

FLÁVIA BONIZOL FERRARI

**ANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE ASPLENIACEAE E
POLYPODIACEAE (MONILÓFITAS) OCORRENTES NO PARQUE
ESTADUAL DA SERRA DO BRIGADEIRO, MG, BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Botânica, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*

**VIÇOSA
MINAS GERAIS- BRASIL
2009**

FLAVIA BONIZOL FERRARI

**ANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE ASPLENIACEAE E
POLYPODIACEAE (MONILÓFITAS) OCORRENTES NO PARQUE
ESTADUAL DA SERRA DO BRIGADEIRO, MG, BRASIL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Botânica, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de Julho de 2009.

Prof. Luzimar campos da silva
(Coorientadora)

Dr. Jefferson Prado
(Coorientador)

Prof^a. Renata Maria Strozi Alves
Meira

Prof. Wagner Campos Otoni

Prof^a. Aristéa Alves Azevedo
(Orientadora)

A minha querida irmã Fernanda,
pelo apoio incondicional....

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal, pela oportunidade de desenvolvimento deste trabalho.

Ao IEF, pela concessão da licença para a realização deste trabalho.

Ao Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) e seus funcionários, pelo apoio durante as coletas.

À Prof^ª. Dr^ª. Aristéa Alves Azevedo, pela brilhante orientação e pela confiança depositada em mim para a realização do mestrado.

À Prof^ª. Dr^ª. Luzimar Campos da Silva, pela ajuda na confecção das fotos, pelas sugestões e pela amizade.

Ao Dr. Jefferson Prado, pela orientação e ensinamentos.

À Prof^ª. Dr^ª. Renata Alves Meira, pela oportunidade de estágio no Laboratório de Anatomia Vegetal durante a graduação.

À Prof^ª. Dr^ª. Marília Contim Ventrella, pelo agradável convívio no Laboratório de Anatomia Vegetal.

À D. Edite, pela ajuda no processamento do material, pela amizade e pelo carinho.

Ao Gilmar Valente, pelo apoio durante as coletas e pela ajuda na preparação das exsiccatas.

Aos amigos da Botânica, Bruno, Advânio, Alice Pita, Karina, Victor, Patrícia, Cléber, Clébio, Diego, Vinícius, Dya, Adriana, Marina, Tiago, Nayara e Tuane, pelo carinho e pela amizade construída nesses anos de convívio.

À Dayana, pela amizade, pelas sugestões durante o processamento do material e pela acolhida em Viçosa.

À Roberta (Robs), pela grande amizade, companheirismo e pelos momentos de descontração nas festas de Viçosa.

À Jaque Dias, primeira amiga na chegada em Viçosa, pela constante ajuda nas disciplinas, seminários e coletas. Obrigada pelo seu apoio na viagem a São Paulo, pelas várias conversas e conselhos nos momentos difíceis. Para mim, você é um grande exemplo de que na vida tudo pode acontecer, basta perseguir os sonhos.... Estaremos sempre juntas!

À Carolina Fernandes (Carolzinha), pela amizade e companhia na vinda para Viçosa. Nós vencemos!

Aos meus pais, que sempre acreditaram que eu chegaria até aqui.

À minha irmã Fernanda, pelo amor, carinho e incentivo. Agora estaremos juntas para sempre!

À minha Tia Mariza e à minha avó Angélica, pelo incentivo, apoio e compreensão durante o mestrado.

Ao Tio Braz, exemplo de biólogo e profissional. Tenho certeza que você sempre estará ao meu lado.

