



ESTUDO ONTOGENÉTICO DO ESPORÓFITO E DOS ESPOROS DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *RICCIA* (RICCIACEAE) NO RIO GRANDE DO SUL

CALESCURA, T. C.¹; AYUB, D. M.²

RESUMO – *Riccia plano-biconvexa* apresenta pouca sazonalidade e por ser uma espécie comumente encontrada no Rio Grande do Sul, foi escolhida como modelo para estudo da ontogênese do esporófito e do esporo no gênero *Riccia*. Os esporos de diferentes estádios encontram-se em esporófitos imersos ao longo do talo, possibilitando a observação de diferentes etapas de desenvolvimento presentes em um mesmo indivíduo. Visando interpretar as diversidades internas das espécies, estudos de ontogenia envolvendo morfologia do esporo e do esporófito auxiliam na compreensão da variabilidade e fornecem informações a outros estudos taxonômicos e morfológicos, subsidiando análises filogenéticas e contribuem para maior conhecimento da brioflora do Rio Grande do Sul.

PALAVRAS-CHAVE: *Plano-biconvexa*; Ontogênese; Morfologia do esporo.

1 INTRODUÇÃO

As *Riccias* são hepáticas talosas, o talo se caracteriza pela sua organização na forma de rosetas completas ou na forma de talos sobrepostos, em organização gregária. Apresenta de duas a três ramificações (lobos), com a presença de um sulco mediano bem evidente a partir do ápice, esmaecendo-se ao longo do lobo (Jovet-Ast 2005). Os esporófitos se localizam imersos ao longo da parte mediana dos lobos, encontrando-se os mais maduros na parte mais distal do talo enquanto os mais jovens junto às regiões mais apicais (Schuster 1992, Bischler-Causse et al. 2005). Assim, é possível obter vários esporófitos em diversos estádios de desenvolvimento presentes em um mesmo indivíduo (gametófito).

O desenvolvimento dos esporófitos e dos esporos no gênero *Riccia* (Ricciaceae, Marchantiales) têm sido estudados desde o início do século 20. Esses estudos deram ênfase a

¹Estudante Thayse Cardoso Calescura, Curso Tecnologia em Horticultura, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS, ttsy_cc@hotmail.com

²Biólogo, Prof. Doutor Daniel Martins Ayub, IFRS Campus Bento Gonçalves, Av. Osvaldo Aranha, 540, CEP 95.700-206, Bento Gonçalves, RS. Fone (54) 3455-3200, daniel.ayub@bento.ifrs.edu.br

esporogênese em *R. glauca* L. (Beer 1906) e em *R. frostii* Aust. (Black 1913). Devido a sua ampla distribuição no estado e a pequena variação sazonal, *Riccia Plano-Biconvexa* foi escolhida neste trabalho como planta modelo para o estudo da ontogênese do esporófito no gênero *Riccia*. Assim, objetivou-se analisar as modificações morfológicas ao longo da formação do esporófito e dos esporos (esporogênese).

O esporófito das Ricciaceae encontra-se normalmente imerso no talo e apresenta ausência de envoltório. Pseudoperianto, seta e elatérios também são ausentes na família, bem como estruturas especializadas de reprodução assexuada (como os conceptáculos de *Marchantia*). O esporófito se origina a partir do zigoto, o qual se transforma em um pequeno embrião com dois conjuntos de células: uma camada externa denominado anfitécio, que se transforma em um tecido protetor e uma massa interna chamado endotécio que dará origem ao tecido esporogênico. Este tecido se diferencia em dois tipos celulares que são os esporócitos e as células nutritivas. Estas se degeneram e, junto com a camada protetora, formam uma solução viscosa (nutritiva) onde os esporócitos permanecem em suspensão. Os esporos se diferenciam simultaneamente e as tétrades podem permanecer juntas até a maturidade ou mesmo depois de maduras e liberadas. A liberação ocorre normalmente por decomposição dos tecidos gametofíticos envolventes (Smith, 1955).

