

FORMAÇÃO DO GAMETOFITO EM *SYMPHYOGYNA*  
*BRASILIENSIS* NEES E *SYMPHYOGYNA ASPERA*  
STEPHANI (HEPATICAE).

K. G. HELL



FORMAÇÃO DO GAMETOFITO EM *SYMPHYOGYNA*  
*BRASILIENSIS* Nees E *SYMPHYOGYNA ASPERA*  
Stephani. (HEPATICAE)

K. G. HELL

Departamento de Botânica da Faculdade de Filosofia,  
Ciências e Letras da Universidade de São Paulo.  
Caixa Postal 8105, São Paulo — S. P.

INTRODUÇÃO

A germinação dos esporos e o desenvolvimento do jovem talo já é conhecida em muitas hepáticas. Dentre as que ainda falta analisar, encontra-se o gênero *Symphyogyna* Nees & Montagne. Este gênero foi colocado na família Pallaviciniaceae, da ordem Metzgeriales (Jungermanniales Anakrogynae), por Evans (1939). O gênero *Symphyogyna* é encontrado nos trópicos do Hemisfério Sul — África, Oceania e América do Sul (Herzog 1926, Evans 1925, 1927, Arnell 1963). A esporogênese de *Symphyogyna aspera* foi investigada por Mc Cormic (1914) e a de *Symphyogyna brasiliensis*, por Haupt (1943).

MATERIAL E MÉTODOS

Os esporos são provenientes de plantas coletadas na Reserva Florestal "Parque do Estado", na Água Funda, São Paulo, patrimônio do Instituto de Botânica da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

*Symphyogyna brasiliensis*. Os esporos são esféricos e medem 25 a 29 $\mu$  de diâmetro. O exospório é espesso, possuindo uma ornamentação constituída por tubérculos e cristas. As cristas anastomosam-se formando uma rede incompleta (Fig. 19). Esta rede é muito reduzida na área em que esteve em contacto com os outros esporos da tétrade (Fig. 20). O esporo apresenta uma cor marron-amarelado. A inoculação dos esporos foi feita imediatamente após a coleta

do material, em dezembro de 1964, janeiro e março de 1965. As plantas de cujas cápsulas retiramos os esporos, estão depositadas no herbário do Departamento de Botânica da FFCL USP, (leg. KG Hell, 1043. SP-F).

*Symphyogyna aspera*. Os esporos são esféricos e medem 17 a 25 $\mu$ . de diâmetro. O exospório é espesso, possuindo uma ornamentação constituída por cristais que se anastomosam entre si, formando uma rêde contínua (Fig. 21). Nos pontos de contacto da tétrade, a rêde é apenas esboçada (Fig. 22). O exospório tem uma côr marrom-amarelado. Existem numerosos cloroplastos no interior do esporo. A presença dêstes cloroplastos confere uma côr esverdçada ao esporo. A inoculação dos esporos foi feita imediatamente após a coleta do material, em julho de 1964 e junho de 1965. As plantas de cujas cápsulas retiramos os esporos, estão depositadas no herbário do Departamento de Botânica da FFCL USP (leg. KG Hell, 1044. SP-F).

As culturas foram feitas em placas de Petri. Utilizamos pequenos pedaços de argila cozida, obtidos de fragmentos de vasos do tipo encontrado no comércio. Por ocasião da coleta das plantas cujas cápsulas forneceram os esporos, apanhamos também um pouco da terra sôbre a qual estas plantas cresciam. Os fragmentos de argila cozida foram colocados nas placas de Petri e cercados com esta terra, até os bordos. Cada um dêstes conjuntos foi esterilizado em autoclave. Adicionamos água de chuva à terra, no interior das placas, o suficiente para mantê-la sempre bem úmida. A água passava para os pedaços de argila por capilaridade. O pH desta solução manteve-se entre 6 e 7 durante o tempo em que as observações foram realizadas. Os esporos foram inoculados sôbre os pedaços de argila cozida. Tôdas as culturas foram desenvolvidas no interior de uma sala, em temperatura ambiente. As placas foram colocadas em frente a uma janela voltada para nordeste, recebendo apenas luz indireta. O material foi examinado ao vivo e desenhado com o auxílio de uma câmara clara.

