

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
LABORATÓRIO DE ANATOMIA VEGETAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

EDUARDO KESSLER

**Esporófito de
Huperzia mandiocana (Raddi) Trevisan
(Lycopodiaceae): morfoanatomia e ontogênese**

Florianópolis, SC

2009

EDUARDO KESSLER

**Esporófito de
Huperzia mandiocana (Raddi) Trevisan
(Lycopodiaceae): morfoanatomia e ontogênese**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Dr^a: Marisa Santos

Florianópolis, SC

2009

Kessler, Eduardo

Esporófito de *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan (Lycopodiaceae):
morfoanatomia e ontogênese

52f., 70 figs.

Orientador: Dra. Marisa Santos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina,
Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica,
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

Bibliografia: f.56

1. *Huperzia mandiocana* 2. Lycopodiaceae; 3. anatomia; 4.
ontogênese; 5. esporângio; 6. esporófilo; 7. caule; 8. raiz.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer o apoio dos meus Pais, Ruy e Nadia Kessler, que sempre estão ao meu lado, em qualquer circunstância.

Agradecer a minha orientadora Dr. Marisa Santos, pelo aceite de orientação e ensinamentos na área da anatomia, bem como lições que levarei pelo resto da minha vida.

Às colegas de laboratório (Morgana, Roberta, Rafaela, Carolina) que tanto me ajudaram com as técnicas de anatomia.

Ao programa de pós-graduação em biologia vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, que proporciona uma estrutura adequada ao trabalho científico.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de estudos oferecida, que ajudou bastante em determinados momentos.

Ao Dr. João de Deus Medeiros meu primeiro orientador, que me apresentou a espécies deste estudo, mas por motivos profissionais teve que abandonar a orientação deste trabalho.

A todos os amigos que nesta caminhada me apoiaram de alguma forma, seja estudando ou aproveitando o que esta ilha pode oferecer.

A minha mulher Graziela De Quadros Menegon que durante este último ano me deu apoio e força para que este trabalho fosse finalizado, e também me dará a maior dádiva deste mundo.

RESUMO

Lycopodiaceae inclui quatro gêneros, *Huperzia* distingue-se dos outros três gêneros por apresentar, entre outras características, caules ramificados isotomicamente e esporofilos semelhantes às folhas vegetativas. *Huperzia mandiocana* é uma epífita ocorrente nas florestas dos Estados da Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, bem como no Paraguai e Norte da Argentina, em altitudes entre 200-1000 m, com as menores altitudes na parte Sul da área de ocorrência junto ao domínio da Mata Atlântica. Na literatura não há registro sobre aspectos morfoanatômicos do esporófito (caule, raiz, esporofilo e esporângio) de *H. mandiocana*, assim este é o objetivo do presente estudo, incluindo também dados sobre ontogênese. Esporófitos de *H. mandiocana* foram coletados no Morro do Caçador (Florianópolis, Santa Catarina, Brasil), entre as coordenadas 753991 – 6959613 e 754450 – 6959380 UTM (Lat. 27° 27'30" e Long. 48°25'30"), sendo utilizadas caule, raiz, esporofilos e esporângios em distintas fases de desenvolvimento. O esporófito é ereto e fixa-se ao tronco do forófito por raízes adventícias. O ápice caulinar é formado por túnica e corpo que originam tecidos constituintes dos esporofilos e esporângios. A túnica forma o tecido de revestimento destas duas estruturas, mas também origina tecidos clorofilados dos esporofilos e todos os tecidos esporangiais. O corpo origina o tecido provascular e o meristema fundamental, que formam os tecidos vasculares do caule e esporofilos, o córtex caulinar e o parênquima perivascular do esporofilo, respectivamente. As raízes têm origem no periciclo caulinar e seguem, no sentido basípeto, através do córtex paralelamente ao estelo, emergem em tufos na base caulinar. Estas raízes, além da absorção, servem para sustentar o caule ereto, pois são constituídas por abundante tecido esclerenquimático. A espécie é microfila tem uma só nervura e não é ramificada; é isofila, há apenas um tipo de folha (esporofilo), na base da qual está o esporângio. O esporofilo é hipoestomático, com estômatos anomocíticos; a epiderme é uniestratificada, com cutícula espessa. O mesofilo é constituído por clorênquima, com células lobadas, e parênquima aclorofilado. O esporângio origina-se da túnica e quando maduro é reniforme, constituído por epiderme, com paredes espessadas, endotécio, tapete e um único lóculo contendo esporos triletes e de superfície ornamentada.

ABSTRACT

Lycopodiaceae includes four genera, *Huperzia* distinguishes itself from the other three genera, among other features, because stems is branched and isotonic sporophyll similar to vegetative leaves. *Huperzia mandiocana* is an epiphyte occurring in the forests from Bahia, Minas Gerais, Sao Paulo, Rio de Janeiro, Parana, Santa Catarina, Rio Grande do Sul States, as well as in Paraguay and northern Argentina. It is located at altitudes between 200-1000 m, with the lowest altitudes in the southern area of occurrence along the Atlantic Forest domain. There are no published records on anatomical features of *H. mandiocana* sporophyte (stem, root, leaf and sporangium), so this is the purpose of this study, including also data on ontogeny. *Huperzia mandiocana* sporophytes were collected at the “Morro do Caçador” (Florianópolis, Santa Catarina, Brazil), between coordinates 753,991 to 6,959,613 and 754,450 to 6,959,380 UTM (Lat. 27 ° 27 '30 "and Long. 48 ° 25' 30") and the shoot, root, sporophyll and sporangia in various development stages were analysed. The sporophyte is straight and it is fixed upon the trunk of the host tree by adventitious roots. The shoot apex consists of tunica and corpus, originating tissues of sporophyll and sporangium. The tunica forms the outermost tissue of these two structures, but also creates chlorophyllous tissues of sporophyll and all sporangia tissues. The corpus originates provascular and ground meristem, which forms the vascular tissues of stem and sporophyll, the stem cortical parenchyma and perivascular parenchyma. The roots are originated from pericycle in the stem and they followed in the basipetal direction through the cortex parallelly to the stele and they emerge in tufts at the base stem. Besides to absorption, these roots also to sustain the stem erect, they are composed of abundant sclerenchyma. The species is isophily, only one type of leaf (sporophyll) and sporangium is on its basis; sporophyll have only one rib, without branches. The sporophyll is hypostomatic and stomata anomocytic, the epidermis is uniseriate and the cuticle is thick. The mesophyll is consisted of lobed chlorenchyma cells and ground parenchyma. The mature sporangium arises from tunica and is kidney-shaped; it is constituted of epidermis, with thick walls, endotecium, tapetum and only one locule that containing trilete spores and ornamented surface.

SUMÁRIO

| | |
|---|------------|
| AGRADECIMENTOS | III |
| AGRADECIMENTOS | IV |
| RESUMO | V |
| ABSTRACT | VI |
| INTRODUÇÃO | 1 |
| OBJETIVOS | 5 |
| 1. OBJETIVO GERAL | 5 |
| 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 5 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 6 |
| 1. ÁREA DE ESTUDO..... | 6 |
| 2. MATERIAL DE ESTUDO..... | 6 |
| 3. PREPARAÇÃO DO MATERIAL E PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE | 6 |
| 3.1. Estudo qualitativo em Microscopia Óptica | 6 |
| 3.1.1. Preparação de lâminas temporárias e semipermanentes | 7 |
| 3.1.2. Preparação de lâminas permanentes | 7 |
| 3.2. Estudo qualitativo em Microscopia Eletrônica de Varredura..... | 8 |
| 3.3. Estudos quantitativos | 8 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 9 |
| 1. CAULE | 9 |
| 2. RAIZ..... | 14 |
| 3. ESPOROFILO | 17 |
| 3.1. Lâmina foliar..... | 19 |
| 3.2. Bainha foliar | 21 |
| 4. ESPORÂNGIO | 21 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 24 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 25 |
| Legendas | 29 |

INTRODUÇÃO

A denominação Pteridophyta (do Grego: *pteris* – asa, pena; *phyton* – vegetal), representando uma divisão dentro das plantas vasculares, vem caindo em desuso nos últimos anos devido a estudos realizados sobre sua filogenia, que apontam para a evolução distinta de seus grupos (Pryer *et al.*, 2004). Segundo Pryer *et al.* (2004), as pteridófitas apresentam duas linhagens evolutivas distintas chamadas Lycophyta e Monilophyta. Estes estudos revelaram uma dicotomia basal dentro das plantas vasculares, separando o grupo das Lycophyta (Selaginellales, Lycopodiales e Isoetales) das demais plantas vasculares (Euphyllophyta), estas últimas reunindo as Monilophytes (Psilotopsida, Equisetopsida, Marattiopsida e Polypodiopsida) às Spermatophyta. Smith *et al.* (2006) advertem, em seus estudos sobre Monilophyta (samambaias), que Monilophyta não é uma categoria taxonômica validamente publicada e que as plantas vasculares (Tracheophytas) compreendem as Euphyllophyta (samambaias e plantas com sementes) e Lycophyta. Portanto, como referem Nobrega & Prado (2008), não há nomes válidos para designar os dois grupos de pteridófitas. Por esta razão, acrescida do fato de que as abordagens estruturais encontradas na literatura sobre pteridófitas, incluem samambaias e licopodiaceas, neste trabalho, será utilizado o termo Pteridophyta.

Devido às adaptações, as pteridófitas puderam manter-se em grande variedade de ambientes, ocorrendo nas mais diversas regiões da Terra, dos trópicos até próximo dos círculos polares (Page 1979). As pteridófitas, Steffens & Windisch (1997) podem se apresentar sob forma de vida terrícolas ou epífíticas. De La Sota (1971) distingue as pteridófitas em terrestres e dois tipos de epífíticas, hemiepífíticas e holoepífíticas. Conforme o autor, as terrestres são aquelas com crescimento e sustentação independente, crescendo a partir do solo. Já, entre as epífíticas, há as hemiepífíticas que se fixam sobre outras plantas, mas que retiram os nutrientes e a água do solo, e as holoepífíticas que se fixam sobre outras plantas (forófitos) ou rochas (rupícolas), ali desenvolvendo todo seu ciclo de vida, inclusive retirando da superfície do forófito os nutrientes e água necessários para a sua manutenção.

Os epífitos vasculares são classificados, por Benzing (1989, 1990), em cinco formas diferentes: quanto à relação destes com o hospedeiro, ao hábito de crescimento, ao requerimento hídrico, à necessidade fótica e ao tipo de substrato. Borgo (2002) salienta que a interação entre o epífito e o forófito depende das adaptações morfofisiológicas do

primeiro, tendo em vista a limitação da disponibilidade de nutrientes, água e até mesmo substrato a que está sujeito. Estas estratégias resultam em predominância dos holoepífitos na Floresta Ombrófila Mista, como constatado por Hefler & Faustioni (2004) em levantamento florístico de epífitos vasculares. Ainda, com relação às formas de vida de espécies de pteridófitas, Fernandes *et al.* (2007) observaram epífitas, geófitas, hemicroptófitas, volúveis e heliófitas.

No Brasil, as pteridófitas podem ser encontradas em situações sub-desérticas (caatingas), ambientes salinos (manguezais), florestas pluviais tropicais (planície amazônica) e pluviais de encosta, junto à porção leste do país (Windisch 1992). O autor ainda ressalta que a utilização comercial das pteridófitas é ainda bastante insipiente, sendo que as mais conhecidas são: como plantas ornamentais (*Adiantum* spp., conhecidas como avencas), medicinais (*Lycopodium* spp.), como fonte de alimento (*Matteucia struthiopteris* (L.) Tod., *Ceratopteris* Brongn., *Pteridium aquilinum* (L.) Khun), substrato para cultivo de outras plantas, especialmente de orquídeas (*Dicksonia sellowiana* Hook. e espécies de *Trichipteris* C. Presl, o popular xaxim).

Dentro das licófitas está a família das Lycopodiaceae, que inclui o gênero *Huperzia* Bernh. A maioria dos estudos em Lycopodiaceae teve cunho taxonômico, como os de Wilce (1972), Øllgaard (1975), Rolleri (1975), Bruce (1976), Tryon & Lugardon (1991) e Tryon & Tryon (1982), tendo grande relevância a descrição morfoanatômica, especialmente das folhas. As folhas de Lycopodiaceae, como nas demais Lycopsidea (Selaginellaceae e Isoetaceae), são do tipo microfila (folhas com apenas um feixe vascular e sem ramificações), com esporângio na superfície adaxial do esporófilo (Gifford & Foster 1989).

Lycopodiaceae inclui quatro gêneros, *Huperzia* Bernh., *Lycopodiella* Holub., *Lycopodium* Kunze e *Phylloglossum* Kunze, cosmopolitas, com exceção de *Phylloglossum*, este restrito ao Sudoeste da Austrália, Nova Zelândia e Tasmânia (Hackney 1950, Øllgaard 1987). No Brasil ocorrem 52 espécies de Lycopodiaceae, entre os quais 38 de *Huperzia*, 11 de *Lycopodiella* e 4 de *Lycopodium* (Øllgaard & Windisch 1987). Øllgaard (1987) salienta que *Huperzia* é o gênero mais representativo, com cerca de 300 espécies, de um total de aproximadamente 500 espécies da família. *Huperzia* distingue-se dos outros três gêneros por apresentar, entre outras características, caules ramificados isotomicamente e esporófilos (com esporângios axilares) semelhantes às folhas vegetativas; nos outros gêneros os caules são ramificados anisotomicamente e os esporófilos são distintos das

folhas vegetativas, sendo profundamente modificados e com estróbilos terminais compactos (Øllgaard & Windisch 1987). Øllgaard (1987) reúne espécies de *Huperzia* em distintos grupos de acordo com a homofilia ou heterofilia. Este é o único gênero de Lycopodiaceae ainda dividido em grupos informais e com espécies pouco definidas (Øllgaard 1987), além de ser também o único gênero da família com espécies epifíticas, além das terrestres (Øllgaard 1996).

Huperzia, conforme Øllgaard (1996) é peculiar pela alta porcentagem de endemismo. O autor menciona que 73% das espécies encontradas nos Andes e 68% das espécies no Brasil são endêmicas. Øllgaard & Windisch (1987) referem que a maioria das espécies endêmicas está concentrada nas florestas úmidas e montanhas elevadas na região sudeste do Brasil, salientando ainda que extensas áreas da planície amazônica são pobres em representantes deste gênero, provavelmente devido à ocorrência passada de períodos marcadamente secos. A morfoanatomia dos esporófitos de espécies de *Huperzia*, com objetivos taxonômicos, foi investigada por Pita *et al.* (2006a, 2006b), abrangendo dez espécies brasileiras (sete endêmicas). Porém, neste estudo, os autores não incluem *H. mandiocana*.

Huperzia mandiocana é uma Lycopodiaceae epífita ocorrente nas florestas dos Estados da Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, bem como no Paraguai e Norte da Argentina, localizada em altitudes entre 200-1000 m, com as menores altitudes na parte sul da área de ocorrência junto ao domínio da Mata Atlântica (Øllgaard & Windisch 1987). Esta espécie possui diversas sinonímias: *Lycopodium mandiocanum* Raddi, *Urostachys mandiocanum* (Raddi) Herter, *Lycopodium mandiocanum* Raddi var. *brasiliense* Spring, *Lycopodium dichotomum* Jacq. var. *mandiocanum* (Raddi) Rosenst., *Urostachys mandiocanus* (Raddi) Nessel var. *brasiliensis* (Spring) Nessel, *Lycopodium pseudo-mandiocanum* Herter, *Urostachys pseudo-mandiocanums* (Herter) Nessel (Øllgaard & Windisch 1987).

Nas pteridófitas, exceto nas mais primitivas, comenta Ogura (1972), os órgãos vegetativos (caule, folha e raiz) são distintos não só por sua morfologia externa, mas também por sua estrutura anatômica; os órgãos reprodutivos são representados por esporângios situados geralmente nas folhas, ou esporofilos, que podem ser diferentes dos tropofilos. Pita *et al.* (2006b), em estudo sobre anatomia de raiz e caule de *Huperzia*, concluem que as espécies apresentam características muito peculiares, o que representa grande potencial para a delimitação específica no gênero.

Além de estudos sobre anatomia dos órgãos do esporófito associados à identificação taxonômica, outros têm abordado o desenvolvimento dos esporófitos de pteridófitas, incluindo discussões sobre os meristemas apicais e derivação de tecidos definitivos. A partir da segunda metade do século XX, conforme White & Turner (1995), investigações referentes ao desenvolvimento anatômico das pteridófitas têm alterado conceitos tradicionais. Estas pesquisas concentraram-se mais nos processos de desenvolvimento dos meristemas apicais da parte aérea e raiz e formação e diferenciação dos tecidos derivados. Os autores ressaltam que, nas pteridófitas, era senso comum que possuem células iniciais apicais únicas no ápice dos caules, raízes e esporofilos; entretanto, nas décadas de 1960 e 1970, alguns estudos sobre o papel da célula apical no desenvolvimento da parte aérea e raiz resultaram em grandes controvérsias na anatomia deste grupo nas décadas mais recentes.

Na literatura não há registro sobre aspectos morfoanatômicos do esporófito (caule, raiz, esporofilo e esporângio) de *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan – Lycopodiaceae, assim este é o objetivo do presente estudo, incluindo também dados sobre ontogênese.

OBJETIVOS

1. Objetivo geral

Caracterizar morfoanatomicamente as estruturas constituintes do esporófito (caule, raiz, esporofilo e esporângio) de *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan – Lycopodiaceae.

