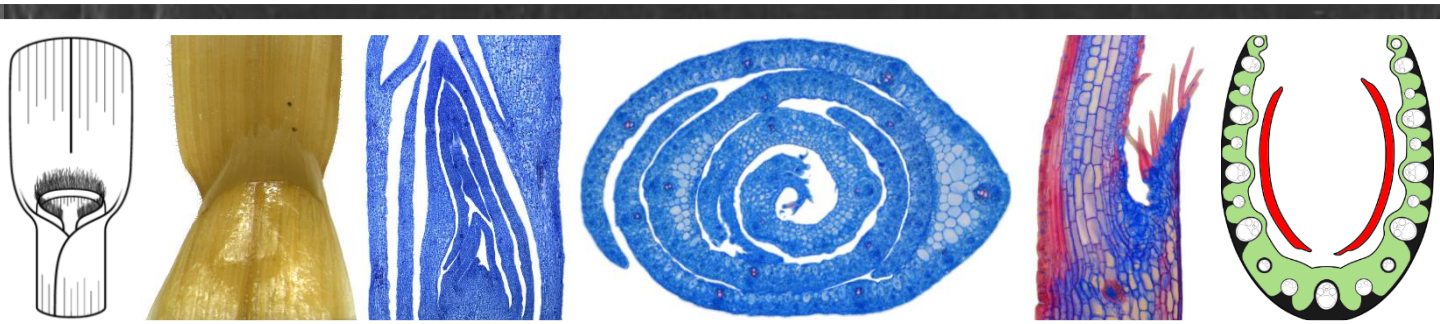
Bruno Edson Chaves

Lígulas em Poaceae:
uma abordagem conceitual, filogenética e ontogenética



São Paulo
2022

Bruno Edson Chaves

Lígulas em Poaceae: uma abordagem conceitual, filogenética e ontogenética

Ligules in Poaceae: a conceptual, phylogenetic and ontogenetic approach

São Paulo

2022

Bruno Edson Chaves

Lígulas em Poaceae: uma abordagem conceitual, filogenética e ontogenética

Ligules in Poaceae: a conceptual, phylogenetic and ontogenetic approach

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências Biológicas, na Área de Botânica.

Orientador(a): Profª. Drª. Gladys Flávia de Albuquerque Melo-de-Pinna

VERSÃO CORRIGIDA

São Paulo

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a) no formulário:
'https://biblioteca.ib.usp.br/ficha-catalografica/src/ficha.php'

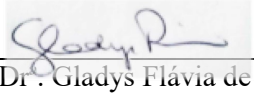
Edson-Chaves, Bruno
Lígulas em Poaceae : uma abordagem conceitual, filogenética e ontogenética / Bruno Edson-Chaves ; orientadora Gladys Flávia de Albuquerque Melo-de-Pinna -- São Paulo, 2022.
137 p.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Botânica.

1. Anatomia foliar. 2. Desenvolvimento foliar . 3. Gramínea. 4. Morfologia. 5. Ontogenia. I. de Albuquerque Melo-de-Pinna, Gladys Flávia , orient. II. Título.

Bibliotecária responsável pela catalogação:
Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228

Comissão Julgadora:



Profª. Drª. Gladys Flávia de Albuquerque Melo-de-Pinna (IB-USP / Orientadora)

Profª. Drª. Dalva Graciano Ribeiro (UFG)

Prof. Dr. Christian da Silva (UDESC)

Profª. Drª. Ana Paula Gonçalves (UFV)

Dedico esta tese aos meus pais, por sempre acreditarem nos meus sonhos e por todo o apoio durante essa longa caminhada até aqui.

“O Sonho é o que leva a gente para a frente.”

Ariano Suassuna

“O prazer de ensinar e ajudar as pessoas em sua busca de conhecimento vem sempre em primeiro lugar.”

Drª Berta Lange de Morretes

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a **Deus** por sempre estar presente me dando força e coragem para enfrentar os desafios em todos os momentos.

À minha orientadora e amiga **Profª Drª Gladys Flávia A. Melo de Pinna** (Flá)**,** por todo seu entusiasmo, alegria e energia contagiantes, que nunca me deixou desanimar mesmo quando eu parecia "meio perdido"; ao longo desses oito anos de convivência foram tantas conversas, gargalhadas, caminhadas, conselhos, encontros e despedidas devido às minhas viagens... Sua maneira de agir, ver a vida e a ciência, e o amor e encantamento pela Anatomia Vegetal são fontes de grande inspiração para todos que têm a oportunidade de conviver contigo. Muito obrigado por sua generosidade e por ser um grande exemplo de pessoa e profissional. E, claro! Obrigado, sobretudo, por ter me apresentando ao gigantesco e rico mundo da Anatomia do Desenvolvimento e pelos estímulos para ler a literatura clássica.

À **Universidade de São Paulo** e ao **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo** por ser sempre tão acolhedores, pela infraestrutura disponibilizada e pela oportunidade de realizar o doutorado**.** Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq**), em face da bolsa concedida.

À profª. **Lynn G. Clark** por ter aceito colaborar com este trabalho e disposta a tirar dúvidas sempre que solicitadas, pelas experiências e conhecimentos compartilhados, bem como sugestão de bibliografias.

Ao prof. **Renato de Mello-Silva** (*in memoriam*) por seu entusiamo e contribuições no estudo das monocotiledôneas e, em especial, com as palavras de apoio e estímulo durante o desenvolvimento inicial deste trabalho.

Aos meus pais, **José Lindenor F. Chaves Barros** e **Maria Socorro B. Edson Chaves**, pelo amor incondicional, incentivo e confiança. Por tantas vezes se doaram para que as coisas que faço e acredito obtivessem sucesso nesse doutorado; mais do que nunca vocês foram fundamentais participando ativamente desse estudo. Vocês são a minha base sem a qual nada desse sonho seria possível. A minha avó **Vicência Bezerra Edson** por ser um exemplo de fé, simplicidade e sabedoria e por sempre torcer por mim. Amo muito vocês.

Aos meus irmãos **Manuela E. C. Regadas** (Lelinha), **Isabela E. C. Alencar** (Bebel), **Breno E. Chaves**, e cunhados **Daniel R. Pinto**, **João Paulo M. A. Tavares** e **Rafaela J. B. C. Mota** pelas palavras de incentivo, cumplicidade e apoio em todos os momentos da minha vida, especialmente nesses últimos anos.