## RESULTADOS

As diversas fases, no que pudemos acompanhar, coincidem para as duas espécies analisadas. Ao redor do quinto dia, após a ino-

culação, os esporos apresentam-se com seu volume muito aumentado, possuindo uma forma ovóide mais ou menos acentuada. Nesta época o exospório rompe-se, segundo uma linha irregular. O exospório permanecerá por longo tempo sôbre a primeira célula, como uma calota (veja a célula "1" na Fig. 1, 16, 17 e 18). O esporo continua a aumentar de volume e finalmente se divide por uma parede equatorial, em duas células aproximadamente iguais. Chamamos de célula "1" a que fica mais ou menos coberta pela calota do exospório, e de "A<sub>1</sub>" à outra (Fig. 1). A célula "1" não mais se divide, pelo menos até onde nos foi possível acompanhar. A célula "A<sub>1</sub>" cresce e se divide em duas células: "2" e "A<sub>2</sub>". Este último plano de divisão e a parede equatorial anteriormente formada, por ocasião da primeira divisão, são relacionáveis com as dimensões relativas que a célula "A<sub>1</sub>" apresenta no momento que ocorre a clivagem. Quando o diâmetro equatorial fôr aproximadamente igual à altura da célula, o plano de clivagem forma-se segundo uma direção quase perpendicular, ou geralmente um pouco inclinada em relação ao plano equatorial (Fig. 2). Nas células em que a altura é maior do que o diâmetro do plano equatorial, o novo plano de clivagem passa a ser muito inclinado (Fig. 13 e 14) ou até quase paralelo ao plano equatorial (Fig. 11 e 12). A célula "A<sub>2</sub>" cresce (Fig. 3) e se divide em duas células: "3" e "A<sub>3</sub>". A direção deste último plano de clivagem também é relacionável com as dimensões da célula "A<sub>2</sub>", da mesma forma como no caso anterior, e dando como resultado, planos de clivagem que vão desde a direção mais ou menos paralela ao primeiro septo formado — o plano equatorial — (Fig. 4), até quase perpendicular aos dois planos que se sucederam (Fig. 6). A célula "A<sub>3</sub>" cresce (Fig. 7) e se divide em "4" e "A<sub>4</sub>" (Fig. 5, 17 e 18). A célula "A<sub>4</sub>" origina "5" e "A<sub>5</sub>" (Fig. 8, 16), e esta depois "6" e "A<sub>6</sub>" (Fig. 10) e assim por diante. De acôrdo com a posição relativa que estes diversos planos de clivagem mantêm entre si, formam-se estruturas cujas células estão agrupadas compactamente, ao lado de outras, onde as células se dispõem originando um filamento unisseriado. Se a segmentação foi mais ou menos compacta, as células se reagrupam, formando inicialmente uma placa na qual, por compressão mútua, as células adquirem o aspecto poligonal característico dos tecidos vegetais (Fig. 10). Agora começam a ocorrer divisões secundárias