Ao Nestor, Rico e Allegra, pelos momentos de alegria e carinho.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
Introdução Geral	01
Capítulo 1 – Anatomia foliar de seis espécies de <i>Asplenium</i> (Aspleniaceae) do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), MG, Brasil	07
Resumo	07
Abstract	09
Introdução	11
Material e Métodos	14
1. Caracterização da área de estudo	14
2. Metodologia	15
Resultados	17
Quadro comparativo das espécies de Aspleniaceae	29
Discussão e conclusões	30
Referências Bibliográficas	35
Capítulo 2 – Anatomia foliar de dez espécies de Polypodiaceae do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), MG, Brasil	41
Resumo	41
Abstract	43
Introdução	45
Material e Métodos	48
Resultados	50
Quadro comparativo dos gêneros de Polypodiaceae	77
Discussão e conclusões	78
Referências Bibliográficas	84
Conclusões Gerais	88

RESUMO

FERRARI, Flávia Bonizol, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009.
Anatomia foliar de espécies de Aspleniaceae e Polypodiaceae (monilófitas) ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, MG, Brasil. Orientadora: Aristéa Alves Azevedo. Co-orientadores: Luzimar Campos da Silva e Jefferson Prado.

Pteridophyta é um termo usado para denominar plantas vasculares desprovidas de sementes, que se dispersam por esporos e apresentam o ciclo de vida constituído de duas fases distintas, gametofítica e esporofítica. Existem aproximadamente 12.240 espécies de samambaias, com grande diversidade ocorrendo em regiões tropicais úmidas. No Brasil, estima-se a ocorrência de 1.200 a 1.300 espécies e, pelo menos, 50% desse total está representado no Estado de Minas Gerais. Os estudos de morfologia e anatomia são fundamentais para auxiliar na elucidação dos problemas taxonômicos nos diferentes grupos de plantas vasculares. Considerando-se o número reduzido de informações sobre a anatomia das monilófitas, foi realizada a caracterização anatômica de espécies de Aspleniaceae e Polypodiaceae ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), com o objetivo de selecionar caracteres relevantes na identificação das espécies. O material botânico foi coletado fértil e depositado no Herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa. Foram realizadas diafanizações e cortes transversais da região mediana da lâmina foliar e das regiões proximal, mediana e distal do pecíolo. O material foi processado, corado e montado, conforme metodologia específica. As espécies de *Asplenium* apresentam epiderme uniestratificada e estômatos predominantemente polocíticos ou anomocíticos. Pêlos foram observados apenas em *A. pseudonitidum*. O mesofilo é homogêneo na maioria das espécies estudadas, com células braciiformes ou lobadas. Em todas as espécies estudadas a venação é dicotômica, com extremidades livres. O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada; pêlos foram observados em *A. jucundum*, *A. pseudonitidum* e *A. harpeodes* e escamas em *A. oligophyllum* e *A. feei*. O sistema vascular do pecíolo variou significativamente dentre as espécies estudadas, apresentando número variável de meristelos ao longo de toda extensão e xilema com diferentes conformações, em forma de “C”, “X”, “V” ou em forma de “cavalo-marinho”. As espécies de Polypodiaceae apresentam lâmina foliar com epiderme uniestratificada. Em *Niphidium crassifolium* e *Microgramma squamulosa* foi verificada a presença de hipoderme.

Tricomas estão presentes em todas as espécies estudadas, exceto em *M. squamulosa*. Estômatos polocíticos e copolocíticos podem ser verificados em *Campyloneurum* e *Serpocaulon*, estômatos anomocíticos em *Pecluma*, *Pleopeltis* e *M. squamulosa* e estômatos diacíticos em *N. crassifolium*. O mesófilo é homogêneo na maioria das espécies analisadas, apenas em *Pleopeltis* é dorsiventral. Em relação ao padrão de venação, *Pecluma* apresenta venação aberta, nos demais gêneros a venação é do tipo reticulada. O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada, com escamas em *Pleopeltis* e *C. repens* e pêlos em *Pecluma*. Em relação ao sistema vascular do pecíolo, verificou-se um número variável de meristelos, ocorrendo rearranjos, com a união dos meristelos em direção à região distal do pecíolo. Dentre os caracteres analisados, o tipo de estômato, os tipos de tricomas, da lâmina foliar e do pecíolo, o padrão de venação e a vascularização do pecíolo podem ser considerados caracteres promissores na identificação de gêneros e espécies de Aspleniaceae e Polypodiaceae ocorrentes no PESB.

ABSTRACT

FERRARI, Flávia Bonizol, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Leaf anatomy of Aspleniaceae and Polypodiaceae (monilophytes) species occurring in the Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, MG, Brazil.** Advisor: Aristéa Alves Azevedo. Co-advisers: Luzimar Campos da Silva and Jefferson Prado.