Sendo assim, o estudo ontogenético, ajuda a definir as homologias da estrutura do esporófito e dos esporos entre os principais grupos de plantas (Brown and Lemmon 1987). Este trabalho objetiva, verificar os diferentes estádios de desenvolvimento dos esporos e do esporófito de *Riccia plano-biconvexa*, a fim de contribuir na compreensão da variabilidade interna da espécie e maior conhecimento da brioflora do Rio Grande do Sul. Tais dados são importante subsídio para análises taxonômicas e filogenéticas.

2 MATERIAL E MÉTODOS / METODOLOGIA

Gametófitos de *Riccia Plano-Biconvexa* foram coletados nos municípios de Caçapava do Sul e Arroio dos Ratos contemplando diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O material está depositado no Laboratório de Entomologia do IFRS Campus Bento Gonçalves, como testemunho do trabalho desenvolvido.

Gametófitos inteiros foram cuidadosamente lavados, utilizando peneiras e aspersores de água, para retirada do solo. Sob estereomicroscópio, foram dissecados para o isolamento de esporângios em diversos estádios de desenvolvimento, da região apical à distal do gametófito, abrangendo esporos imaturos e maduros, identificados mediante coloração da cápsula (quanto mais escura cápsula, maior o grau de maturidade do esporângios e esporos).

Microscopia de luz

Esporos maduros foram extraídos de esporângios, sob estereomicroscópio, e montados em lâminas histológicas em uma gota de glicerina pura.

Fragmentos dos gametófitos, contendo esporângios, foram imersos em tubos de microcentrífuga contendo 600 mL de uma mistura de glutaraldeído 2,5% e formaldeído 2% em tampão fosfato de sódio 0,05 M, pH 6,8 à 7,2 (Roland & Vian 1991), resfriada previamente a 5 °C e mantidos a uma pressão negativa de 600 mmHg, por 5 minutos e à vácuo por 24 horas. Realizando três ciclos de fixação de 30 minutos cada, seguido de lavagem em tampão fosfato de sódio 0,05 M, pH 6,8 (três vezes, durante 30 minutos). O material, posteriormente, foi desidratado em série crescente de etanol (10, 30, 50, 70, 90 e 100%), 30

minutos em cada etapa.

A seguir, todo o material foi pré-infiltrado em uma mistura (1:1; v:v) de etanol absoluto e resina acrílica a base de hidroxietilmetacrilato (Technovit® 7100, Kulzer; Gerrits & Smid 1983), por 6 horas, a temperatura ambiente, seguida de infiltração em resina acrílica pura, também a temperatura ambiente, por 6 horas. As amostras em resina acrílica foram polimerizadas, com a adição de catalizador, em câmara de luz ultravioleta, a 40 °C, por 45 minutos. Seções histológicas de 2 a 3 µm foram obtidas em micrótomo de rotação, com auxílio de navalha descartável, e aderidas a lâmina de vidro sobre placa aquecedora a 60 °C.

As seções foram coradas com Azul de Toluidina O (C.I. 52040), em concentração de 0,05 %, pH 4,4 (O'Brien & McCully 1981).

Todas as amostras foram analisadas sob microscópio Olympus CX41, equipado com microscopia de luz de campo claro. A captura de imagens foi realizada com o uso de câmera digital Canon EOS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esporófito

Após a fecundação o zigoto se divide originando dois tipos de células: o endotécio e o anfitécio. O anfitécio forma o esporângio, com uma única camada de células aparece desorganizado e começa a colapsar, enquanto a camada mais interna se diferencia em dois tipos celulares que são os esporócitos (células mãe de esporo) e as células nutritivas. As células mãe não preenchem completamente o esporângio até que a tétrade seja formada e uma substância mucilaginosa em que as células mãe ficam cercadas se mantem homogênea, e vai desaparecendo ao longo do desenvolvimento dos esporos (Black 1913).

