **Criptogame Brasiliane raccolte e descritte dal Sigor Guisepe Raddi**. Mem. Soc. Ital. Sci. Modena 19(1821): 27 -57. 1822.

RENZAGLIA, Karen S.; VILLARREAL, J.C. & DUFF, R.J. New insights into morphology, anatomy, and systematics of hornworts. In: SHAW, Jonathan A. & GOFFINET, Bernard. (ed.) **Bryophyte Biology**. Cambridge, Cambridge University Press. p. 139-171. 2009.

ROCHA, Lucas Matheus da; GONÇALVES-ESTEVEZ, Vânia; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. **Morfologia de esporos de espécies de Polytrichaceae Schwärg. (Bryophyta) do Brasil**. Revista Brasileira de Botânica. v.31, p. 537–548. 2008.

STEINKAMP, M. P.; DOYLE, W. T. **Spore Wall Ultrastructure in four species of the liverwort *Riccia***. American Journal of Botany. v. 66 (5), p. 546 – 556. 1979.

STEPHANI, Franz. **Species Hepaticarum VI**. Geneva. p.1-763. 1924.

SCHOFIELD, Wilfred Borden. **Introduction to Bryology**. New York, Macmillan Publishing Co. p. 431. 1985.

SCHUSTER, Rudolph M. **The Hepaticae and Anthocerotae of North America East of Hundreth Meridian**. Columbia University Press, New York. v. 1. 1966.

SPRUCE, Richard. **Hepaticae Amonicae et Andinae**. Transactions and Proceedings of the Botanical Society of Edinburgh. v. 15. p. 590. 1884.

STOTLER, Raymond E. **The genus *Frullania* subgenus *Frullania* in Latin America**. Nova Hedwigia. v.18, p. 397-555. 1969.

URIBE, Jaime Melénez; GRADSTEIN Stephan Robbert. **Type studies on Frullania subgenus Meteorioipsis (Hepaticae). I. The lectotypification of the genus Frullania, F. subgen. Thyopsiella and F. subgen. Meteorioipsis, and some species transferred from subgen. Meteorioipsis to subgen. Thyopsiella.** Cryptogamie, Bryologie. v. 24 (3), p. 193-207. 2003.

URIBE, Jaime Melénez. **Type studies on Frullania subgenus Meteorioipsis (Hepaticae). II. On F. apollinarii Steph. and F. paranensis Steph.** Caldasia. v. 26(1), p. 89-93. 2004.

URIBE, Jaime Melénez. **Type studies on Frullania subgenus Meteorioipsis (Hepaticae). V. *Frullania dulimensis* sp. nov. from Colombia.** Cryptogamie, Bryologie. v. 27(3), p. 309-312. 2006.

URIBE, Jaime Melénez. **Monografía de *Frullania* subgénero *Meteorioipsis* (Frullaniaceae, Marchantiophyta).** Caldasia. v. 30 (1), p. 49-94. 2008.

VANDERPOORTEN, Allan; GOFFINET, Bernard. **Introduction to Bryophyte Biology.** Cambridge University Press. Cambridge, UK. 2009.

VERDOORN, Frans. **Die Frullaniaceae der indomalesischen Inseln. De Frullaniaceis VII.** Annales Bryologici Supplement. v. 1, p. 1-187. 1930.

WALLACE, Simon; FLEMING, Andrew; WELLMAN, Charles H.; BEERLING, David J. **Evolutionary development of the plant spore and pollen wall.** AoB PLANTS. p. 1-18. 2011. doi:10.1093/aobpla/plr027

WELLMAN, Charles H. Origin, function and development of the spore wall in early land plants.. *In*: HEMSLEY, A. R. & POOLE, I. **The Evolution of Plant Physiology. From whole plants of ecosystems.** Linnean Society of London. Paleobotany Specialist Group Elsevier Academic Press. p. 43 – 60. 2004.

WU, Yan-Jun; YU, Jing; CAO, Tong. **Observation of spore morphology and wall structure of eight species of Frullania (Frullaniaceae; Hepaticae) by SEM and TEM.** J. Wuhan Botanical Research. v. 26(4). p. 337-342. 2008.

YANO, Olga & LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. *Chonecolea doellingeri* (Chonecoleaceae, Hepaticae), **taxonomia e distribuição geográfica no Brasil**. Acta Botanica Brasilica. v. 20(4), p. 783-788. 2006.

YANO, Olga & LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. *Dumortiera hirsuta* (Dumortieraceae, Marchantiophyta), **taxonomy, palynology and geographic distribution**. Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo. v. 21, p. 9-18. 2011.

YANO, Olga & PERALTA, Denilson Fernandes. **Flora do Estado de Goiás e Tocantis. Criptógamos: Antóceros (Anthocerotophyta) e Hepáticas (Marchantiophyta)**. Goiânia. UFG. p. 27. 2008.

YANO, Olga; PERALTA, Denilson Fernandes. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Briófitas (Anthocerotophyta, Bryophyta e Marchantiophyta)**. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo. v. 29(2). 2011.

YUZAWA, Yoichi. **A monograph of subg. Chonanthelia of gen Frullania (Hepaticae) of the world**. Journal of Hattori Botanical Laboratory. v. 57, p. 391-403. 1991.

ZHAO, Jian-Cheng; HUANG, Shi-Liang; MIN, Li, SULAYMAN, Mamtimin, JIE, He, YUAN-MING, Zhang; XIAO, Li. **A Study on Characteristics of spore Germination and Protonemal Development in *Lindbergia brachyptera***. Arctoa. v. 13, p. 223:228. 2004.

ZHAO, Dong-Ping, BAI, Xue-Liang; WANG, Li-Hong. **Observations of spore morphology of some hepatics species (Marchantiophyta) in China**. Arctoa. v. 20, p. 205-210. 2011.

ZHANG, Y.L. & WU, P.C. **Morphology of Chinese Bryophytes**. Qindao Publishing House, Qingdao. 2006.

CAPÍTULO 1

PALINOTAXONOMIA DE FRULLANIACEAE LORCH (MARCHANTIOPHYTA) DO BRASIL

RESUMO

Briófitas são plantas avasculares, criptogâmicas, com alternância de gerações heteromórficas em seu ciclo de vida. Incluem musgos, hepáticas e antóceros, que consistem em três linhagens monofiléticas distintas, representadas, respectivamente, pelas divisões Bryophyta, Marchantiophyta e Anthocerotophyta. As Marchantiophyta se diferenciam por possuírem gametófitos folhosos ou talosos, achatados dorsiventralmente, rizóides unicelulares e esporófitos aclorofilados. As Frullaniaceae Lorch compreendem hepáticas folhosas, medianas a robustas, muito ramificadas, com características que podem ser interpretadas como adaptação ao epifitismo, como lóbulos sacados, seta curta e germinação intracapsular. A família inclui espécies cosmopolitas, sendo mais diversa nas regiões tropicais. Está representada pelo gênero *Frullania* Raddi, com 38 espécies no Brasil. Estudos sobre esporos são empregados em taxonomia e ecologia de briófitas; no entanto, pesquisas com este enfoque ainda são discretas no Brasil, principalmente tratando-se de Frullaniaceae. Deste modo, o presente trabalho teve por objetivos realizar o estudo palinológico de espécies de Frullaniaceae, através de estudos morfológicos e ultraestruturais, e analisar a relação da caracterização dos esporos com as estratégias ecológicas das espécies estudadas. Os resultados obtidos permitem observar que os esporos das espécies da família Frullaniaceae possuem diâmetro maior com tamanho variando de médio a grande (33,3 a 63,3 micrômetros). Foram observados dois Tipos Morfológicos distintos, baseados na elaboração da ornamentação da superfície dos esporos e não relacionados à atual divisão dos subgêneros. A espessura dos estratos do esporoderma permitiram a separação das espécies em dois grupos, que também não corresponderam à classificação taxonômica.

PALAVRAS-CHAVE: Esporos, *Frullania*, Frullaniaceae, Hepáticas

ABSTRACT

Bryophytes are nonvascular and cryptogamic plants, with alternation of heteromorphic generations in their life cycle. They include mosses, liverworts and hornworts, which compose three distinct monophyletic lineages, represented respectively by divisions Bryophyta, Marchantiophyta and Anthocerotophyta. Marchantiophyta differ from the others divisions by leafy or thallose gametophyte, dorsiventral orientation, unicellular rhizoids and non chlorophyllous sporophytes. Frullaniaceae Lorch include leafy liverworts, median to robust, highly branched, with features that can be interpreted as adaptation to epiphytism, such as saccate lobes, short seta and intracapsular germination. The family includes cosmopolitan species, but it is more diverse in the tropics. There is one genus, *Frullania* Raddi, with 38 species in Brazil. Studies on bryophytes spores are used in taxonomy and ecology; however, research with this approach are still discrete in Brazil, especially in the case of Frullaniaceae. Thus, this study aimed to perform palynological study of species of Frullaniaceae through morphological and ultrastructural studies; and examine the relationship of the spores features and the ecological strategies of species. The spores of Frullaniaceae species have larger diameter with size ranging from medium to large (33.3 to 63.3 micrometers). Two distinct Morphological Types, based on the spore surface ornamentation and not related to the family of the taxonomic organization were observed. The thickness of esporoderma strata allowed the separation of the species into two different groups, which also did not confirm the taxonomic classification.

KEY-WORDS: *Frullania*, Frullaniaceae, Liverworts, Spores

I. INTRODUÇÃO

Musgos, hepáticas e antóceros são plantas avasculares, criptogâmicas, com dominância do gametófito no seu ciclo de vida (Gradstein *et al.*, 2001). Constituem três linhagens monofiléticas distintas, representadas, respectivamente, pelas divisões Bryophyta, Marchantiophyta e Anthocerotophyta (Buck & Goffinet, 2000; Goffinet *et al.* 2009; Vanderpoorten & Goffinet, 2009). São encontradas, geralmente, em locais úmidos e sombreados, colonizando diversos substratos: rochas, troncos vivos, troncos mortos, folhas e substratos artificiais (Lisboa, 1993; Glime, 2007). São cosmopolitas, incluindo cerca de 18000 espécies (Gradstein *et al.*, 2001). Para o Brasil, são reconhecidas aproximadamente 1530 espécies (Costa & Luizi-Ponzo, 2010; Costa *et al.*, 2011; Yano, 2013; Costa, 2015), sendo que a região Sudeste do país apresenta maior riqueza específica, com cerca de 1220 espécies (Costa & Luizi-Ponzo, 2010).

A divisão Marchantiophyta inclui plantas pequenas e herbáceas, com cerca de 5000 espécies no mundo, em 391 gêneros (Crandall-Stotler *et al.*, 2009); e aproximadamente 630 espécies no Brasil (Yano, 2013; Peralta, 2015). Distinguem-se pelo achatamento dorsiventral do gametófito, que é folhoso ou taloso; rizóides unicelulares, esporófitos aclorofilados e cápsula com deiscência valvar longitudinal (Lemos-Michel, 2001; Gradstein & Costa, 2003; Glime, 2007; Crandall-Stotler *et al.*, 2009).

A família Frullaniaceae Lorch inclui hepáticas folhosas que apresentam gametófitos rastejantes, medianos a robustos, formando tufo, geralmente, muito ramificados (Lemos-Michel, 2001; Gradstein & Costa, 2003; Uribe & Gradstein, 2003; Uribe, 2008); os filídios são incubos, com ápice obtuso a acuminado; os lóbulos inflados estão transformados em sacos aquíferos e o estilete é multiforme, localizado entre o lóbulo e o caulídio (Stotler, 1969; Yuzawa, 1991; Uribe & Gradstein, 2003; Uribe, 2008, Crandall-Stotler *et al.*, 2009; Hentschel *et al.*, 2009; von Konrat *et al.*, 2012). São plantas frequentemente encontradas sobre troncos vivos, mas podem colonizar outros tipos de substratos (Lemos-Michel, 2001; Gradstein & Costa, 2003).

A família possui um único gênero, *Frullania* Raddi (Crandall-Stotler *et al.*, 2009), subdividido em seis subgêneros (Stotler, 1969; Yuzawa, 1991; Gradstein & Uribe, 2003; Uribe, 2008), quatro representados no Brasil (Gradstein & Costa, 2003;

Gradstein & Uribe, 2003): *Chonanthelia* Spruce, *Diastaloba* Spruce, *Frullania* Spruce e *Homotropantha* Raddi. Possui ampla distribuição mundial, sendo mais diversa nas regiões tropicais (Gradstein *et al.*, 2001), sendo referidas 38 espécies para o Brasil, das quais cinco são endêmicas do país (Yano, 2008; Costa, 2010; Costa & Luiz-Ponzo, 2010; Machado & Luiz-Ponzo, 2011; Yano & Peralta, 2011).

Pesquisas sobre esporos de briófitas vêm sendo desenvolvidas e empregadas em taxonomia (Brown *et al.*, 1986; Steikamp & Doyle, 1979; Estébanez *et al.*, 1997; Luiz-Ponzo & Barth, 1998, 1999; Zhao *et al.*, 2004; Luiz-Ponzo & Melhem, 2006a, b; Yano & Luiz-Ponzo, 2006; Rocha *et al.*, 2008; Yano & Luiz-Ponzo, 2011; Caldeira *et al.*, 2009, 2013), no entanto, a relação dos dados morfológicos e morfométricos com as diferentes estratégias de vida das espécies ainda é pouco conhecida (Luiz-Ponzo, 2012; Rodrigues, 2014).

Os esporos das hepáticas apresentam dois estratos na parede: intina, mais interno e exina, mais externo (Neidhart, 1979). Não há registros da presença de perina ou “elementos de perina”, como ocorre em musgos (Olesen & Mogensen, 1978; Neidhart, 1979). A exina é formada por esporopolenina e confere resistência mecânica e fisiológica ao esporo, enquanto que a intina é constituída por polissacarídeos e pode variar em espessura ao longo da parede (Olesen & Mogensen, 1978; Brown & Lemmon, 1988).

Estudos sobre esporos de Frullaniaceae vêm sendo desenvolvidos, especialmente, sobre a morfologia e ultraestrutura (Erdtman, 1965; Schuster, 1966; Heckman, 1970; Zhang & Wu, 2006), e sua relação com a formação de grupos de espécies (Gupta & Udar, 1986 *apud* Zhao *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2011) e, ainda, há estudos sobre o comportamento germinativo do esporo em espécies selecionadas (Nehira, 1983; Bisang, 1987).

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivos realizar o estudo palinológico das espécies de Frullaniaceae ocorrentes no Brasil através de análise morfológica e ultraestrutural dos esporos, e apresentar dados relacionando a morfologia dos esporos com as características adaptativas das espécies estudadas, a partir da análise das estratégias ecológicas.

II. MATERIAL E MÉTODOS

II.1. Material Estudado

Para a realização do presente estudo, foram utilizados materiais botânicos herborizados disponíveis no Herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora (CESJ), além de exemplares provenientes dos herbários Alexandre Leal Costa (ALCB) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Herbarium Anchieta (Porto Alegre – Colégio Anchieta - PACA) da Universidade Unisinos, Herbário Geraldo Mariz (UFP) da Universidade Federal de Pernambuco e Herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) (Thiers, 2015).

Após o estudo de todo o material botânico recebido e avaliação das condições para estudos palinológicos, foram selecionadas 18 espécies de Frullaniaceae Lorch ocorrentes no Brasil, representando os quatro subgêneros presentes no país, a saber: *Frullania arecae* (Spreng.) Gottsche, *F. dusenii* Steph., *F. ecklonii* (Spreng.) Gottsche *et al.*, *F. gibbosa* Nees e *F. riojaneirensis* (Raddi) Spruce, pertencentes ao subgênero *Chonanthelia* Spruce; *F. caulisequa* (Nees) Nees e *F. lindenbergii* Lehm., pertencentes ao subgênero *Diastaloba* Spruce; *F. atrata* (Sw.) Nees, *F. beyrichiana* (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb., *F. brasiliensis* Raddi, *F. ericoides* (Nees) Mont., *F. glomerata* (Lehm. & Lindenb.) Mont., *F. griffithsiana* Gottsche, *F. intumescens* (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb., *F. kunzei* (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb., *F. montagnei* Gottsche e *F. setigera* Stephani pertencentes ao subgênero *Frullania* Spruce e *F. nodulosa* (Reinw. et al.) Nees, única espécie ocorrente no Brasil, pertencente ao subgênero *Homotropantha* Spruce (Costa, 2010).

A terminologia adotada para a descrição dos esporos seguiu Punt *et al.* (2007).

II.2 Microscopia de Luz

Para a observação sob microscopia de luz, foi realizada a preparação dos esporos segundo o método de Wodehouse (1935), seguindo as modificações para briófitas, de Luiz-Ponzo & Melhem (2006a), avaliando a presença de conteúdo celular. Para a análise da estrutura e ornamentação do esporoderma dos esporos, foi empregada a técnica da acetólise de Erdtman (1960), com alterações para o estudo de briófitas, conforme Luiz-Ponzo & Melhem (2006a). Para aqueles materiais muito delicados, que não resistem ao processo acetolítico, foi realizada a acetólise láctica (ACLAC), seguindo as adequações metodológicas propostas por Melhem *et al.* (2006).

A tomada de medidas foi realizada empregando-se ocular micrométrica, medindo-se 50 esporos, tomados ao acaso em três lâminas, para medidas do diâmetro maior do material padrão e 30 esporos, tomados ao acaso em três lâminas, do material de comparação. A média de tamanho dos estratos do esporoderma foi obtida a partir de 10 esporos, tomados ao acaso em três lâminas.

As médias de tamanho médio dos esporos foram classificadas de acordo com Erdtman (1952), com pequena alteração: esporos médios, medindo entre 25,00-50,00 μm e esporos grandes, medindo entre 50,01-100,00 μm .

As fotomicrografias foram obtidas utilizando-se câmera fotográfica Canon PowerShot A620 acoplada ao microscópio de luz ZEISS Primo Star 12 V DC.

II.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para observação sob microscopia eletrônica de varredura (MEV), as cápsulas foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% por uma hora e, em seguida, lavadas em solução tampão de cacodilato a 2%. A pós-fixação foi feita em tetróxido de ósmio (OsO_4) a 2%, em solução tampão, com duração de duas horas. A seguir, as cápsulas foram desidratadas em série etanólica e levadas ao secador de Ponto Crítico. As cápsulas foram abertas sob microscopia estereoscópica e os esporos dispersos sobre suportes com fita dupla face de carbono, cobertos com camada de ouro de 20nm e eletromicrografados. As análises MEV foram realizadas no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (NMM – UFV).

II.4 Análises Estatísticas

Os dados obtidos a partir da medição do diâmetro maior dos esporos foram submetidos a tratamento estatístico descritivo, apresentando-se as médias aritméticas, faixas de variação de tamanho, desvio padrão da amostra, desvio padrão da média, coeficiente de variação e intervalo de confiança para todos os materiais analisados.