2. Objetivos específicos

- Descrever as características morfológicas e anatômicas de caule, raiz, esporofilo e esporângios esporófito de *H. mandiocana*.
- Investigar a origem dos tecidos constituintes dos órgãos do esporófito.
- Relacionar os resultados com outras espécies de *Huperzia* e Lycopodiaceae.
- Relacionar as características estruturais observadas com a forma de vida epifítica.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Área de estudo

O material botânico utilizado foi coletado no Morro do Caçador (Fig. 1-3), localizado no município de Florianópolis (Santa Catarina, Brasil), entre as coordenadas 753991 – 6959613 e 754450 – 6959380 UTM (Lat. 27° 27'30" e Long. 48°25'30"). A cobertura florestal é caracterizada por floresta ombrófila densa, e apresenta altitude máxima de 384 metros. O clima na região, conforme a classificação de Köppen é do tipo Cfa mesotérmico de verão quente (média dos meses mais quentes acima de 22°C), o solo é cambissolo álico Tb A (Embrapa 1984).

2. Material de estudo

Para o estudo foram utilizados as raízes, os caules, os esporofilos e os esporângios do esporófito de *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan – Lycopodiaceae (Fig. 4). Exsiccatas do material botânico foram incorporadas à coleção do Herbário FLOR, do Departamento de Botânica da UFSC. Além das amostras que foram processadas para estudo microscópico, alguns exemplares da espécie foram cultivados em casa de vegetação do Departamento de Botânica da UFSC.

3. Preparação do Material e Procedimentos de Análise

3.1. Estudo qualitativo em Microscopia Óptica

Os esporofilos foram seccionados paradérmica, transversal e longitudinalmente. Secções em diferentes orientações foram feitas em esporângios em vários estádios de desenvolvimento. As raízes e o caule foram seccionados transversal e longitudinalmente, em regiões apicais e em média de 3 centímetros distantes do ápice, onde os tecidos devem estar totalmente diferenciados. As partes basais do caule também foram seccionadas.

Foram preparadas lâminas temporárias, semipermanentes e permanentes.

As observações foram feitas em microscópio óptico, marca Zeiss-Jena, modelo Loboal 4 e as representações esquemáticas foram realizadas com auxílio de câmara clara

acoplada ao mesmo microscópio. Imagens macroscópicas foram capturadas com câmara digital Sony P92, que também serviu para capturar imagens em microscópio óptico Leica MPS 30 DMLS, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC.

3.1.1. Preparação de lâminas temporárias e semipermanentes

Foram feitas secções à mão-livre nas amostras *in vivo*, com auxílio de lâmina de barbear, para confecção de lâminas temporárias, com água, e semipermanentes, com gelatina-glicerinada (Kaiser 1880, *apud* Kraus & Arduin 1997). Estas amostras foram utilizadas para análise dos tecidos *in vivo* e aplicação de testes histoquímicos.

Os testes histoquímicos foram realizados para a detecção da natureza química das estruturas e substâncias de reserva. Foram utilizados: reativo de Steimetz original, para identificação de suberina, lignina, cutina, celulose, mucilagem, amido e compostos fenólicos (Costa 1982); Sudan IV, para detecção de óleos e cutina (Costa 1982); floroglucinol acidificado, para detecção de lignina (Costa 1982); tionina, para detecção de mucilagem (Purvis *et al.* 1964, *apud* Kraus & Arduin 1997).

3.1.2. Preparação de lâminas permanentes

Amostras do material coletado foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas. Em seguida o material foi lavado, por três vezes, em tampão fosfato de sódio e desidratado em série etílica gradual. Após a desidratação as amostras foram infiltradas em parafina e/ou hidroxietilmetacrilato.

Para infiltração em hidroxietilmetacrilato (Jung's Historesin – marca Leica), o material foi desidratado até etanol 96^oGL, mantido por pelo menos 12 horas em solução de pré-infiltração e 2 horas em solução de infiltração, e posteriormente foram montados blocos utilizando a solução endurecedora, conforme instruções do fabricante. Os blocos, contendo o material, foram seccionados com 5 µm de espessura, em micrótomo de rotação Leica — RM 2125 RT. As secções foram serão distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (40°C). Após a secagem das lâminas, o material foi corado com azul de toluidina 0,25% aquoso (Ruzin 1999) ou com Fuccina Básica e Azul de Astra (Alquini & Brito 1996).

3.2. Estudo qualitativo em Microscopia Eletrônica de Varredura

Amostras fixadas e desidratadas, conforme descrito no item 3.1.2, foram imersas em hexametildesilane (HMDS), por ½ hora, como meio substitutivo de ponto crítico de CO₂, que pelo processo de sublimação reduz a tensão superficial, evitando o colapso das estruturas (Bozzola & Russel 1991). As amostras secas foram aderidas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador marca Baltec, modelo CED030. As amostras foram observadas e documentadas em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol JSM-6390LV.

3.3. Estudos quantitativos

Para obter informações sobre a morfologia externa da planta foram feitas medidas, para quantificar tamanho médio de 15 râmulos de *H. mandiocana*, da base até o ápice (excluindo as raízes), o tamanho médio de 15 lâminas foliares na porção média do râmulo e 15 lâminas foliares na porção apical do râmulo, diâmetro médio de 15 râmulos na sua porção média. Para as medições foram utilizados uma régua milimetrada e paquímetro.

Foi determinado o número mínimo amostral pela equação $n = (t^2 \cdot s^2) \cdot d^{-2}$, onde “t” é dado pela tabela de Student (considerando n-1, para significância de 0,05), “s” é o desvio padrão e “d” é igual a E/100.média, onde E=10 para 10% de probabilidade, valor considerado satisfatório (Sokal & Rohlf 1969).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Huperzia mandiocana (Lycopodiaceae) ocorre sobre troncos de árvores (Fig. 04), no interior da floresta, caracterizando-se, portanto, como epífita. De acordo com Wikström *et al.* (1999) esta é uma espécie do grupo neotropical e epifítica. A análise filogenética de *Huperzia*, conforme estes autores, revelou a origem do epifitismo, entre muitas espécies, e a múltipla reversão ao hábitat terrestre nas neotropicais. A dominância das árvores angiospermas nos trópicos úmidos comenta Benzing (1990), teve um grande impacto na evolução do epifitismo, pois estas árvores promoveram uma plataforma para as epífitas e as copas forneceram taxas de luz e umidade que encorajaram a colonização por ampla variedade de plantas. Benzing (1990) ainda esclarece que a copa ampla e frondosa reduz a qualidade e intensidade de luz que chega ao solo da floresta, fato que Wikström *et al.* (1999) argumentam que foi determinante para a migração de ambiente terrestre para epifítico entre espécies de Lycopodiaceae. Øllgard (1995) comenta que entre espécies de *Huperzia* neotropicais, o maior sombreamento do solo em estratos inferiores exclui espécies terrestres, exceto em situações de declives, clareiras ou estradas abertas que possibilitam a chegada de luz. A evolução da vegetação, dominada pelas árvores de angiospermas nos trópicos teve um efeito negativo na diversidade de espécies terrestres de *Huperzia*, porém pela colonização da copa, as espécies epífitas foram capazes de diversificar-se e alastrar-se em florestas de baixo e médio porte (Wikström *et al.* 1999).

Entre as espécies de *Huperzia*, muitas são pendentes, mas também há algumas eretas ou ascendentes (Wikström *et al.* 1999). O esporófito de *H. mandiocana* é ereto (Fig. 04), com $17,03 \pm 2,95$ cm de altura, fixando-se ao tronco do forófito por grande quantidade de raízes adventícias que exteriorizam na porção mais basal do caule, a qual geralmente mostra-se paralela ao substrato. Os caules apresentam dicotomizações (Fig. 05), que podem ser numerosas, e são cobertos em toda a extensão por esporofilos imbricados de disposição espiralada.

1. CAULE

No ápice dos ramos de *H. mandiocana* (Fig. 06) evidencia-se uma maior concentração de esporofilos, as quais no sentido acrópeto mostram-se ainda na fase primordial. Estes primórdios foliares (acompanhados dos primórdios esporangiais)

contornam uma cúpula apical (Fig. 07-09), constituída por células iniciais indiferenciadas (Fig. 09-10).

Os primeiros estudos sobre anatomia e morfologia de pteridófitas, conforme relatam White & Turner (1995) começaram na Europa e Estados Unidos, no século XIX e início do século XX, com significativos avanços para compreender a organização e funcionamento dos meristemas dos esporófitos. Posteriormente, a discussão focalizou-se na interpretação das atividades das células apicais do caule. Esta tradicional interpretação considerava que as células eram somente iniciais e todas as demais células do meristema caulinar eram derivadas (Bierhost 1977). Porém, esta visão mudou quando estudos indicaram que estas células eram mitoticamente inativas, em alguns casos isto era interpretado como poliploidia, não tendo função inicial de origem das células meristemáticas, mas com papel regulador (White 1971, Gifford 1983). O estudo da organização citológica do ápice do caule levou a redução do foco nas células apicais e uma maior ênfase na zona meristemática como um todo (McAlpin & White 1974). Descrições do padrão histológico, visto nas secções do ápice caulinar de pteridófitas, com célula apical quiescente, possibilitam comparações com zonas meristemáticas de gimnospermas e angiospermas, ou seja, com zona quiescente multicelular de ápices caulinares de caule e raiz das plantas com sementes (McAlpin & White 1974, Stevenson 1976a, 1976b, 1978). Bierhorst (1977) rejeitou tais interpretações de revisão do ápice do caule e confirmou a visão tradicional. Provavelmente, comentam White & Turner (1995), a evidência mais convincente do conceito tradicional, diz respeito a linhagem das células, uma vez que secções do ápice mostram grupos celulares reconhecíveis como meristemas e cada grupo é o produto da derivação simples das células apicais. Estes autores ainda acrescentam que o arranjo destes segmentos em espiral indica uma regular seqüência de divisões.

Hebant-Mauri (1993) analisou diversos padrões estruturais em ápices caulinares de pteridófitas, embasando-se em secções longitudinais, e esclarece que há dois tipos, um côncavo e outro convexo. O tipo côncavo tem um meristema diferenciado no centro formando uma depressão e é característico em plantas com caule espesso, com crescimento lento e filotaxia espiralada definida. O tipo convexo tende a caracterizar caules com crescimento rápido e filotaxia indefinida. Neste tipo há uma protuberância arredondada, porém com delineamento relativamente menor que no tipo côncavo, o qual tende a ser maior e composto por mais células.

Em *Huperzia mandiocana*, como referido anteriormente, ocorre constituição histológica correspondendo ao tipo convexo (Fig. 09), composto por várias células iniciais, porém a filotaxia nesta espécie é definida, do tipo espiralada. Beck (2005) comenta que os ápices das Lycopodiaceae diferem do grupo das pteridófitas por apresentarem um aglomerado de células indiferenciadas formando uma cúpula no ápice do caule. O autor ainda acrescenta que este é um grupo em que as células iniciais apicais são semelhantes e de difícil distinção quanto ao formato e ao tamanho das células. Na espécie aqui estudada, verifica-se esta variação no formato e tamanho das células meristemáticas da cúpula apical (Fig. 11 e 12).

Esta falta de células apicais distintas sugere que o meristema apical com e sem células apicais diferenciadas reflete duas linhas evolutivas distintas (Philipson 1990). White & Turner (1995) afirmam que a estrutura básica e o desenvolvimento similar compartilhado por todos os ápices das plantas vasculares, refletem uma origem filogenética comum. Os ápices caulinares de Lycopodiaceae e de plantas com sementes são semelhantes, sendo denominados de células apicais iniciais múltiplas; as samambaias leptosporangiadas apresentam célula apical única, formando pirâmide cônica invertida (Ogura 1972, Imachi & Hiratsuka 2007). Evolutivamente, o ápice caulinar é considerado mais primitivo quando apresenta o tipo formado por célula apical única, a qual é precursora da linhagem de células apicais múltiplas, tipo este característico das plantas com sementes (Kato & Imachi 1997). Porém, Imachi & Hiratsuka (2007) explica que as Lycopodiaceae podem ter desenvolvido células apicais múltiplas independentes da relação evolucionária com as plantas com sementes, pois esta é uma família mais primitiva do que as leptosporangiadas.

A análise de sucessivas secções transversais e longitudinais do ápice caulinar de *H. mandiocana* revelou que estas múltiplas células apicais iniciais, através de sucessivas mitoses determinam a distinção entre um estrato celular periférico, correspondendo a túnica ou protoderme e estratos mais internos correspondendo ao corpo ou promeristema (Fig. 11). Mauseth (1988) e Rinner & Van de Shoot (1998) referem que as células da protoderme caracterizam-se por sofrer divisões exclusivamente anticlinais, o que determina a manutenção de um único estrato celular, enquanto as células meristemáticas internas sofrem divisões em diversos planos, embora algumas células mais periféricas formem vários estratos paralelos à protoderme. Entretanto, o tecido periférico também pode sofrer divisões periclinais formando vários estratos, sendo que apenas a camada mais externa irá

constituir a protoderme (Beck 2005, Evert & Eichhorn 2006). Estes autores mencionam isto para Angiospermas, mas em *H. mandiocana* constata-se a ocorrência de divisões periclinais da túnica, formado vários estratos paralelos e externos ao corpo (Fig. 13). Além, das divisões anticlinais das células iniciais da cúpula, no estrato periférico (túnica), ocorrem divisões periclinais determinando a formação de um segundo estrato, estas células por novas divisões periclinais e originam novos estratos nas regiões laterais da cúpula, os quais irão constituir a epiderme e tecidos subepidérmicos dos primórdios foliares e esporângios (Fig. 13, 14). As células iniciais do corpo, correspondendo ao promeristema, sofrem divisões em vários planos (Fig. 14); no sentido basípeto, gradualmente, diferenciam-se em células procambiais (tecido provascular), as quais originam os tecidos vasculares, e células precursoras (meristema fundamental) dos tecidos corticais do caule.

De acordo com Ogura (1972), o crescimento, nas pteridófitas, a partir de células apicais ou iniciais, constituindo o promeristema, consiste de células semelhantes e pouco diferenciadas que são capazes de produzir novas células, determinando zonas de diferenciação. Hanstein (1968, *apud* Ogura 1972) descreveu como dermatógeno, periblema e pleroma, aqueles tecidos chamados por Esau (1959) como protoderme, procambio e meristema fundamental. Por outro lado, Schmidt (1924, *apud* Ogura 1972) apresentou a teoria túnica-corpo para Angiospermas, sendo que a túnica é uma zona periférica que divide-se periclinamente e o corpo forma a parte central. Ogura (1972) ressalta que esta teoria foi investigada e criticada por muito autores que afirmaram que seria adequada para Angiospermas, porém não para Pteridófitas, embora tenha sido constatada a existência de estrutura túnica-corpo em *Stylites* Amstutz (Isoetaceae), por Rauch & Falk (1959, *apud* Ogura 1972). White & Turner (1995) reconhecem que possa ser considerado, para pteridófitas, o dermatógeno como túnica e o pleroma (procâmbio) e o periblema (meristema fundamental) como componentes do corpo. Imaichi & Hiratsuka (2007) encontraram similaridade entre Lycopodiaceae e plantas com sementes ao investigar os plasmodesmos nos ápices meristemáticos caulinares. Conforme dados apresentados acima, referentes a espécie em estudo, em *H. mandiocana* é mais adequado referir as denominações túnica-corpo, considerando-se assim que a túnica origina não apenas a protoderme, mas também tecidos definitivos internos a esta (esporofilos e esporângios – assunto que será abordado posteriormente), e o corpo, inicialmente indistinto, similar ao que tem sido conceituado como promeristema, determinado a formação do procâmbio e meristema fundamental, que originam o estelo e o córtex caulinar.

Do ápice caulinar em direção a base, gradualmente, os tecidos meristemáticos (Fig. 15-16) vão originando os tecidos definitivos do corpo da planta (Fig. 17-18). O tecido provascular ou procâmbio (Fig. 16) é um cilindro compacto, ou seja, sem presença de meristema fundamental internamente, originando assim um estelo destituído de medula, do tipo protostelo (Fig. 18). As células provasculares (Fig. 16) diferenciam-se constituindo placas de elementos xilemáticos intercaladas por elementos floemáticos (Fig. 18), caracterizando um típico plectostelo. Pita *et al.* (2006b), investigando o estelo em espécies de *Huperzia*, constataram que a maioria das espécies apresentava o tipo plectostelo. O estelo em *H. mandiocana* é exarco, com protoxilema em posição mais externa e metaxilema mais interno, tal como foi evidenciado por Pita *et al.* (2006b) para outras espécies de *Huperzia*.

O meristema fundamental (Fig. 15-16) origina os tecidos corticais (Fig. 17-18). No córtex ocorre um parênquima fundamental, constituído por células de paredes delgadas, no qual ocorrem muitos traços foliares (Fig. 17-19) em posicionamentos variados, quanto ao distanciamento do estelo, revelando, assim, a filotaxia espiralada. A endoderme, mesmo em regiões já distantes do ápice, quando o estelo já está constituído por tecidos definitivos, ainda mostra-se pouco evidente e com características meristemáticas (Fig. 18), entretanto, no sentido basípeto, pode ser reconhecida pela presença de espessamento em forma de "U" (Fig. 19).