Aos meus queridos sobrinhos, **Daniel Lucas C. Regadas**, **João Pedro E. Tavares**, **Linus E. M. Chaves**, **João Isaac E. Tavares**, **Carolinne C. Regadas** (Carolzinha) e **Ian E. M. Chaves;** vocês não têm ideia do quão importantes são para mim; obrigado por todo amor e carinho que tem por esse tio viajante. Novamente peço desculpas pela minha ausência.

À minha namorada **Marina Layara S. Benevides** por todo amor e paciência durante todos estes anos. Você que acompanhou de perto todo o processo acedêmico, desde o ingresso no doutorado até este momento, agradeço-lhe imensamente por seu apoio emocional, espiritual, por suas palavras carinhosas e de estímulo e, sobretudo, pela compreensão nos momentos que necessitei me ausentar.

Ao **Otávio L. M. da Silva** por todas as nossas conversas construtivas sobre filogenia de gramíneas e por toda ajuda e apoio no que concerne à reconstrução do caráter ancestral das lígulas, assim como no auxílio nas leituras e sugestões do texto do primeiro capítulo desta tese.

Aos professores **Gladys Flávia A. Melo de Pinna, Nanuza Luiza de Menezes**, **Diego Demarco**, **Marcelo C. Dornelas**, **Gilberto Ocampo** e **Alexandre V. Palaoro** pelo grande exemplo de profissionais e pelo compartilhamento de valiosos conhecimentos durantes as aulas da pós-graduação que certamente me ajudaram na atividade profissional e desenvolvimento pessoal.

Aos professores **Nanuza Luiza de Menezes, Verônica Agyalossy** e **Diego Demarco** do laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade de São Paulo, pelas agradáveis conversas, ânimo e ensinamentos os mais diversos possíveis.

Aos funcionários do IB, em especial à **Noberto Palácios** e **Érika Takamoto** por todo o auxílio nas questões administravas. As meninas da portaria **Rosinei A. dos Santos** (Rose) e **Elane B. Pimentel** por todos os "bem-vindos de volta" a cada regresso à USP, e pelas conversas sempre amigáveis que me ajudaram em diversas manhãs quando chegava ao Instituto de Botânica. E a todos os participantes dos encontros do **IB-Acolhe** durante os difíceis tempos de pandemia, que compartilharam inúmeras histórias e experiências comigo, além de poder contar com a torcida de todos.

Ao meu amigo **Aldair de França Neto** que muito antes das seleções de doutorado sempre me incentivou a fazer doutorado na USP. Por tantas vezes abriu as portas da sua casa para eu ficar nas minhas temporadas em São Paulo. Agradeço-lhe por todos os almoços, convívio, e por me mostrar um pouco essa rica, fascinante e impressionante cidade que é São Paulo.

Aos agrostólogos do **DetWeb**, em especial ao amigo **Christian Silva** por toda ajuda nas dúvidas que tive na identificação das gramíneas e por sempre compartilhar um pouco seu conhecimento e paixão por esse grupo de plantas tão maravilhoso.

Aos Prof. **Diego Demarco**, **José Hernandes Lopes Filho** e **Paula M. Elbl** que gentilmente aceitaram participar do exame de qualificação e ofereceram importantes sugestões para o andamento deste trabalho. Aos professores **Dalva G. Ribeiro**, **Christian da Silva** e **Ana Paula S. Gonçalves** pelas valiosas e inestimáveis sugestões na ocasião em que estiveram na Banca de defesa da tese.

Aos técnicos do laboratório de Anatomia vegetal do IB-USP, **Gisele Costa** e **Tássia Cristina dos Santos** por toda gentileza e paciência quando me ensinaram algum procedimento no laboratório estando sempre disponíveis a me ajudar, especialmente devido a minha rotina de viagens. E ao **Irwandro Pires** pelo auxílio na Microscopia Eletrônica de Varredura.

À equipe do AnatoEncontros (AE), **Gladys Flávia de A. Melo de Pinna, Rafael da Silva Cruz e Priscila A. Cortez,** vocês são pessoas inspiradoras que se dedicam imensamente para levar a Anatomia para todos os cantos do país (e do mundo), me estimulando cada vez mais a divulgar e demonstrar como a Anatomia é uma ciência particularmente incrível. Certamente o AE foi (e ainda é) uma parte fundamental desses últimos tempos e ampliou muito meu entendimento do que é fazer pesquisa em Anatomia Vegetal. É muito bom e gratificante poder fazer parte dessa equipe.

Aos colegas da Equipe Melo-de-Pinna, antigos e atuais, em especial ao **Arthur K. Chan**, **Carlos Eduardo V. Raymundo** (Cadu), **Fernanda M. C. Oliveira** (Fê), **Karla M. Vasconcelos, Leyde N. N. Santos-Silva, Priscila A. Cortez**, **Rafael S. Cruz** (Rafa), **Ricardo S. B. Vita**, **Thaíla V. A. Santos** e **Yasmin V. Hirao,** aos ICs e bolsistas TTT1 e aos demais que convivi nesses quase oito anos de USP cujas discussões como equipe foram fundamentais para esta caminhada até aqui. Agradeço também pelo auxílio durante as prévias da qualificação e da defesa.

À **Fernanda M. C. Oliveira** (Fê), **Leyde N. N. Santos-Silva**, **Karla M. Vasconcelos, Pâmela T. Silva** e **Thaíla V. A. Santos**, amigos com os quais compartilhei muitos momentos amigáveis durante o doutorado, pelas conversas "científicas" (e as não-científicas também), por toda a paciência, palavras de incentivo, força, parceria e ajuda.

Ao **Ricardo S. B. Vita** e **Yasmin V. Hirao** agradeço-lhes pela gentileza e profissionalismo de terem apresentado pacientemente o laboratório de Anatomia nas minhas primeiras vindas à São Paulo, por me mostrarem as técnicas (e as várias adaptações necessárias que não ficam nos livros) que estavam acostumados a realizar, ao tempo em que sempre foram muito prestativos.

Aos professores **Gladys Flávia de A. Melo de Pinna, Fernanda M. C. Oliveira, Ana Claudia Rodrigues, Dalva G. Ribeiro, Renê G. S. Carneiro** e **Guilherme Q. Freire**, e aos

amigos **Karla M. Vasconcelos, Priscila A. Cortez** e **Arthur K. Chan** pelas amplas discussões sobre a Anatomia Vegetal no Brasil dos últimos anos, que culminou na mesa-redonda no 71º Congresso Nacional de Botânica.