Pteridophyta is a term used to denominate vascular plants lacking seeds that are dispersed by spores, with a life cycle characterized by two distinct phases: a gametophytic and a sporophytic phase. There are approximately 12,240 fern species displaying great diversity in wet tropical regions. In Brazil, 1,200 to 1,300 species are estimated to exist, with at least 50% of this total occurring in the state of Minas Gerais. Morphology and anatomy studies are fundamental to help elucidate the taxonomic problems found in the different groups of vascular plants. Considering the limited information on the anatomy of the monilophytes, an anatomic characterization of the Aspleniaceae and Polypodiaceae species occurring in the Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) was conducted to select the relevant characters for species identification. Fertile botanical material was collected and placed at the VIC Herbarium of the Universidade Federal de Viçosa. Diaphanization and transversal cuts of the median region of the foliar blade and of the proximal, median, and distal regions of the petiole were performed. The material was processed, stained and mounted according to specific methodology. *Asplenium* species present uniseriate epidermis and predominantly polocytic or anomocytic stomata. Hairs were observed only in *A. pseudonitidum*. Mesophyll is homogeneous in most of the species studied with bractiform or lobed cells. All the species studied presented dycotomic venation, with free extremities. The petiole presents uniseriate epidermis; hairs were observed in *A. jucundum*, *A. pseudonitidum* and *A. harpeodes* and scales in *A. oligophyllum* and *A. feei*. The vascular system of the petiole varied significantly among the species studied, presenting varied number of meristeles throughout the extension and xylem with different shapes ("C", "X", "V" or hipocampus-shaped). The Polypodiaceae species present foliar blade with uniseriate epidermis. In *Niphidium crassifolium* and *Microgramma squamulosa*, the presence of hypodermis was verified. Trichomes are present in all the species studied, except in *M. squamulosa*. Polocytic and copolocytic stomata can be verified in *Campyloneurum* and *Serpocaulon*, anomocytic stomata in *Pecluma*, *Pleopeltis* and *M. squamulosa* and diacytic stomata in *N. crassifolium*. The

mesophyll is homogeneous in most of the species analyzed, only in *Pleopeltis* it is dorsiventral. Regarding the venation pattern, *Pecluma* presents open venation, with reticulated venation in the other genera. The petiole presents uniseriate epidermis with scales in *Pleopeltis* and *C. repens* and hair in *Pecluma*. Regarding the petiole's vascular system, a variable number of meristeles was verified, with rearrangements occurring as a result of the fusion of the meristeles towards the distal region of the petiole. Among the characters analyzed, type of stomata, type of trichomes, foliar blade and petiole, venation pattern and petiole vascularization can be considered promising characters for the identification of the genera and species of Aspleniaceae and Polypodiaceae occurring in the PESB.

1- INTRODUÇÃO GERAL

Pteridophyta é um termo usado para denominar plantas vasculares desprovidas de sementes, que se dispersam por esporos e apresentam o ciclo de vida constituído de duas fases distintas, gametofítica e esporofítica, sendo cada uma, física e nutricionalmente, independente da outra (Moran 2004). Segundo Moran (2008), existem aproximadamente 12.240 espécies de samambaias, com grande diversidade nas regiões tropicais úmidas; Roos (1996) sugeriu que existam de 12.000 a 15.000 espécies. No Brasil, estima-se a ocorrência de 1.200 a 1.300 espécies (Prado 1998) e pelo menos 50% desse total está representado no Estado de Minas Gerais (Salino 2000).