A ocorrência da endoderme em Lycopodiaceae é um tanto controversa. Enquanto alguns afirmam sua presença (Stokey 1907, Hackney 1950, Rolleri 1972), mesmo sem distinguir-se de outras camadas do córtex (Tourssarkissian 1971), outros não a observaram (Sporne 1966, Ogura 1972). Segundo Sporne (1966) e Ogura (1972), em geral, não se observa a endoderme, mas em caules mais jovens o arranjo regular possibilita identificá-la, porém mais tarde esta característica se perde devido à lignificação de camadas mais internas do córtex. Lignificação nas células corticais do caule de Lycopodiaceae foi observada por Sporne (1966), Tourssarkissian (1971), Ogura (1972), Rolleri (1972) e Øllgaard (1979), mas somente em *Lycopodiella* e *Lycopodium*; nas espécies de *Huperzia* por eles analisadas, o córtex é formado somente por células parenquimáticas, portadoras de paredes primárias. Em um estudo filogenético de Lycopodiaceae, Kenrick & Crane (1997) utilizaram a ausência de lignificação das células corticais, entre outras características, para delimitar *Huperzia*. Pita *et al.* (2006b) constataram tecidos corticais lignificados em diversas espécies de *Huperzia*. O córtex de *H. mandiocana* é constituído por células

parenquimáticas, exceto em regiões basais, onde próximo as raízes corticais ocorrem células com paredes espessadas (Fig. 20) e a endoderme é distinta em regiões medianas à basais, sendo diferenciada mais tardiamente que o restante do córtex e o estelo.

As bases foliares (bainhas) são decorrentes com o caule (Fig. 17, 21), assim o parênquima cortical é contínuo com o mesófilo e o tecido de revestimento corresponde à epiderme que reveste os esporófilos (Fig. 22). Pita *et al.* (2006b) registram este aspecto para algumas das espécies de *Huperzia* analisadas.

Destaca-se ainda, na região média (abaixo da primeira dicotomia, sentido ápice-base) e basal do caule, a presença de raízes intracorticais (Fig. 23), o que será tratado no próximo item.

2. RAIZ

No esporófito desenvolvido de *H. mandiocana* as raízes são adventícias, as quais originam-se no periciclo caulinar e seguem, no sentido basípeto, através do córtex paralelamente ao estelo (Fig. 24). A densidade destas aumenta no sentido região média (Fig. 25) para a base (Fig. 26) e emergem em tufos na região basal do caule (Fig. 27). A ocorrência de raízes no córtex do caule foi citada pela primeira vez por Strasburger (1873 *apud* Stokey 1907) e foram denominadas de raízes internas. Neste trabalho, são chamadas de porções corticais da raiz, por ser um termo mais preciso, considerando a sua localização. Raízes intracaulinares foram citadas por Tomlinson (1969), para bromeliáceas e posteriormente por Ogura (1972), para pteridófitas. Øllgaard & Windisch (1987) e Pita *et al.* (2006b) relatam que em *Huperzia* ocorre presença de raízes percorrendo o córtex paralelamente ao estelo e emergindo em tufos basais. De acordo com Stokey (1907), as porções corticais das raízes estão associadas ao hábito ereto destas plantas, tanto terrestres quanto epífitas, auxiliando na sustentação. Ogura (1972) ainda acrescenta que nas pteridófitas as raízes que seguem pelo tecido fundamental do caule e formam um manto basal, servem não somente para absorção, mas também para apoiar caules eretos. Assim, o posicionamento ereto do caule de *H. mandiocana* deve ser favorecido pela presença destas raízes que, devido à constituição de amplo tecido esclerenquimático cortical, forma colunas de sustentação no córtex caulinar.

O tufo basal de raízes adventícias que emerge na base caulinar (Fig. 27) determina a formação de substrato rico em matéria orgânica que facilita a retenção e absorção de nutrientes e água, o que proporciona uma vantagem ao hábito epífito de *H. mandiocana*.

Anatomicamente as raízes da espécie são constituídas por epiderme, tecidos corticais e estelo. A epiderme, provida de pêlos radiculares (Fig. 28-31), só está presente em raízes externas. Regiões das raízes em contato direto com os tecidos corticais (Fig. 28 e 32) são destituídas de epiderme, ficando o tecido cortical da raiz em contato direto com o tecido cortical do caule. Stokey (1907) refere que os pêlos absorventes só são formados nas raízes externas. A epiderme é uniestratificada, sendo formada por células longas e curtas (Fig. 30-31). As células curtas alongam-se perpendicularmente a superfície do órgão (Fig. 30-31), formando longos pêlos radiculares. Conforme Ogura (1972) há dois tipos de desenvolvimento de pêlos radiculares, um deles é aquele em que as células epidérmicas em geral alongam-se, como ocorre na maioria das espécies; no outro tipo, encontrado em alguns gêneros, entre eles *Lycopodium*, há células epidérmicas longas e curtas, estas últimas, os tricoblastos, é que originam os pêlos radiculares.

Em *H. mandiocana*, algumas vezes, podem ser observados pêlos radiculares duplos (Fig. 31). Sporne (1966) já havia relatado que a formação de pêlos duplos é comum em Lycopodiaceae. A ocorrência destas estruturas foi citada para outras espécies de *Huperzia*, como em *Lycopodium pithyoides* Schldl. & Cham. (= *H. pithyoides* (Schldl. & Cham.) Holub), por Stokey (1907) e em outro gênero, *Lycopodiella*, *Lycopodium carolinianum* L. (= *Lycopodiella caroliniana* (L.) Pic.-Serm.), por Bruce (1976). Segundo Stokey (1907) e Bruce (1976), a formação dos pêlos radiculares duplos, com uma célula basal comum, ocorre por divisão longitudinal dos tricoblastos.

O córtex está constituído por amplo anel esclerenquimático, parênquima fundamental e endoderme (Fig. 31-32). As células que formam o anel esclerenquimático têm paredes espessadas e lignificadas, apresentam-se alongadas e de extremidades afiladas (Fig. 30). Internamente a este esclerênquima, há um parênquima fundamental, formado por células de paredes delgadas. Segundo Stokey (1907), essa organização cortical mista é típica das espécies que apresentam raízes intracorticais, tal como de *Huperzia*. Segundo Stokey (1907), Toursarkissian (1971), Ogura (1972) e Bruce (1976), ainda existem variações quanto ao córtex misto, verificadas nas espécies por eles analisadas.

Rolleri (1972) distingue dois tipos de estrutura cortical em raízes de Lycopodiaceae quanto às variações na constituição da parede celular: córtex mecânico, que

é totalmente lignificado, típico das espécies epífitas; e córtex misto, com duas regiões, sendo a externa lignificada e formada por células parenquimáticas de paredes muito espessadas e a interna por células de paredes delgadas, típico das espécies terrestres e saxícolas. Os resultados do presente estudo, em parte, não corroboram com estes dados de literatura. Há uma constituição mista de tecidos no córtex, porém a espécie em estudo é considerada uma epífita. Entretanto, esta pode ser uma evidência que corrobore com considerações de Øllgard (1995) e Wikström *et al.* (1999). Øllgard (1995) comenta que espécies terrestres de *Huperzia* neotropicais foram excluídas devido ao maior sombreamento do solo em estratos baixos das florestas. Wikström *et al.* (1999) esclarecem que espécies de *Huperzia* passaram a colonizar as copas das árvores, em busca de luz.

Delimitando internamente o córtex das raízes de *H. mandiocana* destaca-se a presença da endoderme (Fig. 33-34). Este tecido é uniestratificado, com presença de estrias de Caspary e espessamento da parede celular em "U", embora o espessamento das paredes anticlinais avance pouco centrifugamente. Pita *et al.* (2006b) também mencionam que a endoderme de espécies de *Huperzia* apresentam um leve espessamento em "U". Nas células da endoderme de *H. mandiocana*, em regiões mais desenvolvidas, que correspondem a porção intracortical, é frequente a presença de grãos de amido (Fig. 34). A ocorrência da endoderme em Lycopodiaceae é um tanto controversa, segundo alguns autores. Enquanto alguns afirmam sua presença (Stokey 1907, Hackney 1950, Tourssarkissian 1971, Roller 1972), outros não a distinguiram de outras camadas do córtex (Tourssarkissian 1971, Ogura 1972). Roller (1972) descreve vários padrões de endoderme para *Lycopodium*, mas para espécies de *Huperzia* refere um mesmo padrão, com pontos de Caspary na região bem próxima ao ápice, faixas de Caspary na região mediana e com espessamentos em "U" próximo à região basal. Em *H. mandiocana* nem sempre pode ser constatada a presença das estrias de Caspary, talvez por serem muito diminutas, mas o espessamento é mais conspícuo, bem como a presença de bainha amilífera em regiões mais basais (intracorticais) das raízes.

O estelo é delimitado externamente pelo periciclo (Fig. 34), o qual origina raízes laterais, tanto quando as raízes estão externas, quanto quando ainda inclusas no córtex caulinar. O sistema vascular está formado por um xilema exarco em forma "U" ou "C" e floema (Fig. 33-34). O metaxilema ocupa a posição central e protoxilema localiza-se nos dois extremos, caracterizando a constituição diarca. Os traqueídes têm espessamentos

anelares ou espiralados. Estas características correspondem ao referido por Sporne (1966), Ogura (1972) e Pita *et al.* (2006b) para espécies de *Huperzia*, exceto quanto a tipos de espessamentos em elementos do metaxilema mais desenvolvidos (escalariforme e pontoados, não encontrados na espécie em estudo).

3. ESPOROFILO

Folhas de Lycopodiaceae e de Lycopsidea são microfilas (Ogura 1972, Gifford & Foster 1989). Este tipo de folha apresenta apenas um feixe vascular que parte do caule sem deixar lacuna foliar (Sporne 1966). As folhas vegetativas de Lycopodiaceae podem ou não ser diferentes daquelas associadas aos esporângios, os esporofilos (Øllgaard 1987). Além disso, Gifford & Foster (1989) e Kenrick & Crane (1997) acrescentam que esta associação entre um esporângio e um esporofilo é uma das características marcantes das Lycopsidea. Espécies de *Huperzia* apresentam folhas isofilas, ou seja, esporofilos diferem de folhas vegetativas apenas pela presença dos esporângios (Øllgaard & Windisch 1987). Sporne (1966) e Øllgaard (1987) referem que, nas espécies deste gênero, os esporofilos não são modificados, nem oferecem proteção aos esporângios, os quais, depois de abertos, não afetam a condição de permanecerem verdes e fotossintetizantes após a dispersão dos esporos. O caule de *H. mandiocana* exhibe esporângios junto à folha desde regiões muito próximas ao ápice (Fig. 35) e a análise histológica revela que os primórdios esporangiais originam-se concomitantemente com todos os primórdios foliares (Fig. 14). No sentido básipeto do caule dá-se o amadurecimento dos esporângios (Fig. 35), assim folhas mais basais encontram-se destituídas de esporângios, pois estes já senesceram. Portanto, na espécie em estudo, não há folhas exclusivamente vegetativas, todas as folhas, durante um período inicial, têm como função formar esporos, mantendo a função vegetativa durante toda a vida, isto é, as folhas da espécie são esporofilos.

Os esporofilos de *H. mandiocana* são verdes, com forma lanceolada e margens inteiras e lisas; quando totalmente expandidas, têm $1,59 \pm 0,16$ cm de comprimento. São sésseis, com presença de bainha (Fig. 35), de cor avermelhada, adpressa ao caule. Pita *et al.* (2006a) constataram que nas espécies de *Huperzia* analisadas, os esporofilos são sempre sésseis, porém as características da margem e da forma foliar variam, assim como a filotaxia. Na espécie em estudo a filotaxia é helicoidal (Fig. 14, 17, 35). Os esporofilos *H. mandiocana* têm uma forte relação com o caule, apresentando origem e desenvolvimento diretamente relacionadas, sendo os esporofilos continuação direta dos tecidos caulinares,

compartilhando a mesma epiderme. No ponto onde um esporofilo deixa de ser adpresso, nasce outro, oposto ou não, fazendo com que os tecidos de caule e esporofilo sejam contínuos ao longo da planta. O limite entre o caule e a base foliar, em Lycopodiaceae, nem sempre é distinto; caule e esporofilo formam um *continuum* de estruturas e tecidos (Toursarkissian 1971, Ogura 1972). Segundo Pita *et al.* (2006), em *Huperzia*, a epiderme, o córtex e o mesofilo são contínuos nestas regiões, ou seja, a epiderme e o córtex do caule são contínuos com a epiderme e o mesofilo do esporofilo.

Os esporofilos de *Huperzia mandiocana* tem seu desenvolvimento a partir das células iniciais apicais do caule (Fig. 09). A camada mais externa do ápice caulinar, a túnica, origina vários estratos celulares, que juntamente com os tecidos meristemáticos (provascular e meristema fundamental) derivados do corpo, formam os primórdios foliares constituídos por tecidos precursores (Fig. 36-38) dos diferentes tecidos foliares. A túnica (Fig. 36) sofre divisões periclinais e anticlinais, sendo que a camada mais externa origina a protoderme (Fig. 37), que posteriormente diferencia-se em epiderme (Fig. 39). As camadas subjacentes à protoderme (Fig. 37) têm origem nas camadas mais internas derivadas da túnica (Fig. 36) e originam o clorênquima (Fig. 39). Portanto, esta origem difere do que usualmente é referido na literatura (Esau 1959, Mauseth 1988) para origem dos tecidos clorofilados das folhas de plantas vasculares, nas quais estes tecidos formam-se por diferenciação das células do meristema fundamental. Na espécie em estudo, este tecido (Fig. 37-38) é responsável apenas pela origem das células parenquimáticas aclorofiladas que circundam o feixe vascular (Fig. 39). O procâmbio ou tecido provascular (Fig. 36-38), derivado do corpo (Fig. 11) determina a formação dos sistema vascular (Fig. 39).

Com relação a ontogênese de esporófitos de pteridófitas, há poucos dados na literatura. Ogura (1972) ressalta a falta de explicações para a formação dos esporofilos. Bierhorst (1977) comenta que uma das questões mais difíceis é o estágio inicial de desenvolvimento da folha e a questão da fronteira entre a folha e o tecido caulinar. A carência de estudos sobre a ontogênese foliar de outras espécies de Lycopodiaceae, inviabilizam a discussão sobre a origem dos tecidos do mesofilo de *H. mandiocana*, mas estes dados poderão contribuir para uma melhor compreensão do grupo e sua posição evolutiva.

3.1. Lâmina foliar

A epiderme foliar é uniestratificada (Fig. 39). As células epidérmicas têm paredes anticlinais sinuosas (Fig. 40). Esau (1959) atribui a variação na sinuosidade a fatores ambientais, sendo menos onduladas em ambientes mais secos e mais onduladas em ambientes mais úmidos. Napp-Zinn (1984) ressalta que há tendência de maior sinuosidade em plantas sob condições de menor irradiação solar. Em *H. mandiocana* confirmam-se tais considerações dos autores, pois a espécie ocorre no interior da Floresta Ombrófila Densa, em ambiente úmido e sombreado. Rolleri (1972) e Pita *et al.* (2006) referem ocorrência de sinuosidades na parede periclinal externa das células epidérmicas; conforme o primeiro destes autores, isto pode ser interpretado como reforço mecânico. Em *H. mandiocana* estas sinuosidades também ocorrem (Fig. 41). As células epidérmicas são alongadas (Fig. 40-41), no sentido do eixo foliar, mostrando-se isodiamétricas quando seccionadas transversalmente (Fig. 42). A cutícula é espessa (Fig. 43). Assim, esta característica difere das espécies analisadas por Pita *et al.* (2006a), pois todas mostraram cutícula delgada.

Os estômatos estão distribuídos de modo alinhado longitudinalmente próximo às margens foliares (Fig. 44) e restritos à face abaxial. Diversos autores (Rolleri 1972, Ogura 1972, Chu 1974) referem que os estômatos, em Lycopodiaceae, estão localizados ao longo das margens foliares. Pita *et al.* (2006a) constataram que na maioria das espécies de *Huperzia* analisadas os esporofilos são do tipo anfiestomática, mas *H. fontinaloides* é epiestomática e *H. hemleri* é hipostomática. O esporofilo de *H. mandiocana* foi classificada por Toursarkissian (1971) como epiestomática e por Rolleri (1972) como hipostomática. Esta discordância pode ter sido consequência da dificuldade para definir as faces, pois a estrutura do feixe vascular não favorece tal interpretação, mas também, como discutido por Pita *et al.* (2006a), pode tratar-se de variação intraespecífica. As amostras analisadas, no presente estudo, são hipostomáticas concordando com Rolleri.

Os estômatos de *H. mandiocana* geralmente apresentam-se em posição elevada em relação às demais células epidérmicas (Fig. 45), ocorre um reforço de lignina na porção interna das paredes anticlinais sob o ostíolo, o que deve sustentar o posicionamento elevado. Por outro lado, as células-guarda mostram estrias epicuticulares, radiadas em direção ao poro (Fig. 46), e tênue projeção do poro (Fig. 45-47). Chowdhury (1937, *apud* Ogura 1972) verificou estriações finas e radiais na parede externa das células-guarda em algumas espécies de Lycopodiaceae. Estas estriações têm sido citadas como típicas de plantas de clima seco (Salatino *et al.* 1986, Martins & Alves 2008). Também projeções do

poro estomático são associadas a condições xéricas (Fahn & Cutler 1992). Por outro lado, o posicionamento elevado das células-guarda é característica relacionada ao clima úmido segundo Sculthorpe (1967) e Napp-Zinn (1984). Estas características podem refletir o fato de epífitas estarem em constante estresse hídrico, mesmo estando em um hábitat como um todo úmido, seu microambiente é quase xerófito (topo de árvores). Outra hipótese é que as pteridófitas, principalmente as Lycopodiaceae, estão em posição basal na escala filogenética, tendo passado por inúmeras mudanças climáticas severas (eras glaciais e interglaciais), ao longo de sua existência. A epiderme poderia então revelar vestígios paleológicos em sua estrutura, apresentando em suas características respostas adaptativas a paleoclimas.