Aos demais colegas do laboratório de Anatomia Vegetal, **Israel L. Cunha Neto, Caian S. Gerolamo, Luiza T. Costa**, **Victor Sibinelli**, **Natalie V. Capelli**, **María Camila M. Montes** e tantos outros por toda a convivência, incentivo e apoio, e por terem tornado os meus dias de trabalho mais agradáveis e tranquilos. Em especial à **Mariana P. Victório**, com a qual foram muitos dias conversando e cortando material juntos, tanto que até peguei um pouco do sotaque paulistano. Obrigado pelos ensinamentos, conversas sempre muito agradáveis e pela amizade.

Ao **Mário de Pinna** e a **Júlia Pinna** (Ju), obrigado pelas inúmeras vezes que me receberam na família de vocês, sempre com muito carinho, atenção e gentileza; por todas as conversas, risadas e pelos bons momentos que desfrutamos juntos.

À **Priscila Schramm** e **Henrique Padovan** por sempre me receberem de braços abertos e estarem dispostos a conversar e fazer meus dias mais felizes a cada temporada que ia a São Paulo.

Aos professores do colegiado de Ciências Biológicas da Faculdade de Educação Ciências e Letras de Iguatu, da Universidade Estadual do Ceará (FECLI/UECE), em especial à **Alana Cecília de Menezes Sobreira**, pelo apoio, compreensão durante este tempo de doutorado e por sempre estar disposta a me escutar quando preciso. E a **Môngolla K. Freitas de Abreu** pela amizade, conversas sempre bem-humoradas, parceria e incentivo profissional.

Aos meus monitores da FECLI/UECE, **Paula G. Vicente**, **Jaiane Maria Silva**, **Gabrielle Santos**, **Rayana R. Silva**, **Flaviana de Carvalho**, **Lucas S. B. Brito**, **Carlos Diego F. Souza** e **Brenda S. M. Vieira** por toda ajuda ao longo desses anos; sem vocês certamente não teria conseguido conciliar as diversas atividades da UECE com o doutorado. Obrigado por sempre me escutarem e partilharem vários momentos de alegrias e tristezas. E aos demais (ex-)alunos de Monografia, Iniciação Científica, Extensão, Iniciação Artística e Permanência Universitária por serem uma fonte de incentivo para me tornar uma pessoa e um profissional cada vez melhor.

Ao meu **pai** (José L. F. C. Barros) e aos amigos **Roberto M. B. Lopes**, **Thiago V. de Autran Nunes**, **Thaís C. Tavares, Valéria S. Sampaio, Rafael D. Oliveira, William S. Carmo, Silvia D. C. Fernandes, Francisco Yago E. C. Dias, Ana Lívia C. S. Oliveira, Viviane O. T. Lemos, Gladston R. Carneiro Júnior, Lídia S. Maciel, Leyde N. N. S. Silva,**

Andressa Cabral, Charles Barros e Dauyzio A. Silva por toda ajuda nas coletas, que não foram poucas, cada uma mais inesquecível que a outra e com sua aventura particular.

Aos professores e amigos **Oriel H. Bonilla** e **Roselita M. S. Mendes**, meus orientadores da graduação, que sempre me incentivaram no campo da Botânica e acreditaram em mim desde o primeiro momento e que nunca deixaram de acompanhar de perto toda essa minha jornada. Por todos os conselhos pessoais e acadêmicos, ao longo de mais de 15 anos, e por sempre torcerem por mim, minha eterna gratidão.

À profª **Dalva Graciano Ribeiro** meu agradecimento por todos os ensinamentos durante e após o mestrado, por sua amizade, palavras de incentivo, pelo grande exemplo de dedicação e competência e por toda sua contribuição na área de Anatomia de Poaceae. E claro, por ter me apresentado as gramíneas, esse grupo de plantas tão incrível.

À profª. **Delmira da Costa Silva** cujo curso na XXX Reunião Nordestida de Botânica foi fundamental para me apaixonar por esta ciência, e pela sua gentileza em todos os momentos que nos encontramos posteriormente.

Aos amigos de Fortaleza, em especial à, **Manoel Paiva de A. Neto**, **Míriam Luzia N. M. Sousa**, **Roberto M. B. Lopes**, **Águeda S. M. F. Morel**, **Thiago V. Autran Nunes**, **Thaís C. Tavares**, **Renata S. Chikowski** e **Rafael D. Oliveira**; e aos amigos dos tempos de Brasília **Silvia D. C. Fernandes**, **Nádia S. Somavilla**, **Maria Teresa Faria**, **Izabelly S. Sant'Anna, William S. Carmo** e **Eliana M. L. Pinheiro** pela amizade sempre sincera e descontraída, palavras de incentivo e força em diversos momentos dessa trajetória. Com toda certeza, vocês contribuíram enormemente para o meu crescimento pessoal e profissional ao longo desses anos.

E às demais pessoas que não consegui colocar nesse texto, mas que estiveram direta ou indiretamente presentes na realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Resumo