(Veja células "B<sub>9</sub>" e "C<sub>9</sub>" da Fig. 9), que levam à formação de uma estrutura cilíndrica, de várias células de espessura (Fig. 9, 23). A segmentação que originou estruturas filamentosas, pode continuar por mais tempo neste mesmo padrão, porém acaba sempre originando uma estrutura cilíndrica também (Fig. 25). Entre a forma em placa e a forma filamentosa existem tôdas as fases intermediárias possíveis (Fig. 15 e 16). A estrutura cilíndrica possui células grandes cujo maior diâmetro é paralelo ao eixo longitudinal da plântula. Neste estágio reconhece-se uma região dorsal, com células regularmente arranjadas (Fig. 27) e uma região ventral, cujas células estão mais ou menos irregularmente dispostas, ou pelo menos, são salientes. Existe também uma região anterior e uma posterior. Na região anterior distingue-se a célula apical, já com seu aspecto morfológico típico, e na região posterior-ventral, ainda se percebe a primeira célula, com sua calota de exosporio. As células da região ventral originam rizóides que vão ancorar o jovem gametófito ao substrato (Fig. 24, 28). A plântula cresce sempre segundo o plano horizontal, independentemente do ângulo que o substrato forma com a horizontal. Quando o substrato é horizontal, a plântula desenvolver-se paralela a êle, porém ligeiramente afastada. Na região anterior desenvolvem-se papilas mucilagíniferas, sempre voltadas para o ápice. O crescimento continua, originando-se logo, na região anterior, as alas uniestratificadas, horizontais, de ambos os lados da porção cilíndrica, que agora passa a ser a nervura mediana da planta. Esta adquire as dimensões características da espécie, iniciando também as ramificações apicais (Fig. 26, 29). Em outubro de 1965 as plantas de *Symphyogyna brasiliensis*, com quatro meses de idade, tornaram-se férteis.

Verificamos que as plantas que se desenvolveram inicialmente com um aspecto filamentoso, cresciam em direção à luz, e que êste tipo de desenvolvimento se dava em esporos que se encontravam no fundo de depressões do substrato e em pontos onde os esporos ficavam quase que sempre mergulhados na água.

### CONCLUSÕES

As fases iniciais do processo de germinação de *Symphyogyna brasiliensis* e de *Symphyogyna aspera* podem apresentar estruturas mor-

foliologicamente muito distintas. Existe uma forma em placa e uma forma filamentosa unisseriada, havendo tôda uma gama de formas intermediárias entre uma e outra. As duas formas terminam originando uma estrutura cilíndrica, a partir da qual se desenvolve a planta adulta.

O aspecto morfológico dos estágios muito jovens é decorrente do tipo de divisão celular e êste é relacionável às dimensões relativas da célula responsável pelo crescimento, no momento em que ela se divide.

Tanto na forma em placa, como na filamentosa, o crescimento é do tipo apical (veja a célula "A" em tôdas as figuras), sendo que apenas o aspecto morfológico da célula apical é que varia. O aspecto morfológico típico para a espécie aparece apenas nos estágios mais avançados do desenvolvimento. Porém, não é o seu aspecto que determina se é ou não uma célula apical, mas sim a propriedade de formar novos segmentos. Não há, pois, uma fase de protonema em *Symphyogyna*, uma vez que podemos demonstrar a origem desta célula apical já no estágio de duas células apenas.

As formas filamentosas ocorrem tanto quando a intensidade luminosa é baixa como quando a umidade é alta. A capacidade de originar estágios filamentosos parece-nos ser de importância ecológica, pois por êste mecanismo o esporo microscópico (17 — 29 $\mu$  de diâmetro) caindo entre as partículas do solo, ao se desenvolver eleva rapidamente o seu ápice vegetativo em direção às condições mais favoráveis.

O aspecto de alguns estágios do desenvolvimento de *Symphyogyna* é muito semelhante aos figurados por diversos autores que estudaram a germinação de *Riccardia* e *Metzgeria*, gêneros afins a *Symphyogyna*.

O fato de que não é visível uma região predeterminada para a ruptura do exosporio, indica que, provavelmente, não existe uma polaridade no esporo, anterior à sua germinação.

### DISCUSSÃO

Muitos autores que trabalham em germinação de esporos de hepáticas utilizam meios líquidos ou agar-mineral em suas pesquisas

(cf. Müller, 1951). Estes métodos são excelentes para estudar problemas da nutrição; porém, se levarmos em conta que a planta a ser estudada se desenvolve na Natureza, sobre substratos sólidos, e que nada sabemos do requerimento nutricional da espécie para que ela se desenvolva normalmente, vemos que estes métodos trazem em si uma séria desvantagem se quisermos estabelecer a seqüência de fases do desenvolvimento. O perigo de que formas anormais, ou que apenas uma das expressões possíveis da norma de reação da planta, sejam consideradas como o “padrão” do material em estudo, deve sempre ser considerado.