Posteriormente, foi realizado o teste ANOVA fator único, para comparação de médias entre os espécimes de uma mesma espécie e entre as diferentes espécies.

II.5 Análises Ecológicas

Para a realização das análises ecológicas, os dados das características adaptativas de cada espécie foram tabelados e organizados em uma matriz binária, juntamente com os dados palinológicos das espécies estudadas.

Os dados foram submetidos às análises de agrupamento, utilizando-se o software Past ver. 2.17c (Hammer *et al.*, 2001).

As características palinológicas incluídas na matriz foram: Tipo Morfológico, classe de tamanho dos esporos e espessura do esporoderma. As estratégias ecológicas consideradas foram tipo de substrato colonizado e forma de vida. Estes dados foram obtidos a partir da observação do material analisado e, quando necessário, consultou-se a literatura especializada para o grupo (Stotler, 1969; Berghen, 1976; Yuzawa, 1991; Lemos-Michel, 2001; Uribe & Gradstein, 2003; Uribe, 2008).

Para a confecção da matriz, os tamanhos médios dos esporos foram separados em em três classes de tamanho, respeitando à seguinte equação: $h = \frac{A}{k}$, onde h é a amplitude das classes, A ($A = X_{\text{máx}} - X_{\text{mín}}$) é a amplitude total e K é o número de classes estabelecido ($X_{\text{máx}}$ = maior valor de tamanho de esporo observado no total de amostras; $X_{\text{mín}}$ = menor valor de tamanho de esporo observado no total das amostras) (Correa, 2007). Na divisão de classes do tamanho médio dos esporos, ficou estabelecido que: classe 1, inclui esporos que apresentam tamanho médio variando entre 33,30 μm e 43,30 μm ; classe 2, inclui esporos com tamanho variando entre 43,31 μm e 53,30 μm ; e classe 3, inclui os esporos com tamanho médio entre 53,31 μm até 63,30 μm (Quadro 2).

Quadro 2. Classes do tamanho médio dos esporos.

Classes de Tamanho	Intervalo
Classe 1	33,30 μm - 43,30 μm
Classe 2	43,31 μm - 53,30 μm
Classe 3	53,31 μm - 63,30 μm

Os estratos do esporoderma foram classificados da seguinte maneira: A exina foi considerada espessa se apresenta valor maior ou igual a 1 μm , e delgada se apresenta valor menor que 1 μm . A intina foi considerada espessa quando apresenta valor maior ou igual a 1,5 X o valor da espessura da exina, e delgada se apresenta valor menor do que o referido.

III. RESULTADOS

As espécies estudadas da família Frullaniaceae apresentam esporos em mônades, apolares, de tamanho médio a grande (33,3 µm – 63,3 µm; Tabelas 1 e 2), âmbito subcircular, inaperturados, de coloração amarronzada. O esporoderma é formado por intina e exina, subdividida em nexina e sexina.

Foram identificados dois Tipos Morfológicos, estabelecidos de acordo com a ornamentação da superfície da exina.

Tipo Morfológico I

Os esporos possuem tamanho médio de médio a grande, com médias de tamanho do diâmetro maior dos esporos variando entre 33 µm e 57 µm (Tabela 1). Este Tipo Morfológico está representado pelas espécies: *Frullania arecae* (Spreng.) Gottche, *F. atrata* (Sw.) Nees, *F. beyrichiana* (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb., *F. brasiliensis* Raddi, *F. caulisequa* (Nees) Nees, *F. dusenii* Steph., *F. ecklonii* (Spreng.) Gottsche *et al.*, *F. ericoides* (Nees) Mont., *F. gibbosa* Nees, *F. griffithsiana* Gottsche, *F. intumescens* (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb., *F. kunzei* (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb., *F. lindenberghii* Lehm., *F. nodulosa* (Reinw. et al.) Nees, *F. riojaneirensis* (Raddi) Spruce e *F. setigera* Steph.

As espécies deste Tipo Morfológico apresentaram diferenças na espessura da exina, permitindo assim, criar subtipos, confirmados pela análise multivariada (Figura 1). O subtipo A reúne espécies que apresentam exina delgada (Tabela 2), e está representado pelas espécies *Frullania arecae*, *F. beyrichiana*, *F. dusenii*, *F. ecklonii*, *F. gibbosa*, *F. griffithsiana*, *F. intumescens*, *F. kunzei*, *F. nodulosa*, *F. riojaneirensis* e *F. setigera* (Tabela 3). O subtipo B reúne as espécies que apresentam exina espessa e está representado por *Frullania atrata*, *F. brasiliensis*, *F. caulisequa*, *F. ericoides* e *F. lindenberghii* (Tabela 3).

A respeito do subtipo A, as espécies *Frullania arecae*, *F. dusenii*, *F. ecklonii* e *F. riojaneirensis* apresentam esporos de tamanho médio (Tabela 1); *F. dusenii* e *F.*

ecklonii possuem intina delgada, enquanto *F. arecae* e *F. riojaneirensis* possuem intina espessa (Tabela 2, 3).

Os esporos de *F. arecae* romperam-se facilmente no processo acetolítico, sendo assim submetidas à ACLAC.

Frullania beyrichiana, *F. griffthsiana*, *F. setigera*, *F. gibbosa*, *F. kunzei* e *F. nodulosa* apresentam o tamanho dos esporos entre médio e grande (Tabelas 1 e 3). *Frullania beyrichiana* e *F. kunzei* possuem intina delgada, e as demais espécies apresentam intina espessa (Tabela 2 e 3). *Frullania intumescens* foi a única espécie do subtipo A que apresenta esporos que são classificados apenas como de tamanho grande, além de apresentarem intina delgada (Tabelas de 1 a 3).

Na maioria das espécies do subtipo A, foi possível visualizar o conteúdo celular, exceto nas espécies *Frullania arecae*, *F. dusenii*, *F. ecklonii*, *F. gibbosa*, *F. griffthsiana* e *F. riojaneirensis* (Figuras 2 e 3).

As espécies do subtipo A ocorrem sobre tronco vivo, tronco morto, rochas, solo e ainda sobre substratos artificiais (Tabela 3).

Com relação às espécies pertencentes ao subtipo B (Tabela 3), destaca-se a espécie *Frullania ericoides*, como sendo a única espécie a possuir esporos classificados sempre de tamanho médio (Tabelas 1 e 3), enquanto esporos de tamanho médio a grande foram observados em *F. brasiliensis* e *F. caulisequa* e, apenas esporos de tamanho grande, foram observados em *F. atrata* e *lindenbergii* (Tabela 1, 3).

Frullania brasiliensis, *F. ericoides* e *F. lindenbergii* apresentam intina espessa e conteúdo celular visível (Tabelas 2 e 3; Figura 3: D,H; Figura 4B), enquanto que *F. atrata* e *F. caulisequa* apresentam esporos com intina delgada, nos quais não foi possível observar o conteúdo celular (Tabelas 2 e 3; Figura 3: B, E).

Os esporos de *Frullania atrata* não resistiram ao processo acetolítico, e também foram submetidos à ACLAC.

As espécies do subtipo B são epífitas, restritas a apenas dois tipos de substrato: tronco vivo e tronco morto (Tabela 3). A maioria das espécies do Tipo Morfológico I

possui o arranjo de trama como forma de vida, exceto *F. nodulosa*, que possui a forma tufo e *F. atrata*, que possui a forma de leque.

Considerando as espécies do Tipo Morfológico I como um todo, foi possível observar, sob ML, diferenças na morfologia dos processos alongados presentes na ornamentação e na configuração do aspecto geral da exina (Figuras 3 e 4). Em *Frullania atrata*, *F. beyrichiana*, *F. caulisequa*, *F. griffithsiana*, *F. intumescens*, *F. kunzei*, e *F. setigera*, a exina apresenta cor marrom escura (Figura 3: B, C, E, K, L; Figura 4: A, F). Nas duas primeiras espécies, os processos são delicados, remetendo à ornamentação em configuração de roseta; enquanto que nas demais espécies, o processo é robusto, apresentando ápice mais estreito que sua base.

Em *Frullania arecae*, *F. brasilienses*, *F. dusenii*, *F. ecklonii*, *F. ericoides*, *F. gibbosa*, *F. lindenbergii*, *F. nodulosa* e *F. riojaneirensis*, a exina apresenta cor clara (Figura 3: A, D, F, G, H, I; Figura 4: B, D, E). Em *F. brasiliensis*, *F. ericoides* e *F. nodulosa*, os processos da ornamentação são delicados, enquanto que nas demais espécies, o processo é robusto.

Sob MEV, foi possível, observar em maior detalhe, a superfície dos esporos. Em *F. brasiliensis*, estes processos possuem forma de báculo, com ápice arredondado e, por vezes, ápice bifurcado (Figura 3H). É possível observar que a sexina apresenta pequenos grânulos entre as áreas côncavas. Em *F. beyrichiana*, os processos variam entre a forma de báculo e a forma de espinhos de ápice arredondado (base mais larga que o ápice), mas nenhum ápice bifurcado foi observado. A superfície é irregular nas regiões entre as áreas côncavas (Figura 3G). Em *F. caulisequa*, os processos apresentam aspecto mais grosseiro, com recortes ao longo de seu comprimento, semelhante a dentes (Figura 3I). A sexina apresenta pequenos grânulos espaçados em sua superfície (Figura 3I). Em *F. riojaneirensis* e *F. setigera* (Figura 3L), os processos são delicados, apresentando forma de báculo, com ápice ligeiramente afilado e o aspecto da sexina é irregular.

Em *F. beyrichiana*, é possível observar que as médias de tamanho do diâmetro maior dos esporos dos materiais de comparação estão fora do intervalo de confiança da média de tamanho do diâmetro maior dos esporos do material padrão; no entanto estão inseridas na faixa de amplitude do tamanho daqueles esporos (Tabela1). O coeficiente

de variação apresentou valores próximos a 10%. As médias dos tamanhos dos esporos dos materiais padrão e de comparação, nesta espécie, possuem diferenças estatisticamente significativas. Em *F. brasiliensis*, *F. ericoides* e *F. riojaneirensis*, o comportamento foi semelhante: as médias do tamanho do diâmetro maior dos esporos nos materiais de comparação foram maiores que o limite superior do intervalo de confiança do tamanho dos esporos do material padrão, mas se encaixaram na faixa de amplitude do mesmo (Tabela 1).

Em *Frullania brasiliensis*, o coeficiente de variação girou em torno de 10%, exceto L. Krieger (13950-A/CESJ), cujo valor foi 7,90% (Tabela 1); em *F. ericoides*, um dos materiais de comparação (A. Sehnem 5011) apresentou alto coeficiente de variação, 15,9% (Tabela 1). Já em *F. riojaneirensis*, o material de comparação C. Bastos 146 apresentou pequeno coeficiente de variação, 6,9% (Tabela 1). Nas três espécies, as médias de tamanho do diâmetro maior dos esporos nos materiais padrão e comparação mostraram diferenças estatisticamente significativas.

Em *Frullania caulisequa*, apenas um dos materiais de comparação (A. Sehnem 6542) apresentou média do diâmetro maior dos esporos que se incluiu no intervalo de confiança do material padrão (Tabela 1). Os demais materiais apresentaram médias do diâmetro maior dos esporos abaixo do limite inferior do intervalo de confiança do material padrão. Porém, os valores ficaram dentro do intervalo de amplitude do material padrão. O material S.B.Vilas Boas & C. Bastos 147 apresentou pequeno coeficiente de variação, 6,34%.

Nas espécies *Frullania gibbosa* e *F. griffithsiana*, a média do tamanho do diâmetro maior dos esporos do material de comparação está fora do intervalo de confiança do material padrão. Na primeira espécie, a média é maior que o limite superior e não está inserida na faixa de amplitude de tamanho do diâmetro maior dos esporos do material padrão (Tabela 1). Na segunda espécie, a média é menor do que o limite inferior de tamanho dos esporos do material padrão, mas está incluída na faixa de amplitude de tamanho dos esporos do material padrão (Tabela 1). As médias do tamanho do diâmetro maior dos esporos no material padrão e no material de comparação, nas duas espécies, são significativamente diferentes.

Em *Frullania kunzei*, apenas a média de tamanho do diâmetro maior dos esporos de um dos materiais de comparação (C. Bastos 712) se incluiu no intervalo de confiança do material padrão analisado (Tabela 1). Os demais materiais de comparação apresentaram médias maiores do que o limite superior do intervalo de confiança. Porém, todas as médias de tamanho do diâmetro maior dos esporos dos materiais de comparação estão inseridas na faixa de amplitude do tamanho do esporo do material padrão (Tabela 1). O coeficiente de variação apresentou valores entre 10%, exceto no segundo material de comparação (C. Bastos 974), 13,38% (Tabela 1). As médias são significativamente diferentes.

Nas espécies *F. nodulosa* e *F. setigera*, as médias do tamanho do diâmetro maior dos esporos apresentadas pelos materiais de comparação estão fora do intervalo de confiança do material padrão, mas estão incluídos na faixa de amplitude do tamanho do esporo (Tabela 1). Na primeira espécie, o coeficiente de variação apresentou valores próximos de 10%; em *F. setigera*, o coeficiente de variação apresentou baixos valores, girando em torno de 7% (Tabela 1). As médias dos materiais padrão e comparação, de cada espécie, são significativamente diferentes.

As espécies *F. arecae*, *F. atrata*, *F. dusenii*, *F. ecklonii*, *F. intumescens* e *F. lindenbergii* tiveram o tamanho médio do diâmetro maior dos esporos estabelecido apenas em observação do material padrão (Tabela 1). O coeficiente de variação apresentou valores próximos de 10% nessas espécies, com destaque para os menores valores observados para *F. intumescens* (6,46%) e *F. lindenbergii* (7,6%).

As médias de tamanho dos esporos das espécies do Tipo Morfológico I apresentam valores significativamente diferentes.

As espécies do Tipo Morfológico I foram submetidas à análise de agrupamento, considerando as características morfométricas do esporo e as características adaptativas das espécies (Tabela 3). Para tal, uma matriz binária foi elaborada (Tabela 4). A análise de agrupamento apresentou a formação de quatro grupos com significância maior que 0,5 (Figura 1). Os três primeiros grupos formados correspondem às espécies que apresentaram exina delgada (Figura 1). O primeiro grupo foi formado pelas espécies *F. dusenii*, *F. ecklonii* e *F. arecae*, que compartilham a mesma classe de tamanho dos esporos. No segundo grupo, formado pelas espécies *F. beyrichiana*, *F. intumescens* e *F.*

kunzei, as espécies apresentam intina delgada, e por isso ficaram próximas. No terceiro e maior grupo, composto por *F. gibbosa*, *F. griffithsiana*, *F. setigera*, *F. riojaneirensis* e *F. nodulosa*, as espécies possuem intina espessa. O quarto grupo reuniu as espécies que apresentaram exina espessa: *F. brasiliensis*, *F. lindenbergii*, *F. ericoides*, *F. caulisequa* e *F. atrata*.

Tabela 1. Dados morfométricos do diâmetro maior dos esporos das espécies do Tipo Morfológico I, em micrômetros (*material padrão, os demais, comparação).

Material	(Xmin-Xmáx)	M ± S _M	S	95% IC	CV (%)
<i>Frullania arecae</i>					
L.T. Penha, 709 * (ALCB)	(26,00 - 41,60)	33,30 ± 0,50	3,57	32,30 - 34,30	10,70
<i>Frullania atrata</i>					
J. Ballejos, 1801* (ALCB)	(49,40 - 67,60)	57,30 ± 0,66	4,69	55,97 - 58,64	8,18
<i>Frullania beyrichiana</i>					
A. Sehnem, 6812 * (PACA)	(41,60 - 62,40)	53,40 ± 0,76	5,37	51,87 - 54,93	10,05
A. Sehnem, 6980 (PACA)	(34,50 - 55,20)	42,20 ± 0,97	5,36	40,20 - 44,20	12,70
A. Sehnem, 11021 (PACA)	(36,80 - 55,20)	45,80 ± 0,75	4,13	46,96 - 47,34	9,01
J.R.P.M. Oliveira <i>et al.</i> , 293 (UFPE)	(44,20 - 65,00)	55,60 ± 0,84	4,61	53,88 - 57,32	8,29
<i>Frullania brasiliensis</i>					
L.A. Paiva & E.T. Amorim, 18 * (CESJ)	(36,40 - 57,20)	44,30 ± 0,66	4,60	43,08 - 45,72	10,50
R.S. Rodrigues, 150 (CESJ)	(41,60 - 65,00)	48,80 ± 0,89	4,90	46,97 - 50,63	10,04
L. Krieger (13950-A/CESJ)	(44,20 - 59,80)	50,40 ± 0,73	4,00	48,91 - 51,89	7,90
H.C.S. Gomes <i>et al.</i> , 289 (CESJ)	(39,00 - 62,40)	51,70 ± 1,02	5,59	49,62 - 53,78	10,8
<i>Frullania caulisequa</i>					
A. Sehnem, 7971 * (PACA)	(44,20 - 67,60)	53,60 ± 0,64	4,53	52,32 - 54,88	8,45
A. Sehnem, 6542 (PACA)	(44,20 - 65,00)	54,50 ± 1,14	6,26	52,17 - 56,83	11,40
S.B.Vilas Boas & C. Bastos, 147 (ALCB)	(41,60 - 57,20)	51,40 ± 0,65	3,57	50,07 - 52,73	6,94
S.B.Vilas Boas & C. Bastos, 77 (ALCB)	(39,00 - 59,80)	47,01 ± 0,92	5,07	45,12 - 48,90	10,70
<i>Frullania dusenii</i>					
N.M.C.F. Castro* (22553/UFPE)	(28,60 - 52,00)	41,80 ± 0,72	5,14	40,34 - 43,26	12,29
<i>Frullania ecklonii</i>					
Visnadi & Vital, 674 * (MPEG)	(33,80 - 52,00)	40,70 ± 0,60	4,28	39,49 - 41,91	10,50
<i>Frullania ericoides</i>					
A. Sehnem, 1039 * (PACA)	(28,60 - 46,80)	36,50 ± 0,55	3,91	35,59 - 37,81	10,60
A. Sehnem, 93 (PACA)	(26,00 - 41,60)	34,30 ± 0,74	4,09	32,78 - 35,82	11,92
A. Sehnem, 5011 (PACA)	(28,60 - 52,00)	38,40 ± 1,12	6,17	36,10 - 40,70	15,90
L.T. Penha, 716 (ALCB)	(28,60 - 55,20)	45,20 ± 1,02	5,61	43,11 - 47,29	12,41