Em Poaceae, as lígulas são um dos melhores caracteres vegetativos para identificação, variando principalmente quanto à sua posição e morfologia. Todavia, ainda não há um consenso quanto à sua natureza e diversidade em um contexto evolutivo em Poaceae. Assim, o trabalho teve como objetivos: (i) realizar uma revisão para melhor compreender as variações morfológicas, conceituais e de diversidade estrutural das lígulas em gramíneas; (ii) compreender a evolução deste caráter em Poaceae; (iii) analisar, sob o ponto de vista morfológico e anatômico, lígulas de diferentes morfologias e em diferentes subfamílias; e (iv) avaliar o desenvolvimento de diferentes morfologias das lígulas na busca de um melhor entendimento sobre seu conceito/definição. No que concerne à revisão, além da clareza para os termos homoligulado/heteroligulado e vascularizado ou não, podendo ser heterovascularizado, foram identificadas cinco hipóteses para a definição de lígulas. Com base nos dados do GrassBase observamos que 92,56% dos representantes da família têm lígulas ventrais homoliguladas, 0,96% não exibem lígula, 4,73% não apresentam dados na base de dados; 1,75% têm lígulas ventrais heteroliguladas. Lígulas ventrais membranosas são comuns em Puelioideae e no clado BOP, membranosa-ciliada em Pharoideae, e lígulas ciliadas em Anomochlooideae e clado PACMAD, sendo Panicoideae a subfamília com a maior diversidade morfológica de lígulas. Embora as lígulas ventrais homoliguladas e ciliadas sejam consideradas estados ancestrais mais provável nas Poaceae, várias reversões ocorreram dentro das subfamílias. Já as lígulas dorsais são comuns em Puelioideae e Bambusoideae. Para as análises morfológicas e anatômicas, por meio de microscopia óptica e de varredura, foram selecionadas 18 espécies com diferentes tipos de lígulas e em diferentes subfamílias; 16 destas foram também analisadas quanto à ontogenia foliar. Onze, das 18 espécies, apresentam alterações na tipologia da lígula registrada na literatura. Morfologicamente, o tipo de inserção da lígula também revela potencial diagnóstico, com seis diferentes tipos de padrões, dos quais o arco convexo assimétrico foi o tipo mais comum observado. A anatomia de lígulas desenvolvidas varia quanto à(o): região abaxial e marginal da lígula, número de camadas de parênquima, presença ou ausência de espaços intercelulares no parênquima, presença de esclerênquima e sistema vascular. Os dados de ontogenia revelam que, independentemente do tipo de lígula, o desenvolvimento ocorre em três estádios: (i) pré-lígula, caracterizado por divisões anticlinais e periclinais da epiderme; (ii) inicial, demarcada estruturalmente por uma constrição na porção superior e divisões anticlinais e periclinais da região subepidérmica; e (iii) tardio, que é a fase de crescimento e individualização da lígula que ocorre concomitantemente ao alongamento da bainha. A ausência de primórdio revela que, nas espécies analisadas, a lígula mostra-se como uma expansão da porção superior da bainha, o que não descarta o fato de que morfologicamente pode ser considerado como uma estrutura à parte das demais regiões foliares devido ao seu valor diagnóstico. Vale destacar ainda que a ausência da lígula em *Streptochaeta spicata* (Anomochlooideae), além de apresentar valor taxonômico, mostra-se com importante implicação evolutiva. Com este estudo das lígulas ventrais em Poaceae por meio de diferentes abordagens foi possível obter uma maior clareza sobre sua definição na família, ampliar o conhecimento sobre a diversidade morfológica e anatômica e corrigir certas incongruências observadas na literatura. Todavia, dada a amplitude da temática outros estudos acurados deste caráter ainda se fazem necessários.

Palavras-chaves: Anatomia foliar, base foliar, desenvolvimento foliar, gramínea, morfologia da lígula.

Abstract

In Poaceae, ligules are one of the best vegetative characters for identification, varying especially in their position and morphology. However, there is still no consensus about its nature and diversity in an evolutionary context in Poaceae. Thus, the objectives of this work were: (i) to perform a review to better understand the morphological, conceptual and structural diversity variations of the ligules in grasses; (ii) to understand how this character evolved in Poaceae; (iii) to analyze, under the morphological and anatomical point of view, ligules of different morphologies and different subfamilies; and (iv) to investigate the development of ligules having different morphologies, in order to better understand its concept/definition. Data obtained in the review clarified the terms homoligulated/heteroligulated and vascularized or not, which may also be heterovascularized, five hypotheses have been identified for the definition of ligules. Based on data gathered from GrassBase we observed that 92.56% of the representatives of the grasses, have homoligulated ventral ligules, 0.96% have no ligule, 4.73% have no data in the database; 1.75% have heteroligulated ventral ligules. We also found that membranous ventral ligules are common in Puelioideae and the BOP clade, membranous-ciliated in Pharoideae, and ciliated ligules in Anomochlooideae and PACMAD clade. Panicoideae is diagnosed as the subfamily with the greatest morphological diversity of ligules. Homoligulate and ciliated ventral ligules were reconstructed as plesiomorphic in the Poaceae, several reversals have occurred within subfamilies. Dorsal ligules are common in Puelioideae and Bambusoideae. For morphological and anatomical analyses, by means of light and scanning microscopy, 18 species with various types of ligules and in different subfamilies were selected; 16 of these proceeded to the analyses of leaf ontogeny. 11, of the 18 species, presented types of ligule that differ from information in the literature. Morphologically, the type of ligule insertion was found to be a potential diagnostic character with six different patterns, of which the asymmetrical convex arch was the most common type. The anatomy of developed ligules varied with respect to: abaxial and marginal region of the ligule, number of parenchyma layers, presence or absence of intercellular spaces in the parenchyma, presence of sclerenchyma, and vascular system. Ontogetic data revealed that, regardless of the type of ligule, development occurs in three stages:(i) pre-ligula, characterized by anticlinal and periclinal divisions of the epidermis; (ii) inicial, structurally demarcated by a constriction in the upper portion and anticlinal and periclinal divisions of the subepidermal region; and (iii) final, which is the phase of growth and individualization of the ligule that occurs concomitantly with the elongation of the sheath. The absence of a primordium reveals that, at least in the species analyzed, the leaflet shows itself as an expansion of the upper portion of the sheath, which does not discard the fact that morphologically it can be considered as a separate structure from the other leaf regions due to its diagnostic value. It is important to emphasize that the absence of the ligule in *Streptochaeta spicata* (Anomochlooideae), besides presenting taxonomic value has important evolutionary implications. This study of the ventral ligules in Poaceae, using different approaches, clarified the definition of this character in the family, improved the knowledge on its morphology and anatomy, and corrected certain inconsistencies observed in the literature. However, given the broadness of the theme, further accurate studies of this character are still necessary.

Key words: leaf anatomy, leaf base, leaf development, grasses, leaf morphology.

Sumário

Resumo 10
Abstract 11
Introdução geral 14
Referências bibliográficas 17
Capítulo 1. The ligule in Poaceae: a historical and evolutionary review 21
Abstract e Resumo 22
1.1 Introduction 23
1.2 Diverse classifications of the ligule in Poaceae 25
1.3 History of the ligule concept in Poaceae 30
1.3.1 Ligule as an extension of the sheath 30
1.3.2 Ligule as a region specific to the grass leaf 33
1.3.3 Ligule as a stipule (or type of stipule) 34
1.3.4 Ligule as an extension of the leaf blade base 37
1.3.5 Ligule as formed by the fusion of different structures 37
1.3.6 Considerations on the historical aspects of the ligule concept 38
1.4 Study of the structural variation of ligules in Poaceae 39
1.4.1 Structural analysis of ventral ligules present in foliage leaves 39
1.4.2 Structural analysis of the dorsal ligules present in foliage leaves 44
1.4.3 Structural analysis of the ligules present in culm leaves 44
1.5 Distribution of ligule types in Poaceae phylogeny 45
1.5.1 Evolution of ventral and dorsal ligules present in foliage leaves 46
1.5.2 Evolution of ventral ligules in culm leaves 48
1.6 Conclusion 49
1.7 Acknowledgments 50
1.8 Funding and/or Conflicts of interests/Competing interests 50
1.9 References 51
1.10 Tables 65
1.11 Figures 69
Capítulo 2. Revisitando a morfologia e anatomia das lígulas de Poaceae 77
Resumo e Abstract 78
2.1 Introdução 79