Nas hepáticas, dá-se o nome de protonema à tóda estrutura originada a partir da germinação do esporo e que se desenvolve antes da diferenciação da célula apical (cf. Müller, 1951). Foi considerando êste conceito e homologando a célula terminal, à célula apical tanto da forma em placa como da filamentososa, que consideramos a inexistência de um protonema em *Symphyogyna*. É necessário acompanhar a seqüência com que as clivagens se processam afim de identificar a célula apical. A simples observação de uma estrutura filamentososa que não apresente uma célula morfológicamente identificável como uma célula apical, não nos habilita a concluir quanto à sua natureza.

A possibilidade de que fatores externos, tais como baixa intensidade luminosa e deficiências nutricionais do substrato influenciem o desenvolvimento do jovem gametófito é citada por vários autores, como Goebel (1930), Chalaud (1932), Müller (1951), entre outros.

Goebel (1928) considera que a célula apical do tipo que ocorre em *Symphyogyna* (“Zweischneidige Scheitelzelle”) tem a sua origem devido a uma “alternância pendular” dos septos anticlinais, afirmando também que esta propriedade é devida às “condições internas de simetria” e que estas seriam influenciáveis por fatores externos, sem no entanto especificar como êstes processos se passam.

O que observamos quanto à variabilidade na direção do plano de clivagem, conforme a dimensão da célula, está em concordância com o que estabelece a chamada “Lei de Errera” (cf. Thompson, 1942).

A existência de fases filamentosas nas Metzgeriales já foi verificada anteriormente por alguns autores, no entanto nenhum pro-

curou homologar estas formas com as fases em placa, mas consideraram-nas sempre como característica da espécie ou gênero em questão. Em nenhum caso foi descrita a seqüência do processo, portanto, podemos comparar apenas o aspecto estático, representado pelas figuras que cada autor apresenta, o que não exclui, é evidente, a possibilidade de que a seqüência de fases seja diferente, e nós estaremos então, comparando estruturas apenas aparentemente semelhantes. Leitgeb (1877) descreve alguns estágios da germinação de *Riccardia palmata* (cf. *Aneura palmata*) e suas figuras mostram estágios filamentosos terminando em porção plurisseriada. Clapp (1912) cita um "protonema talóide" em *Riccardia pinguis* (cf. *Aneura pinguis*), e considera que a célula apical se origina pela formação de um "septo inclinado", na segunda divisão celular. Goebel (1928) representa uma fase filamentosa em *Metzgeria furcata* e posteriormente (1930), cita o gênero *Riccardia* (cf. *Aneura*) como possuindo um protonema filamentoso. Nehira (1962) corrobora as observações de Clapp, afirmando que não existe um protonema em *Riccardia pinguis*, uma vez que a célula apical se diferencia através do "septo inclinado", mas ao mesmo tempo cita *Riccardia multifida*, *Riccardia sinnuata* e *Riccardia nagasakiensis* como possuindo protonemas filamentosos.

### RESUMO

A germinação e os estágios jovens de *Symphyogyna brasiliensis* e *Symphyogyna aspera* foi acompanhada com a finalidade de estabelecer a seqüência de fases com que se processa.

Não existe um período de repouso entre a dispersão dos esporos e o início da germinação. Aparentemente não existe uma polaridade no esporo, anterior à germinação. Ocorrem dois padrões de desenvolvimento durante os estágios mais jovens — uma forma filamentosa e uma forma em placa. Estes dois padrões constituem uma resposta da planta às condições do ambiente no momento. A célula anterior do filamento ou da placa é homóloga à célula apical. Esta célula divide-se conforme o previsto por Errera (cf. Thompson, 1942). Não há um protonema, de acordo com a definição de protonema,

correntemente em uso (cf. Müller, 1951). A forma filamentosa constitui uma importante possibilidade de sobrevivência, uma vez que facilita o desenvolvimento do esporo, mesmo em condições que não sejam ideais. A possibilidade de que os "protonemas filamentosos" descritos para os gêneros afins, *Metzgeria* e *Riccardia*, constituam apenas uma das expressões da norma de reação das plantas em questão, é sugerida.