Tabela 1. Continuação

Material	(Xmin-Xmáx)	M ± S _M	S	95% IC	CV (%)
<i>Frullania gibbosa</i>					
C. Bastos, 966 * (ALCB)	(41,60 - 54,60)	47,60 ± 0,49	3,51	46,80 - 48,80	7,30
Schärfer-Verwinp & Verwinp, 10074 (ALCB)	(41,60 - 65,00)	56,60 ± 1,07	5,84	54,40 - 58,80	10,40
<i>Frullania griffithsiana</i>					
A. Sehnem, 1013 * (PACA)	(41,60 - 66,30)	54,70 ± 0,75	5,36	53,18 - 56,22	9,80
A. Sehnem, 4919 (PACA)	(39,00 - 59,80)	49,30 ± 1,03	5,67	47,19 - 51,41	11,5
<i>Frullania intumescens</i>					
E.T. Amorim, 67 *(CESJ)	(46,80 - 59,80)	53,50 ± 0,49	3,46	52,52 - 54,48	6,46
<i>Frullania kunzei</i>					
C. Bastos, 955 * (ALCB)	(41,60 - 59,80)	50,90 ± 0,65	4,65	49,58 - 52,22	9,10
C. Bastos, 712 (ALCB)	(41,60 - 62,40)	50,60 ± 0,9	5,47	48,56 - 52,64	10,81
C. Bastos, 974 (ALCB)	(41,60 - 70,20)	55,50 ± 1,35	7,43	52,73 - 58,27	13,38
C. Bastos, 710 (ALCB)	(39,00 - 57,20)	47,10 ± 0,84	4,62	45,35 - 48,85	9,80
<i>Frullania lindenbergii</i>					
C. Bastos, 3202 * (ALCB)	(44,20 - 62,40)	52,20 ± 0,57	4,01	51,06 - 53,34	7,60
<i>Frullania nodulosa</i>					
R. Lisboa, 934 * (MPEG)	(41,60 - 67,60)	53,70 ± 0,87	6,19	51,95 - 55,46	11,52
R. Lisboa <i>et al.</i> , 6680 (MPEG)	(39,00 - 59,80)	48,01 ± 0,87	4,76	46,24 - 49,78	9,91

Tabela 1. Continuação

Material	(Xmin-Xmáx)	M ± S _M	S	95% IC	CV (%)
<i>Frullania riojaneirensis</i>					
A. Sehnem, 45 * (PACA)	(28,60 - 49,40)	37,70 ± 0,59	4,22	36,50 - 38,90	11,20
A. Sehnem, 1089 (PACA)	(36,40 - 57,20)	45,90 ± 1,02	5,62	43,80 - 48,00	12,20
C. Bastos, 146 (ALCB)	(36,40 - 46,80)	40,10 ± 0,50	2,78	39,60 - 41,14	6,90
C. Bastos, 160 (ALCB)	(31,20 - 52,00)	40,00 ± 0,70	4,01	38,50 - 41,50	10,00
<i>Frullania setigera</i>					
A. Sehnem, 6335 * (PACA)	(41,60 - 65,00)	52,70 ± 0,59	4,17	51,52 - 53,88	7,90
Schärfer-Verwinp & Verwinp, 10033 (ALCB)	(42,90 - 54,60)	49,80 ± 0,59	3,26	48,59 - 50,11	6,54

Tabela 2. Valor médio (em µm) da espessura dos estratos do esporoderma dos esporos das espécies do Tipo Morfológico I

Espécie	Esporoderma	
	Exina	Intina
<i>F. arecae</i>	0,40	1,20
<i>F. atrata</i>	1,20	0,90
<i>F. beyrichiana</i>	0,90	0,70
<i>F. brasilienses</i>	1,20	4,80
<i>F. caulisequa</i>	1,01	1,19
<i>F. dusenii</i>	0,89	1,00
<i>F. ecklonii</i>	0,91	1,28
<i>F. ericoides</i>	1,10	2,00
<i>F. gibbosa</i>	0,80	1,50
<i>F. griffithsiana</i>	0,90	4,40
<i>F. intumescens</i>	0,90	1,10
<i>F. kunzei</i>	0,90	1,30
<i>F. lindenbergii</i>	1,05	2,90
<i>F. nodulosa</i>	0,90	1,50
<i>F. riojaneirenses</i>	0,80	1,20
<i>F. setigera</i>	0,50	0,90

Tabela 3. Características palinológicas e características adaptativas das espécies do Tipo Morfológico 1. AS: Substrato Artificial; TV: Tronco Vivo; RO: Rocha; TM: Tronco Morto. ¹ Stotler, 1970; ² Berghen, 1976; ³ Yuzawa, 1991; ⁴ Gradstein & Uribe, 2003; ⁵ Uribe, 2008; ⁶ Costa e Peralta, 2014.

Espécie	Características do Esporo				Características Adaptativas	
	Tamanho	Espessura do Esporoderma		Conteúdo Celular	Substrato de Ocorrência	Forma de Vida
		Exina	Intina			
SubTipo Morfológico A						
<i>F. arecae</i>	Médio	Delgada	Espessa	Visível	SA, TV, RO ³	Trama
<i>F. beyrichiana</i>	Médio a Grande	Delgada	Delgada	Não Visível	TV, TM, SO, RO ¹	Tapete, Trama ¹
<i>F. dusenii</i>	Médio	Delgada	Delgada	Visível	SA, TV, RO ³	Trama
<i>F. ecklonii</i>	Médio	Delgada	Delgada	Visível	TV, RO ³	Trama
<i>F. gibbosa</i>	Médio a Grande	Delgada	Espessa	Visível	TV, RO ^{3,4}	Trama ¹
<i>F. griffithsiana</i>	Médio a Grande	Delgada	Espessa	Visível	TV ¹	Tapete, Trama ¹
<i>F. intumescens</i>	Grande	Delgada	Delgada	Não Visível	TV ^{1,4}	Tapete, Trama
<i>F. kunzei</i>	Médio a Grande	Delgada	Delgada	Não Visível	TV	Tapete, Trama
<i>F. nodulosa</i>	Médio a Grande	Delgada	Espessa	Visível	TV ^{2,4,5}	Tufos ²
<i>F. riojaneirensis</i>	Médio	Delgada	Espessa	Visível	TV, RO, SO ^{3,4,5}	Trama ⁶
<i>F. setigera</i>	Médio a Grande	Delgada	Espessa	Não Visível	TV, RO ^{1,4}	Tapete, Trama ¹
SubTipo Morfológico B						
<i>F. atrata</i>	Grande	Espessa	Delgada	Não Visível	TV	Pendente ⁴
<i>F. brasilienses</i>	Médio a Grande	Espessa	Espessa	Visível	TV ^{1,4}	Leque, Trama ^{1,4}
<i>F. caulisequa</i>	Médio a Grande	Espessa	Delgada	Não Visível	TV, TM ⁴	Leque, Trama
<i>F. ericoides</i>	Médio	Espessa	Espessa	Visível	TV, TM ⁴	Trama
<i>F. lindenbergii</i>	Grande	Espessa	Espessa	Visível	TV ²	Trama

Tabela 4. Matriz binária das características palinológicas e características adaptativas das espécies estudadas no Tipo Morfológico 1.

Legenda: C1: Classe 1, C2: Classe 2, C3: Classe 3, Ex.: Exina, In.: Intina, TV: Tronco Vivo, TM: Tronco Morto, RO: Rocha, SO: Solo, AS: Substrato Artificial.

Espécies	Características dos Esporos							Características Adaptativas									
	Classe de Tamanho dos esporos			Espessura do Esporoderma				TV	TM	RO	SO	SA	Trama	Pendente	Leque	Tapete	Tufo
	C1	C2	C3	Ex. Espessa	Ex. Delgada	In. Espessa	In. Delgada										
<i>F. arecae</i>	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>F. atrata</i>	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>F. beyrichiana</i>	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0
<i>F. brasilienses</i>	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>F. caulisequa</i>	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>F. dusenii</i>	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>F. ecklonii</i>	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. ericoides</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. gibbosa</i>	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. griffithsiana</i>	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>F. intumescens</i>	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>F. kunzei</i>	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>F. lindenbergii</i>	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. nodulosa</i>	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>F. riojaneirenses</i>	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
<i>F. setigera</i>	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0

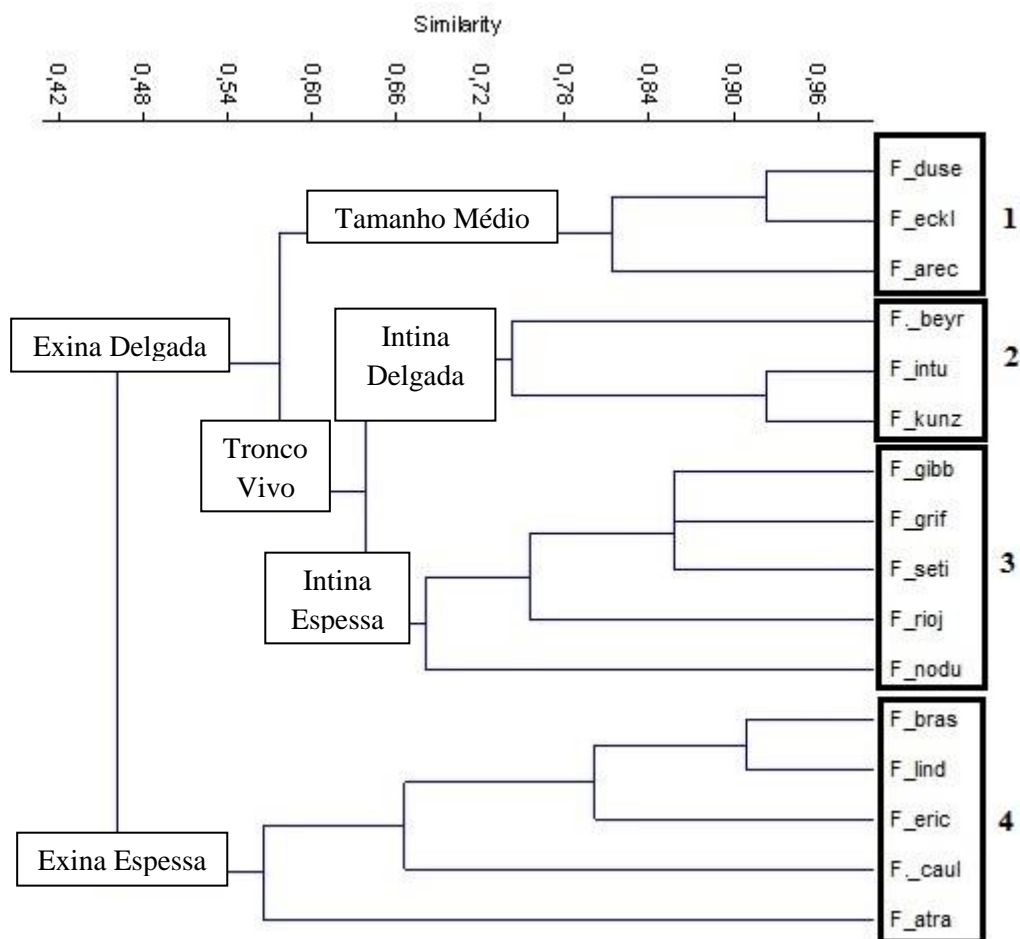


Figura 1. Dendrograma correspondente à análise de agrupamento considerando as características palinológicas e de estratégias adaptativas das espécies. Legenda: F_duse: *Frullania dusenii*; F_eckl: *F. ecklonii*; F_arec: *F. arecae*; F_beyr: *F. beyrichiana*; F_intu: *F. intumescens*; F_kunz: *F. kunzei*; F_gibb: *F. gibbosa*; F_grif: *F. griffithsiana*; F_set: *F. setigera*; F_rioj: *F. riojaneirensis*; F_nodu: *F. nodulosa*; F_bras: *F. brasiliensis*; F_lind: *F. lindenbergi*; F_eric: *F. ericoides*; F_caul: *F. caulisequa*; F_atra: *F. atrata*.

Tipo Morfológico II

O Tipo Morfológico II inclui esporos grandes, com médias de tamanho do diâmetro maior dos esporos variando entre 51,00 µm e 64,00 µm (Tabela 5). A exina é ornamentada por regiões côncavas nas quais apenas um processo central se destaca. Este Tipo Morfológico está representado pelas espécies *Frullania glomerata* (Lehm. & Lindenb.) Mont. e *Frullania montagnei* Gottsche. Apresentam exina espessa e intina delgada, e conteúdo celular evidente (Tabelas 6 e 7; Figura 3J; Figura 4C).

Sob ML, os esporos de *F. montagnei* apresentam, entre os elementos de ornamentação, exina ornamentada por pequenos grânulos (Figura 4C). Já em *F. glomerata*, a exina é lisa entre os elementos de ornamentação (Figura 3J). Sob MEV, é possível visualizar o único processo central da ornamentação, e aspecto granulado da sexina (Figura 4: J,K).

As duas espécies do Tipo Morfológico II ocorrem sobre tronco vivo e crescem sob a forma de trama ou trama e tapete (Tabela 7).

Observando a Tabela 6, nota-se que o coeficiente de variação foi de 9,9% em *F. glomerata* e 12,3% em *F. montagnei*. Não há sobreposição da faixa de variação dos esporos nas espécies desse Tipo Morfológico (Tabela 5). As médias apresentam valores significativamente diferentes.

As médias de tamanho do diâmetro maior dos esporos das espécies do Tipo Morfológico I e do Tipo Morfológico II foram submetidas ao teste estatístico de comparação de médias. Observou-se que as médias apresentam diferenças significativas.

Tabela 5. Dados morfométricos das espécies do Tipo Morfológico II do diâmetro maior dos esporos, em μm . *material padrão: n = 50.

Material	(Xmin-Xmáx)	M \pm SM	S	95% IC	CV (%)
<i>Frullania glomerata</i>					
H.C.S. Gomes <i>et al.</i> , 32 * (CESJ)	(39,00 – 65,00)	51,40 \pm 0,71	5,07	49,96 - 52,84	9,90
<i>Frullania montagnei</i>					
H.C.S. Gomes <i>et al.</i> , 220 * (CESJ)	(46,80 – 78,00)	63,30 \pm 1,10	7,81	61,38 - 65,82	12,30

Tabela 6. Valor médio (em μm) da espessura dos estratos do esporoderma dos esporos das espécies do Tipo Morfológico II.

Espécie	Esporoderma	
	Exina	Intina
<i>F. glomerata</i>	1,50	1,10
<i>F. montagnei</i>	1,30	1,08

Tabela 7. Características palinológicas e características adaptativas das espécies do Tipo Morfológico II. TV: Tronco Vivo.

Espécies	Características do Esporo				Características Adaptativas	
	Tamanho	Espessura do Esporoderma		Conteúdo Celular	Substrato de Ocorrência	Forma de Vida
		Exina	Intina			
<i>F. glomerata</i>	Grande	Espessa	Delgada	Visível	TV	Trama
<i>F. montagnei</i>	Grande	Espessa	Delgada	Visível	TV	Tapete, Trama

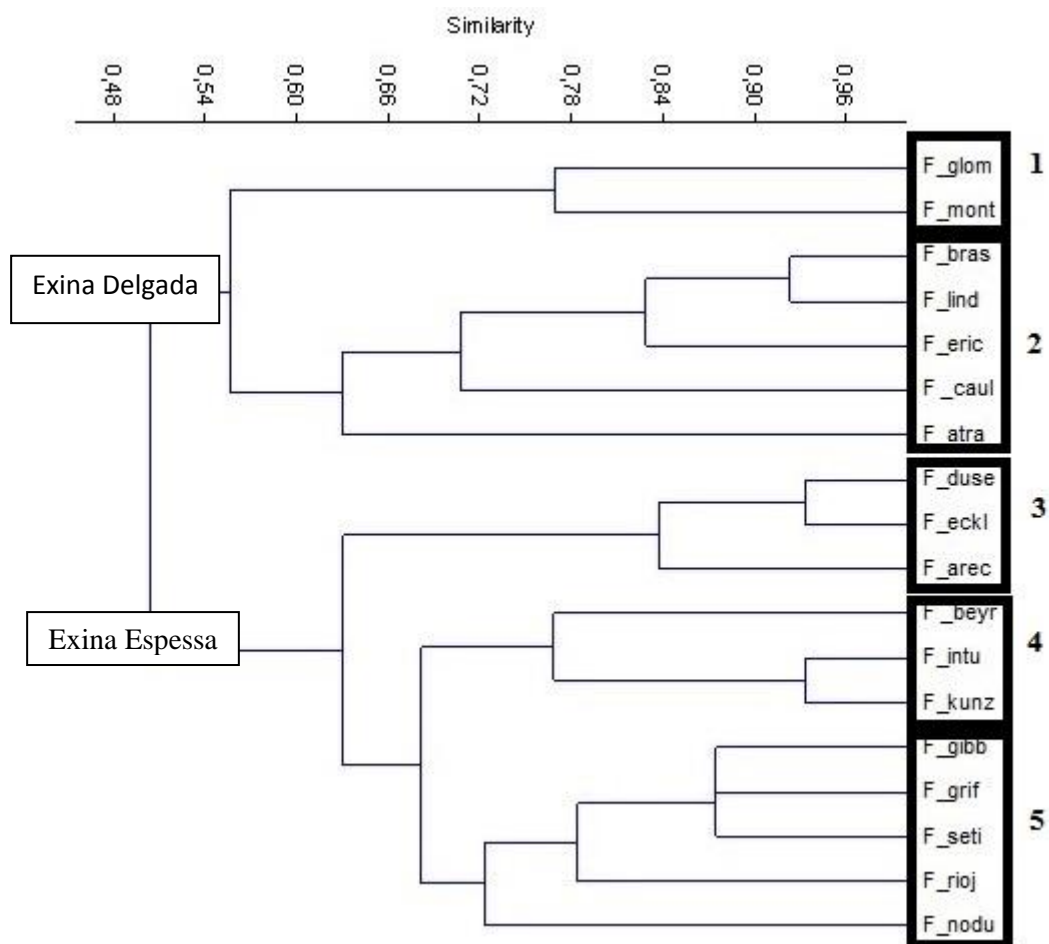
Após a separação dos dois Tipos Morfológicos de esporos encontrados, as espécies de Frullaniaceae, em sua totalidade, foram submetidas à análise de agrupamento, levando em consideração as características palinológicas e adaptativas de cada espécie (Tabelas 3 e 8), elaborando-se uma matriz binária (Tabela 9).