2.2 Material e métodos 79
2.3 Resultados 81
2.3.1 Morfologia da região ligular 81
2.2.2 Anatomia das lígulas desenvolvidas 83
2.4 Discussão 84
2.5 Conclusão 90
2.6 Agradecimentos 91
2.7 Financiamento 91
2.8 Literatura citada 91
2.9 Tabelas 96
2.10 Figuras 99
Capítulo 3. Compreendendo as diferentes variações das lígulas ventrais de Poaceae por meio de uma abordagem ontogenética 107
Resumo e Abstract 108
3.1 Introdução 109
3.2 Material e métodos 111
3.3 Resultados 113
3.4 Discussão 115
3.4.1 Como uma visão holística da ontogenia revela maior entendimento do conceito de lígulas em Poaceae 115
3.4.2 Novas implicações sobre o surgimento das lígulas em Poaceae com base em dados ontogenéticos de *Streptochaeta spicata* 120
3.5 Conclusão 122
3.6 Agradecimentos 122
3.7 Financiamento 122
3.8 Literatura citada 123
3.9 Tabelas 128
3.10 Figuras 130
Considerações finais 135
Biografia 137

Introdução Geral

Caracteres morfológicos geralmente fornecem a maior parte da informação usada na identificação de espécies vegetais, a partir de suas estruturas reprodutivas ou vegetativas (Judd *et al.*, 2009). No tocante às estruturas vegetativas, as folhas são as que exibem as mais extensas variedades de formas e estruturas (Vidal & Vidal, 1992).

Neste aspecto, diversos caracteres da lâmina foliar são importantes na taxonomia de determinados grupos como: formato, divisão do limbo, tamanho, tipo de margem, formato do ápice e da margem da lâmina foliar, venação, filotaxia (Bell & Bryan, 2008; Ellis *et al.*, 2009), além de características da base foliar como: presença e arranjo do pecíolo, bainha, estípulas, ócrea, aurículas e lígulas (Arber,1925; Bell & Bryan, 2008).

O termo lígula é comumente empregado em certos grupos de licófitas (*Selaginella* e *Isoetes*) e em monocotiledôneas (Alismastales, Zingibelares e Poales). Contudo, esta terminologia deve ser usada com cuidado uma vez que não representam estruturas homólogas nesses grupos taxonômicos (Rudall & Buzgo, 2002).

Em Poales este caráter surgiu pelo menos duas vezes, sendo encontrado em seis diferentes famílias: Juncaceae, Cyperaceae, Flagellariaceae, Joinvilleaceae, Ecdeiocoleaceae e Poaceae (Stevens, 2001). Destas famílias, a que apresenta maior variação da estrutura é Poaceae (Metcalfe, 1960), distinguindo-se, principalmente, pela: vascularização (Mauseth, 1988), posição (p.ex. dorsais e ventrais) (McClure, 1966; Mitideri, 1992; Longhi-Wagner *et al.*, 2001), morfologia (Neumann, 1938; Metcalfe, 1960; Soreng & Davis, 1998; Longhi-Wagner *et al.*, 2001; Clayton *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2016), tamanho (Dahlgren *et al.*, 1985; Klapp, 1987), consistência, indumento, cor, forma e margem (Looman, 1982; Klapp, 1987; Mitidieri, 1992; Clayton *et al.*, 2006; Gandhi *et al.*, 2016; Ibrahim *et al.*, 2016). Devido a esta variação é considerada por muitos autores como um caráter de grande valor taxonômico (Clifford, 1969; Webster & Reyna, 1988; Hubbard, 1992; GPWG *et al.*, 2001; Longhi-Wagner *et al.*, 2001; Michelangeli *et al.*, 2003; Das *et al.*, 2008), especialmente na distinção entre as tribos (Tzvele, 1989).

Embora mais de um tipo de lígula possa ocorrer nas subfamílias de Poaceae (Watson & Dallwitz, 1992; Longhi-Wagner *et al.*, 2001), Kellogg (2015) cita que lígulas dorsais membranosas predominam entre os membros do clado BOP (Bambusoideae, Oryzoideae e Pooideae), enquanto as ciliadas nas subfamílias do clado PACMAD (Panicoideae, Aristidoideae, Chloridoideae, Micrairoideae, Arundinoideae e Danthonioideae).

Todavia não se sabe como ocorre, de fato, a distribuição das lígulas nas diferentes subfamílias, especialmente referente às lígulas membranosas-ciliadas. Alguns autores sugerem que as lígulas pilosas são resultado da redução de lígulas membranosas ocorrida durante a evolução do caráter no grupo, e que, portanto, as lígulas membranosas-ciliadas seriam um estádio intermediário entre as duas (Metcalfe, 1960; Gould, 1968; Hubbard, 1992; Chaffey, 2000).

Historicamente, muitos autores tentaram definir o que é lígula em Poaceae, tendo cinco hipóteses principais: (i) extensão da bainha, (ii) região distinta da bainha e lâmina foliar da folha de gramíneas, (iii) uma estípula, ou tipo de estípula, (iv) extensão da base da lâmina foliar, e (v) uma fusão de diferentes estruturas, como será explorado em mais detalhes no capítulo 1. Todavia, tais definições tomam como ponto de partida principalmente estudos sobre a morfologia de lígulas membranosas.

Anatomicamente, dos três tipos morfológicos de lígulas existentes, as lígulas membranosas foram as que detiveram mais atenção (Arber, 1923; Philipson, 1935; Chaffey, 1982, 1983, 1984, 1985a, 1985b, 1985c, 1985d, 1985e, 1994, 2000; Sylvester *et al.*, 1990; Rudall & Buzgo, 2002; Szabó *et al.*, 2006).