Os estômatos de *H. mandiocana* são anomocíticos, ou seja, não apresentam células subsidiárias (Fig. 46). Diversos autores (Chu 1974, Sen & Sen 1978, Sun *et al.* 2005) têm referido este tipo de estômato para Lycopodiaceae; Sen & Sen (1978) citam este tipo para espécies de vários gêneros, entre eles *Huperzia*.

O mesofilo está constituído exclusivamente por tecidos parenquimáticos. O clorênquima é delimitado externamente pela epiderme e internamente por parênquima aclorofilado (Fig. 39). As células do estrato de clorênquima adjacente à epiderme mostram características bastante peculiares. Visto em secção transversal (Fig. 39 e 42), assume aspecto tendendo a um parênquima paliçádico. Entretanto, secções transverso-longitudinal (Fig. 41 e 48) revelam que estas células alongam-se no sentido do eixo maior dos esporofilos, apresentando-se lobadas, assumindo a forma de "H" ou "M". Estes lobos deixam espaços intercelulares, o que determina que em secção transversal dos esporofilos, não deixa definida a forma paliçada. Ogura (1972) descreve a variação na forma celular do parênquima clorofilado das folhas das pteridófitas, entre as quais cita formas alongadas, irregulares, alongadas-paliçádicas, esponjosas e em forma de "H"; comenta ainda que algumas células são providas de braços e apófises, que permitem a comunicação intercelular, e os espaços intercelulares são determinados por constrições dessas células. Formas celulares similares foram registradas para outras espécies de *Huperzia*, Pita *et al.* (2006a) caracteriza o mesofilo como sendo constituído por parênquima clorofiliano lacunoso e, mais internamente, contornando a nervura, células de contorno arredondado. Em *H. mandiocana* as células do clorênquima, no sentido interno, apresentam-se menos lobadas e com espaços intercelulares mais conspícuos (Fig. 39, 41 e 48). As células parenquimáticas que contornam o feixe vascular, constituindo o tecido mais interno do

mesofilo, mostram características totalmente distintas das clorenquimáticas adjacentes (Fig. 39), principalmente quando vistas em secções longitudinais (Fig. 49). Estas células são aclorofiladas e fusiformes.

O esporofilo de *H. mandiocana* possui com um feixe vascular na região central (Fig. 39), formado pelo xilema e floema. Os traqueídes apresentam paredes lignificadas, com espessamentos anelar ou helicoidal, alguns duplamente helicoidal. Nas amostras analisadas, não foram encontrados traqueídes em maior grau de espessamentos da parede celular, tal como observado por Pita *et al.* (2006a) para outras espécies de *Huperzia*, embora Wilder (1970) tenha identificado traqueídes reticulados em espécies de Lycopodiaceae.

3.2. Bainha foliar

A bainha, em secção transversal (Fig. 50), mostra-se convexa em ambas faces. Os tecidos periféricos tem grande quantidade de pigmentos rubros (Fig. 51-52), nas paredes e no lume celular. Provavelmente estes pigmentos são antocianinas, uma vez que com o uso de Sudan (Fig. 53-54) são dissolvidos (este reagente é diluído em álcool, substância que dissolve antocianinas). Adjacente à epiderme ocorre colênquima, do tipo anelar, pois as paredes são espessadas uniformemente; as células são alongadas no sentido longitudinal. No sentido centrípeto, as características das células alteram-se gradualmente, alongando-se menos e espessando menos as paredes, constituindo um parênquima, podendo algumas destas, as mais periféricas serem clorofiladas (Fig. 52). Diferente da lâmina foliar este parênquima não possui espaços intercelulares e observa-se com frequência os campos primários de pontoações (Fig. 51), estes campos também são evidenciados nas células epidérmicas e colenquimáticas (Fig. 53). Contornando o feixe vascular (Fig. 50-51) as células parenquimáticas mostram características similares àquelas descritas para a lâmina foliar. Como na lâmina foliar, há um único feixe vascular, centralizado (Fig. 50-51).

4. ESPORÂNGIO

Os esporângios de *H. mandiocana* estão localizados nas axilas dos esporofilos, tendo sua maturação posterior a estes, ou seja, ainda estão imaturos quando o esporofilo já apresenta-se com total expansão (Fig. 35). O desenvolvimento inicia concomitante com o esporofilo, a partir de divisões celulares da túnica, assumindo aspecto globoso (Fig. 37-38), na base do esporofilo. Esta estruturação é similar às gemas axilares comumente referidas

para angiospermas, porém sem registros para Lycopodiaceae. Entretanto, a diferenciação celular no esporângio é mais lenta que no esporófilo. Como o esporângio é totalmente originado das células da túnica, não há vascularização nesta estrutura. O primórdio esporangial eleva-se (Fig. 55), através da multiplicação das células da base, constituindo o pedúnculo e a porção apical começa a diferenciar os tecidos meristemáticos, com evidente protoderme delimitando a estrutura e células precursoras dos esporos na porção central (Fig. 56). Em fases posteriores (Fig. 57-58), começa a ficar mais definida a formação de tecidos intermediários a protoderme e precursor de esporos, evidenciam-se então as células precursoras do endotécio e do tapete (Fig. 58). Gradualmente, quando o esporófilo já encontra-se com todos os seus tecidos diferenciados, o esporângio imaturo (Fig. 59-61) vai avançando na diferenciação dos tecidos e distingue-se uma invaginação apical da protoderme, a qual origina o estômio (Fig. 59-60). Quando o esporângio está maduro (Fig. 62-63) há uma porção central totalmente preenchida por esporos e delimitada por tapete, endotécio e epiderme. Os esporos estão imersos em substância ácida, pois reage com azul de toluidina apresentando intensa coloração rosada (Fig. 61-62); posteriormente, esta substância parece ser consumida pelos esporos (Fig. 63). A epiderme apresenta as paredes anticlinais e periclinal interna bastante espessadas (Fig. 63) e lignificadas; em vista frontal, mostra paredes anticlinais sinuosas (Fig. 64). O esporângio localizado na axila entre a bainha foliar e o caule (Fig. 65) é reniforme (Fig. 66-68), constituído por uma única cavidade interna (Fig. 65), que rompe-se longitudinalmente (Fig. 66), no processo de deiscência, liberando esporos.

Bierhorst (1977) comenta que, em pteridófitas, as gemas surgem de simples células superficiais, próximo à folha inicial, com posição essencialmente axilar. O que pode relacionar-se com a origem do esporângio em *H. mandiocana*. Imaichi (1988) também menciona que, em pteridófitas leptosporangiadas, os esporângios são iniciados na base do primórdio foliar, formando-se em zona de tecido que é adjacente aos tecidos derivados do primórdio foliar apical; esta região adjacente é no entanto considerada foliar, uma vez que contribui para a base do esporófilo em desenvolvimento. Whitte & Turner (1995) relatam que os esporângios estão intimamente ligados ao esporófilo e que as gemas são derivadas dos primórdios foliares e esta ligação pode ter caráter filogenético para o grupo.

De maneira geral, nas licopsidas recentes, não há traço vascular ou vestígios de tecido procambial na base do esporângio (Sporne 1966, Ogura 1972, Gifford & Foster

1989, Gensel 1992). Pita *et al.* (2006a) referem que os esporângios das espécies de *Huperzia* analisadas (não incluem *H. mandiocana*) não são vascularizados. Os dados do presente estudo corroboram com estas informações da literatura, acrescentando-se que isto ocorre em decorrência da origem dos tecidos do esporângio, não relacionando-se com tecidos provasculares.

Com relação a epiderme do esporângio, Øllgaard (1975) cita variações nos padrões celulares, quanto à forma, espessamento e ornamentação da parede nos diferentes gêneros da família. Os dados deste autor referentes à *Huperzia*, ou seja, epiderme sinuosa, e moderada a fortemente lignificada, foram confirmados no presente trabalho.

Os esporos apresentam a forma piramidal, sendo triletes (Fig. 63, 69 e 70) e têm paredes espessadas e lignificadas. A superfície externa é ornamentada, faveolada (Fig. 69-70), porém a superfície interna que une os quatro esporos é lisa (Fig. 69). Os esporos são do tipo aplanósporo (transportados pelo vento) e apresentam forma piramidal (Fig. 61).

Com relação à morfologia dos esporos, as análises mais abrangentes quanto à família foram feitas por Wilce (1972) e Tryon & Lugardon (1991). Wilce (1972) reconheceu três grupos de esporos em Lycopodiaceae, dentro desses três grupos, tipos diferentes. Tendo como base esta análise, Tryon & Lugardon (1991) fizeram uma revisão dos esporos dos quatro gêneros da família. De maneira geral, a cicatriz dos esporos é trilete (Wilce 1972, Tryon & Lugardon 1991). Segundo os mesmos autores, a ornamentação da parede dos esporos de *Huperzia* é faveolada ou fossulada, de contorno subglobuloso a subtriangular, como foi observado na espécie estudada neste trabalho. A ornamentação da parede dos esporos de *Huperzia* é o caráter mais conservativo do gênero, considerando o tamanho, a ampla distribuição e a diversidade ecológica do grupo (Tryon & Lugardon 1991).

A produção de esporos em *H. mandiocana* foi acompanhada por um ano, em alguns exemplares, revelando que esta é permanente ao longo do ano.

Considerações finais

Estudos anatômicos relacionados a Lycopodiaceae, principalmente ao do desenvolvimento apical do caule e a formação dos esporângios *Huperzia*, são raros.

Sobre o desenvolvimento do ápice caulinar, temos em *H. mandiocanna* uma semelhança com as plantas com sementes, fato que pode ser melhor esclarecido em futuros estudos filogenéticos.

Este trabalho mostrou-se importante também no quesito do desenvolvimento dos esporângios em, pois devido a falta de informações para o gênero, vem preencher uma lacuna na literatura. As samambaias estão bem documentadas sobre esta estrutura, o que não ocorre para Lycopodiaceae.

Os estudos de anatomia geral mostraram-se relevantes, pois a exemplo dos assuntos anteriormente citados existem lacunas na literatura geral para o gênero. Não existe nenhum trabalho que se relacione diretamente com a espécie *H. mandiocanna*, espécie epífita endêmica, relativamente comum no alto das árvores nas matas do sul e sudeste do Brasil, em altitudes mínima de 200 metros. Uma melhor compreensão da biologia e ecologia desta espécie pode contribuir com a conservação da Mata Atlântica.

Também a questão da mudança climática será crítica para as Lycopodiaceae devido a sua relação estreita com ambientes úmidos e sombreados, podendo desaparecer com o aquecimento do planeta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alquini, Y. & Brito, C.J.F.A. 1996. A New Method for Staining Botanical Material Embedded in Glycol Methacrylate (Gma). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **39**: 949-951.
- Beck, C.B. 2005. **An Introduction to Plant Structure and Development**. Cambridge, Cambridge University Press. 431p.
- Benzing, D. H. 1989. Vascular epiphytism in America, *In*: Lieth. H.; Werger, M. J. (Eds.) 1989. **Tropical Rain Forest Ecosystems: biogeographical and ecological studies. Ecosystems of the world**. 14b. New York, Elsevier, pp.133-154.
- Benzing, D. H. 1990. **Vascular epiphytes**. Cambridge, Cambridge University Press. 354p.
- Bierhorst, D. W. 1977. On the stem apex, leaf initiation and early leaf ontogeny in Filicalean ferns. **American Journal of Botany** **64**: 125-152.
- Borgo, M. 2002. **As comunidades de Epífitos Vasculares em Fragmentos Florestais no Município de Curitiba. Paraná, Brasil**. Curitiba. Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Bozzola, J.J. & Russel, L.D. 1991. **Electron Microscopy**. Principles and Techniques for Biologists. Boston, Jones and Barlett Publishers. 542p.
- Bruce, J.G. 1976. Development and distribution of mucilage canals in *Lycopodium*. **American Journal of Botany** **63**: 481-491.
- Chu, M.C. 1974. A comparative study of foliar anatomy of *Lycopodium* species. **American Journal of Botany** **61**: 681-692.
- Costa, A.F. 1982. **Farmacognosia**. Vol.III. Farmacognosia Experimental. 2ª ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032p.
- De La Sota, E.R. 1971. El epifitismo y las Pteridófitas en Costa Rica (América Central). **Nova Hedwigia** **21**: 401-465.
- Embrapa 1984. Disponível em <http://mapoteca,cnps,embrapa.br/> (Acessado em 20/08/2007).
- Esau, K. 1959. **Anatomia Vegetal**. Barcelona, Ed.Omega. 729 p.
- Evert, R. F. & Eichhorn, S. E. 2006. Esau's Plant Anatomy. Meristems, Cells and Tissues of the Plant Body - Their Structure, Function and Development. Third edition. Pp 601, numerous text figures. New York, John Wiley & Sons. 624p.
- Fahn, A. & Cutler, D.F. 1992. **Xerophytes**. Germany, Gebrüder Borntraeger. 176p.
- Fernandes, R.S.; Conceição, G.M.; Brito, E.S. & Paula-Zárate, E.L. 2007. Diversidade Florística de Pteridófitas da Área de Preservação Ambiental do Inhamum. Caxias, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências** **5**: 411-413.
- Gensel, P.G. 1992. Phylogenetic relationships of the zosterophylls and lycopsids: evidence from morphology paleoecology, and cladistic methods of inference. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **79**: 450-473.

- Gifford Jr., E. M. 1983. Concept of apical cells in bryophytes and pteridophytes. **Annual Review of Plant Physiology** **34**: 419-440.
- Gifford, E.M. & Foster, A.S. 1989. **Morphology and evolution of vascular plants**. 3 ed. New York, Freeman and Company. 626p.
- Hacknei, F.M.V. 1950. A review of and contribution to knowledge of *Phylloglossum drumondii* Kunze. **Proceedings of the Linnean Society New South Wales** **75**: 133-152.
- Hebant-Mauri, R. 1993. Cauline meristems in leptosporangiate ferns: Structure, lateral appendages, and branching. **Canadian Journal of Botany** **71**: 1612-1624.
- Hefler, S.M. & Faustioni, P. 2004. Levantamento florístico de epífitos vasculares do Bosque São Cristovão – Curitiba – Paraná – Brasil. **Revista Estudos de Biologia** **26**: 11-19.
- Holtum, R. E. 1938. The ecology of tropical pteridophytes. *In*: Veerdorn, F. R. (Ed.). **Manual of Pteridology**. Amsterdam., The Hague Martinus Nijhoff, pp. 420-450.
- Imaichi, R. 1988. Developmental anatomy of the shoot apex of leptosporangiate ferns. II. Leaf ontogeny of *Adiantum capillus-veneris* (Adiantaceae). **Canadian Journal of Botany** **66**: 1729-1733.
- Imaichi, R. & Hiratsuka, R. 2007. Evolution of shoot apical meristem structures in vascular plants with respect to plasmodesmatal network. **American Journal of Botany** **94**: 1911-1921.
- Kato, M. & R. Imaichi. 1997. Morphological diversity and evolution of vegetative organs in pteridophytes. *In*: Iwatuski, K. & P. H. Raven, P.H. (Eds.). 1997. **Evolution and diversification of land plants**. Tokyo, Springer-Verlag, pp. 27-43.
- Kenrick, P. & Crane, P.R. 1997. **The origin and early diversification of land plants: a cladistic study**. Smithsonian Series in Comparative Evolutionary Biology. Washington, Smithsonian Institution Press. 441 pp.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, RJ, Editora Universidade Rural. 194p.
- Martins, S. & Alves, M. 2008. Aspectos anatômicos de espécies simpátricas de *Mandevilla* (Apocynaceae) ocorrentes em inselbergues de Pernambuco-Brasil. **Rodriguésia** **59**: 369-380.
- Mauseth, J.D. 1988. **Plant Anatomy**. USA, The Benjamin/Cummings Publishing. 560p.
- McAlpin, B.W. & White, R.A. 1974. Shoot organization in the Filicales: The promeristem. **American Journal of Botany** **61**: 562-579.
- Napp-Zinn, K. 1984. **Handbuch der Pflanzenanatomie. VIII Anatomie des Blattes**. 2. Blattanatomie der Angiospermen. B. Experimentelle und ökologische Anatomie des Angiospermenblattes. Germany, Gebrüder Borntraeger. 520p.
- Nobrega, G. A. & Prado, J. 2008. Pteridófitas da vegetação nativa do Jardim Botânico Municipal de Bauru, São Paulo, Brasil. **Hoehnea**, **35**: 7-55.
- Ogura, Y. 1972. **Comparative anatomy of vegetative organs of the Pteridophytes**. Berlin, Gebrüder Bornträger. 502p.
- Øllgaard, B. 1975. Studies in Lycopodiaceae. Observations on the structure of the sporangium wall. **American Fern Journal** **65**: 19-27.