Com o advento dos métodos cladísticos e das técnicas moleculares, tem sido crescente o interesse em classificações que reflitam relações evolutivas. Estudos filogenéticos recentes demonstram uma dicotomia basal dentro do grande grupo das plantas vasculares, separando-as em duas linhagens evolutivas totalmente distintas: Lycophyta e Euphyllophyta (Pryer *et al.* 2004; Smith *et al.* 2006). As Lycophyta constituem menos de 1% da diversidade das plantas vasculares, incluindo as Lycopodiales homosporadas e as Isoetales e Selaginellales heterosporadas. As Euphyllophyta compreendem dois grandes clados: as Spermatophyta, que incluem a grande diversidade de plantas com sementes, e as Monilophyta, que incluem *Equisetum* L., *Psilotum* Sw. e todas as samambaias eusporangiadas e leptosporangiadas. Os novos termos empregados especificam grupos monofiléticos, ao invés de Pteridophyta, o qual não reflete uma classificação adequada para estas plantas, do ponto de vista evolutivo (Pryer *et al.* 2004; Smith *et al.* 2006). Entretanto, Smith *et al.* (2006), em seu trabalho com as Monilophyta, as quais denominou simplesmente samambaias, esclareceu que o termo Monilophyta não são foi validamente publicado e, portanto, não deve ser usado com sua raiz latina.

As samambaias leptosporangiadas formam um grande clado dentro das monilófitas, constituindo um grupo monofilético com mais de 11.000 espécies (Pryer *et al.* 2004). Embora alguns dados corroborem a sustentação de várias das famílias tradicionalmente aceitas para as samambaias, algumas têm se mostrado inconsistentes, apresentando problemas quanto às suas delimitações (Wolf *et al.* 1994; Pryer *et al.* 2004; Little & Barrington 2003; Ranker *et al.* 2004; Rouhan *et al.* 2004; Schneider *et al.* 2004). No entanto, desde a recente reclassificação (Smith *et al.* 2006), estudos filogenéticos adicionais têm sido publicados envolvendo várias famílias, tais como Hymenophyllaceae (Ebihara *et al.* 2006; Hennequin *et al.* 2006a, 2006b), Pteridaceae (Prado *et al.* 2007;

Schuettpelz *et al.* 2007), Salviniaceae (Metzgar *et al.* 2007) e outras, contribuindo, desta forma, para confirmar o posicionamento de níveis hierárquicos mais elevados, como Ordem e Família e reconhecer ou excluir táxons em nível genérico (Smith *et al.* 2008).

A riqueza de espécies de samambaias e licófitas nas regiões tropicais está associada a variados microambientes caracterizados por diferentes altitudes, intensidade luminosa, solos, tipos de rochas e microclimas (Moran 1995). Os fatores edáficos, bióticos e climáticos determinam estratégias fisiológicas, anatômicas e respostas adaptativas que possibilitam a sobrevivência das plantas em diferentes condições ambientais (Dickison 2000). Estudos morfológicos e anatômicos constituem um forte embasamento para a compreensão dos processos adaptativos, indicando a influência dos fatores ambientais na distribuição, sobrevivência e papel das espécies no ecossistema (Pinto *et al.* 1993).

Com o objetivo de auxiliar na identificação das espécies, os taxonomistas têm buscado apoio em outras áreas da Botânica, principalmente na Anatomia Vegetal (Metcalfé & Chalk 1950, 1979) e, desde o século XIX, os caracteres anatômicos têm sido aplicados com sucesso à Taxonomia (Solereeder 1908). Bower (1923) foi o primeiro a propor a utilização dos caracteres anatômicos nos estudos taxonômicos e evolutivos das samambaias e Ogura (1972), em sua obra sobre a anatomia comparada dos órgãos vegetativos de Pteridophyta, realizou estudos detalhados de várias famílias, reunindo dados relevantes até os dias atuais. Entretanto, um elevado número de espécies ainda não foi estudado anatomicamente.

Algumas características têm se revelado promissoras como critérios adicionais à taxonomia, tais como: composição da epiderme e do mesofilo, presença e distribuição do esclerênquima (esclereídes ou fibras), vascularização do pecíolo e venação (Solereeder 1908; Fryns-Claessens & van Cotthem 1973; van Cotthem 1973; White 1974; Dickison 1975; Metcalfé & Chalk 1983). A presença de um tipo particular de tricoma pode, frequentemente, delimitar espécies, gêneros ou até mesmo famílias inteiras (Metcalfé & Chalk 1950). O tipo de estômato apresenta certa constância no nível de espécie ou em um mesmo gênero ou até família (van Cotthem 1973), sendo de grande valor taxonômico se aliado a outros caracteres morfológicos ou anatômicos.