Tal estrutura é descrita por Chaffey (2000) como apresentando um sistema de revestimento constituído por uma epiderme unisseriada, com face adaxial e abaxial distintas; a face adaxial da epiderme apresenta apenas células longas, enquanto a face abaxial é composta por diversos elementos estruturais (p.ex. tricomas do tipo espinho e ganchos). Outras diferenças marcantes entre as duas faces da epiderme, destacadas por este autor, referem-se à espessura da cutícula e da parede tangencial externa, bem como caracteres ultraestruturais.

Uma vez que as lígulas demarcam a junção entre a bainha e a lâmina, sua ocorrência tem sido usada como marcador estrutural nos estudos de desenvolvimento foliar (Rudall & Buzgo, 2002; Foster & Timmermans, 2009). Para Freeling *et al.* (1988) o desenvolvimento da região ligulada, na qual estão presentes lígula e aurícula, envolve uma coordenação precisa de vários processos complexos que ocorrem em diferentes tecidos. Do ponto de vista micromorfológico, o desenvolvimento de lígulas foi estudado para *Zea mays* L.; nesta espécie, uma banda pré-ligular, constituída por uma faixa linear de células quadradas entre a lâmina foliar e a bainha, surge no terceiro plastocrono (P3); posteriormente, as células da banda pré-ligular dividem-se periclinalmente e alongam-se para produzir a lígula membranosa (Sylvester *et al.*, 1990). O mesmo processo descrito para *Z. mays* (Panicoideae) foi observado por Fahn (1990) em *Oryza sativa* L. (Oryzoideae), duas espécies que apresentam lígula membranosa. Portanto, faltam

estudos que foquem nas demais morfologias de lígulas e que utilizem diferentes metodologias para compreensão da ontogenia da estrutura.

Do ponto de vista morfoanatômico, o desenvolvimento foliar das angiospermas continua menos compreendido em relação ao de outros órgãos (Cruz, 2013). Das partes da folha, de forma mais específica de folhas de Poaceae, a lígula é a região mais negligenciada diante da grande variedade de tipos morfológicos (Szabó *et al.*, 2006), sendo necessária uma análise mais aprofundada destas estruturas em um contexto anatômico e de desenvolvimento, especialmente das lígulas presentes no clado das comelinídeas (Rudall & Buzgo, 2002), no qual se insere a família.

Estrutura geral da tese

O trabalho está dividido em três capítulos; o primeiro trata de uma revisão que objetiva apresentar as variações estruturais da lígula, bem como a diversidade de conceitos em mais de dois séculos de estudos envolvendo gramíneas. Além disso, traz também a variação na morfologia da lígula nas 12 subfamílias de Poaceae, bem como o entendimento de como ocorreu essa variação por meio da reconstrução de estados ancestrais.

No segundo capítulo são apresentados os aspectos morfológicos e anatômicos de lígulas membranosas, membranosas-ciliadas e ciliadas em 18 espécies de oito subfamílias de Poaceae. Além de um maior entendimento sobre as lígulas das espécies selecionadas do ponto de vista morfológico e anatômicos, procurando ampliar o conhecimento destes caracteres na família.

Por fim, o terceiro capítulo, por meio de uma abordagem ontogenética em 16 espécies de oito subfamílias com diferentes morfologias de lígula, procura conceituar as lígulas em Poaceae, bem como apresentar novas implicações para a a história evolutiva deste caráter na família.

Referências Bibliográficas

ARBER, A. Leaves of the Gramineae. **Botanical Gazette**, v. 76, n. 4, p. 374-388, 1923.

ARBER, A. **Monocotyledons**: a morphological study. Cambridge: Cambridge University Press, 1925.

BELL, A. D.; BRYAN, A. **Plant form**: an illustrated to flowering plant morfology. Portlan and London: Timber press, 2008.

CHAFFEY, N. J. Presence of stomata-like structures in the ligule of *Agrostis gigantea* Roth. **Annals of Botany,** v. 50, n. 5, p. 717-720, 1982.

CHAFFEY, N. J. Epidermal Structure in the Ligule of Rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of Botany,** v. 52, p. 13-21, 1983.

CHAFFEY, N. J. Epidermal structure in the ligules of four species of the genus *Poa* L. (Poaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 89, n. 4, p. 341–354, 1984.

CHAFFEY, N. J. Structure and Function in the Grass Ligule: Presence of Veined and Membranous Ligules on the Same Culm of British. **New Phytologist,** v. 101, p. 613-621 1985a.

CHAFFEY, N. J. Structure and Function in the Grass Ligule: the newly-initiated ligule of *Lolium temulentum* L., a light and electron microscope study. **Annals of Botany,** v. 55, p. 225-534, 1985b.

CHAFFEY, N. J. Structure and Function in the Grass Ligule: Optical and Electron Microscopy of the Membranous Ligule of *Lolium temulentum* L. **Annals of Botany,** v. 55, p. 65-75, 1985c.

CHAFFEY, N. J. Structure and function in the grass ligule: the membranous ligule of *Lolium temulentum* L. as a secretory organ. **Protoplasma,** v. 127, p. 128-132, 1985d.

CHAFFEY, N. J. Structure and Function in the Grass Ligule: Presence of Veined and Membranous Ligules on the Same Culm of British Grasses. **New Phytologist,** v. 101, p. 613-621, 1985e.

CHAFFEY, N. J. Structure and function of the membranous grass ligule: a comparative study. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 116, p. 53-69, 1994.

CHAFFEY, N. J. Physiological anatomy and function of the membranous grass ligule. **New Phytologyst**, v. 146, p. 5-21, 2000.

CLAYTON, W. D., VORONTSOVA, M. S., HARMAN, K. T., WILLIAMSON, H. GrassBase - The Online World Grass Flora, 2006 em diante. Disponível em: <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>. Acesso em 22 Nov. 2021.

CLIFFORD, H. T. Attribute correlation in the Poaceae (grasses). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 62, p. 59-67, 1969.

CRUZ, R. **Caracteres morfoanatômicos e ontogenéticos foliares de *Metrodorea* A.St.-Hil. e espécies relacionadas (Rutaceae) sob uma perspectiva filogenética**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Brasil, 2013.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocoyledons**: structure, evolution and taxonomy. Berlin, Heidelberg, Ney York and Tokyo: Springer-Verlag, 1985.

DAS, M.; BHATTACHARYA, S.; SINGH, P.; FILGUEIRAS, T. S.; PAL, A. Bamboo Taxonomy and Diversity in the Era of Molecular Markers. **Advances in Botanical Research,** v. 47, p. 225-268, 2008.