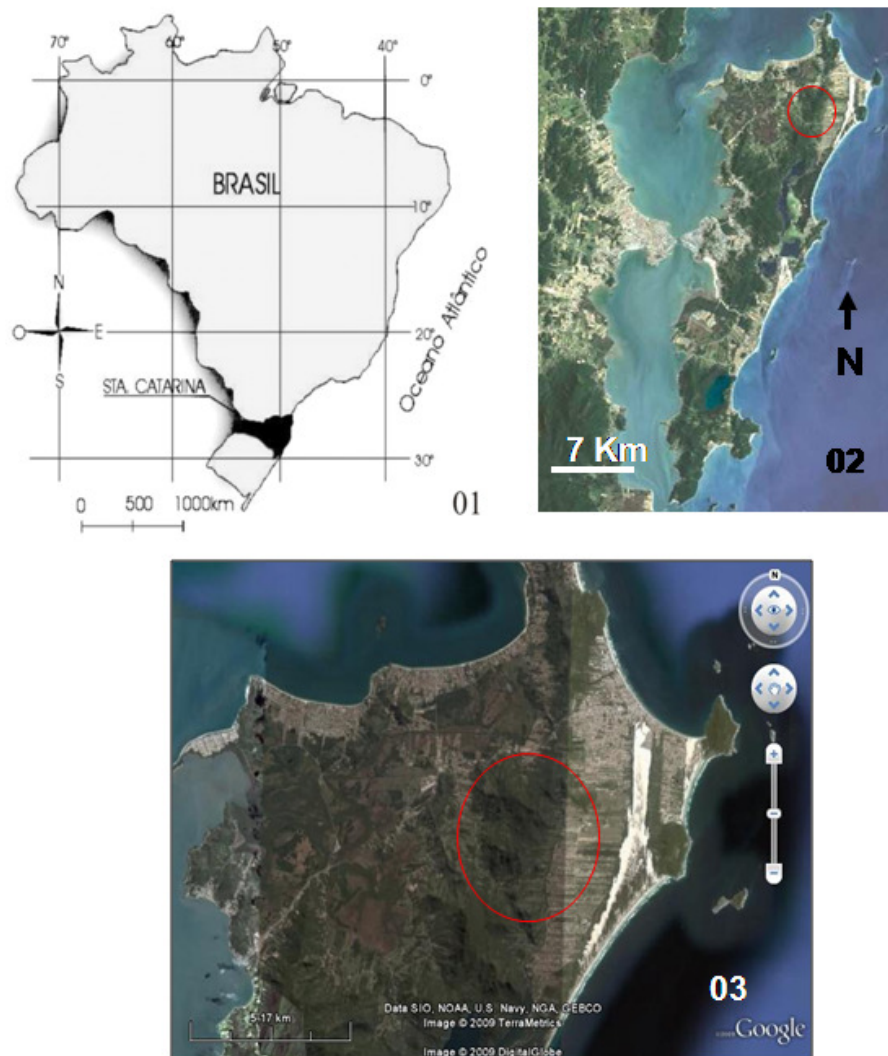
- Øllgaard, B. 1979. *Lycopodium* in Ecuador-habits and habitats. *In*: Larsen, K. & Holm-Nielsen, L.B. (Eds). 1979. **Tropical Botany**. London, Academic Press, pp. 381-395.
- Øllgaard, B. 1987. A revised classification of the Lycopodiaceae *sen. lat.* **Opera Botanica** **92**: 153-178.
- Øllgaard, B. 1995. Diversity of *Huperzia* (Lycopodiaceae) in Neotropical montane forest. *In*: Churchill, S.R.; Balslev, H.; Forero, E. & Luteyn, J. L. (Eds.). **Biodiversity and conservation of Neotropical montane forest**. New York, New York Botanical Garden, pp. 349-358.
- Øllgaard, B. 1996. Neotropical *Huperzia* (Lycopodiaceae)- distribution of species richness. *In*: Camus, J.M.; Gibby, M. & Johns, R.J. (Eds.). 1996. **Pteridology in perspective**. London, Kew Royal Botanic Gardens, pp. 93-100.
- Øllgaard, B. & Windisch, P.G. 1987. Sinopse das Licopodiáceas do Brasil. **Bradea** **5**: 1-43.
- Page, C.N. 1979. Experimental aspects of fern Ecology. *In*: Dyer, A.F. (Ed.). 1979. **The Experimental Biology of Ferns**. London, Academic Press, pp.551-589.
- Philipson, W.R. 1990. The significance of apical meristems in the phylogeny of land plants. **Plant Systematics and Evolution** **173**: 17-38.
- Pita, P.B.; Menezes, N.L. & Prado, J. 2006a. Morfologia externa e interna das folhas vegetativas, esporofilos e esporângios de espécies de *Huperzia* Bernh. (Lycopodiaceae – Pteridophyta) do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **29**: 115-131.
- Pita, P.B.; Menezes N.L. & Prado, J. 2006b. Morfologia externa e interna de raiz e caule de espécies de *Huperzia* Bernh. (Lycopodiaceae - Pteridophyta) do Brasil. **Hoehnea** **33**: 495-510.
- Prado, J. 1998. Pteridófitas do Estado de São Paulo. *In*: Bicudo, C. E. de M.; Shepherd, G. J. (Ed). **Fungos macroscópicos e plantas do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP. 1998. cap. 5. p. 49-61. (Série Biodiversidade do Estado de São Paulo, v, 2).
- Pryer, K.M.; Schuettpelz, E.; Wolf, P.G.; Schneider, H.; Smith, A.R. & Cranfill, R. 2004. Phylogeny and evolution of ferns (Monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. **American Journal of Botany** **91**: 1582-1598.
- Rinner, P.L.H. & Van der Shoot, C. 1998. Symplasmic fields in the tunica of the shoot apical meristem coordinate morphogenetic events. **Development** **125**: 1477-1485.
- Rolleri, C. 1972. Morfologia comparada de las especies de *Lycopodium* (Pteridophyta-Lycopodiaceae) para el Noroeste Argentino. **Revista del Museo de la Plata** **12**: 223-317.
- Ruzin, S.E. 1999. **Plant Microtechnique and Microscopy**. New York, Oxford University Press. 322p.
- Salatino, A.; Montenegro, G. & Salatino, M. L. F. 1986. Microscopia eletrônica de varredura de superfícies foliares de espécies lenhosas do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica** **9**: 117-124.
- Sen, T. & Sen, U. 1978. Morphology, anatomy and taxonomy of Lycopodiaceae of the Darjeeling Himalayas. **Fern Gazette** **11**: 413-427

- Sculthorpe, C.D. 1967. **The Biology of Aquatic Vascular Plants.** London, Edward Arnold.
- Smith, A.R.; Pryer, K.M.; Schuettpelz, E.; Korall, P., Schneider, H. & Wolf, P.G. 2006. A classification for extant ferns. **Taxon** **55**: 705-731.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1969. **Biometry.** San Francisco, Freeman and Company. 776p.
- Sporne, K.R. 1966. **The morphology of Pteridophytes, the structure of ferns and allied plants.** 2 ed. London, Hutchinson University Library, 192p.
- Steffens, C. & Windisch, P.G. 2007. Diversidade e formas de vida de Pteridófitas no Morro da Harmonia em Teutônia – RS, Brasil. **Pesquisas, Botânica** **58**: 375-382.
- Stevenson, D.W. 1976a. Shoot apex organization and origin of the rhizome-borne roots and their associated gaps in *Dennstaedtia cicutaria*. **American Journal of Botany** **63**: 673-678.
- Stevenson, D.W. 1976b. The cytohistological and cytohistochemical zonation of the shoot apex of *Botrychium multifidum*. **American Journal of Botany** **63**: 852-856.
- Stevenson, D.W. 1978. Observations on shoot apices of eusporangiate ferns. **Kew Bulletin** **33**: 297-282.
- Stokey, A.G. 1907. The roots of *Lycopodium pithyoides*. **Botanical Gazette** **44**: 57-61.
- Sun, T.-X; Edwards, D. & Li, C.-S. 2005. The stomatal apparatus of *Lycopodium japonicum* and its bearing on the stomata of the Devonian lycophyte *Drepanophycus spinaeformis*. **Botanical Journal of the Linnean Society** **149**: 209–216.
- Tomlinson, P.B. 1969. III Commelinales-Zingiberales. *In*: Metcalfe, C.R. (Ed.) **Anatomy of the monocotyledons.** Oxford, Clarendon Press. 446p.
- Toursarkissian, M. 1971. Las Lycopodiaceae del Noroeste de Argentina - Estudio Sistemático y Anatómico. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** **43**: 191-207.
- Tryon, A.F. & Lurgadon, B. 1991. **Spores of the pteridophyta: surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies.** Berlin, Springer-Verlag. 648p.
- Tryon, R. M. & Tryon, A. F. 1982. **Ferns and allied plants with special reference to tropical America.** Springer Verlag, New York.
- White, R. A. 1971. Experimental and developmental studies of the fern sporophyte. **Botanical Review** **37**: 509-540.
- White, R.A. & Turner, M.D. 1995. Anatomy and development of the fern sporophyte. **The Botanical Review** **61**: 281-305.
- Wikström, N.; Kenrick, P. & Chase, M. 1999. Epiphytism and terrestrialization in tropical *Huperzia* (Lycopodiaceae). **Plant Systematics and Evolution** **218**: 221-243.
- Wilce, J.H. 1972. Lycopod spores, General spore patterns and the generic segregates of *Lycopodium*. **American Fern Journal** **62**: 65-79.
- Wilder, G.J. 1970. Structure of tracheids in three species of *Lycopodium*. **American Journal of Botany** **57**: 1093-1107.
- Windisch, P.G. 1992. Towards assaying biodiversity in brazilian pteridophytes. *In*: C.E.M. Bicudo, C.E.M. & Menezes, N.A. (eds.). 1992. **Biodiversity in Brazil - a first approach.** São Paulo CNPq, pp. 109-117.

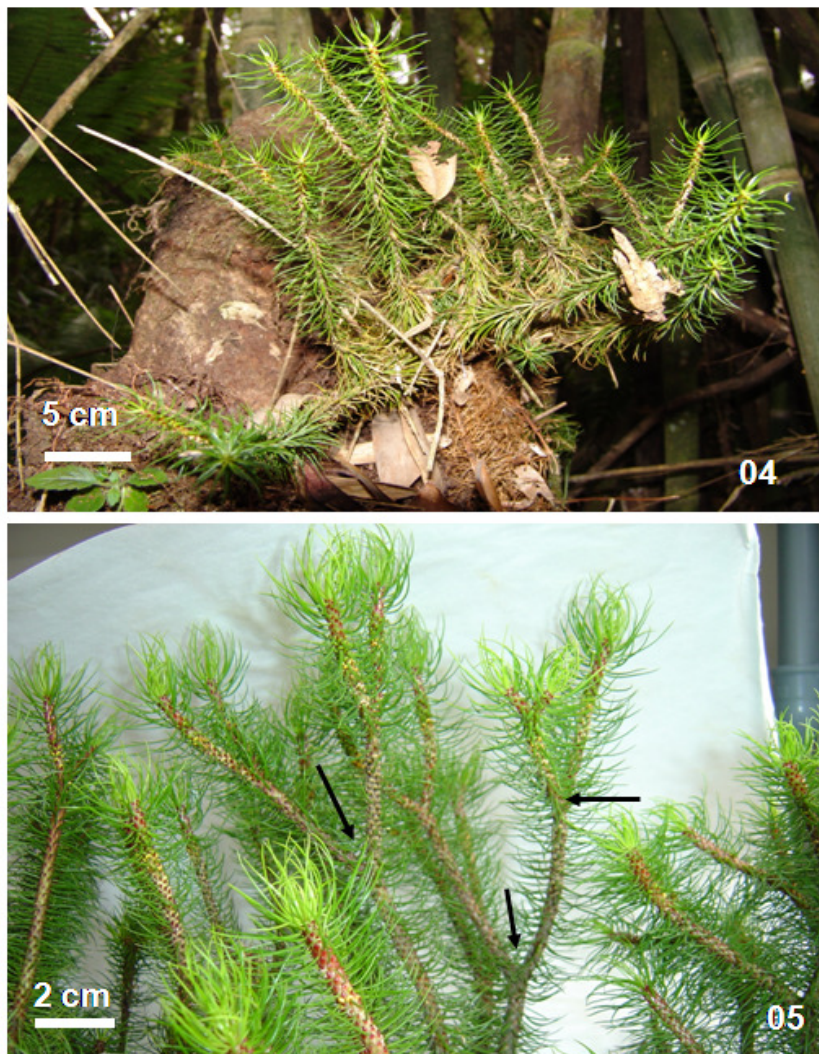
ILUSTRAÇÕES

Legendas

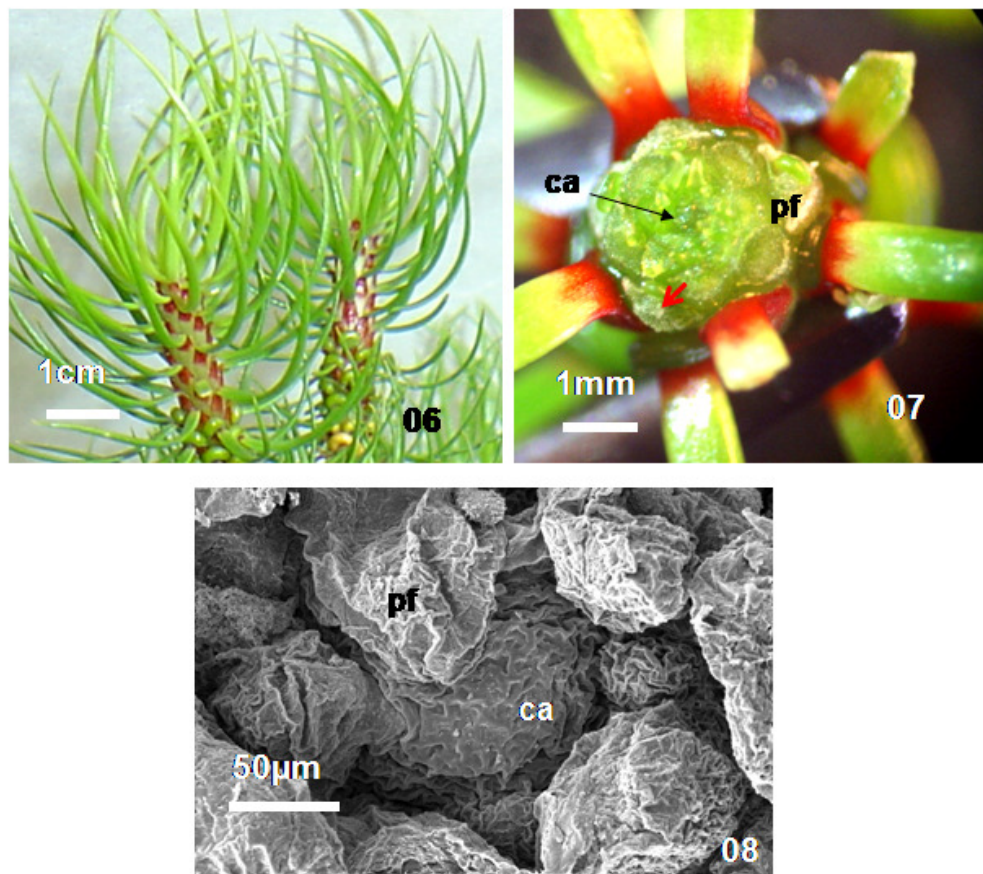
ae- anel esclerenquimático
ba-bainha fliar
be-bordo do esporofilo
c1 a c 4- camadas originadas da túnica por divisões periclinais
ca- cúpula apical
co- corpo
cc- córtex caulinar
cl-clorênquima
cpe-células precursoras do endotécio
cpt-células precursoras do tapete
cpp-células precursoras dos esporos
ed-endotécio
ei-espaco intercelular
en-endoderme
ep- epiderme
es-esclerênquima
esf-esporofilo
esp-esporângios
espi-esporângio imaturo
est-estelo
et-estômio
fab-face abaxial
fad-face adaxial
fl-floema
fo- folha
mf-meristema fundamental
mx-metaxilema
pa-parênquima
pc-procambio
pcl-tecido precursor do clorênquima
pd-protoderme
pe-primórdios de esporângios
ped-pedúnculo
pf1-primórdio foliar mais desenvolvido
pf2- primórdio foliar em fase inicial
pf-primórdios foliares
pm-promeristema
pr-periciclo
px-protoxilema
rc- raiz intracortical
rce-região central do esporofilo
sp-esporo
st-estômato
sv-sistema vascular
tf -traço foliar
tp-tapete
tu-túnica
xi- xilema



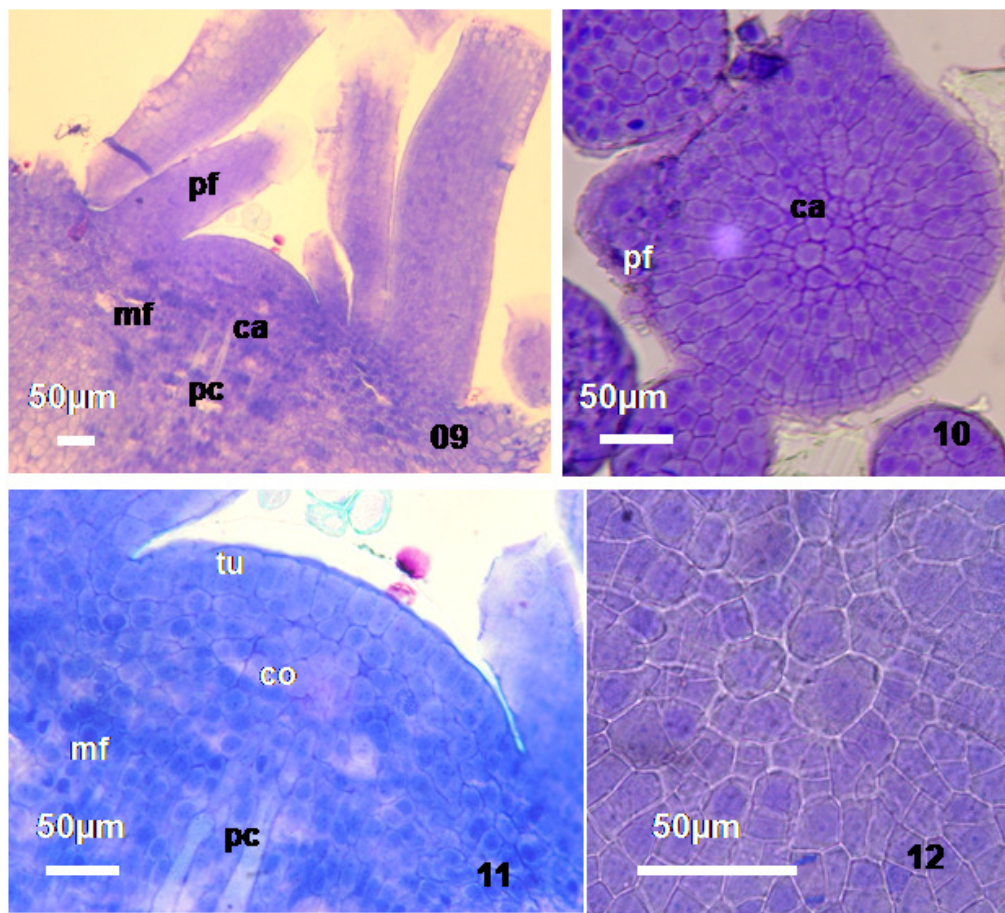
Figuras 01-03. Localização aproximada da área de coleta de *Hyperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan. 01. Mapa do Brasil destacando o Estado de Santa Catarina. 02. Foto de satélite da Ilha de Santa Catarina, Florianópolis, indicando localização do Morro do Caçador (círculo) (Fonte: <<http://www.spg.sc.gov.br>>, acesso em 02/04/2007) 03. Foto de satélite ampliada da região Norte da Ilha, evidenciando o Morro do Caçador (círculo) (Fonte: Google Earth 2009).