A análise de agrupamento apresentou a formação de cinco grupos com significância maior que 0,5 (Figura 2). Os dois primeiros grupos reuniram as espécies que apresentaram exina espessa, enquanto que os demais reuniram as espécies que apresentaram exina delgada e que pertenciam ao Tipo Morfológico I. O primeiro grupo, formado pelas espécies *F. glomerata* e *F. montagnei*, corresponde às espécies pertencentes ao Tipo Morfológico II. O segundo grupo foi formado pelas espécies que pertencem ao Tipo Morfológico I e é composto pelas espécies *F. brasiliensis*, *F. lindenbergii*, *F. ericoides*, *F. caulisequa* e *F. atrata*. O terceiro grupo correspondeu às espécies que, dentro do Tipo Morfológico I e que apresentaram exina delgada, possuíam esporos classificados com de classe 1: *F. duseonii*, *F. ecklonii* e *F. arecae*. O quarto grupo reuniu as espécies que apresentaram intina delgada, *beyrichiana*, *F. intumescens* e *F. kunzei*; enquanto que o quinto grupo reuniu as espécies que apresentaram intina espessa, *F. gibbosa*, *F. griffithsiana*, *F. setigera*, *F. riojaneirensis* e *F. nodulosa*.

Tabela 9. Características palinológicas e características adaptativas das espécies estudadas das famílias Frullaniaceae. Tip. I: Tipo Morfológico I; Tip. II: Tipo Morfológico II; C1: Classe 1, C2: Classe 2, C3: Classe 3, Ex.: Exina, In.: Intina AS: Substrato Artificial; TV: Tronco Vivo; RO: Rocha; TM: Tronco Morto.

Espécies	Características dos Esporos									Características Adaptativas									
	Tipo Morfológico		Classe de Tamanho			Espessura do Esporoderma				TV	TM	RO	SO	SA	Trama	Pendente	Leque	Tapete	Tufo
	Tip. I	Tip. II	C1	C2	C3	Ex. Espessa	Ex. Delgada	In. Espessa	In. Delgada										
<i>F. arecae</i>	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>F. atrata</i>	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>F. beyrichiana</i>	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0
<i>F. brasilienses</i>	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>F. caulisequa</i>	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>F. dusenii</i>	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>F. ecklonii</i>	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. ericoides</i>	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. gibbosa</i>	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. griffithsiana</i>	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>F. intumescens</i>	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>F. kunzei</i>	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0
<i>F. lindenbergii</i>	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. nodulosa</i>	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>F. riojaneirenses</i>	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
<i>F. setigera</i>	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0
<i>F. glomerata</i>	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>F. montagnei</i>	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0

Figura 2. Dendrograma resultante da análise de agrupamento das espécies estudadas da família Frullaniaceae.



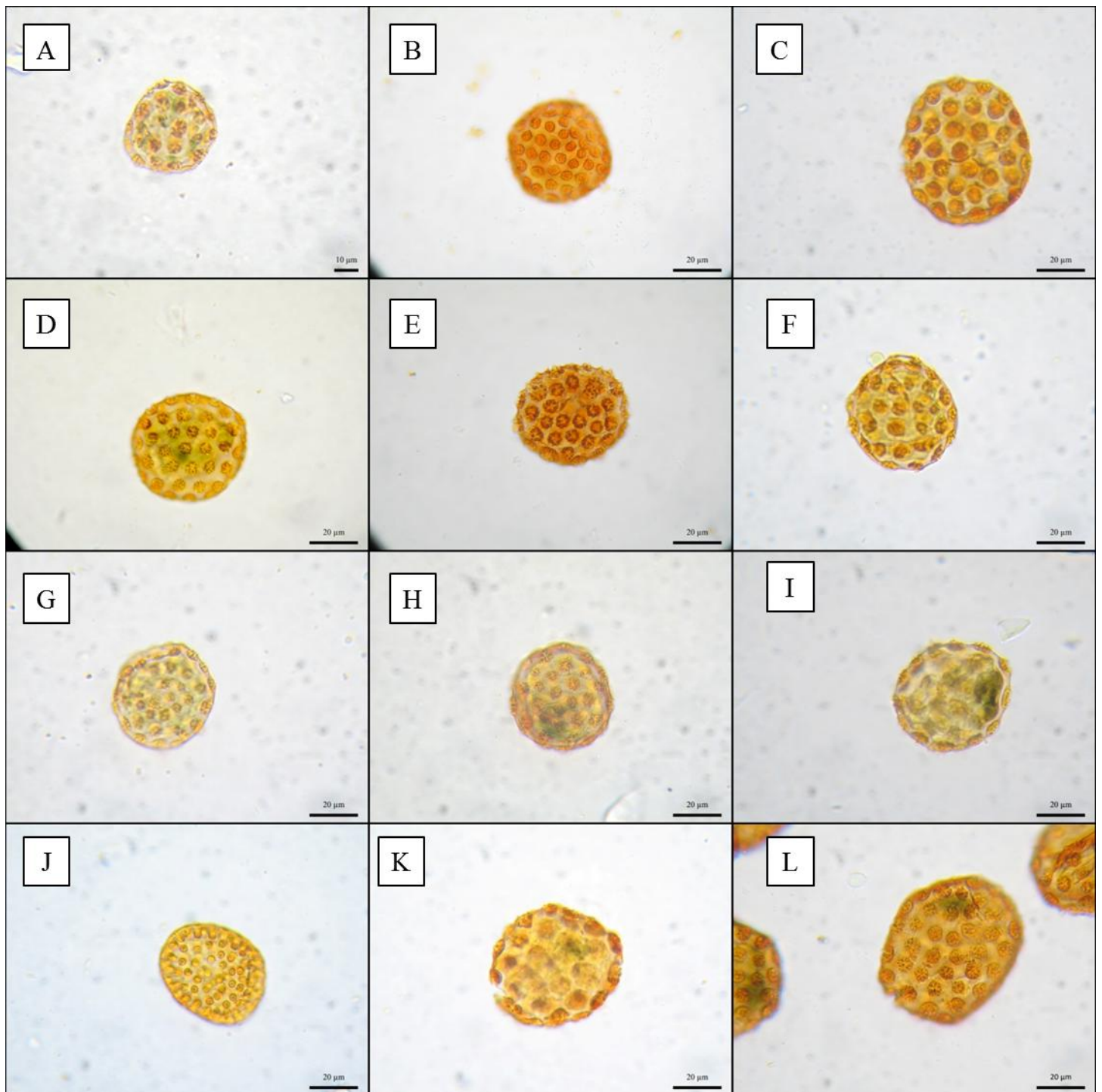


Figura 3. **A:** *F. arecae*; **B:** *F. atrata*; **C:** *F. beyrichiana*; **D:** *F. brasiliensis*; **E:** *F. caulisequa*; **F:** *F. dusenii*; **G:** *F. ecklonii*; **H:** *F. ericoides*; **I:** *F. gibbosa*; **J:** *F. glomerata*; **K:** *F. griffithsiana*; **L:** *F. intumescens*. Escala: **A – L:** 20 µm

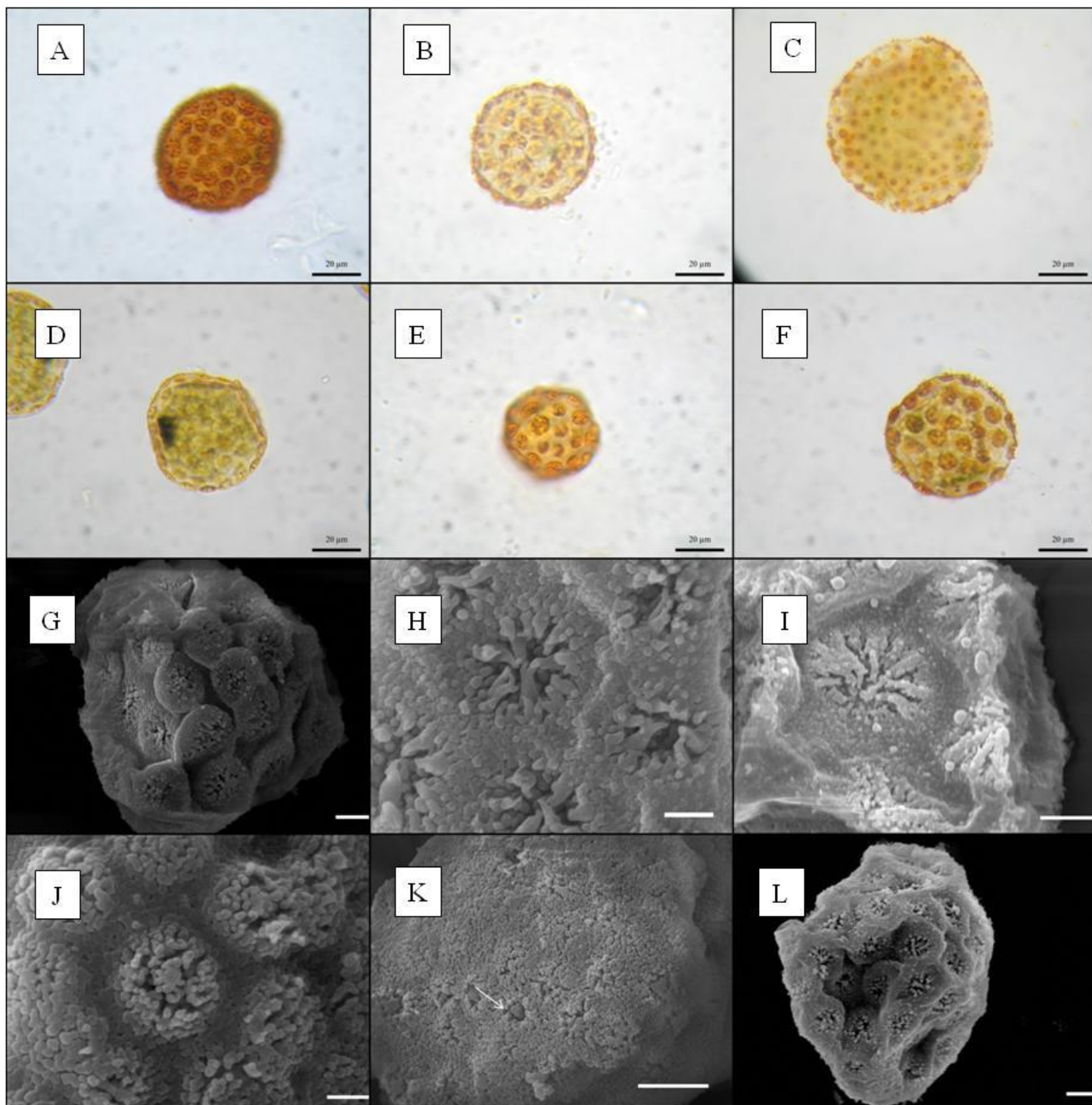


Figura 4. **A:** *F. kunzei*; **B:** *F. lindenbergii*; **C:** *F. montagnei*; **D:** *F. nodulosa*; **E:** *F. riojaneirensis*; **F:** *F. setigera*; **G:** *F. beyrichiana* (barra = 5 µm); **H:** *F. brasiliensis*, detalhe das ornamentações (barra = 2 µm); **I:** *F. caulisequa* (barra = 5 µm); **J:** *F. glomerata* (barra = 2 µm); **K:** *F. montagnei* (seta: processo central; barra = 5 µm); **L:** *F. setigera* (barra = 5 µm). Escala: **A – F:** 20 µm

IV. DISCUSSÃO

Os esporos apresentaram esporoderma dividido em intina e exina. O tamanho médio do diâmetro maior dos esporos variou entre 33,3 μm e 63,3 μm . A exina apresentou ornamentação elaborada, sendo possível a separação de espécies em dois grupos morfológicos baseados em sua estrutura.

Os estratos do esporoderma observados sob ML, intina e exina, estão de acordo com a morfologia descrita para esporos de hepáticas nos trabalhos de Clarke (1979), Neidhart (1979) e Mogensen (1983). A observação sob MEV permitiu observar uma superfície ornamentada da exina, sobrepondo-se a uma camada contínua e homogênea, configurando desta forma, a exina subdividida em nexina e sexina. Esta característica foi observada na espécie *Frullania caulisequa*. Brown & Lemmon (1988) identificaram, durante a esporogênese em esporos de musgos, a deposição de duas camadas de exina, que apresentavam diferentes configurações das lamelas. A ornamentação, no entanto, ocorre sobre a camada de perina. Yano & Luizi-Ponzo (2006, 2011), no estudo palinotaxonômico de duas espécies de hepáticas, também observaram exina dividida em nexina e sexina ornamentada.

O esporoderma apresentou variações em sua espessura nas espécies aqui estudadas. A exina apresentou valores entre 0,4 μm e 1,5 μm . A intina apresentou valores entre 0,7 μm e 2,9 μm na maioria das espécies. *Frullania beyrichiana* e *Frullania brasiliensis* apresentaram intina bastante espessa, com 4,4 μm e 4,8 μm , respectivamente. Erdtman (1965) avaliou a espessura da exina para quatro espécies de Frullaniaceae, identificando valores em torno de 1 μm . Para musgos, Luizi-Ponzo & Melhem (2006) observaram em *Jonesiobryum cerradense* Vital ex B.H.Allen & Pursell exina variando em torno de 0,50 μm e intina apresentando valores entre 1,00 μm e 1,20 μm ; em *Jonesiobryum termitarum* Vital ex B.H.Allen & Pursell, a exina apresentou valores entre 0,52 μm e 0,54 μm e a intina variou entre 0,60 μm e 1,00 μm . Rocha *et al.* (2008), no estudo palinológico das espécies de Polytrichaceae do Brasil, observaram variação na espessura da intina do pólo proximal dos esporos, que apresentou valores entre 0,64 μm a 2,38 μm .

As espécies *Frullania arecae* e *Frullania atrata* não resistiram ao processo de acetólise ao qual foram submetidas, provavelmente devido às características do esporoderma. *F. arecae* apresentou exina muito delicada, 0,4 μm de espessura, e por isso quebrou-se facilmente durante a acetólise. Em *F. atrata*, apesar de a exina apresentar 1,2 μm de espessura, a quebra

pode ser relacionada a uma discreta deposição de esporopolenina nessa camada. Neidhart (1979) ressaltou que a parede dos esporos de *Frullania* é frequentemente descrita como quebrada. O autor observou que, durante a formação da parede, os processos de ornamentação em desenvolvimento formam uma massa compacta afundada na intina e no protoplasto do esporo. Quando o esporo se expande para completar sua maturação, as áreas ornamentadas ficam fragilizadas e passíveis de quebra.

Os esporos apresentaram tamanho classificado como médio a grande, de acordo com Erdtman (1952), com pequena adaptação apresentada para o presente trabalho. O diâmetro maior dos esporos variou entre 33,3 μm , e 63,3 μm , possuindo faixa de amplitude de 30 μm . Os menores esporos foram observados nas espécies *Frullania arecae*, *Frullania ericoides* e *Frullania riojaneirensis*, enquanto que os maiores esporos foram observados nas espécies *Frullania glomerata* e *Frullania montagnei*.

Erdtman (1965) observou, em quatro espécies de Frullaniaceae, tamanho médio de 40 μm a 50 μm , apresentando, assim, 10 μm de faixa de amplitude de tamanho. Bisang (1987), estudando as etapas de germinação em *Frullania tamarisci*, observou esporos de 50 μm . Zhao *et al.* (2011) observou tamanho dos esporos em duas espécies de Frullaniaceae variando entre 35 μm e 48 μm , apresentando assim 13 μm de faixa de amplitude.

O tamanho médio dos esporos em hepáticas é uma característica variável. Steinkamp & Doyle (1979), no estudo de quatro espécies do gênero *Riccia* L., observaram tamanho dos esporos variando entre 65 μm e 127 μm . Yano & Luizi-Ponzo (2006) observaram tamanho médio do diâmetro dos esporos de *Choenecolea doelligeri* (Nees) Grolle girando em torno de 16 μm em vista polar e 12 μm em vista equatorial. No trabalho de Yano & Luizi-Ponzo (2011), os esporos em *Dumortiera hirsuta* (Sw.) Nees apresentaram tamanho médio variando entre 35 μm e 40 μm . Zhao *et al.* (2011) observaram esporos variando entre 31 μm e 38 μm em *Porella caespitans* (Steph.) Hatt., enquanto que, em *Riccia cavernosa* Hofdm. e *Riccia frostii* Aust., os esporos variaram entre 42 μm e 56 μm .

As diferenças significativas das médias do tamanho do diâmetro maior dos esporos entre os materiais de cada espécie e entre o grupo das espécies aqui estudadas permite considerar que existe grande variabilidade de tamanho destes esporos. O coeficiente de variação do tamanho médio dos esporos apresentando valores próximos a 10% são comuns no tratamento palinológico de briófitas, como observado nos trabalhos de Luizi-Ponzo & Barth (1998,

1999), Luiz-Ponzo & Melhem (2006b), Rocha *et al.*(2008), Caldeira *et al.* (2009, 2013), Yano & Luiz-Ponzo (2011) e Rodrigues (2014).

O tipo de ornamentação aqui observado nos esporos das espécies de Frullaniaceae corrobora os dados apresentados por Erdtman (1965) e Zhao *et al.* (2011). O primeiro autor descreveu a exina elaborada por áreas circulares ligeiramente côncavas, apresentando em seu interior processos irregulares com forma e espinhos, possuindo configuração de roseta. Essa descrição é semelhante ao tipo de ornamentação identificado no Tipo Morfológico I, descrito neste trabalho. Zhao *et al.* (2011) descreveram palinologicamente as espécies *Frullania appendistipula* Hatt. e *Frullania gaoligongensis* Bai et Gao. A primeira espécie apresentou ornamentação composta por papilas lisas e vermiculadas, frequentemente fundidas para formar uma projeção cupulada. A segunda espécie apresentou ornamentação composta por papilas, lisas e inconspícuas, frequentemente fundidas, formando um padrão de roseta. Apesar de diferenças na terminologia adotada pelos autores na descrição do padrão de ornamentação, a ilustração disponível permitiu a comparação dos resultados. O tipo de ornamentação identificado na espécie *F. appendistipula* se assemelha com o Tipo Morfológico II descrito para os esporos do presente trabalho. Da mesma forma, o tipo de ornamentação apresentado pela espécie *F. gaoligongensis* se assemelha com o Tipo Morfológico I descrito para os esporos deste trabalho.

Baseados na configuração da exina, dois Tipos Morfológicos foram identificados: o Tipo Morfológico I, que reuniu 16 espécies e o Tipo Morfológico II, que se compõe por duas espécies. Essa separação das espécies, suportada pela morfologia dos esporos, não segue a circunscrição subgenérica do gênero, agrupando, no mesmo Tipo Morfológico, espécies pertencentes a subgêneros diferentes.

A apresentação de dois morfotipos palinológicos está respaldada pela observação prévia de outros autores. Gupta & Udar (1986) *apud* Zhao *et al.* (2011), no estudo palinotaxonômico das hepáticas da Índia, observaram esporos de Frullaniaceae e sugeriram a distinção das espécies da família em dois tipos morfológicos baseados na ornamentação dos esporos. Mais tarde, Zhang & Wu (2006), Wu *et al.* (2008) e Zhao *et al.* (2011), avaliando os esporos de Frullaniaceae da China, identificaram, avaliando a ornamentação dos esporos, a mesma separação das espécies em dois grupos distintos.