ELLIS, B.; DALY, D. C.; HICKEY, L. J.; JOHNSON, K. R.; MITCHELL, J. D. WILF, P.; WING, S. L. **Manual of leaf architecture**. Ithaca: The New York Botanical Garden press, 2009.

FAHN, A. **Plant Anatomy**. Oxford: Pergamon Press. 1967.

FOSTER, T. M.; TIMMERMANS, M. C. P. Axial Patterning of the Maize Leaf. *In*.: BENNETZEN, J. L.; HAKE, S. C. (org.). **Handbook of Maize**: Its Biology. 161-178, New York: Springer, 2009.

FREELING, M.; BONGARD-PIERCE, D. K.; HARBERD, N.; LANE, B.; HAKE, S. Genes involved in the patterns of maize leaf cell division. In: Verma, D. P. S.; Goldberg, R. B. (eds.) **Temporal and spatial regulation of plant genes**. New York: Springer-Verlag, 41-62. 1988.

GANDHI, D.; ALBERT, S.; PANDYA, N. **Handbook on the morphology of common grasses**: identification and characterization of caryopses and seedlings. Oakville: Apple Academic Press. 2016.

GOULD, F. W. **Grass Systematics**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1968.

GPWG - Grass Phylogeny Working Group. Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 88, n. 3, p. 373-457, 2001.

HUBBARD, C. E. **Grasses**: a guide to their structure, identification, uses and distribution in the British Isles, ed. 3. London: Penguin Books. 1992.

IBRAHIM, K. M.; HOSNI, H. A.; PETERSON, P. M. **Grasses of Egypt**. Washington D.C.: Smithsonian Institution Scholarly Press, 2016.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal**: um enfoque filogenético. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KELLOGG, E. A. Flowering Plants Monocots: Poaceae. *In*.: KUBITZKI, K. **The families and genera of vascular plants**, 13: 1-416. New York: Springer International. 2015.

KLAPP, E. **Manual de las gramíneas**, ed. 11. Barcelona: Omega. 1987.

LONGHI-WAGNER, H. M.; BITTRICH, V.; WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J. Poaceae. *In*: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M. (coords.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, 1: 1-291. São Paulo: FAPESP/Hucitec,. 2001.

LOOMAN, J. **Prairie grasses**: identified and described by vegetative characters. Ottawa: Minister of Supply and Services Canada. 1982.

MAUSETH, J.D. **Plant anatomy**. San Francisco: The Benjamin Cummings Publishing Company, 1988.

McCLURE, F. A. A Glossary of the Bamboos. **Taxon**, v. 15, n. 6, p. 220-235, 1966.

METCALFE, C. R. **Anatomy of the monocotyledons**: I Gramineae**.** New York: Clarendon Press, 1960.

MICHELANGELI, F. A.; DAVIS, J. I.; STEVENSON, D. W. Phylogenetic relationships among Poaceae and related families as inferred from morphology, inversions in the plastid genome, and sequence data from the mitochondrial and plastid genomes, **American Journal of Botany**, v. 90, n. 1, p. 93–106, 2003.

MITIDERI, J. **Manual de Gramíneas e leguminosas para pastos tropicais**, ed. 2. São Paulo: Nobel e EdUSP, 1992.

NEUMANN, H. Zur Kenntniss der Anatomie und ersten Anlage der Gramineenligula. **Beiträge zur biologie der pflanzen,** v. 25, p. 1-22. 1938.

OLIVEIRA, R. C.; REIS, P. A.; CARDOSO, A. G. T.; RIBEIRO, A. R. O.; BERTO, A. C. V.; PONCIANO, A. I. C.; MOURA, C. O.; VALLS, J. F. M. **Guia de gramíneas do Cerrado**. Brasília: Rede de sementes do cerrado. 2016.

PHILIPSON, W. R. The development and morphology of the ligule in grasses. **The New Phytologist**, v. 34, n. 4, p. 310-325, 1935.

RUDALL, P. J.; BUZGO, M. Evolutionary history of the monocot leaf. In: CRONK, C. B. Q.; BATEMAN, R.; HAWKINS, J. [eds.]. **Developmental genetics and plant evolution.** London: Taylor and Francis, 2002.

SORENG, R. J.; DAVIS, J. I. Phylogenetics and Character Evolution in the Grass Family (Poaceae): Simultaneous Analysis of Morphological and Chloroplast DNA Restriction Site Character Sets. **The Botanical Review,** v. 64, n. 1, 1-85, 1998.

STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017. 2001 em diante. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em 11 mar. 2022.

SYLVESTER, A. W.; CANDE, W. Z.; FREELING M. Division and differentiation during normal and liguleless-1 maize leaf development. **Development,** v. 110, p. 985-1000. 1990.

SZABÓ, Z. K.; PAPP, M.; DARÓCZI, L. Ligule anatomy and morphology of five *Poa* species. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica,** v. 48, p. 83–88, 2006.

TZVELEV, N. N. The system of grasses (Poaceae) and their evolution. **The Botanical Review,** v. 55, n. 3, p. 141-203, 1989.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica**: organografia. Viçosa: editora UFV, 1992.

WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. **The grass genera of the word**, 2 ed. Wallingford, UK: CAB International, 1992.

WEBSTER, R. D.; REYNA, J. V. Genera of mesoamerican Paniceae (Poaceae: Panicoideae), **Contributions to Botany**, v. 13, n. 2, p. 187-221, 1988.

Considerações finais

As lígulas de Poaceae mostram-se como uma importante estrutura diagnóstica, podendo ocorrer na porção ventral (mais comum) ou dorsal das folhas (folhas do colmo ou folhas do ramo). Morfologicamente, há 3-4 tipologias comuns encontradas na literatura: membranosa, membranosa-ciliada (que pode se dividir em *ciliolate membrane* e *ciliate membrane*) ou ciliada. As espécies ainda podem ser definidas como homoligulada ou heteroligulada e vascularizada e não vascularizada, podendo apresentar dimorfismo quanto à vascularização. As demais características morfológicas encontradas na literatura (p.ex. tamanho e formato da margem) são mais frequentes para lígulas membranosas.