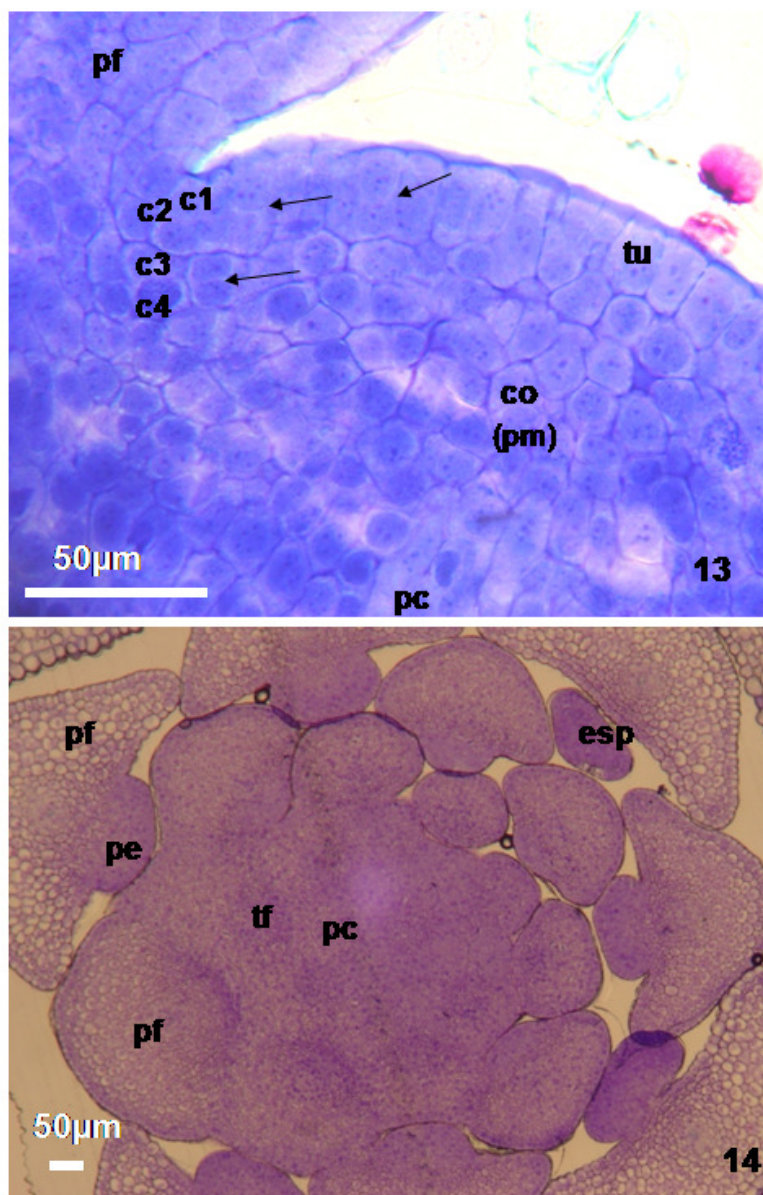
Figuras 04-05. *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan. 04. Aspecto geral da planta em seu habitat natural. 05. Detalhe das dicotomizações do caule (setas).



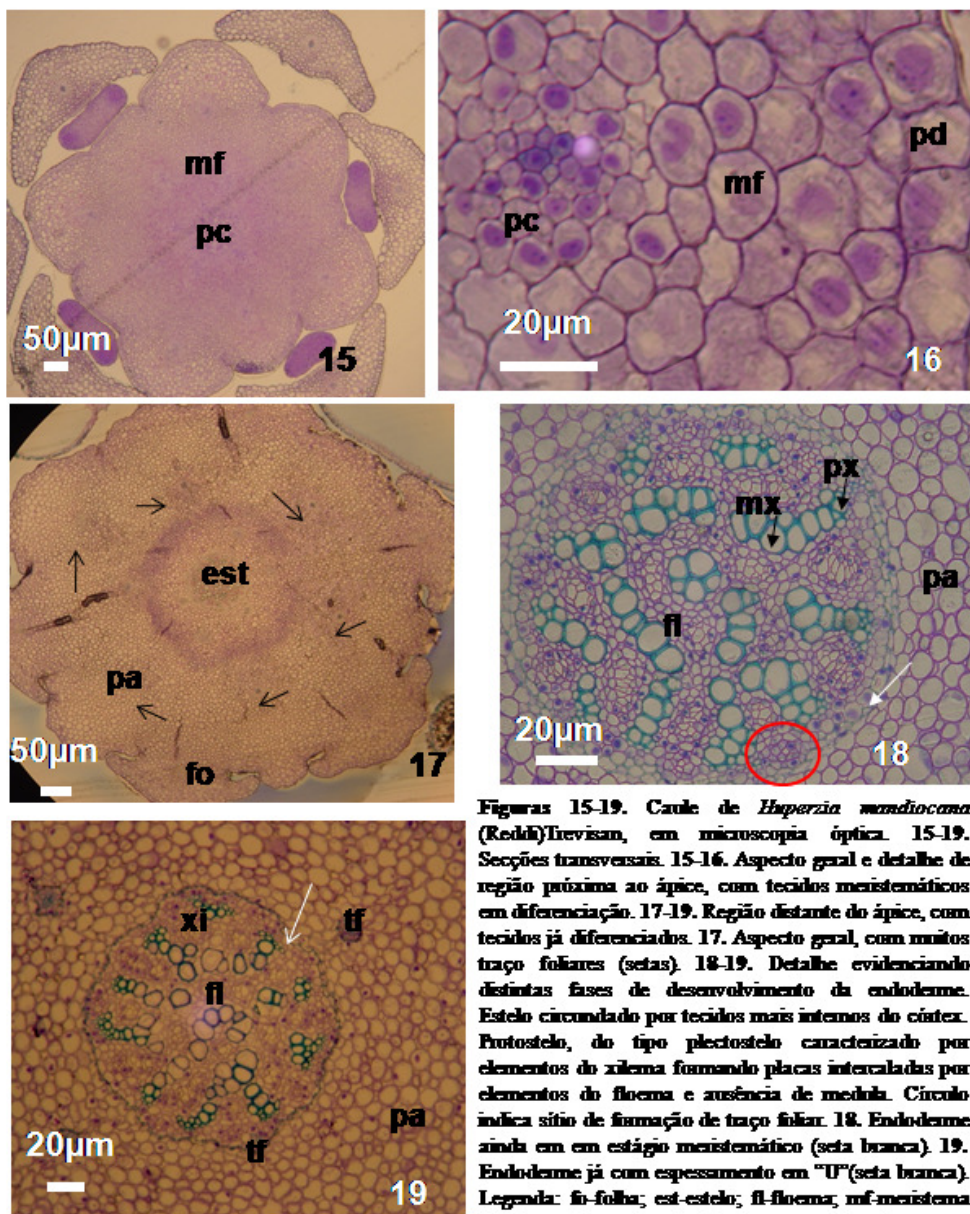
Figuras 06-08. *Huperzia mandiocana* (Reddi) Trevisan. **06.** Aspecto geral da região apical do caule. **07-08.** Ápice caulinar em vista frontal. **07.** Imagem em microscopia estereoscópica (primórdios mais jovens foram cortados próximo à base). Seta vermelha indica os primórdios esporangiais. **08.** Imagem em microscopia eletrônica de varredura. Legenda: ca- cúpula apical; pf- primórdios foliares.

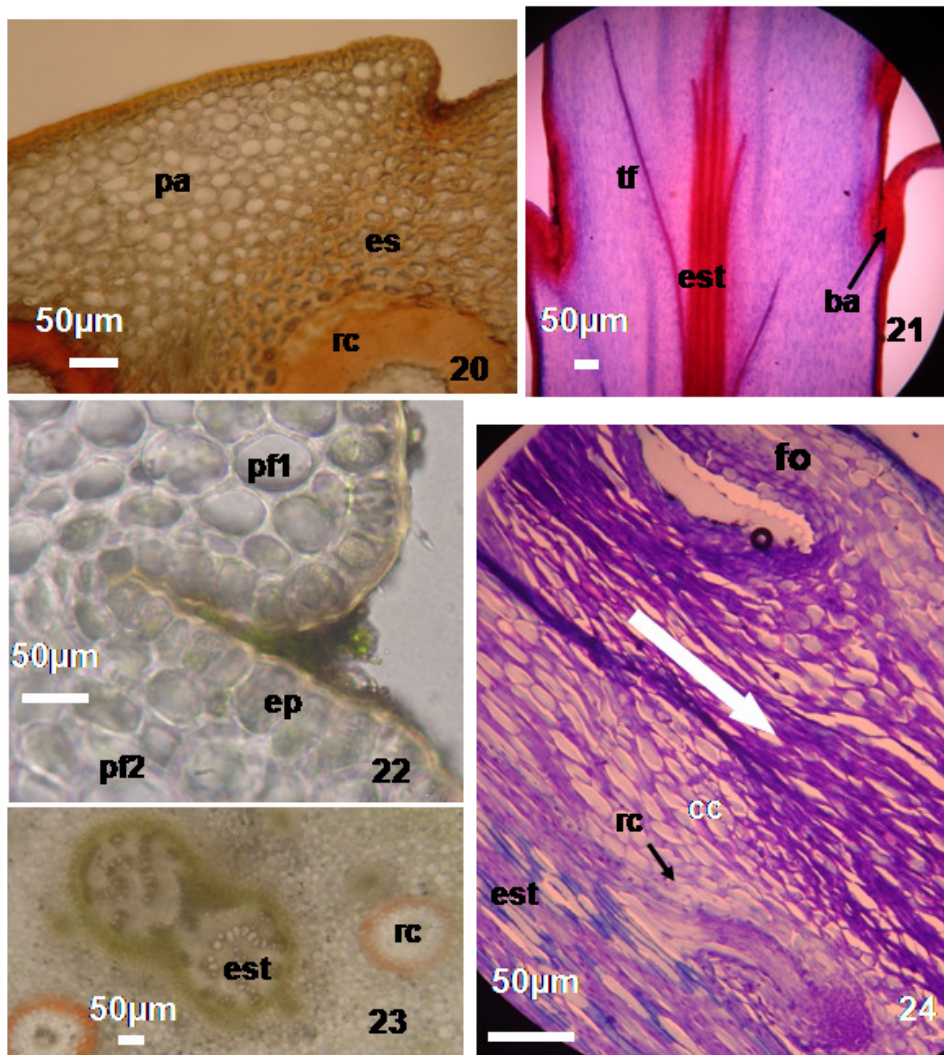


Figuras 09-12. Ápice caulinar de *Huperzia mandiocana* (Reddi) Trevisan, em microscopia óptica. **09.** Secção longitudinal evidenciando cúpula apical entre primórdios de folhas. **10.** Secção transversal da cúpula apical circundada por primórdios foliares. **11.** Detalhe da cúpula apical em secção longitudinal. **12.** Detalhe da cúpula apical em secção transversal. Legenda: ca- cúpula apical; co- corpo; pf-primórdios foliares; pc-procambio; mf- meristema fundamental; tu-túnica.

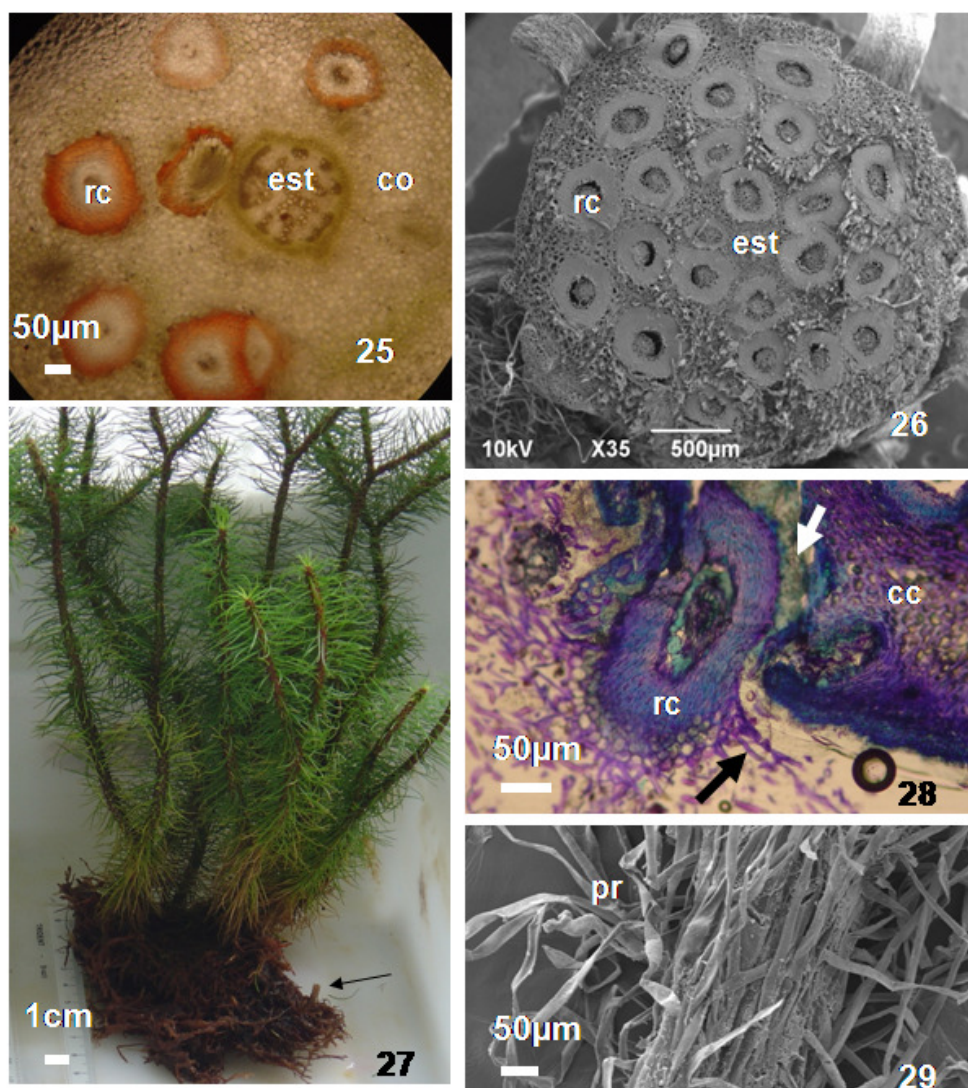


Figuras 13-14. Ápice caulinar de *Huperzia musclicana* (Reddi) Trevisan, em microscopia óptica. 13. Secção longitudinal na região da cúpula apical evidenciando as divisões periclinais (setas) que ocorrem nas células iniciais meristemáticas da túnica, formando vários estratos celulares paralelos à superfície e externos a região do corpo. 14. Secção transversal da cúpula apical circundada por primórdios foliares, em região onde já evidenciam-se células iniciais procambiais na porção central do caule (pc), este contornado por células precursoras dos tecidos vasculares das folhas (tf). Legenda: c1 a c4- camadas originadas da túnica por divisões periclinais; co- corpo; pe-primórdios de espongiófitos; pf-primórdios foliares; pc- procambio; pm- prumeristema; tf- traço foliar na porção central do caule; tu- túnica.