A utilização da anatomia como subsídio para a taxonomia tem sido efetiva, inclusive permitindo a identificação de material fragmentado ou desprovido de estruturas reprodutivas. Os dados anatômicos também podem ser utilizados para indicar tendências evolutivas e relações filogenéticas entre os táxons (Metcalfé & Chalk 1979).

Na Zona da Mata de Minas Gerais, algumas áreas foram indicadas como prioritárias para a conservação da biodiversidade, especialmente devido à alta riqueza de espécies da fauna e da flora, algumas ameaçadas de extinção (Drumond *et al.* 2005). Dentre essas áreas, destaca-se o Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), que preserva dois importantes biomas ameaçados de extinção, a Mata Atlântica e os Campos de Altitude. A insuficiência de pesquisas na Zona da Mata de Minas Gerais e a grande representatividade e importância, em nível florístico, das samambaias, justificam estudos para o reconhecimento de espécies de duas famílias representativas ocorrentes no PESB: Aspleniaceae e Polypodiaceae.

Os objetivos deste trabalho foram: caracterizar anatomicamente espécies das famílias Aspleniaceae e Polypodiaceae ocorrentes no PESB e identificar caracteres úteis para a taxonomia das espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOWER, F.O. 1923. **The ferns (Filicales): treated comparatively with a view to their natural classification**. v.1. Today, Tomorrow's Book Agency, New Delhi.
- DICKISON, W.C. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: vegetative anatomy. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 62: 590-620.
- DICKISON, W. C. 2000. **Integrative plant anatomy**. Academic Press, San Diego. 533p.
- DRUMOND, G.M., MARTINS, C.S., MACHADO, A.B.M., SEBAIO, F.A. & ANTONINI, Y. 2005. **Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para a conservação**. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte. 222p.
- EBIHARA, A., J.-Y., IWATSUKI, K., HENNEQUIN, S. & ITO, M. 2006. A taxonomic revision of Hymenophyllaceae. **Blumea** 51: 221-280.
- FRYNS-CLAESSENS, E. & VAN COTTHEM, W. 1973. A new classification of the ontogenetic types of stomata. **The Botanical Review** 39: 71-131.
- HENNEQUIN, S., EBIHARA, A., ITO, M., IWATSUKI, K. & DUBUISSON, J.-Y. 2006a. Phylogenetic systematics and evolution of the genus *Hymenophyllum* (Hymenophyllaceae: Pteridophyta). **Fern Gazette** 17: 247-257.
- HENNEQUIN, S., EBIHARA, A., ITO, M., IWATSUKI, K. & DUBUISSON, J.-Y. 2006b. New insights into the phylogeny of the genus *Hymenophyllum* s.l. (Hymenophyllaceae): revealing the polyphyly of *Mecodium*. **Systematic Botany** 31: 271-284.
- LITTLE, D.P. & BARRINGTON, D.S. 2003. Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). **American Journal of Botany** 90: 508-414.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol II. Oxford Clarendon Press, Oxford. 1500p.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol I. **Systematic anatomy of the leaf and stem**. 2.ed. Oxford Clarendon Press, Oxford. 276p.

- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1983. **Anatomy of the dicotyledons: wood structure and conclusion of the general introduction**. 2 ed. Oxford Clarendon Press, Oxford. 297p.
- METZGAR, J.S., SCHNEIDER, H., PRYER, K.M. 2007. Phylogeny and divergence time estimates for the fern genus *Azolla* (Salviniaceae). **International Journal of Plant Sciences** 168: 1045-1053.
- MORAN, R.C. 1995. The importance of mountains to pteridophytes, with emphasis on Neotropical montane forests. *In*: S.P. Churchill, H. Baslev, E. Forero & J. L. Lutein (eds.). **Biodiversity and conservation of neotropical Montane Forests**. The New York Botanical Garden, New York. pp. 359-363.
- MORAN, R.C. 2004. **A natural history of ferns**. Timber Press, Portland (Oregon). 301p.
- MORAN, R.C. 2008. Diversity, biogeography, and floristics. *In*: T.A. Ranker & C.H. Haufler (eds.). **Biology and evolution of ferns and lycophytes**. Cambridge University Press, New York. 480p.
- OGURA, Y. 1972. **Comparative anatomy of vegetative organs of the pteridophytes**. 2nd ed. Gebriider Borntraeger, Berlin. 502p.
- PINTO, M., VARELA, V.P. & BATALHA, L.F.P. 1993. Influência do sombreamento no desenvolvimento de mudas de louro (*Licaria canela* (Meiss.) Kosterm). **Acta Amazonica** 23: 397-402.
- PRADO, J. 1998. Pteridófitas do Estado de São Paulo. *In*: C.E.M. Bicudo & G. Shepherd (Eds.). **Fungos macroscópicos e plantas do Estado de São Paulo** (Série Biodiversidade do Estado de São Paulo). FAPESP, São Paulo. 2: 49-61. 79p.
- PRADO, J., RODRIGUES, C.D.N., SALATINO, A. & SALATINO, M.L.F. 2007. Phylogenetic relationships among Pteridaceae, including Brazilian species, inferred from *rbcL* sequences. **Taxon** 56: 355 – 368.
- 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.
- RANKER, T.A., SMITH, A.R., PARRIS, B.S., GEIGER, J.M.O., HAUFLER, C.H., STRAUB, S.C.K. & SCHNEIDER, H. 2004. Phylogeny and evolution of grammitid ferns (Grammitidaceae): a case of rampant morphological homoplasy. **Taxon** 53: 415-428.
- ROOS, M. 1996. Mapping the world's pteridophyte diversity systematics and floras. *In*: J.M. Camus, M. Gibby & R.J. Johns (eds). **Pteridology in perspective**. Royal Bot. Gardens, Kew, pp. 29-42.

- ROUHAN, G., DUBUISSON, J.Y., RAKOTONDRAINIBE, F., MOTLEY, T.J., MICKEL, J.T., LABAT, J.N. & MORAN, R.C. 2004. Molecular phylogeny of the fern genus *Elaphoglossum* (Elaphoglossaceae) based on chloroplast non-coding DNA sequences: contributions of species from the Indian Ocean area. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 33: 745-763.
- SALINO, A. 2000. Pteridófitas. *In*: M.P. Mendonça & L.V. Lins (orgs.). **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Biodiversitas & Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte, Belo Horizonte. 157p.
- SCHNEIDER, H., SCHURTTPELZ, E., PRYER, K.M., CRANFILL, R., MAGALLÓN, S. & LUPIA, R. 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. **Nature** 428: 553-557.
- SCHUETTPELZ, E., SCHNEIDER, H., HUIET, L., WINDHAM, M.D. & PRYER, K.M. 2007. A molecular phylogeny of the fern family Pteridaceae: assessing overall relationships and the affinities of previously unsampled genera. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 44: 1172-1185.
- SMITH, A.R., PRYER, K.M., SCHUETTPELZ, E., KORALL, P., SCNEIDER, H. & WOLF, P.G. 2006. A classification for extant ferns. **Taxon** 55: 705-731.
- SMITH, A.R., PRYER, K.M., SCHUETTPELZ, E., KORALL, P., SCNEIDER, H. & WOLF, P.G. 2008. Fern Classification. *In*: T.A. Ranker & C.H. Haufler (eds.). **Biology and evolution of ferns and lycophytes**. Cambridge University Press, Cambridge. 480p.
- SOLEREDER, H. 1908. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. v.1. Claredon Press, Oxford. 1182p.
- VAN COTTHEM, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematics. *In*: J.A. Crabbe & B.A. Thomas (eds.). The phylogeny and classification of the ferns. **Botanical Journal of the Linnean Society** 67(Suppl.1): 59-71.
- WHITE, R.A.1974. Comparation anatomical studies of the ferns. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61: 379-387.
- WOLF, P.G., SOLTIS, P.S. & SOLTIS, D.E. 1994. Phylogenetic relationships of Dennstaedtioid ferns: evidence from *rbcL* sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 3: 383-392.