### SUMMARY

The genus *Symphyogyna* is a thallose hepaticae belonging to the family Pallaviciniaceae, order Metzgeriales (apud Evans, 1939). Through spore cultures the earlier stages in gametophytic development were followed. The course of the development is influenced by ambiental factors, such as light and humidity. Two sporeling patterns were established: the thalloid type and the filamentous type. Observation showed that the apical cell may be identified at a stage as early as the two celled stage, not because its shape, but because its characteristic way to cut derivatives. It follows that there is no formation of a protonematal stage. The filamentous stage is not considered as being a protonematal stage but just an ambiental modification of the thalloid type, being all intermediate stages present. The apical cell divides as postulated by Errera (cf. Thompson, 1942). Apparently the polarity is only established at the first division of the spore. The hability to develop either as a thalloid or as a filamentous stage is considered as an important ecological factor, because it allows the young plant to thrive very quickly into better ambiental conditions. The possibility that the "filamentous protonemata" known as occurring in some related genera (as *Metzgeria* — Goebel, 1928; and *Riccardia* — Nehira 1962) are one of the two developmental patterns described in the present paper for *Symphyogyna*, is also suggested.

### BIBLIOGRAFIA CITADA

- ARNELL, SIGFRID. 1963. Hepaticae of South Africa. Swedish Natural Science Research Council. Stockholm. 411 pp.
- CHALAUD, G. 1932. Germanation des spores et phase protonemique "in" *F. Verdoorn*, Manual of Bryology. The Hage. 486 pp.

- CLAPP, G. L. 1912. The life history of *Aneura pinguis*. The Botanical Gazette, 54: 177 — 193.
- HERZOG, Th. 1926. Geographie der Moose. Gustav Fisher, Jena. 440 pp. 8 Taf.
- EVANS, ALEXANDER W. 1925. The lobate species of *Symphyogyna*. Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences, 27: 1 — 50.
- EVANS, ALEXANDER W. 1927. A further study of the American species of *Symphyogyna*. Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences, 28: 295 — 354.
- EVANS, ALEXANDER W. 1939. The classification of the Hepaticae. Botanical Review, 5: 49 — 96.
- GOEBEL, K. 1930. Organographie der Pflanzen. Zweiter Teil. Bryophyten-Pteridophyten. 3. Aufl. Gustav Fischer. Jena: 643 — 1378.
- HAUPT, ARTHUR W. 1943. Structure and development of *Symphyogyna brasiliensis*. The Botanical Gazette, 105: 193 — 201.
- LEITGEB, HUBERT. 1877. Untersuchungen ueber die Lebermoose. III Heft. Die Frondosen Jungermannieen. O. Deistung. Jena. 144 pp. Taf. I — IX.
- Mc CORMICK, FLORENCE A. 1914. A study of *Symphyogyna aspera*. The Botanical Gazette, 58: 401 — 418. Tab. XXX — XXXII.
- MÜLLER, KARL. 1951 — 1954. Die Lebermoose Europas, "in" *Rabenhorst's Kryptogamen-Flora*. 3. Aufl. Lieferung 1 — 5. Akademische Verlagsgesellschaft Gees & Porting. Leipzig. 756 pp.
- NEHIRA, KUNITO. 1962. The germination of spores in Hepaticae. 4. Two types of sporeling pattern in the *Riccardia*. Hikobia. Journal of the Hiroshima Botanical Club, 3: 96 — 100.
- THOMPSON, D'ARCY WENTWORTH. 1942. On Growth and Form. Cambridge University Press. 1116 pp.