Assim como o tamanho dos esporos, a ornamentação pode variar entre as hepáticas: esporos psilados (Heckman, 1970), esporos que apresentam cristas irregulares (Yano & Luiz-Ponzo, 2006), esporos papilosos e marca trilete distinta (Zhao *et al.*, 2011).

Não foi possível estabelecer a separação de grupos de espécies baseada nas características adaptativas uma vez que compartilham a mesma forma de vida e a ocorrência nos substratos: a maioria se apresenta no ambiente sob a forma de trama e todas as espécies tem registro de ocorrência sobre troncos vivos.

Luiz-Ponzo (2012), em estudo das estratégias adaptativas de espécies de musgos, observou que grupos de espécies preferencialmente corticícolas apresentaram esporo com intina espessa, sem delimitação externa da área de abertura do esporo devido à disponibilidade de água e nutrientes do substrato. A família Frullaniaceae possui muitas espécies corticícolas (Gradstein *et al.*, 2011; Lemos-Michel, 2001; Gradstein & Costa, 2003). Os dados palinológicos deste estudo demonstram que a observação de Luiz-Ponzo (2012) pode ser aplicada para as hepáticas, uma vez que os esporos de Frullaniaceae não apresentaram delimitação externa para área preferencial de germinação. No entanto, nas espécies corticícolas aqui estudadas, foi observada diferentes combinações de exina e intina. Devido à variação do tamanho do esporo numa mesma espécie, não foi possível estabelecer uma relação entre o tamanho do esporo, o substrato colonizado e a forma de vida da planta.

V. CONCLUSÃO

A família Frullaniaceae Lorch apresentou esporos de tamanho médio a grande, divididos em dois Tipos Morfológicos, baseados na configuração da exina, que não confirmaram a segregação subgenérica corrente para o gênero *Frullania* Raddi. Os esporos do gênero *Frullania* apresentam ornamentação única, previamente observada para espécies da Índia e da China, sendo aqui, primeiramente reportada para as espécies do Brasil.

As espécies estudadas neste trabalho puderam ser agrupadas observando as características do esporo, tais como espessura da exina e da intina, classe de tamanho e padrão de ornamentação. Não há relação clara entre características adaptativas e o tamanho do esporo, assim como entre a espessura do esporoderma e o tipo de substrato colonizado.

Os dados aqui apresentados acrescentam dados à palinologia de hepáticas, bem à taxonomia de Frullaniaceae no Brasil.

VI. ESPÉCIMES ANALISADOS

Frullania arecae (Spreng.) Gottsche

Brasil, Espírito Santo, Domingos Martins, Parque Estadual Pedra Azul, Trilha do Mirante, 29/ X/ 2009, L. T. Penha 709 (ALCB).

Frullania atrata (Sw.) Nees

Brasil, Bahia, Miguel Calmon, Parque Estadual das Sete Passagens, Cachoeira da Garganta, 09/IX/2007, J. Ballejos 1801 (ALCB).

Frullania beyrichiana (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb.

Brasil, Rio Grande do Sul, Taimbé, São Francisco de Paula, 14/ II/ 1956, A. Sehnem 6812 (PACA); Camará do Sul, Cãnion Itaimbezinho, 16/ IV/ 2010, J. R. P. M. Oliveira *et al.* 293 (UFPE); Santa Catarina, Bom Retiro, Campos dos Padres, 17/ I/ 1957, A. Sehnem 6980 (PACA); Tainhas, São Francisco de Paula, Faz Fogaça, 03/ V/ 1970, A. Sehnem 11021 (PACA).

Frullania brasiliensis Raddi

Brasil, Minas Gerais, Juiz de Fora, Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Mata do Krambeck, 5/ VIII/ 2010, L. A. Paiva & E. T. Amorim 18 (CESJ); Parque Estadual do Ibitipoca, 09/ V/ 2013, R. S. Rodrigues 150 (CESJ); 30/ IX/ 2009, H. C. S. Gomes *et al.* 289 (CESJ); s. loc. 02/ VII 1975, L. Krieger s/ n° (13950-A/CESJ);

Frullania caulisequa (Nees) Nees

Brasil, São Francisco de Paula, Fazenda Englert, 30/ XII/ 1961, A. Sehnem 7971 (PACA); 29/ XII/ 1953, A. Sehnem 6542; Brasil, Bahia, Alagoinhas, Campus II – UNEB, S.B. Vilas Bôas & C. Bastos 147 (CESJ); 13/ IX/ 1995, S.B. Vilas Bôas & C. Bastos 77 (ALCB).

Frullania dusenii Steph.

Brasil, Pernambuco, Cabo de Santo Agostinho, 26/ V/ 1994, N. M. C. F. Castro s/n° (UFPE).

Frullania ecklonii (Spreng.) Gottsche *et al.*

Brasil, São Paulo, Mogi Guaçu, Fazenda Campinha, Reserva Biológica e estação experimental, 27/ VII/ 1993, Visnadi & Vital 674 (MPEG).

Frullania ericoides (Nees) Mont.

Brasil, Rio Grande do Sul, São Leopoldo, Três Portos, 01/ VI/ 1936, A. Sehnem 1039 (PACA); Fazenda São Borja, 1934, A. Sehnem 6335 (PACA); Montenegro, L. Campestre, 15/ XI/ 1950, A. Sehnem 5011 (PACA); Espírito Santo, Domingos Martins, Parque Estadual Pedra Azul, Trilha do Mirante, 29/ X/ 2009, L. T. Penha 716 (ALCB).

Frullania gibbosa Nees

Brasil, Bahia, Esplanada, Baixio, Dunas de Restinga, 18/ X/ 1997, C. Bastos 966 (ALCB); Espírito Santo, Domingos Martins, Reserva Florestal Pedra Azul, 04/ VI/ 1989, Schäfer-Verwimp & Verwimp 10074 (ALCB).

Frullania glomerata (Lehm. & Lindenb.) Mont

Brasil, Minas Gerais, Parque Estadual do Ibitipoca, 11/ III/ 2009, Gomes *et al.* 32 (CESJ).

Frullania griffithsiana Gottsche

Brasil, Rio Grande do Sul, Bom Jesus, Serra dos Aparados, 14/ I/ 1942, A. Sehnem 1013 (PACA); Montenegro, L. Campestre, 03/ V/ 1950, A. Sehnem 4919 (PACA).

Frullania intumescens (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb.

Brasil, Minas Gerais, Rio Preto, Serra do Funil, E. T. Amorim 67 (CESJ).

Frullania kunzei (Lehm. & Lindenb.) Lehm. & Lindenb.

Brasil, Bahia, Esplanada, Baixio, Dunas de Restinga, 18/ X/ 1997, C. Bastos 955 (ALCB); C. Bastos 974 (ALCB); Camaraçi, Guarajuba, 12/ XIII/ 1995, C. Bastos *et al.* 712 (ALCB); C. Bastos *et al.* 710 (ALCB).

Frullania lindenbergii Lehm.

Brasil, Bahia, Santa Terezinha, Povoado de Pedra Branca, Serra da Jibóia, 12/ III/ 2002, C. Bastos 3202 (ALCB).

Frullania montagnei Gottsche

Brasil, Minas Gerais, Parque Estadual do Ibitipoca, 30/ IX/ 2009, Gomes *et al.* 220 (CESJ).

Frullania nodulosa (Reinw. *et al.*) Ness

Brasil, Pará, Altamira, Rio Bacajá, Rancho Sete palmeiras, Mata de Várzea, 10/ XII/ 1986, R. Lisboa 934 (MPEG); Itaituba, São Luiz dos Tapajós, Campo dos perdidos, 20/ XI/ 1999, R. Lisboa *et al.* 6680 (MPEG).

Frullania riojaneirensis (Raddi) Spruce

Brasil, Rio Grande do Sul, São Leopoldo, Arroio Kruse, 11/ VII/ 1935, A. Sehnem 45 (PACA); Santa Catarina, São José do Estreito, 13/ V/ 1940, A. Sehnem 1089 (PACA); Bahia, São Francisco do Conde, Monte Recôncavo, Fazenda Engenho Madrugada, 18/ V/ 1991, C. Bastos 146 (ALCB); 19/ V/ 1991, C. Bastos 160 (ALCB).

Frullania setigera Steph.

Brasil, Rio Grande do Sul, Arapados da Serra, 03/ II/ 1953, A. Sehnem 6335 (PACA); Minas gerais, Serra do Itatiaia, 04/ VI/ 1989, Schäfer-Verwimp & Verwimp 11187 (ALCB).

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGHEN, C. Vanden. **Frullaniaceae (Hepaticae) africanae**. Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique. v. 46 (12). p. 1-220. 1976.

BISANG, Irene. **The sporeling development in *Frullania tamarisci* (L.) Dum.** Journal of Bryology. 14: 761-763. 1987.

BROWN, Roy C., LEMMON, Betty E.; RENZAGLIA, Karen S. **Sporocytic Control of Spore Wall Pattern in Liverworts**. American Journal of Botany. v. 73. 1986.

BROWN, Roy C., LEMMON, Betty E. **Sporogenesis in Bryophytes**. Advances in Bryology, v. 3, p. 159-223. 1988.

BUCK, William. R., GOFFINET, Bernard. Morphology and classification of mosses. In: SHAW, A. Jonathan, GOFFINET, Bernard. (Org.) **Bryophyte Biology**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 71-123. 2000.

CALDEIRA, Isabela Crespo; ESTEVES, Vânia Gonçalves Lourenço; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. **Morfologia dos esporos de Sematophyllaceae Broth. ocorrentes em três fragmentos de Mata Atlântica, no Rio de Janeiro, Brasil**. Revista Brasileira de Botânica, v. 32, n. 2, p. 299-306. 2009.

CALDEIRA, Isabela Crespo; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; ESTEVES, Vânia Gonçalves Lourenço. **Palynology of selected species of *Fissidens* Hedw. (Bryophyta)**. Plant Systematics and Evolution. v. 299, p. 187- 195. 2013.

CLARKE, G. C. S. Spore Morphology and Bryophyte Systematics. In: CLARKE, G. C. S.; DUCKETT, Jeffrey G. **Bryophyte Systematics**. Systematic Association Special Volume n. 14. London and New York: Academic Press. p. 231-250. 1979.

CORREA, Sônia Maria Barros Barbosa. **Probabilidade e Estatística**. Belo Horizonte: PUC Minas Virtual. 2ª ed. p. 116. 2007.

COSTA, Denise Pinheiro. **Hepáticas** in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB128467>>. Acesso em: 05 Jan. 2015

COSTA, Denise Pinheiro. Hepáticas. In: Forzza, Rafaela Campostrini et al. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. IPJBRJ. Rio de Janeiro. v. 1. p. 61-68. 2010.

COSTA, Denise Pinheiro; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. As Briófitas do Brasil. In: Forzza, Rafaela Campostrini et al.. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. IPJBRJ. Rio de Janeiro. v. 1. p 452-521. 2010.

COSTA, Denise Pinheiro; PORTO, Kátia Cavalcanti; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; ILKIU-BORGES, Anna Luisa; BASTOS, Cid José Passos; CAMARA, Paulo E.; PERALTA, Denilson Fernandes; BOAS-BASTOS, Silvana Brito Villas; IMBASSAHY, Caio Amitrano Alencar; HENRIQUES, Diego Knop; GOMES, Hellen Cássia S.; ROCHA, Lucas Matheus da; SANTOS, Nívea Dias; SIVIERO, Tatiana Silva; VAZ-IMBASSAHY, Thais de Freitas.; CHURCHILL, Steven P. **Synopsis of the Brazilian moss flora: checklist, distribution and conservation**. Nova Hedwigia. 2011.

CRANDALL-STOTLER, Barbara; STOTLER, Raymond E.; LONG, David G. Morphology and Classification of the Marchantiophyta. In: SHAW, Jonathan A. ; GOFFINET, Bernard. (ed.) **Bryophyte Biology**. Cambridge, Cambridge University Press, v.2 , p. 1-54. 2009.

ESTÉBANEZ, Belén; ALFAYATE, Carmen; RON, Eugenia. **Observations on spore ultrastructure in six species of Grimmia (Bryopsida)**. Grana. v. 36. p. 347-357. 1997.

ERDTMAN, Gunnar. **Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms**. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass. p. 539. 1952.

ERDTMAN, Gunnar. **The acetolysis method. A revised description**. Svensk Botanisk Tidskrift. v. 39. p. 561-564. 1960.

ERDTMAN, Gunnar. **Pollen and Spore Morphology and Plant Taxonomy. Gymnospermae, Bryophyta** (Text). An Introduction to Palynology III. Stockholm: Almqvist ; Wiksell. 1965.

GLIME, Janice M. Physiological Ecology. In:_____. **Bryophyte Ecology**. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. 2007. v1. Disponível em: <http://www.bryoecol.mtu.edu/>

GOFFINET, Bernard; BUCK, William. R.; SHAW, A. Jonathan. Morphology, Anatomy and Classification of Bryophyta. In: SHAW, A. Jonathan; Goffinet, Bernard. (ed.) **Bryophyte Biology**. Cambridge, Cambridge University Press. p. 55-138. 2009.

GRADSTEIN, Stephan Robert; CHURCHILL, Steven P.; SALAZAR-ALLEN, Noris. **Guide to the Bryophytes of Tropical America**. Memoirs of the New York Botanical Garden. v. 86, p. 577. 2001.

GRADSTEIN, Stephan Robert; COSTA, Denise Pinheiro. **The Hepaticae and Anthocerotae of Brazil**. Memoirs of the New York Botanical Garden. v.87. p. 318. 2003.

HAMMER, Øyvind; HARPER, David A. T.; RYAN, Paul D. **PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis**. Palaeontologia Electronica. v.4 (1). p. 1-9. 2001. Disponível em: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm

HECKMAN, Caroline A. **Spore Wall Structure in the Jungermanniales**. Grana. v. 10 (2), p. 109-119. 1970.

HENTSCHEL, Jörn; VON KONRAT, Matthew J.; PÓCS, Tamás; SCHAFER-VERWIMP, Alfons; SHAW, Jonathan A.; SCHNEIDER, Harald; HEINRICH, Jochen. **Molecular insights into phylogeny and subgeneric classification of Frullania Raddi (Frullaniaceae, Porellales)**. Molecular Phylogenetics and Evolution. v. 52, p. 142-156. 2009.

LEMOS-MICHEL, Eunice. **Hepáticas Epífitas sobre o pinheiro-brasileiro no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. Editora da Universidade. p. 191. 2001.

LISBOA, Regina Célia Lobato. **Musgos Acrocárpicos do estado de Rondônia**. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi/Editora Superiores. p. 272. 1993.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; BARTH, Ortrud Monika. **Spore morphology of some Bruchiaceae species (Bryophyta) from Brazil**. Grana. v. 37, p. 222-227. 1998.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; BARTH, Ortrud Monika. **Spore morphology of some Dicranaceae species (Bryophyta) from Brazil**. Grana. v. 38(1), p. 42-49. 1999.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. ; MELHEM, Therezinha Sant`Anna. **Spore morphology and ultrastructure of the tropical moss *Helicophyllum torquatum* (Hook.) Brid. (Helicophyllaceae) in relation to systematics and evolution.** Cryptogamie Bryologie. v. 27, p. 413-420. 2006a.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira; MELHEM, Therezinha Sant`Anna. **Palinotaxonomia de Rhachithecaceae (Bryophyta) do Brasil.** Bol. Inst. Bot.. v. 18, p. 91-99. 2006b.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. Morfologia e ultraestrutura de esporos de musgos: interpretando estratégias e relações evolutivas. In: MESA REDONDA: BRIÓFITAS, 2012, Joinville. Anais. Joinville: **63º Congresso Nacional de Botânica.** p. 20-27.

MACHADO, Priscila de Souza ; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. **Urban Bryophyte from a Southeastern Brazilian Area (Juiz de Fora - Minas Gerais).** Boletim de Instituto de Botânica de São Paulo. v. 21, p. 223-261. 2011.

MELHEM, Therezinha Sant`Anna; CRUZ-BARROS, Maria Amélia Vitorino da; CÔRREA, Angela Maria da Silva; MAKINO-WATANABE, Hiroko; SILVESTRE-CAPELATO, Maria Stella Fernandes; ESTEVES, Vânia Lourenço Gonçalves. **Variabilidade polínica em plantas de Campos de Jordão (São Paulo, Brasil).** Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo, 16: 1-104. 2006.

MOGENSEN, Gert Steen. The spore. In: Schuster, R. M. (ed.). **New Manual of Bryology.** v. 1, p. 324-342. 1983.

NEHIRA, Kinuto. Germination and protonemata.. In: Glime, Janice M. (ed.), **Methods in Bryology.** The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan. p. 113–117. 1988.

NEIDHART, H. V. Comparative studies of sporogenesis in bryophytes. In: Clarke, G. C. S. ; Duckett, J. G. **Bryophyte Systematics.** London, Academic Press. Systematics Association Special Volume. 14: 251-280. 1979.

OLESEN, Peter; MOGENSEN, Gert Steen. **Ultrastructure, histochemistry and notes on germination stages of spores in selected mosses.** The Bryologist 81(4): 493-516. 1978.

PERALTA, Denilson Fernandes. **Frullaniaceae** in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB97292>>. Acesso em: 03 Jan. 2015

PUNT, Wim; NILSON, S.; BLACKMORE, S.; Le THOMAS, A. **Glossary of pollen and spore terminology**. Review of Palaeobotany and Palynology. v. 143. p. 1-81. 2007.

ROCHA, Lucas Matheus da; GONÇALVES-ESTEVEZ, Vânia; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. **Morfologia de esporos de espécies de Polytrichaceae Schwärg. (Bryophyta) do Brasil**. Revista Brasileira de Botânica. v.31, p. 537–548. 2008.

RODRIGUES, Raquel Saar. **Esporos de Espécies Seleccionadas de Musgos (Bryophyta) de Minas Gerais: Morfologia, Ultraestrutura e Aspectos Escológicos**. 2014. Dissertação – Programa de Pós Graduação em Ecologia, Universidade Federal de Juiz de Fora – Juiz de Fora, MG. 2014.

SCHUSTER, Rudolph M. **The Hepaticae and anthocerotae of North America, East of Hundredth Meridian**. Columbia University Press, New York. v.1.p. 802. 1966.

STEINKAMP, M. P.; DOYLE, W. T. **Spore Wall Ultrastructure in four species of the liverwort *Riccia***. Amer. J. Bot. v. 66 (5). p. 546 – 556. 1979.