CAPÍTULO 1

ANATOMIA FOLIAR DE SEIS ESPÉCIES DE *ASPENIUM* (ASPLENIACEAE) DO PARQUE ESTADUAL DA SERRA DO BRIGADEIRO (PESB), MG, BRASIL

RESUMO

FERRARI, Flávia Bonizol, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009.
Anatomia foliar de seis espécies de *Asplenium* (Aspleniaceae) do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, MG, Brasil. Orientadora: Aristéa Alves Azevedo. Co- orientadores: Luzimar Campos da Silva e Jefferson Prado.

Aspleniaceae é uma das famílias mais representativas dentre as samambaias leptosporangiadas, sendo composta por sete gêneros. Estima-se cerca de 700 espécies para a família, sendo *Asplenium* L. o maior gênero, compreendendo aproximadamente 90% das espécies. Embora Aspleniaceae seja um grupo claramente monofilético, a taxonomia de suas espécies é problemática. Estudos moleculares vêm redefinindo o número de gêneros nas famílias e, de acordo com a classificação mais atual, apenas dois gêneros são reconhecidos em Aspleniaceae: *Asplenium* e *Hymenasplenium*. As características anatômicas, principalmente as foliares, têm sido úteis para elucidar problemas taxonômicos em diversas famílias de plantas. Considerando a importância da anatomia como subsídio para a taxonomia, foi realizada a caracterização anatômica de seis espécies de *Asplenium* encontradas em vegetação florestal no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), com o objetivo de selecionar caracteres relevantes na identificação das espécies. Todo material botânico foi coletado fértil, herborizado e incluído no acervo do Herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa. Para os estudos anatômicos, amostras das regiões proximal, mediana e distal do pecíolo e da região mediana da lâmina foliar das espécies foram coletadas, fixadas em FAA 50 e processadas segundo as técnicas usuais para montagem de lâminas permanentes. Para evidenciar venação, estômatos e tricomas, amostras das lâminas foliares foram coletadas, colocadas em álcool 50% e diafanizadas. A lâmina foliar das seis espécies apresenta epiderme uniestratificada, com células contendo cloroplastos. A.

pseudonitidum e *A. harpeodes* apresentam, na epiderme da face adaxial, células de paredes periclinais internas unguladas. As folhas são hipoestomáticas e os estômatos são predominantemente polocíticos na maioria das espécies; estômatos anomocíticos podem ocorrer, simultaneamente, na mesma espécie, como em *A. pseudonitidum*, *A. harpeodes* e *A. oligophyllum*. Apenas em *A. feei* os estômatos são, predominantemente, anomocíticos. Pêlos unisseriados foram observados apenas na epiderme da face abaxial de *A. pseudonitidum*. O mesofilo é homogêneo na maioria das espécies estudadas, apresentando células braciiformes ou lobadas. Em todas as espécies, a venação é dicotômica, com extremidades livres, ocorrendo espessamento terminal da nervura em *A. oligophyllum* e *A. pseudonitidum*. O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada; pêlos foram observados em *A. jucundum*, *A. pseudonitidum* e *A. harpeodes* e escamas em *A. oligophyllum* e *A. feei*. O sistema vascular do pecíolo variou significativamente dentre as espécies estudadas, apresentando número variável de meristelos ao longo de toda extensão e xilema com diferentes conformações, em forma de “C”, “X”, ”V” ou em forma de “cavalo-marinho”. Os tipos de estômatos, o espessamento da venação, a presença de pêlos em *A. pseudonitidum*, os tricomas e a conformação do sistema vascular do pecíolo podem ser considerados caracteres diagnósticos válidos para as espécies de *Asplenium* ocorrentes no PESB.

CHAPTER 1

LEAF ANATOMY OF SIX SPECIES OF *ASPENIUM* (ASPENIACEAE) IN THE PARQUE ESTADUAL DA SERRA DO BRIGADEIRO (PESB), MG, BRAZIL

ABSTRACT

FERRARI, Flávia Bonizol, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Leaf anatomy of six species of *Asplenium* (Aspleniaceae) in the Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), MG, Brazil.** Adviser: Aristéa Alves Azevedo. Co-advisers: Luzimar Campos da Silva and Jefferson Prado.