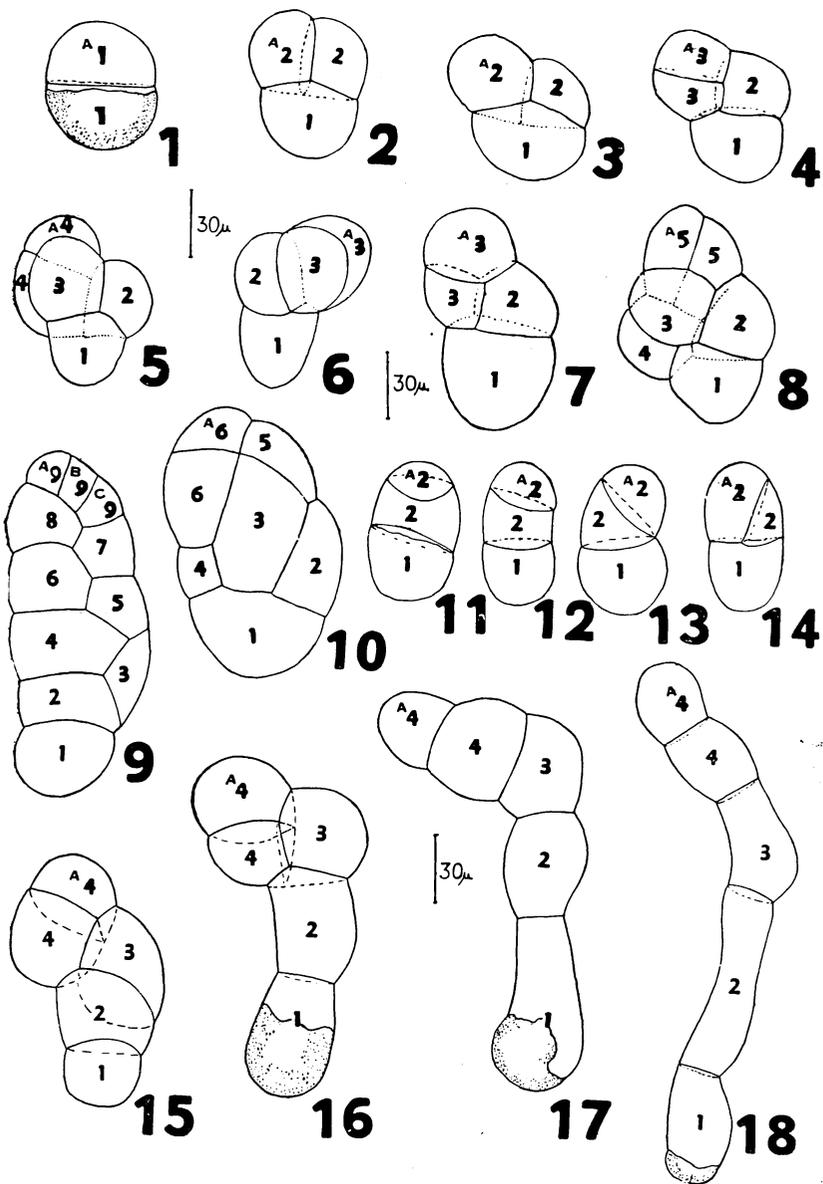
*PRANCHA I*

Fig. 1 a 10 — Estágios sucessivos da germinação do tipo em placa.

Fig. 11 a 18 — Vários estágios da germinação do tipo filamentosos. Em tôdas as figuras "A" representa a célula apical, "B" e "C" as divisões secundárias e os números nas células indicam a ordem de divisão.

*Symphyogyna brasiliensis*: Fig. 1, 3 a 8, 10, 15 a 18.

*Symphyogyna aspera*: Fig. 2, 9, 11 a 14.



*PRANCHA II*

Fig. 19 a 22 — Esporos. Fig. 23, 25, 27 — Formação da estrutura cilíndrica. Fig. 24, 28 — Formação dos rizóides. Fig. 26, 29. Ramificação e passagem para planta adulta.

*Symphyogyna brasiliensis*: Fig. 19, 20, 23, 27, 29.

*Symphyogyna aspera*: Fig. 21, 22, 24, 25, 26, 28.