Esporogênese

Durante a esporogênese, a tétrade é formada a partir da meiose de cada célula mãe e permanece unida até a maturidade do esporo e as células nutritivas vão dissolvendo e liberando seu conteúdo dentro do esporângio.

Ao longo do processo, cada célula da tétrade, deposita a partir do seu interior várias camadas na constituição da esporoderme, originando uma exina triestratificada e uma intina.

Os esporângios das hepáticas são desprovidos de células do tapete (Renzaglia et al. 2000; Wallace et al. 2011) e, assim, os componentes que levam à pigmentação ou coloração da esporoderme devem ser sintetizados pelo próprio esporo e não derivados de células do esporângio. Segundo Steinkamp & Doyle (1979), há material eletrodenso sobre e entre as lamelas na esporoderme de algumas espécies de *Riccia*.

A ornamentação na camada mais externa da esporoderme serve como caráter taxonômico, embora as etapas do desenvolvimento sejam muito similares entre as espécies do gênero.

Ao chegar a maturidade, o esporângio junto com a parede do arquegônio e parte do gametófito se degradam liberando os esporos já separados da tétrade.

4 CONCLUSÕES

Ao realizar o estudo ontogenético do esporófito foi possível observar que é constituído por apenas uma camada de células, possivelmente deva ser considerado como esporângio. Se desenvolvendo apenas como envoltório dos esporos, preso diretamente ao arquegônio, sem contribuição nenhuma no desenvolvimento dos esporos.

Sem a participação do esporângio, o material necessário para o desenvolvimento do esporo, estará presente no tecido esporogênico e na própria célula-mãe. Assim todo o desenvolvimento da esporoderme ocorre a partir do conteúdo celular de cada uma das células da tétrade, que acaba originando uma parede pluriestratificada, composta de uma Intina e uma exina com três camadas.

5 REFERÊNCIAS

BEER, R. 1906. On the development of spores of *Riccia glauca*. Annals of Botany 20: 275-291.

BISCHLER-CAUSSE, A. H., S. R. GRADSTEIN, S. JOVET-AST, D. G. Long & N. S. Allen. 2005. MARCHANTIIDAE. Floral Neotropica Monograph 97:1-262

BLACK, C. A. 1913. The morphology of *Riccia frostii* Aust. Annals of Botany 27: 511-532.

BROWN R. C. & B. E. LEMMON. 1987. Involvement of callose in determination of exine patterning in three hepatics of the subclass Jungermanniidae. Memoirs of the New York Botanical Garden 45:111–121.

O'BRIEN, T. P. & M. E. McCULLY. 1981. The study of plant structure: principles and selected methods. Termarcarphi Pty. Melbourne. 345p.

RENZAGLIA, K. S., R. J. T. DUFF, D. L. NICKRENT & D. J. GARBARY. 2000. Vegetative and reproductive innovations of early land plants: implications for a unified phylogeny. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 355: 769-793.

ROLAND, J.C. e VIAN, B. 1991. General Preparation and Staining of Thin Sections. In: HALL, J.L e HAWES, C. (eds.) Electron Microscopy of Plant Cells. London, Academic Press, p.1-66.

SCHUSTER, R. M. 1992. The Hepaticae and Anthocerotae of North America, East of the Hundredth Meridian. Volume VI. Columbia University Press. New York.

SMITH, G.M. 1955. Botânica Criptogâmica. II Volume: Briófitos e Pteridófitos. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 386p.

STEINKAMP, M. P. & W. T. DOYLE. 1979. Spore wall ultrastructure in four species of the liverwort *Riccia*. *American Journal of Botany* 66(5): 546-556.

WALLACE, S., A. FLEMING, C. H. WELLMAN & D. J. BEERLING. 2011. Evolutionary development of the plant and spore wall. *AoB plants* (2011):plr027.