STOTLER, Raymond E. **The genus *Frullania* subgenus *Frullania* in Latin America**. Nova Hedwigia. v.18. p. 397-555. 1969.

THIERS, Barbara. [continuously updated]. **Index Herbariorum**: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/ih/>>. Acesso em janeiro de 2015.

URIBE, Jaime Melénez; GRADSTEIN Stephan Robbert. **Type studies on *Frullania* subgenus *Meteoriopsis* (Hepaticae). I. The lectotypification of the genus *Frullania*, F. subgen. *Thyopsiella* and F. subgen. *Meteoriopsis*, and some species transferred from subgen. *Meteoriopsis* to subgen. *Thyopsiella***. Cryptogamie, Bryologie. v. 24 (3), p. 193-207. 2003.

URIBE, Jaime Melénez. **Monografía de *Frullania* subgénero *Meteoriopsis* (Frullaniaceae, Marchantiophyta)**. Caldasia. v. 30 (1), p. 49-94. 2008.

VANDERPOORTEN, Allan; GOFFINET, Bernard. **Introduction to Bryophyte Biology**. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 2009.

VON KONRAT, Matt, DE LANGE, Peter, GREIF, Matt, STROZIER, Lynika, HENTSCHEL, Jörn ; HEINRICHS, Jochen. ***Frullania knightbridgei*, a new liverwort (Frullaniaceae, Marchantiophyta) species from the deep south of Aotearoa-New Zealand based on an integrated evidence-based approach**. *PhytoKeys* 8: 13–36. 2012.

ZHAO, Jian-Cheng; HUANG, Shi-Liang; MIN, Li, SULAYMAN, Mamtimin, JIE, He, YUAN-MING, Zhang; XIAO, Li. **A Study on Characteristics of spore Germination and Protonemal Development in *Lindbergia brachyptera***. *Arctoa*. v. 13, p. 223:228. 2004.

ZHAO, Dong-Ping, BAI, Xue-Liang; WANG, Li-Hong. **Observations of spore morphology of some hepatics species (Marchantiophyta) in China**. *Arctoa*. v. 20, p. 205-210. 2011.

ZHANG, Y.L. ; WU, P.C. **Morphology of Chinese Bryophytes**. Qindao Publishing House, Qingdao. 2006.

WODEHOUSE, Roger P. **Pollen Grains: Their Structure, Identification and Significance in Science and Medicine**. New York, McGraw-Hill Book Company. p. 574. 1935.

WU, Yan-Jun; YU, Jing; CAO, Tong. **Observation of spore morphology and wall structure of eighth species of *Frullania* (Frullaniaceae; Hepaticae) by SEM and TEM**. *J. Wuhan Botanical Research*. v. 26(4). p. 337-342. 2008.

YANO, Olga. **Catálogo de Antóceros e Hepáticas Brasileiros: literatura original, basinônimo, localidade-tipo e distribuição geográfica**. *Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo*. v. 19. 110 p. 2008.

YANO, Olga; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. ***Chonecolea doellingeri* (Chonecoleaceae, Hepaticae), taxonomia e distribuição geográfica no Brasil**. *Acta Botanica Brasilica*. v. 20(4). p. 783-788. 2006.

YANO, Olga; LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. *Dumortiera hirsuta* (Dumortieraceae, Marchantiophyta), taxonomy, palynology and geographic distribution. Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo. v. 21. p. 9-18. 2011.

YANO, Olga; PERALTA, Denilson Fernandes. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Briófitas (Anthocerotophyta, Bryophyta e Marchantiophyta)**. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo. São Paulo. v. 29 (2). 2011.

YUZAWA, Yoichi. **A monograph of subg. Chonanthelia of gen Frullania (Hepaticae) of the world**. Journal of Hattori Botanical Laboratory. v. 57. p. 391-403. 1991.

CAPÍTULO 2

**EFEITOS DA CULTURA *IN VITRO* NA GERMINAÇÃO DOS ESPOROS E NO
DESENVOLVIMENTO DE *FRULLANIA ERICOIDES* (NEES) MONT.
(FRULLANIACEAE, MARCHANTIOPHYTA)**

RESUMO

Nas briófitas, o estabelecimento ocorre através de reprodução assexuada ou reprodução sexuada. No entanto, a produção de esporos permite a colonização de novos ambientes e substratos. Sendo assim, um processo de germinação bem sucedido é fundamental para o estabelecimento em um novo ambiente. O presente trabalho teve por objetivos avaliar a germinação e o desenvolvimento dos esporos em *Frullania ericoides* (Nees) Mont., uma espécie de hepática folhosa. Amostras recém-coletadas foram inoculadas em diferentes forças de meios da solução nutritiva de Knop (um-quarto-da-força, metade-da-força, força-total, uma-vez-e-meia-de-força e o dobro-da-força), para avaliar os efeitos desta solução na germinação do esporo e no desenvolvimento do protonema externo. A germinação foi endospórica, com divisão e proliferação celular, formando um protonema globoso, com ocorrência tardia da ruptura do esporoderma, pois quando o protonema externo surge, a parede se rompe. Ao longo do período do estudo, os esporos submetidos aos tratamentos de força-total, metade-da-força e um-quarto-da-força apresentaram maior comprimento do protonema externo. A partir da quarta semana, para a maioria dos tratamentos, foi observado o desenvolvimento de filídios primordiais, fortemente côncavos, com margem inteira e parede celular fina, exceto no meio de cultura dobro-da-força. Pode-se considerar que os melhores resultados foram observados nos esporos submetidos às concentrações mais fracas do meio de cultura. Este é o primeiro registro dos efeitos da força do meio de cultura na germinação e no desenvolvimento dos esporos de *Frullania ericoides*. Os resultados deste estudo demonstram o potencial das técnicas de culturas de tecidos para os estudos de esporos de briófitas e preservação de germoplasma.

PALAVRAS-CHAVE: Cultura *in vitro*, *Frullania*, Germinação, Hepáticas, Solução Nutritiva de Knop

ABSTRACT

In bryophytes, establishment occurs by asexual or sexual reproduction, but the production of spores enables colonization of new habitats and substrates. A successful germination process is critical for establishment in a new environment. This paper addresses germination and sporeling development in *Frullania ericoides* (Nees) Mont., a leafy liverwort species. Fresh samples were inoculated *in vitro* in different culture strengths of Knop's nutrient solution (one-fourth strength, half strength, full strength, one and a half strength and double strength), to evaluate the effects of this solution on spore germination and on development of external protonema. On the first observation, spore germination was observed in all the concentrations. The germination was endosporic, showing cell division and proliferation, forming a globose protonema, without spore wall break. Throughout the period of study, the full-strength, one-fourth-strength and half-strength media exhibited higher lengths of the external protonema. From the fourth week, the development of primordial leaves, highly concave, with entire margins and a thick cell wall was observed, except in the double-strength medium. We can state that the best results were observed on spores submitted to lower concentrations of the *in vitro* culture medium. To our knowledge, this is the first report on the effects of the strength of the culture medium on the germination and development of *Frullania ericoides* spores. The results of this study demonstrate the potential of tissue culture techniques for bryophyte spore studies and germplasm preservation.

KEY-WORDS: *Frullania*, Liverworts, Germination, *in vitro* culture, Knop's nutritive solution

I. INTRODUÇÃO

As briófitas são plantas criptogâmicas, avasculares, que apresentam dominância do gametófito no ciclo de vida (Gradstein *et al.*, 2001). Este grupo de plantas inclui três linhagens filogenéticas: hepáticas, antóceros e musgos (Goffinet *et al.*, 2009). A dispersão, a colonização e o desenvolvimento de novas plantas no grupo das briófitas podem ocorrer a partir da produção e germinação de esporos ou através de diásporos germinativos (Nehira, 1983; Schofield, 1985; Gradstein *et al.*, 2001; Wiklund & Rydin, 2004).

A reprodução assexuada é a forma mais importante de crescimento e desenvolvimento populacional, especialmente em táxons perenes e em plantas já estabelecidas (Longton & Schuster, 1983; Longton, 2006; Glime, 2007). No entanto, a reprodução a partir de esporos possibilita colonização de novos substratos e de habitats distantes da colônia parental, através de sua dispersão pelo vento (van Zanten & Pócs 1981; Wiklund & Rydin, 2004; Longton, 2006). Para que o estabelecimento em um novo ambiente seja efetivo, o sucesso do processo germinativo dos esporos é um fator fundamental (Glime, 2007).

Dois tipos de germinação são característicos nos esporos das briófitas, o endospórico e o exospórico (Neidhart, 1979; Nehira, 1983). Na germinação endospórica, há o desenvolvimento de uma estrutura multicelular sem a ruptura da parede do esporo. Na germinação exospórica, a ruptura da parede do esporo ocorre nos estágios iniciais do desenvolvimento e a germinação se dá externamente (Nehira, 1983; Schofield, 1985; Nehira, 1987; Goffinet *et al.*, 2009). O tipo de germinação pode estar relacionado com as adaptações ecológicas da planta; a germinação endospórica ocorre, geralmente, em algumas espécies que possuem hábito epifítico, enquanto que a germinação exospórica ocorre em espécies de habitats úmidos (Nehira, 1897).

As hepáticas apresentam dois estratos na parede dos esporos: intina, mais interno, e exina, mais externo (Neidhart, 1979). Não há registros da presença de perina ou “elementos de perina”, como ocorre em musgos (Olesen & Mogensen, 1978; Neidhart, 1979). A exina é formada por esporopolenina e confere resistência mecânica e fisiológica ao esporo. A intina é constituída por polissacarídeos e pode variar em espessura ao longo da parede (Olesen & Mogensen, 1978; Mogensen, 1983; Brown & Lemmon, 1988; Goffinet *et al.*, 2009).

Alguns estudos que abrangem a germinação dos esporos de briófitas, suas fases de desenvolvimento e os fatores que influenciam seu sucesso vêm sendo desenvolvidos, especialmente, para musgos e hepáticas (Inoue, 1960; Udar & Srivastava, 1970; Mogensen, 1978; Olsesen & Mogensen, 1978; Alcade *et al.*, 1996; , McLetchie, 2001; Wiklund & Rydin, 2004, Silva *et al.*, 2009a; Silva *et al.*, 2009b; Alfayate *et al.*, 2013). Entretanto, muito ainda há a ser estudado com relação a este tema.

Frullaniaceae Lorch é uma família de hepáticas folhosas (Marchantiophyta) caracterizada por plantas rastejantes, medianas a robustas, formando tufo ramificados, geralmente com hábito epifítico. Os filídios são incubos, os lóbulos inflados, transformados em sacos aquíferos e o estilete é multiforme (Stotler, 1969; Yuzawa, 1991; Lemos-Michel, 2001; Gradstein & Costa, 2003; Uribe & Gradstein, 2003; Uribe, 2008; Crandall-Stotler *et al.*, 2009; Hentschel *et al.*, 2009; von Konrat *et al.*, 2012). *Frullania ericoides* (Nees) Mont. se destaca por possuir filídios expandidos e esquarrosos em vista dorsal, lóbulos galeados ou laminares e perianto com superfície trabeculada (Lemos-Michel 2001, Oliveira-e-Silva & Yano 2000, Gradstein & Costa 2003, Yano & Peralta, 2008). A família apresenta distribuição mundial, alcançando maior riqueza e diversidade nos trópicos (Gradstein *et al.*, 2001).

Os esporos de Frullaniaceae são grandes, de cor marrom, multicelulares e, algumas espécies apresentam germinação precoce e endospórica (Heckman, 1970; Crandall-Stotler & Stotler, 2009). Alguns esporos de espécies de Frullaniaceae foram descritos por Erdtman (1965) e Schuster (1966). Posteriormente, outros trabalhos sobre a morfologia dos esporos foram desenvolvidos, tratando, principalmente, da estrutura da parede do esporo e de sua ornamentação (Heckman 1970, Gupta & Udar 1986, Zang & Wu 2006, Wu *et al.* 2008, Zhao *et al.* 2011). Entretanto, estudos sobre a germinação dos esporos em Frullaniaceae ainda são escassos. Nehira (1983) descreveu o tipo de desenvolvimento dos esporos de oito espécies de *Frullania* e Bisang (1987) estudou a morfologia e o desenvolvimento dos esporos em *Frullania tamarisci* (L.) Dum.

O presente estudo teve por objetivos descrever as etapas da germinação dos esporos e o desenvolvimento *in vitro* do protonema de *F. ericoides* (Nees) Mont. em diferentes concentrações do meio de cultura.

II. MATERIAL E MÉTODOS

II.1 Coleta e identificação

Para o desenvolvimento do estudo, foram coletados espécimes de *Frullania ericoides* no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora através do método padrão para briófitas (Yano, 1989), utilizando-se faca para remover as amostras dos forófitos e armazenando o material coletado em saco de papel, contendo os dados de coleta.

No Laboratório de Briófitas da Universidade Federal de Juiz de Fora, as plantas foram examinadas sob microscópio estereoscópico e microscópio de luz, com auxílio de pinças e estiletos, consultando-se a literatura especializada para sua identificação (Costa, 2010; Uribe, 2008; Gradstein & Costa, 2003; Uribe & Gradstein, 2003; Lemos-Michel, 2001). Após a identificação e secagem à sombra, foram separadas amostras para o estudo de germinação. Posteriormente, todo o material coletado foi incluído na coleção do Herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora.

II.2 Esterilização

Cápsulas maduras foram acondicionadas em recipientes de vidro com tampa e desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 1,5%, recém-preparada, por cerca de três minutos, sob agitação. Em seguida, as cápsulas foram lavadas em água destilada (Duckett *et al.*, 2004). Todo o procedimento de desinfestação foi realizado em câmara de fluxo laminar horizontal (Veco[®]), no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Juiz de Fora.

II.3 Preparação do Meio de Cultura

Para este estudo, a solução nutritiva de Knop (Nehira, 1988) foi usada em cinco diferentes concentrações. Para facilitar a preparação dos tratamentos, as seguintes soluções-estoque foram preparadas: **A:** $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – (7,1957 g/100 mL), 10 mL/L. **B:** $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – (1,75 g/100 mL), 10 mL/L + KH_2PO_4 – (1,75 g/100 mL), 10 mL/L + KCl – (0,6 g/100 mL), 10 mL/L. **C:** $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – (0,39985 g/25 mL), 4 gotas/L.

Para preparar 100 ml dos diferentes meios de cultura, foram adicionados respectivamente: Um-quarto-da-força (meio 0,25 F): 0,25 ml da solução-estoque A, 0,25 ml da estoque B e uma gota da C; Metade-da-força (meio 0,5 F): 0,5 ml da solução-estoque A, 0,5 ml da B e duas gotas da C; Força-total (meio 1 F): 1 ml da solução-estoque A; 1 ml da B e quatro gotas da C; Uma-vez-e-meia-de-força (meio 1,5 F): 1,5 ml da solução-estoque A, 1,5 ml da B e seis gotas da C; Dobro-da-força (meio 2 F): 2 ml da solução-estoque A, 2 ml da B e oito gotas da C. Os meios foram gelificados com ágar a 0,4 g/ 100 mL e o seu pH ajustado para $5,6 \pm 0,1$. O meio de cultura foi autoclavados por 20 min a 120°C e a 1 atm de pressão.

Tubos de ensaio com capacidade de 15 ml foram utilizados e em cada um foi adicionado 4 ml das diferentes concentrações da solução nutriente. Para cada tratamento, foram preparados 25 tubos. Para o monitoramento do experimento foi estabelecido que um tubo de cada tratamento seria analisado em cada dia de observação e apenas neste dia. Depois da realização da observação do material, esse tubo não poderia ser reanalisado em virtude dos riscos de contaminação do manuseio e da remoção do esporo. Assim, este estudo não acompanhou a desenvolvimento de um único esporo, mas o desenvolvimento médio dos esporos submetidos a uma determinada concentração.

II.4 Inoculação e Condições de cultura

Duckett *et al.* (2004) recomendam o uso de material fresco, recém coletado em estudos de germinação. Após o processo de esterilização, as cápsulas foram transferidas para placa de Petri e levadas ao microscópio estereoscópico, a fim de que fossem abertas, com auxílio de pinça e bisturi, em corte longitudinal. Depois, com auxílio de estilete, os esporos foram delicadamente retirados do interior das cápsulas e inoculados na superfície do meio de cultura. Logo após a inoculação, os tubos foram vedados com papel alumínio e filme de PVC.

Após a realização dos procedimentos de inoculação *in vitro*, os tubos de ensaio foram transferidos para o Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os tubos foram mantidos em sala de crescimento a uma temperatura de 24 ± 3 °C, sob lâmpadas fluorescentes branca-fria e Gro-Lux de 40 W (Sylvania, Danvers, MA, EUA), a uma razão de 1:1, com densidade de fluxo de fótons $45 \mu\text{moles de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, por um fotoperíodo de 16/8 h. Os tubos de ensaio foram avaliados diariamente para detecção de quaisquer sinais de contaminação por fungos ou bactérias.

II.5 Acompanhamento e Análise das Etapas da Germinação

Os diferentes tratamentos foram avaliados durante sete semanas. A cada semana, um tubo por tratamento foi retirado da sala de crescimento e levado ao Laboratório de Briófitas da Universidade Federal de Juiz de Fora. Sob microscopia estereoscópica, os tubos foram abertos e, com auxílio de estilete, os esporos foram retirados do tubo de ensaio contendo o meio de cultura e transferidos para uma lâmina de microscópio.

Para a observação das características e do desenvolvimento dos esporos sob microscopia de luz, foi realizada a preparação dos mesmos segundo o método de Wodehouse (1935), seguindo as modificações de Luiz-Ponzo & Melhem (2006). As lâminas foram identificadas, datadas e incluídas na coleção do Laboratório de Briófitas da UFJF. As fotomicrografias foram obtidas a partir de câmera fotográfica Canon PowerShot A620 acoplada ao microscópio de luz ZEISS Primo Star 12 V DC.

As características morfométricas do diâmetro maior, número de células do protonema globoso, comprimento e número de células do protonema externo foram analisadas usando o programa ZEN 2012 (Zeiss). O número de células foi obtido a partir da contagem de células na face voltada para o observador. Assim, foram tomadas as medidas de cinco esporos de cada um dos tratamentos.

II.6 Tratamento Estatístico

Os dados foram analisados estatisticamente, sendo apresentados os valores médios, desvio padrão e erro padrão. O teste ANOVA foi realizado para determinar a significância dos resultados.

III. RESULTADOS

Os esporos de *Frullania ericoides* são apolares, subesferoidais, de cor verde intensa e parede de cor marrom claro. Na primeira semana de observação, todos os tratamentos foram efetivos na germinação dos esporos. Ocorreu germinação endospórica, com divisão e proliferação celular e desenvolvimento de protonema globoso, sem o rompimento da parede do esporo (Figura 1 A e B).