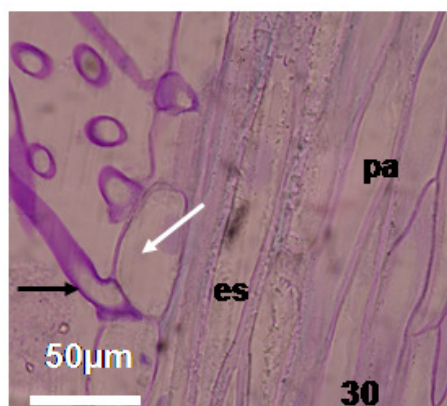




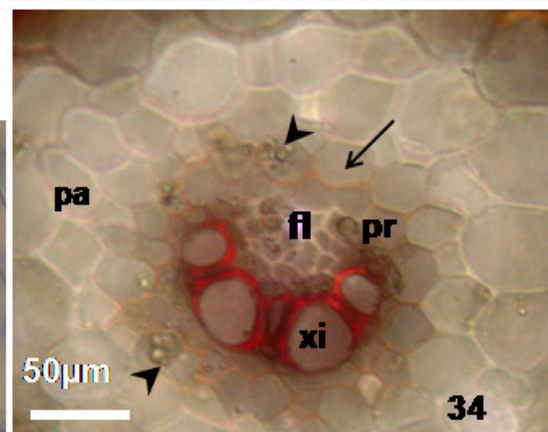
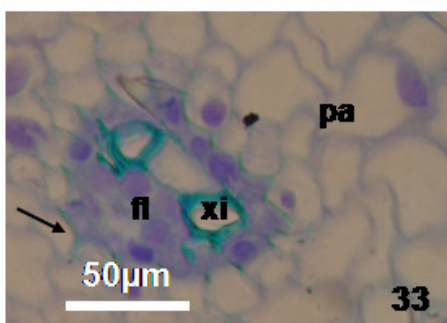
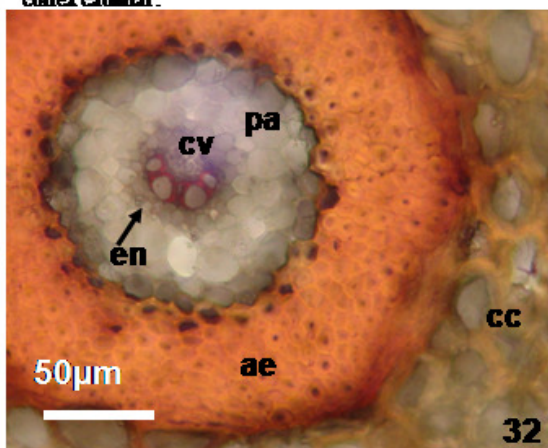
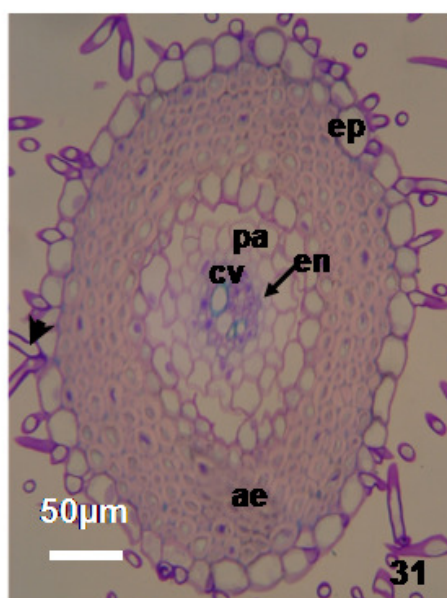
Figuras 20-24. Seções de caules de *Hyperzia mendocana* (Radik) Trevisan, em microscopia óptica. 20. Tecidos periféricos da região basal, em seção transversal. 21. Aspecto geral da região média, em seção longitudinal. 22. Tecidos periféricos da região média, em seção transversal. 23. Estelo dicotômico e porção interna do córtex de região média, em seção transversal. 24. Aspecto geral de seção longitudinal na região mediana evidenciando origem de raiz intracotical (seta preta) a partir do periciclo e seguindo no sentido basípeto (seta branca). Legenda: es-esclerênquima; ba-bainha foliar; cc-córtex caulinar; est-estelo; fo-folha; pa-parenquimas; pfl-pimúndio foliar mais desenvolvido; pf-pimúndio foliar em fase inicial; rc-raiz intracotical; tf-tuço foliar.

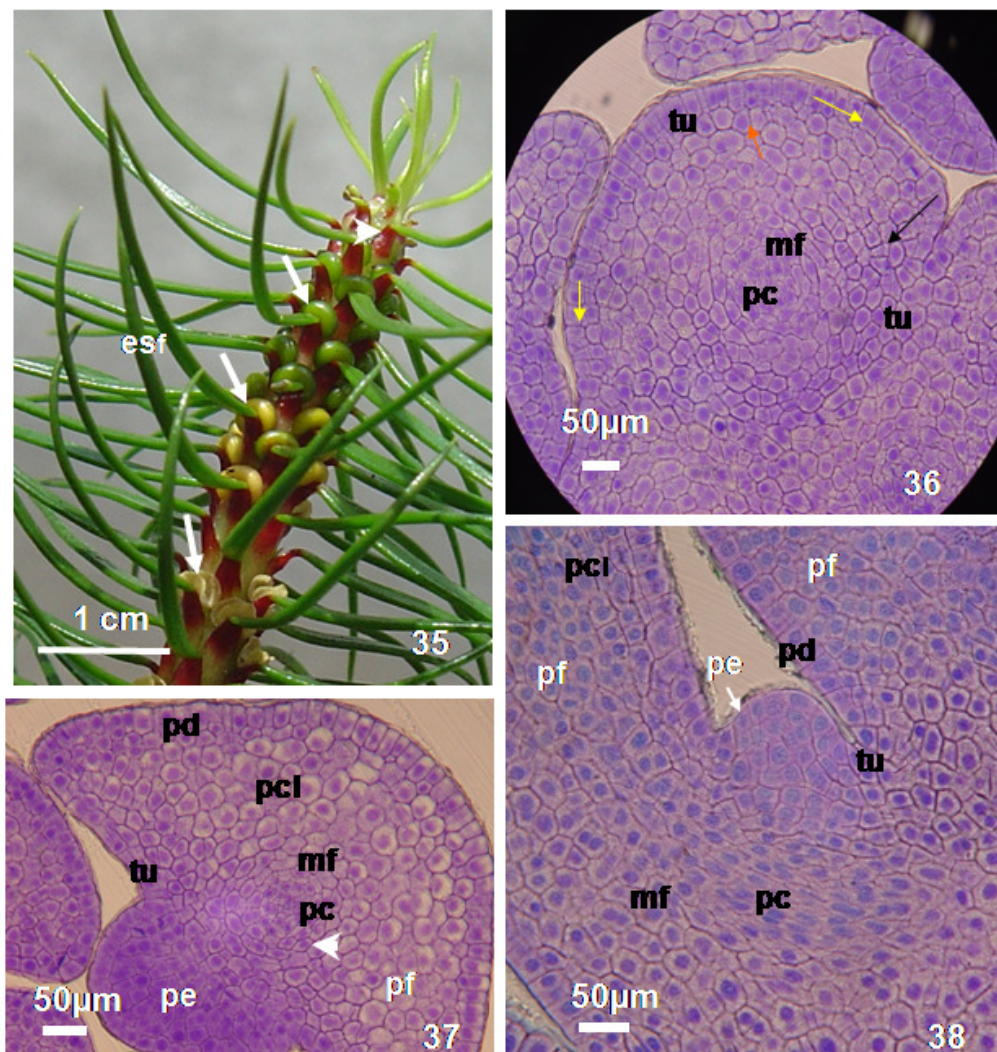


Figuras 25-29. *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan. 25-26. Seções transversais do caule, evidenciando as raízes corticais. 25. Região média, vista em microscopia óptica. 26. Região basal vista em microscopia eletrônica de varredura. 27. Esporófito ereto com tufo de pêlos radiculares (seta) na base. 28. Raiz intracortical, em seção transversal, com parte inclusa no caule e destituída de pêlos (seta branca) e parte exteriorizada e com pêlos radiculares (seta preta). 29. Vista frontal de raiz externa com superfície coberta por pêlos radiculares. Legenda: cc- córtex caulinar; est- estelo; rc- raiz intracortical; pr- pêlo radicular.

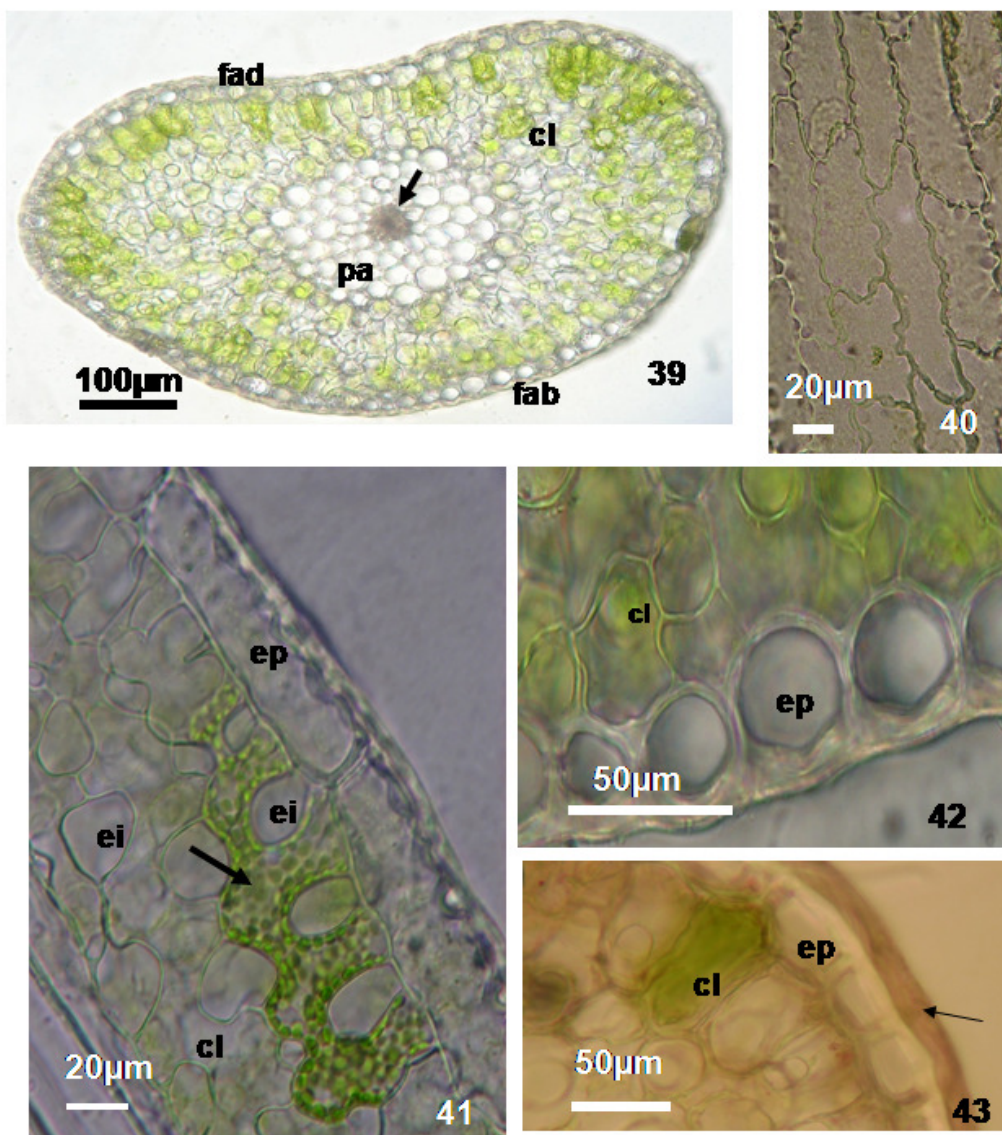


Figuras 30-34. Seções de raízes de *Hyperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan, em microscopia óptica. **30.** Seção longitudinal de raiz externa, evidenciando tecidos corticais e epiderme com células longas (seta branca) e curtas (seta preta), estas formando pêlos absorventes. **31-34.** Seções transversais. **31.** Aspecto geral de raiz externa, revestida por epiderme com pêlos radiculares (cabeça de seta). **32.** Aspecto geral de raiz intracortical, sem tecido de revestimento (tecido esclerenquimático da raiz em contato direto com tecidos do córtex caulinar). **33-34.** Detalhes de sistema vascular delimitado por endodeme e perênquima cortical. Endodeme com espessamento em "U" (seta) e grãos de amido (cabeça de seta). **33.** Raiz externa. **34.** Raiz intracortical. **Legenda:** ae- amil esclerenquimático; en- endodeme; ep- epiderme; es- esclerenquima; fl- floema; pa- perênquima; pr- periciclo; re- raiz intracortical; sv- sistema vascular; xi- xilema; cv- cilindro vascular; cc- córtex caulinar.