Quanto à representatividade dos tipos de lígula na família, foi diagnosticado que do ponto de vista quantitativo, as lígulas ventrais membranosas são as mais comuns especialmente no clado BOP, Pharoideae mostra-se como única subfamília em que há predominância de lígulas membranosas-ciliadas; as lígulas ciliadas são mais comuns em Anomochlooideae e no Clado PACMAD. Lígulas dorsais são comuns em Pharoideae e Bambusoideae (Bambusae e Arundinarieae). Considerando a grande variação estrutural, desde o ano de 1800 foram propostas cinco diferentes hipóteses para tentar definir a lígula em Poaceae, destas as mais frequentes foram: (i) lígulas como extensão do ápice da bainha, e (ii) lígula como uma região específica das folhas de gramíneas.

As análises ontogenéticas realizadas com espécies de diferentes morfologias e em distintas subfamílias corrobora a ideia de que a lígula é uma extensão do ápice da bainha foliar, uma vez que: (i) não apresenta separação na fase de primórdio foliar, (ii) apresenta uma constrição na porção superior das lígulas em estádio inicial, e (iii) a separação/individualização de fato ocorre no estádio tardio concomitante ao alongamento da bainha. Todavia, do ponto de vista morfológico pode ser considerada como uma estrutura peculiar devido apresentar diversas características com valor diagnóstico para a taxonomia de Poaceae.

Além dos aspectos morfológicos comumente descritos na literatura, observamos que a inserção da lígula na bainha pode apresentar, pelo menos, seis padrões diferentes que também poderiam auxiliar a distinguir as espécies. Tais padrões têm relação direta com a formação e crescimento da lígula. A análise morfológica também identificou, para algumas espécies, certas incongruências dos tipos de lígulas observados com o relatado na literatura, demonstrando que este caráter precisa ser verificado com mais detalhes nas espécies, inclusive para ter uma melhor compreensão da sua história evolutiva na família.

No que concerne à reconstrução do caráter ancestral das lígulas de Poaceae, com base nos dados do GrassBase, observamos que o ancestral de gramíneas apresenta homoliguladas e ciliadas; no entanto, há mudandas de estado de cárater para lígulas membranosas (predominantemente no clado BOP) com inversões pontuais no grupo. O clado PACMAD mantém a característica ancestral com reversões para o tipo membranoso, especialmente em Panicoideae. Não há uma linearidade entre as mudanças nos estados de caráter. Em Poaceae, ao contrário do que ocorre em outras famílias de monocotiledôneas, a característica de lígula ausente aparentemente é derivada. Todavia, estudos morfológicos, anatômicos e ontogenéticos de *Streptochaeta spicata* (Anomochlooideae) demostram que esta espécie não apresenta lígula evidente, nem lígula latente, caracterizando-a como lígula ausente. Esta informação, além de apresentar valor taxonômico, mostra-se com importante implicação evolutiva uma vez que pode caracterizar que o ancestral de Poaceae não apresentava lígulas (como é comum em outras Poales) e que este caráter se diversificou grandemente dentro da família, já nas primeiras linhagens.

Anatomicamente, diferente do que é comumente relatado em alguns trabalhos, as lígulas apresentam grande variação estrutural, principalmente no que se refere à(o): bordo, indumento da face abaxial e da região marginal, número de camadas do parênquima de preenchimento, presença ou ausência de espaços intercelulares no parênquima e à presença de esclerênquima e sistema vascular.

Considerando que estudos morfoanatômicos e ontogenéticos da região ligular das folhas de Poaceae ainda são incipientes, este trabalho trouxe, por meio de diferentes abordagens, uma melhor definição deste caráter na família, bem como também ampliou o conhecimento sobre a diversidade morfológica e anatômica das lígulas de gramíneas; ao mesmo tempo que corrige certas incongruências observadas na literatura. Todavia, também instigam muitas perguntas, algumas das quais estão expostas ao longo do texto, que igualmente deveriam ser respondidas o quanto antes para a melhor compreensão dessa estrutura, de modo que outros estudos acurados da lígula ainda se fazem necessário.

Biografia

Bruno Edson-Chaves nasceu em Fortaleza, Ceará, Brasil, em 18 de janeiro de 1988. Sempre gostou de explorar a natureza, tendo decidido fazer Biologia para estudar plantas ainda no início do Ensino Médio. Em 2005 ingressou no curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Ceará (UECE), tendo estagiado nos laboratórios de Carcinicultura, Botânica e Ecologia, sendo que neste último iniciou seus estudos com Anatomia ecológica em espécies de *Croton* em 2006. Em 2007, o curso "Técnicas aplicadas em Anatomia Vegetal" na XXX Reunião Nordestina de Botânica (Crato-CE) mostrou quão interessante e diversa é a Anatomia Vegetal, sendo decisivo para escolher essa linha de pesquisa como área de atuação. Graduou-se em Licenciatura (2008) e Bacharelado (2010) em Ciências Biológicas na UECE. Sua monografia, fruto dos trabalhos desenvolvidos na Iniciação Científica ao longo da graduação, teve enfoque na anatomia foliar de espécies de *Croton* da Caatinga, sob orientação do Prof. Dr. Oriel Herrera Bonilla.

Em 2010 mudou-se para Brasília-DF, onde iniciou o Mestrado em Botânica na Universidade de Brasília. Além de conhecer e explorar o Cerrado, foi apresentado à anatomia de Poaceae pela Profª. Drª. Dalva Graciano Ribeiro, que o orientou nos estudos sobre anatomia da lâmina foliar e radicular de espécies de *Saccharum* (Poaceae), tendo defendido a dissertação em julho de 2012. Em 2013, assumiu como professor substituto de Botânica do curso de licenciatura em Ciências Biológicas na UECE. Em 2016 assumiu como professor efetivo de Botânica da Faculdade de Educação, Ciências e Letras de Iguatu (FECLI), unidade da UECE no município de Iguatu-CE.

Em dezembro de 2017 iniciou o doutorado em Ciências Biológicas/Botânica na Universidade de São Paulo, enquanto continuava a ministrar aulas na UECE. Desta vez, sob orientação da Profª Drª. Gladys Flávia de A. Melo-de-Pinna, a sua pesquisa foi dedicada à compreensão das lígulas de Poaceae por meio de uma abordagem morfológica, anatômica e ontogenética. Para este estudo realizou diversas expedições para coletas de gramíneas em ambientes bem distintos do Ceará, Brasília e São Paulo. Os resultados deste trabalho estão apresentados nesta tese. Atualmente, é Coordenador do Núcleo de Especialistas em Anatomia Vegetal da Sociedade Botânica do Brasil (2021-2023), bem como também compõe a equipe organizadora do canal do YouTube AnatoEncontros e a moderação da página anatomiavegetal_sbb no Instagram.