Os maiores valores médios de diâmetro maior foram observados no tratamento 1,5 F nas primeiras duas semanas (Figura 1C); no tratamento 0,25 F na terceira semana; 0,5 F na quarta semana e 2 F (Figura 1D) nas semanas 5, 6 e 7 (Tabela 1, Figura 2). O número médio de células do diâmetro maior do protonema globoso demonstrou que o tratamento 2 F apresentou maiores valores em cinco das setes semanas de observação, enquanto que o tratamento 0,25 F alcançou maiores valores na segunda e terceira semanas (Tabela 2, Figura 2).

Nas primeiras duas semanas de observação, o protonema externo apresentou apenas uma célula (Figura 1 D e E). Nas demais semanas, ele se apresentou de forma multicelular, podendo então ser contado o número de células ao longo de seu comprimento (Figura 1F). A respeito do comprimento do protonema externo, o tratamento 1F e os dois tratamentos mais fracos, 0,25 F e 0,5 F apresentaram os maiores valores médios (Tabela 3; Figura 3; Figura 1 F, G e H). 0,5 F apresentou o maior comprimento médio nas semanas 1, 4, 6 e 7. Nas semanas 3 e 5, os maiores valores foram apresentados pelo tratamento 0,25 F e 1 F na semana 2 (Tabela 3). Os tratamentos 0,25 F e 0,5 F apresentaram os maiores valores de comprimento do protonema externo em todas as semanas em que este parâmetro pode ser analisado (Tabela 4, Figura 1).

A partir da quarta semana de experimento foi observado o desenvolvimento de filídios primordiais, exceto no tratamento 2F. Eles se desenvolveram ao longo do protonema externo, a partir da região mediana até o ápice, sempre em pares, distantes uns dos outros. Os filídios foram fortemente côncavos, clorofilados, com margem inteira e parede celular espessa (Figura 1I).

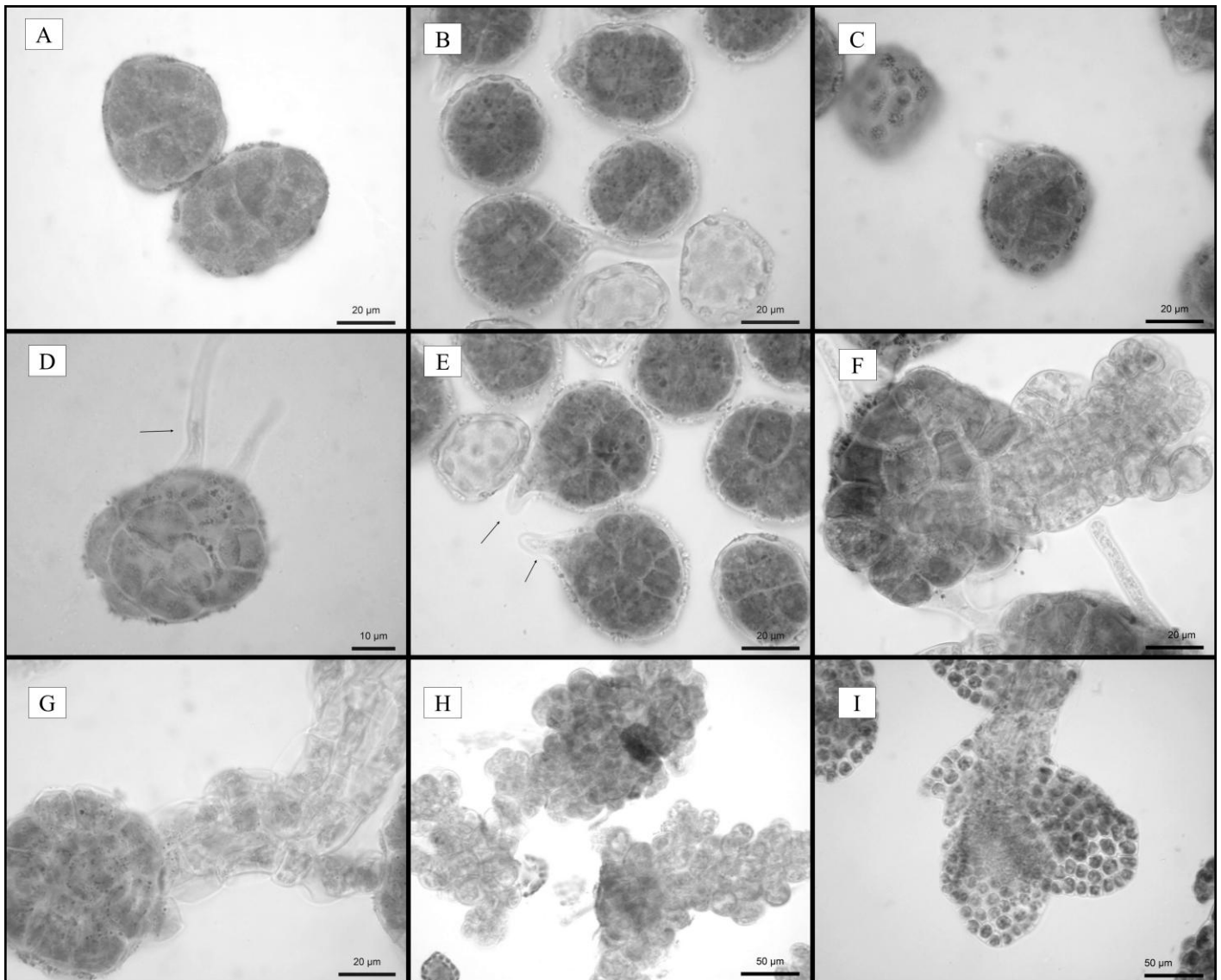


Figura 1. A: Semana 1, 0,25 F; B: Semana 1, 0,5 F; C: Semana 2, 1,5 F; D: Semana 2, 2 F (Seta: protonema externo unicelular); E: Semana 2, 1 F (Setas: protonema externo unicelular); F: Semana 4, 0,25 F; G: Semana 6, 1 F; H: Semana 7, 2 F; I: Semana 7, 1,5 F (Filídios Primordiais).

Tabela 1. Diâmetro maior médio do protonema globoso ao longo das semanas de observação, em μm . Valores médios (SD: Desvio padrão – SE: Erro Padrão). S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4; S5: Semana 5; S6: Semana 6; S7: Semana 7.

Tratamentos	Semanas						
	S1 (SD – SE)	S2 (SD – SE)	S3 (SD – SE)	S4 (SD – SE)	S5 (SD – SE)	S6 (SD – SE)	S7 (SD – SE)
0,25 F	46,80 (3,60 – 1,60)	61,50 (3,10 – 1,30)	63,06 (4,40 – 1,90)	66,90 (5,50 – 2,40)	63,60 (8,20 – 3,60)	64,50 (3,90 – 1,70)	64,10 (9,50 – 4,20)
0,5 F	41,90 (2,02 – 0,90)	55,70 (5,50 – 1,60)	52,40 (7,10 – 3,10)	68,50 (4,80 – 3,40)	69,10 (5,20 – 2,30)	66,00 (11,90 – 5,30)	70,60 (7,20 – 3,20)
1 F	44,40 (2,35 – 1,05)	60,80 (4,60 – 1,70)	47,05 (11,10 – 7,80)	65,40 (13,40 – 6,03)	57,30 (8,80 – 3,90)	71,40 (3,20 – 1,40)	73,00 (13,30 – 6,60)
1,5 F	48,40 (4,80 – 2,10)	67,20 (6,30 – 1,50)	59,50 (4,40 – 2,01)	58,40 (1,90 – 0,80)	60,00 (5,70 – 2,50)	70,00 (2,40 – 1,10)	74,00 (8,00 – 3,50)
2 F	47,00 (1,70 -0,70)	62,70 (5,90 – 2,50)	71,02 (7,90 – 3,50)	59,30 (7,20 – 3,20)	71,90 (8,09 – 3,60)	106,70 (22,01 – 9,80)	122,10 (20,70 – 10,30)

Tabela 2. Número médio de células do protonema globoso ao longo das semanas de observação. Valores médios (SD: Desvio padrão – SE: Erro Padrão). S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4; S5: Semana 5; S6: Semana 6; S7: Semana 7.

Tratamentos	Semanas						
	S1 (SD – SE)	S2 (SD – SE)	S3 (SD – SE)	S4 (SD – SE)	S5 (SD – SE)	S6 (SD – SE)	S7 (SD – SE)
0,25 F	8,60 (1,10 – 0,50)	17,40 (2,30 – 1,02)	19,60 (0,50 – 0,20)	19,60 (2,70 – 1,10)	19,80 (1,90 – 0,8)	19,80 (1,30 – 0,20)	24,20 (4,30 – 1,01)
0,5 F	8,20 (0,40 – 0,19)	12,00 (1,50 – 0,70)	15,20 (1,70 – 0,80)	18,00 (1,40 – 0,30)	20,80 (1,70 – 0,5)	20,60 (0,80 – 0,20)	21,80 (2,20 – 0,80)
1 F	9,20 (1,70 – 0,50)	13,40 (1,14 – 0,30)	13,50 (2,10 – 0,40)	18,60 (1,10 – 0,30)	19,00 (2,50 – 1,10)	19,80 (3,27 – 0,8)	19,00 (2,81 – 0,60)
1,5 F	9,60 (1,50 – 0,60)	15,20 (1,30 – 0,30)	15,20 (1,09 – 0,40)	17,80 (0,80 – 0,30)	20,80 (4,10 – 1,80)	21,00 (2,20 – 0,80)	19,00 (2,90 – 0,60)
2 F	9,80 (1,40 – 0,40)	15,60 (3,10 – 1,27)	19,00 (3,30 – 1,30)	23,40 (3,20 – 1,30)	23,60 (4,30 – 1,90)	31,00 (9,80 – 3,20)	42,80 (7,01 – 2,20)

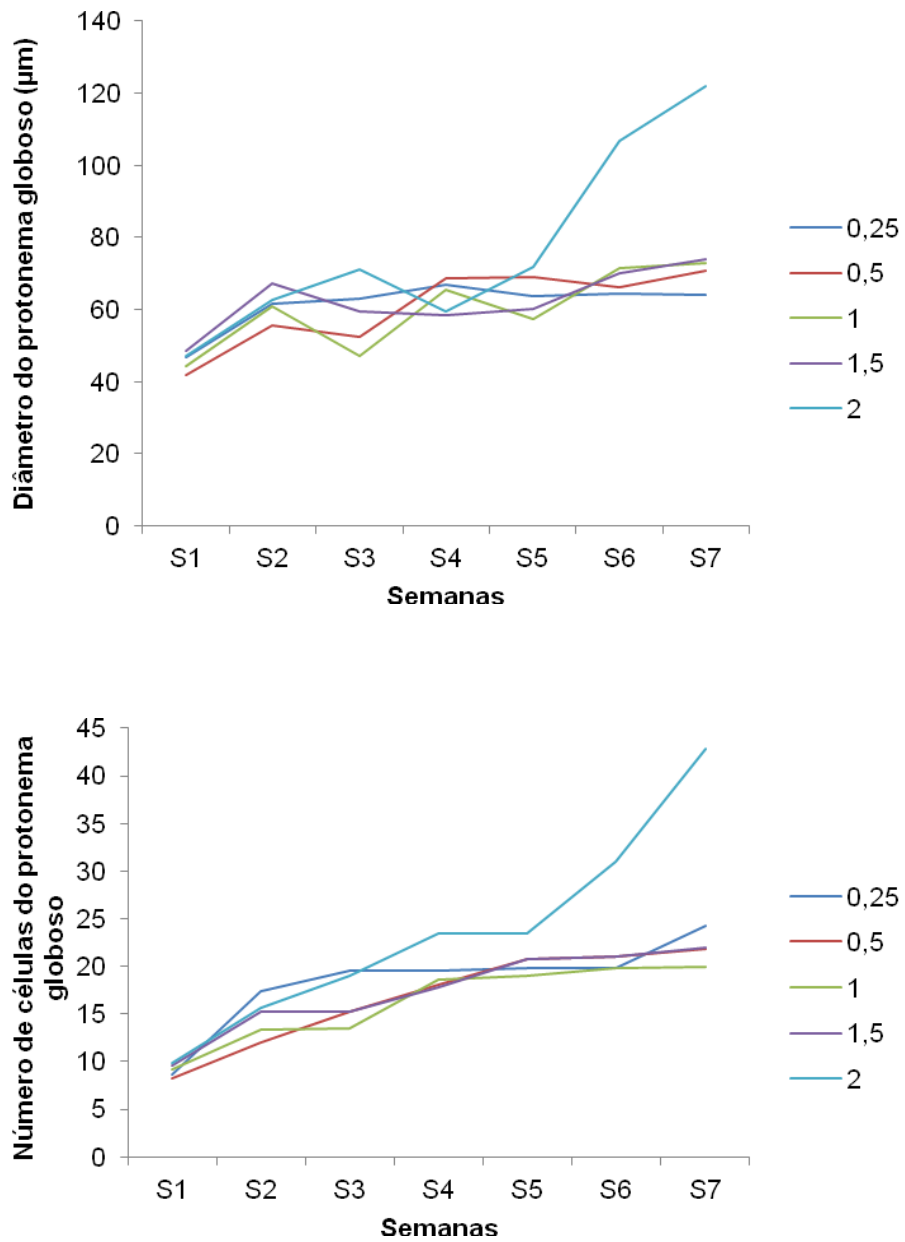


Figura 2. Crescimento médio do protonema globoso em diâmetro (μm) e número de células ao longo das semanas de observação. S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4; S5: Semana 5; S6: Semana 6; S7: Semana 7.

Tabela 3. Comprimento médio do protonema externo ao longo das semanas de observação, em μm . Valores médios (Desvio padrão – Erro Padrão). S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4; S5: Semana 5; S6: Semana 6; S7: Semana 7.

Tratamentos	Semanas						
	S1*	S2*	S3 (SD – SE)	S4 (SD – SE)	S5 (SD – SE)	S6 (SD – SE)	S7 (SD – SE)
0,25 F	22,70	45,80	86,40 (44,50 - 19,90)	104,50 (49,40 - 22,10)	210,40 (33,10 - 14,80)	240,02 (81,00 - 36,30)	242,50 (160,70 – 72,00)
0,5 F	31,90	46,20	54,80 (13,70 - 6,16)	138,20 (26,60 - 11,90)	155,20 (41,60 - 18,60)	247,15 (62,50 – 28,00)	530,60 (118,20 – 53,00)
1 F	14,60	48,20	49,70 (31,30 – 14,00)	90,40 (39,40 - 17,70)	79,10 (30,50 - 13,60)	255,70 (58,60 - 26,20)	254,10 (64,10 - 28,70)
1,5 F	27,80	41,10	46,50 (7,38 - 3,30)	68,10 (11,10 - 4,90)	107,20 (29,20 - 13,10)	184,04 (105,70 - 47,40)	327,80 (44,90 - 20,10)
2 F	11,30	35,78	17,20 (12,00 - 5,30)	32,30 (4,20 - 1,91)	49,00 (9,20 - 4,10)	66,30 (19,30 - 8,65)	86,60 (30,60 - 13,70)

* Valores médios obtidos a partir de um número amostral menor.

Tabela 4. Número médio de células do protonema externo ao longo de seu comprimento. Valores médios (Desvio padrão – Erro Padrão). S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4; S5: Semana 5; S6: Semana 6; S7: Semana 7.

Tratamentos	Semanas						
	S1	S2	S3 (SD – SE)	S4 (SD – SE)	S5 (SD – SE)	S6 (SD – SE)	S7 (SD – SE)
0,25 F	1	1	6,20 (1,60 – 0,70)	9,60 (3,50 – 1,50)	15,60 (2,07 – 0,90)	16,00 (7,50 – 3,40)	18,20 (3,10 – 1,40)
0,5 F	1	1	7,60 (1,80 – 0,80)	10*	11,00 (3,50 – 1,50)	16,80 (5,70 – 2,50)	22,60 (6,50 – 2,90)
1 F	1	1	6*	8,00 (2,60 – 1,10)	9,60 (2,60 – 1,16)	15*	17,50 (3,10 – 1,30)
1,5 F	1	1	5,80 (2,50 – 1,16)	8,00 (1,73 – 0,70)	11,00 (3,16 – 1,40)	13,20 (4,40 – 1,90)	12,50 (2,80 – 1,20)
2 F	1	1	3,20 (0,80 – 0,30)	3,80 (0,80 – 0,30)	6,20 (0,44 – 0,20)	5,60 (1,30 – 0,60)	6,20 (0,80 – 0,30)

* Valores médios obtidos a partir de um número amostral menor.

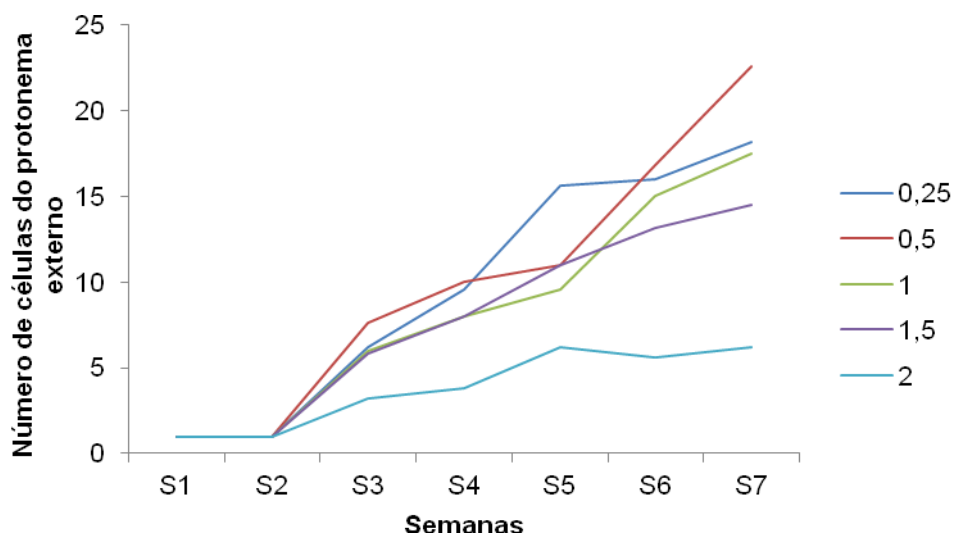
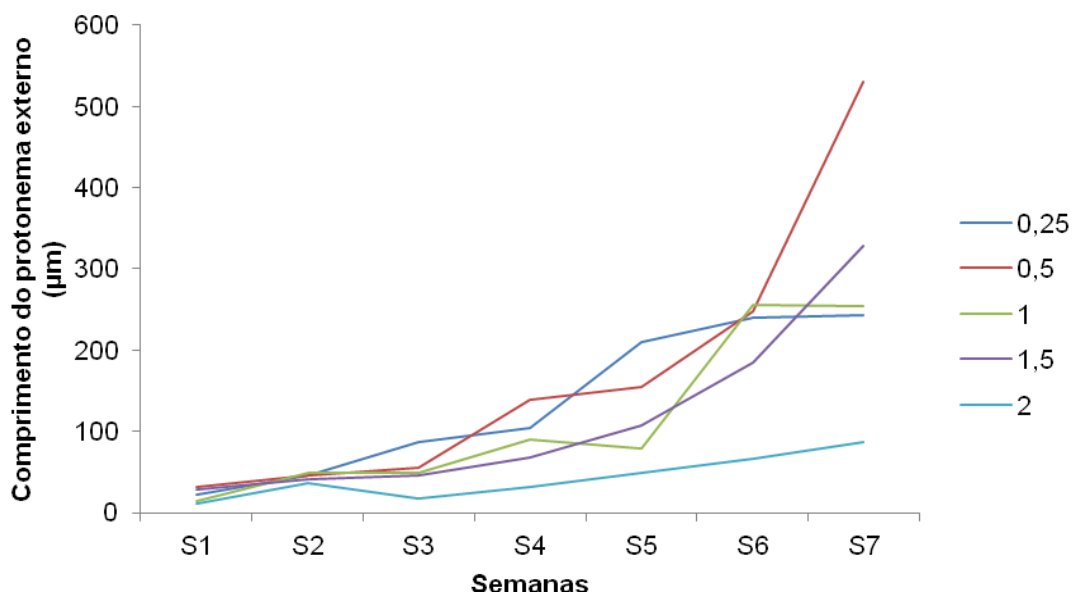


Figura 3. Crescimento médio do protonema externo em comprimento (μm) e número de células ao longo das semanas de observação. S1: Semana 1; S2: Semana 2; S3: Semana 3; S4: Semana 4; S5: Semana 5; S6: Semana 6; S7: Semana 7.