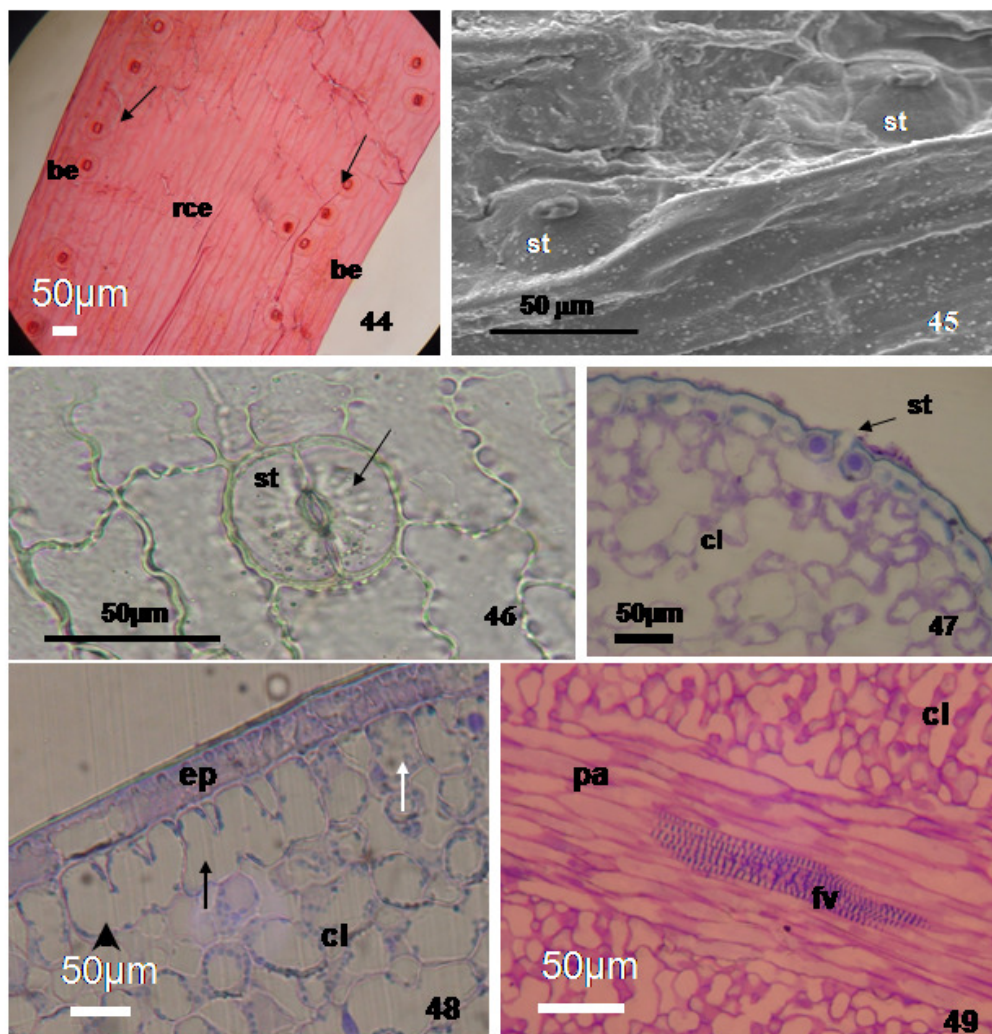




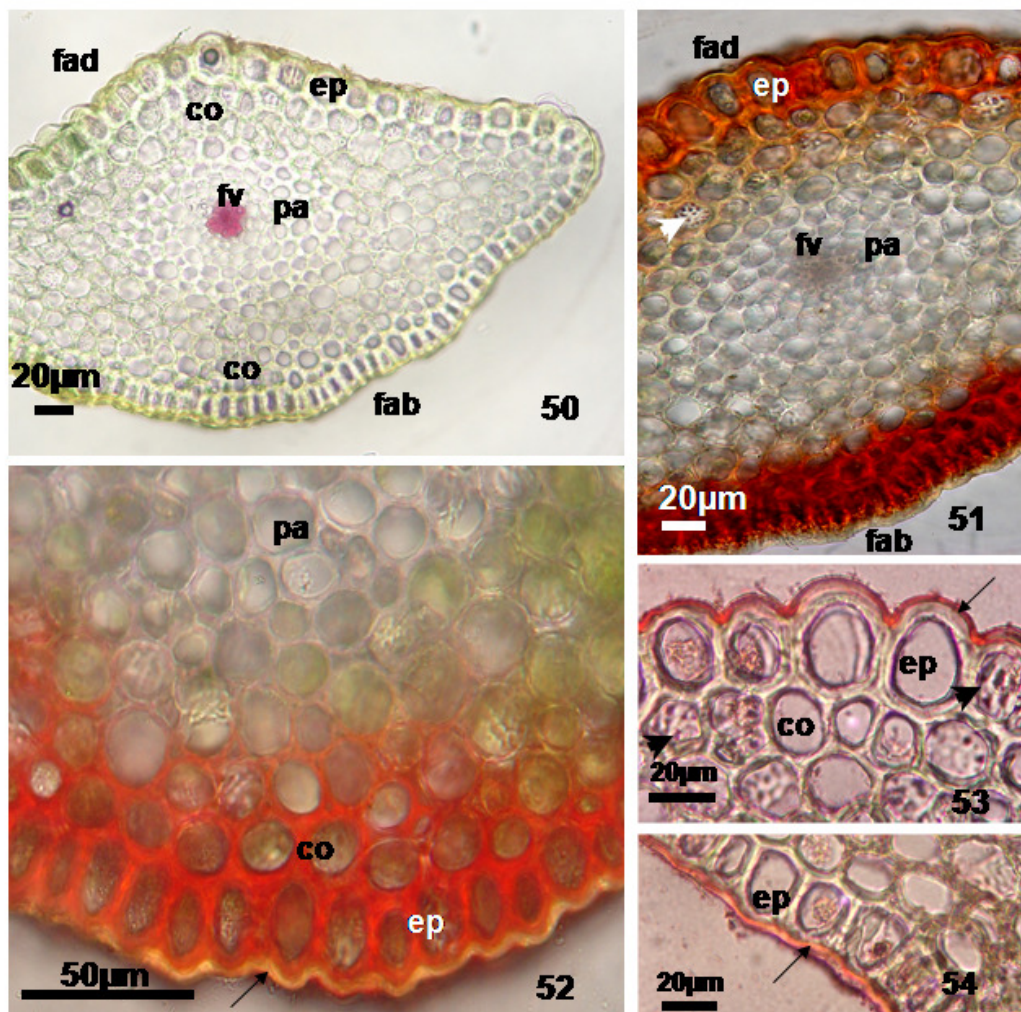
Figuras 35-38. *Huperzia mazdiocana* (Radlk) Trevisan. 35. Aspecto geral de porção apical do esporófito, evidenciando esporófilos com esporângios em diferentes fases do desenvolvimento (setas). Bainha dos esporófilos avermelhadas (cabeças de seta). 36-37. Seções transversais de primórdios de esporófilos, em microscopia óptica. 36. Túnica com divisões periclinais (seta amarela) e divisões anticlinais (seta laranja) originando protoderme e meristemas precusores do claténquima (seta preta). 37. Detalhe dos tecidos meristemáticos. Divisões das células da túnica, na base do primórdio do esporófilo, originam o primórdio do esporângio. 38. Seção longitudinal de ápice caulinar, em microscopia óptica, destacando meristemas originando primórdios de esporófilos e esporângio. Legenda: esf-esporófilo; mf-meristema fundamental; pc-procâmbio; pcl-tecido precursor do claténquima; pd-protoderme; pe-primórdio do esporângio; pf-primórdio foliar; tu-túnica.



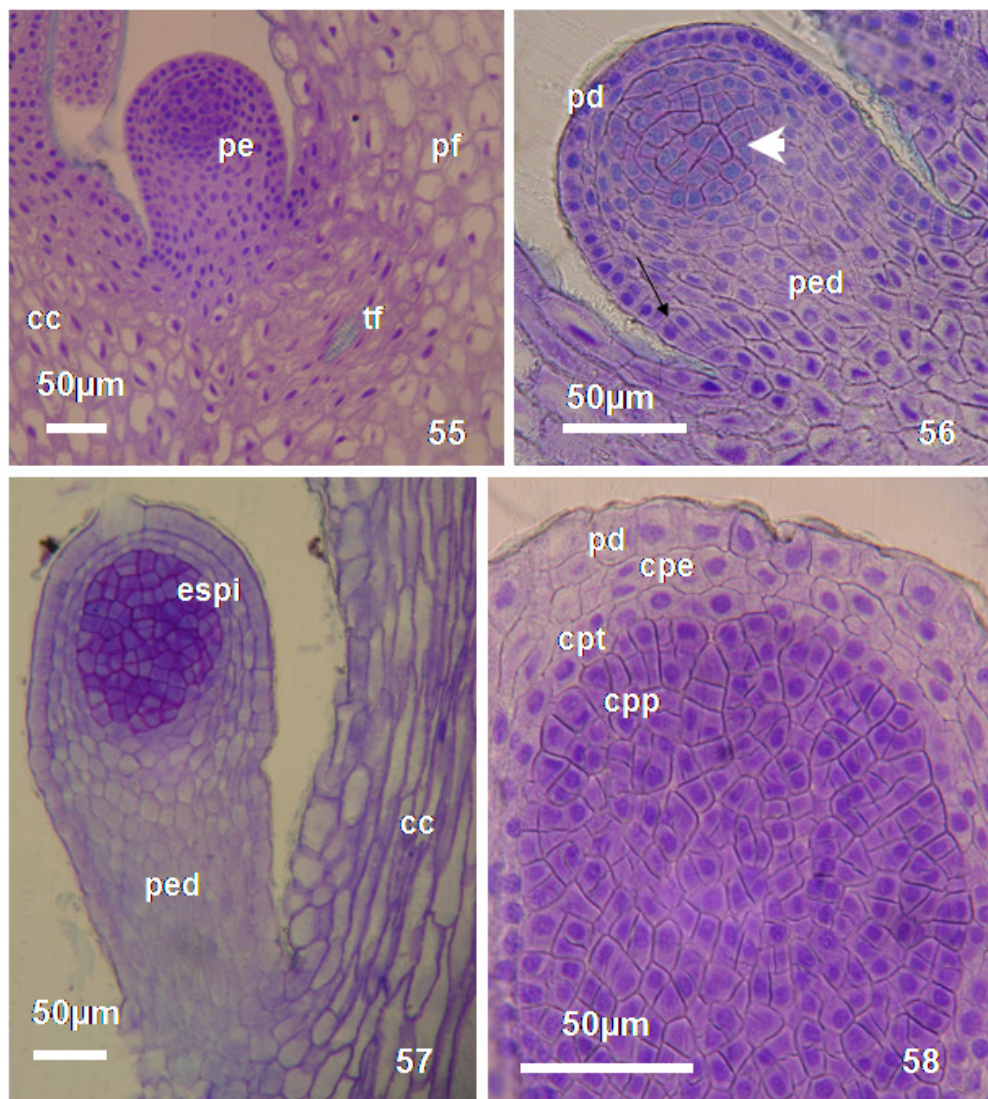
Figuras 39-43. Seções de folhas (esporófilos) de *Hesperia mandiocana* (Raddi) Tievissan, em microscopia óptica. 39. Aspecto geral evidenciando tecidos definitivos. Seta indica feixe vascular; cabeça de seta indica estômato. 40. Vista frontal da epiderme na face abaxial. Células alongadas e com paredes anticlinais sinuosas. 41. Seção transverso-longitudinal de tecidos periféricos. Seta indica ampla célula lobada do colênquima. 42-43. Seções transversais de tecidos periféricos. Seta indica cutícula em reação com Sudan. **Legenda:** cl- chlorenchima; ei- espaço intercelular; ep- epiderme; fab- face abaxial; fad- face adaxial; pa- parênquima.



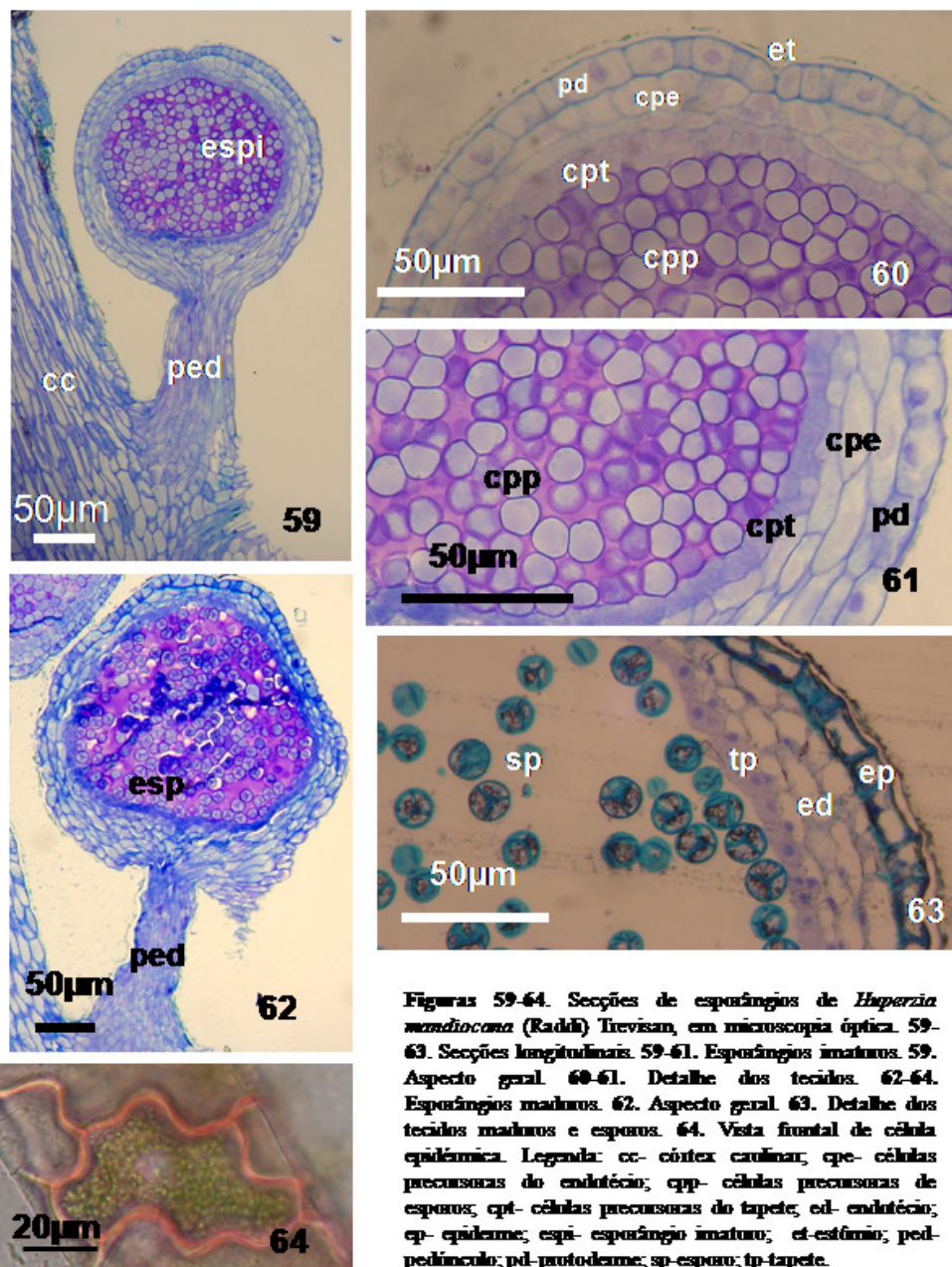
Figuras 44-49. Folhas (esporófilos) de *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan. 44. Vista frontal, em microscopia óptica, da face abaxial de esporófilo diafanizado evidenciando estômatos alinhados longitudinalmente e restritos às regiões próximas aos bordos. 45. Vista frontal da superfície epidérmica em microscopia eletrônica de varredura. Estômatos com região do poro em posição elevada. 46. Vista frontal da superfície epidérmica, em microscopia óptica. Estrias epicuticulares (seta) contornando o poro estomático. 47. Seção transversal, em microscopia óptica, destacando estômato e tecidos subepidérmicos. 48-49. Seções transverso-longitudinais, em microscopia óptica. Células mais internas do clorênquima com formas variadas. 48. Detalhe de aspectos distintos das células subepidérmicas do clorênquima, em M (seta preta), W (cabeça de seta) e simples (seta branca). 49. Células do parênquima perivasculares com forma fusiforme. Legenda: be- bordo do esporófilo; cl- clorênquima; st- estômato; rce- região central do esporófilo.



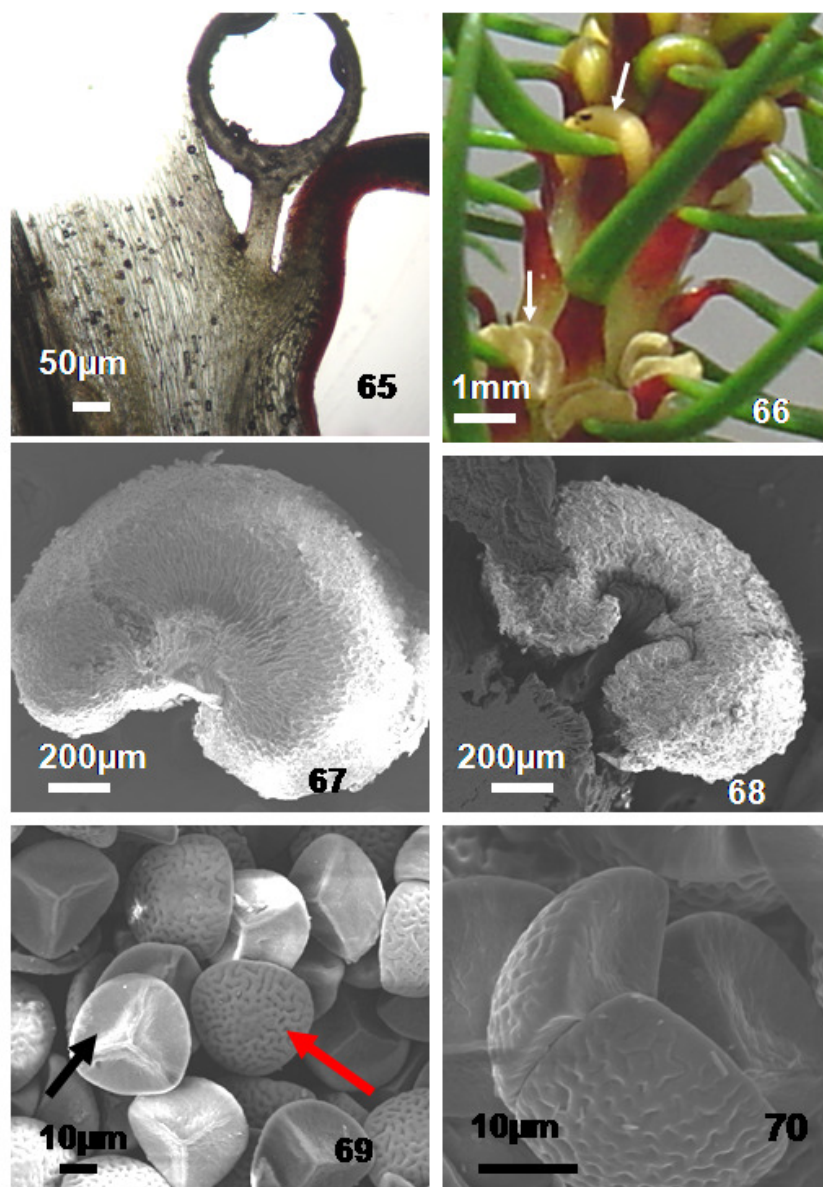
Figuras 50-54. Seções transversais de bainhas de esporofilos de *Huperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan, em microscopia óptica. 50. Aspecto geral. 51-52. Tecidos da porção central, sem uso de reagentes. Pigmentos vermelhos na parede celular da epiderme e tecidos subepidêmicos. 53-54. Detalhes de tecidos periféricos. Note cutícula vermelha em reação com Sudan. 53. Face adaxial. 54. Face abaxial. Legenda: co- colênquima; ep- epiderme; fab- face abaxial; fad- face adaxial; fv- feixe vascular; pa- parênquima; setas- cutícula; cabeça de seta- campos primários de pontuação.



Figuras 55-58. Seções longitudinais de pínáculos esporangiais de *Hyperzia mandiocana* (Raddi) Trevisan, em microscopia óptica. 55-56. Fase inicial com pedúnculo não alongado. 55. Aspecto geral. 56. Detalhe evidenciando células precursoras de esporos (cabeça de seta) e células do tapete (seta) em divisão periclinal. 57-58. Esporangio ainda imaturo. 57. Aspecto geral, com pedúnculo alongado. 58. Detalhe dos tecidos precursoras do esporangio. **Legenda:** cc- córtex canlíar; cpe- células precursoras do endotécio; cpp- células precursoras de esporos; cpt- células precursoras do tapete; espi- esporangio imaturo; ped- pedúnculo; pe- pínáculo esporangial; pf- pínáculo foliar; pd- protoderme; tf- traço foliar.



Figuras 59-64. Seções de esponjões de *Hyperzia nardocoma* (Radcl) Trevisan, em microscopia óptica. 59-63. Seções longitudinais. 59-61. Esponjões imaturos. 59. Aspecto geral. 60-61. Detalhe dos tecidos. 62-64. Esponjões maduros. 62. Aspecto geral. 63. Detalhe dos tecidos maduros e esporos. 64. Vista frontal de célula epidérmica. Legenda: cc- córtex caulinar, cpe- células precursoras de endotécio; cpp- células precursoras de esporos; cpt- células precursoras do tapete; ed- endotécio; ep- epideme; espi- esponjão imaturo; et- estímio; ped- pedículo; pd- pautodeme; sp- esporo; tp- tapete.



Figuras 65-70. Esporângios e esporos de *Hyperzia mamdiocana* (Raddi) Trevisan. 65. Seção longitudinal de esporângio maduro na axila do esporófilo, em microscopia óptica. 66. Esporângios maduros, reniformes, em diferentes fases de deiscência (setas). 67-70. Em microscopia eletrônica de varredura. 67. Esporângio imaturo. 68. Esporângio maduro. 69-70. Esporos com fumato piramidal (seta preta) e face externa convexa (seta vermelha).