IV. DISCUSSÃO

A ocorrência de germinação endospórica em todos os tratamentos nos quais os esporos foram submetidos (independente da concentração) e a morfologia do esporos confirmam os resultados de Nehira (1983, 1988) e Bisang (1987), para as espécies de Frullaniaceae por eles estudadas. O desenvolvimento de filídios primordiais em *F. ericoides* a partir da quarta semana corrobora os resultados de Bisang (1987) para *F. tamarisci*.

Observando o desenvolvimento do esporo e do protonema ao longo das semanas, as variações dos valores dos parâmetros analisados não responderam às forças dos tratamentos estabelecidos. Nas concentrações mais fracas, 0,25 F, 0,5 F e 1 F, o esporo apresentou desenvolvimento discreto em relação ao diâmetro maior e número de células do protonema globoso nas primeiras semanas, mas teve o desenvolvimento do protonema externo impulsionado, apresentando morfologia do *esporos* adequada e bem desenvolvida, assim como a presença de filídios. Os meios de concentrações mais fracas, 1,5 F e 2 F, alcançaram altos valores do diâmetro maior e número de células do protonema globoso, mas não foram efetivos no desenvolvimento da planta.

Udar & Svirastava (1970) estudaram o desenvolvimento dos esporos em uma hepática talosa, utilizando duas diferentes concentrações da solução nutritiva de Knop (metade-da-força e força-total), mas não avaliaram o desenvolvimento em resposta à concentração do meio de cultura, focando seus resultados na descrição da germinação dos esporos.

O tratamento 2 F se destacou entre os demais tratamentos pelo grande desenvolvimento do protonema globoso. No entanto, não obteve sucesso no desenvolvimento adequado do esporos. Segundo Basile (1975), uma mesma espécie, submetida à cultura *in vitro*, pode se desenvolver de maneira diferente em resposta aos macronutrientes que são utilizados nos meios de cultura. Alcade *et al.* (1996), no estudo de quatro espécies do gênero *Bartramia* Hedw., observaram que uma mesma espécie apresenta diferentes morfologias do protonema em resposta às diferentes fontes de nitrogênio do meio de cultura, além da influência da temperatura e do fotoperíodo aos quais estão submetidas. Portanto, o aumento de 100% na concentração do meio provocou uma proliferação desordenada de células nos esporos tratados e o consequente

aumento do diâmetro dos protonemas, mas foi tóxico para o desenvolvimento da fase externa do protonema.

As diferenças estatísticas entre os valores médios dos parâmetros morfométricos são devido aos valores apresentados pelos tratamentos de maior concentração do meio de cultura, 1,5 F e 2 F. Enquanto os demais tratamentos tiveram valores variando dentro de uma faixa, 1,5 F e 2 F apresentaram grande desenvolvimento do protonema globoso e discreto desenvolvimento do protonema externo, especialmente a partir da quarta semana de observação.

V. CONCLUSÃO

As concentrações mais fracas foram mais relevantes para o estabelecimento dos esporos de *Frullania ericoides*. Os tratamentos de um-quarto-da-força, metade-da-força e força-total permitiram o desenvolvimento adequado do esporo, culminando no desenvolvimento do protonema externo e dos filídios primordiais.

As concentrações mais fortes apresentaram melhores resultados nas primeiras semanas para o desenvolvimento do protonema globoso, mas acarretaram uma resposta ineficiente no desenvolvimento do protonema externo. Submetidos às concentrações mais fortes, o estabelecimento dos esporos foi comprometido.

Os resultados deste estudo demonstram o potencial das técnicas de cultura de tecidos para os estudos de esporos em briófitas e preservação em germoplasma.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCALDE, M. ABELLA, L.; ESTÉBANEZ, Belén; RON, Eugenia. **Protonemal development under different culture conditions in *Bartramia* Hedw. (Musci).** Journal of Hattori Botanical Laboratory. v. 79. p. 107-114. 1996.

ALFAYATE, Carmen; RON, Eugenia; ESTÉBANEZ, Belén.; PÉREZ-BATISTA, Miguel Ángel. **Mature spores of four pleurocarpous mosses in the Canary Islands: ultrastructure and early germination stages.** The Bryologist. v. 116 (2). p. 97-112. 2013.

BASILE, Dominick V. **A Comparison of Some Macronutrient Media Used to Culture Bryophytes.** The Bryologist. v. 78(4). p. 403-413. 1975.

BISANG, Irene. **The sporeling development in *Frullania tamarisci* (L.) Dum.** Journal of Bryology. 14. p.761-763. 1987.

BROWN, Roy C.; LEMMON, Betty E. **Sporogenesis in Bryophytes.** Advances in Bryology, v. 3, p. 159-223. 1988.

CRANDALL-STOTLER, Barbara; STOTLER, Raymond E.; LONG, David G. Morphology and Classification of the Marchantiophyta. In: SHAW, Jonathan A. : GOFFINET, Bernard. (ed.) **Bryophyte Biology.** Cambridge, Cambridge University Press, v.2 , p. 1-54. 2009.

COSTA, Denise Pinheiro. Hepáticas. In: Forzza, Rafaela Campostrini et al. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil.** IPJBRJ. Rio de Janeiro. v. 1, p. 61-68. 2010.

DUCKETT, Jeffrey G.; BURCH, Jane; FLETCHER, Paul W.; MATCHAM, Howard W.; READ, David J.; RUSSELL, Angela; PRESSEL, Silvia. **In vitro cultivation of bryophytes: a review of practicalities, problems, progress and promise.** Journal of Bryology. v. 26. p. 3-20. 2004.

ERDTMAN, Gunnar. **Pollen and Spore Morphology and Plant Taxonomy. Gymnospermae, Bryophyta** (Text). An Introduction to Palynology III. Stockholm: Almqvist & Wiksell. 1965.

GLIME, Janice M. Physiological Ecology. In:_____. **Bryophyte Ecology**. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. 2007. v1. Disponível em: <http://www.bryoecol.mtu.edu/>

GOFFINET, Bernard; BUCK, William R. : SHAW, A. Jonathan. **Bryophyte Biology**. Cambridge University Press. v. 1. p. 1-32. 2009.

GRADSTEIN, Stephan Robbert; CHURCHILL, Steven P.; SALAZAR-ALLEN, Noris. **Guide to the Bryophytes of Tropical America**. Memoirs of the New York Botanical Garden. v. 86, p. 577. 2001.

GRADSTEIN, Stephan Robbert; COSTA, Denise Pinheiro. **The Hepaticae and Anthocerotae of Brazil**. Memoirs of the New York Botanical Garden. v.87, p. 318. 2003.

GUPTA, A.; UDAR, Ram. **Palyno-taxonomy of selected Indian Liverworts**. Bryophytorum Bibliotheca. J. Cramer, Berlin – Stuttgart. v. 29, p. 202. 1986.

HECKMAN, Caroline A. **Spore Wall Structure in the Jungermanniales**. Grana. v. 10 (2), p. 109-119. 1970.

HENTSCHEL, Jörn., VON KONRAT, Matthew J., PÓCS, Tamás, SCHAFER-VERWIMP, Alfons, SHAW, Jonathan A., SCHNEIDER, Harald; HEINRICHS, Jochen. **Molecular insights into phylogeny and subgeneric classification of Frullania Raddi (Frullaniaceae, Porellales)**. Molecular Phylogenetics and Evolution. v. 52, p. 142-156. 2009.

INOUE, Hiroshi. **Studies in spore germination and the earlier stages of gametophyte development in the Marchantiales**. Journal of Hattori Botanical Laboratory. v. 23. p. 148-191. 1960.

LEMONS-MICHEL, Eunice. **Hepáticas Epífitas sobre o pinheiro-brasileiro no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. Editora da Universidade. p. 191. 2001.

LONGTON, Royce Ekins; SCHUSTER, Rudolph M. Reproductive Biology. In: Schuster, Rudolph M. (ed). **New manual of Bryology**. Hattori Botanical Laboratory, Nichinan. v. 1. p. 386-462. 1983.

LONGTON, Royce Ekins. **Reproductive ecology of bryophytes: what does it tell us about the significance of sexual reproduction?** *Lindenbergia*. v. 31. p. 16-23. 2006.

LUIZI-PONZO, Andrea Pereira. ; MELHEM, Therezinha Sant`Anna. **Spore morphology and ultrastructure of the tropical moss *Helicophyllum torquatum* (Hook.) Brid. (Helicophyllaceae) in relation to systematics and evolution.** *Cryptogamie Bryologie*. v. 27, p. 413-420. 2006

McLETCHE, D. Nicholas. **Sex-Specific Germination Response in the Liverwort *Sphaerocarpos texanus* (Sphaerocarpaceae).** *The Bryologist*. v. 104(1). p. 69 – 71. 2001.

MOGENSEN, Gert Steen. **Spore development and germination in *Cinclidium* (Mniaceae, Bryophyta), with special reference to spore mortality and false anisospory.** *Canadian Journal of Botany*. 56:1032-1060. 1978.

MOGENSEN, Gert Steen. The spore. In: Schuster, R. M. (ed.). **New Manual of Bryology**. v. 1, p. 324-342. 1983.

NEHIRA, Kinuto. Spore germination, protonema development and sporeling development. In: Shuster, Rudolph M. (ed.). **New Manual of Bryology**. The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan. v.1. p. 343-385. 1983.

NEHIRA, Kinuto. **Some ecological correlations of spore germination patterns in liverworts.** *The Bryologist*. v. 90. p. 405-408. 1987.

NEHIRA, Kinuto. Germination and protonemata.. In: Glime, Janice M. (ed.), **Methods in Bryology**. The Hattori Botanical Laboratory, Nichinan. p. 113–117. 1988.

NEIDHART, H. V. Comparative studies of sporogenesis in bryophytes. In: Clarke, G. C. S.; Duckett, Jeffrey G. **Bryophyte Systematics**. London, Academic Press. Systematics Association Special Volume. 14: 251-280. 1979.

OLESEN, Peter; MOGENSEN, Gert Steen. **Ultrastructure, histochemistry and notes on germination stages of spores in selected mosses.** The Bryologist 81(4): 493-516. 1978.

OLIVEIRA-E-SILVA, M. Isabel M. N.; YANO, Olga. **Anthocerotophyta e Hepatophyta de Mangaratiba e Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil.** Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo. v. 14. p. 1-137. 2000.

SCHOFIELD, Wilfred Borden. **Introduction of Bryology.** Macmillan Publishing co., New York. p. 431. 1985.

SCHUSTER, Rudolph M. **The Hepaticae and Anthocerotae of North America East of Hundreth Meridian.** Columbia University Press, New York. v. 1. 1966.

SILVA, Adaíses S. Maciel; PÔRTO, Kátia Cavalcanti; SIMABUKURO, Eliana A. **Effect of light and water availability on spore germination and protonemal growth of the Neotropical moss *Thamniopsis incurva* (Pilotrichaceae).** Cryptogamie, Bryologie. v. 30 (2). p. 243 -245. 2009a.

SILVA, Adaíses S. Maciel, SIMABUKURO, Eliana A. ; PÔRTO, Kátia Cavalcanti. **Effect of water availability on spore germination of the spore moss *Octoblepharum albidum* from Brazilian Atlantic Forest.** Journal of Bryology. v. 31. p. 169-173. 2009b.

STOTLER, Raymond E. **The genus *Frullania* subgenus *Frullania* in Latin America.** Nova Hedwigia. v.18, p. 397-555. 1969.

UDAR, Ram; SRIVASTAVA, Suresh Chandra. **Sporeling Development in *Pressia quadrata*.** Phytion (Austria). v.14. p. 165-173. 1970.

VAN ZANTEN, B. O.; PÓCS, Tamás. **Distribution and dispersal of bryophytes.** Advances in Bryology. v. 1. p. 479. 1981.

VON KONRAT, Matt, DE LANGE, Peter, GREIF, Matt, STROZIER, Lynika, HENTSCHEL, Jörn ; HEINRICHS, Jochen. ***Frullania knightbridgei*, a new liverwort (Frullaniaceae, Marchantiophyta) species from the deep south of Aotearoa-New**

Zealand based on an integrated evidence-based approach. *PhytoKeys* 8: 13–36. 2012.

URIBE, Jaime Melénez; GRADSTEIN Stephan Robbert. **Type studies on *Frullania* subgenus *Meteoriopsis* (Hepaticae). I. The lectotypification of the genus *Frullania*, F. subgen. *Thyopsiella* and F. subgen. *Meteoriopsis*, and some species transferred from subgen. *Meteoriopsis* to subgen. *Thyopsiella*.** *Cryptogamie, Bryologie*. v. 24 (3), p. 193-207. 2003.

URIBE, Jaime Melénez. **Monografía de *Frullania* subgénero *Meteoriopsis* (Frullaniaceae, Marchantiophyta).** *Caldasias*. v. 30 (1), p. 49-94. 2008.

ZHAO, Dong-Ping, BAI, Xue-Liang; WANG, Li-Hong. **Observations of spore morphology of some hepatics species (Marchantiophyta) in China.** *Arctoa*. v. 20, p. 205-210. 2011.

ZHANG, Y.L. ; WU, P.C. **Morphology of Chinese Bryophytes.** Qindao Publishing House, Qingdao. 2006.

WIKLUND, Karin; RYDIN, Håhan. **Ecophysiological constraints on spore establishment in bryophytes.** *Functional Ecology*. v. 18. p. 907-913. 2004.

WODEHOUSE, Roger P. **Pollen Grains: Their Structure, Identification and Significance in Science and Medicine.** New York, McGraw-Hill Book Company. p. 574. 1935

WU, Yan-Jun; YU, Jing; CAO, Tong. **Observation of spore morphology and wall structure of eighth species of *Frullania* (Frullaniaceae; Hepaticae) by SEM and TEM.** *Journal of Wuhan Botanical Research*. v. 26(4). p. 337-342. 2008.

YANO, Olga. Briófitas. In: Fidalgo, Oswaldo; Bononi, Vera Lúcia Ramos. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico.** Série Documentos-Instituto de Botânica/SMA-SP. p. 62. 1989.

YANO, Olga; PERALTA, Denilson Fernandes. **Flora do Estado de Goiás e Tocantis. Criptógamos: Antóceros (Anthocerotophyta) e Hepáticas (Marchantiophyta).** Goiânia. UFG. p. 277. 2008.

YUZAWA, Yoichi. **A monograph of subg. *Chonanthelia* of gen *Frullania* (Hepaticae) of the world.** Journal of Hattori Botanical Laboratory. v. 57, p. 391-403. 1991.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os principais resultados obtidos nesta dissertação foram:

1. As espécies de Frullaniaceae Lorch estudadas apresentaram tamanho médio do esporo variando entre 33,3 e 66,6 micrômetros, constituindo, assim, esporos de tamanho médio a grande. As faixas de variação do tamanho e o tamanho médio do esporo em cada espécie apresentaram grande variação; o coeficiente de variação do tamanho do diâmetro maior do esporo girou em torno de 10 % nas espécies estudadas. Os esporos foram observados sob microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura e, a partir das características apresentadas, puderam ser separados em dois grandes grupos baseados na elaboração da exina: (1) o Tipo Morfológico I reuniu as espécies que possuíam exina ornamentada por áreas côncavas preenchidas e circunscritas por processos alongados. Esse Tipo Morfológico pôde ser dividido em subgrupos baseados na espessura da exina; (2) e o Tipo Morfológico II, que reuniu as espécies que possuíam exina ornamentada por áreas côncavas, nas quais apenas um processo alongado central está presente. O agrupamento morfológico identificado nos esporos não correspondeu à circunscrição subgenérica atual do gênero *Frullania* Raddi;
2. As espécies estudadas ocorreram sobre diversos tipos de substratos: tronco vivo, tronco morto, rochas e substratos artificiais. As formas de vida identificadas foram trama, tapete e pendente;
3. O início da germinação do esporo da espécie *Frullania ericoides* (Nees) Mont. foi endospórico, com divisão e proliferação celular, e formação de um protonema globoso, sem ocorrer ruptura da parede do esporo. Mais tarde, a parede foi rompida devido ao desenvolvimento do protonema externo. Foi observado o desenvolvimento de filídios primordiais fortemente côncavos, com margem inteira e parede celular fina. Os esporos submetidos às concentrações de meio de cultura mais fracas obtiveram melhor desenvolvimento da planta;
4. Espécies de ocorrência em rochas apresentaram sempre exina delgada; e aquelas que ocorreram sobre tronco morto apresentaram exina espessa. As espécies que ocorreram sobre substratos artificiais também ocorreram sobre rochas e tronco vivo, e apresentaram exina delgada. Sobre tronco vivo, foi registrada a

ocorrência de espécies com diferentes combinações da espessura da exina e intina, sem uma relação muito clara. Não foi possível relacionar o tamanho do esporo e o Tipo Morfológico com o substrato colonizado ou forma vida, devido às variações de tamanho do esporo numa mesma espécie.