The Aspleniaceae is one of the most representative families among the leptosporangiate ferns, composed by seven genera. Around 700 species have been estimated as belonging to this family, with *Asplenium* L., the largest genus, comprising approximately 90% of the species. Although the Aspleniaceae family is clearly a monophyletic group, the taxonomy of its species is troublesome. Molecular studies have been redefining the number of genera in the families and, according to a more recent classification, only two genera are recognized in the Aspleniaceae family: *Asplenium* and *Hymenasplenium*. The anatomic characteristics, mainly the foliar, have been useful to elucidate taxonomic problems in several plant families. Considering the importance of anatomy as a basis for taxonomy, an anatomic characterization was carried out of six species of *Asplenium* found in the forest vegetation of the Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), aiming to select relevant characters for the identification of the species. All the botanical material collected was fertile, herborized, and included as property of the VIC Herbarium of the Universidade Federal de Viçosa. For the anatomic studies, samples from the proximal, median and distal regions of the petiole and from the median region of the foliar blade of the species were collected, fixed in FAA 50 and processed according to the conventional techniques used to mount permanent slides. The foliar blade of the six species presents uniseriate epidermis, with cells containing chloroplasts. *A. pseudonitidum* and *A. harpeodes* present cells with unguulate internal periclinal walls on the adaxial epidermis. Leaves are hypostomatic and stomata are

predominantly polocytic in the majority of the species; anomocytic stomata may occur, simultaneously, in the same species, as in *A. pseudonitidum*, *A. harpeodes* and *A. oligophyllum*. Only in *A. feei*, stomata are predominantly anomocytic. Uniseriate hairs were observed only in the abaxial epidermis of *A. pseudonitidum*. Mesophyll is homogeneous in most of the species studied, presenting bractiform or lobed cells. All species have dicotomous open venation with terminal nervure thickening in *A. oligophyllum* and *A. pseudonitidum*. The petiole presents uniseriate epidermis; hairs were observed in *A. jucundum*, *A. pseudonitidum* and *A. harpeodes* and scales in *A. oligophyllum* and *A. feei*. The vascular system of the petiole varied significantly among the species studied, presenting a variable number of meristeles along the extension and xylem with different shapes, (“C”, “X”, ‘V” or hipocamppus-shaped). Stomata type, venation thickening, hair presence in *A. pseudonitidum*, trichomes and the shape of the petiole’s vascular system may be considered valid diagnostic characters for the species of *Asplenium* occurring in the PESB.

1- INTRODUÇÃO

Aspleniaceae é uma das famílias mais representativas dentro do clado das samambaias leptosporangiadas (Lavalley & Prada 2007), sendo composta por sete gêneros, dos quais cinco ocorrem nas Américas, preferencialmente, em florestas tropicais úmidas (Tryon & Tryon 1982; Tryon & Stolze 1993). Estima-se cerca de 700 espécies para a família (Prado 2005) e *Asplenium* L. tem sido citado como o maior gênero dentro da família, com aproximadamente 90% das espécies, incluindo plantas terrestres, rupícolas e epífitas (Holttum 1947, 1949; Tryon & Tryon 1982; Lavalley & Prada 2007).

A família Aspleniaceae possui circunscrição bem definida, sendo um grupo claramente monofilético. Entretanto, apesar de vários estudos florísticos realizados na região neotropical, nos quais esta família está incluída, a taxonomia de suas espécies continua apresentando problemas (Sylvestre 2001). Estudos moleculares vêm redefinindo a delimitação da família em nível de gênero, apontando a inclusão de *Camptosorus* Link, *Pleurosorus* Fée, *Ceterach* Willd, *Holodictyum* Maxon, *Schaffneria* Fée, e *Diellia* Brack, gêneros de Aspleniaceae (Tryon & Tryon 1982), em *Asplenium* (Murakami *et al.* 1999; Gastony & Johnson 2001; Pinter *et al.* 2002; van den Heede *et al.* 2003; Schneider *et al.* 2004, 2005). De acordo com a classificação mais atual (Smith *et al.* 2006), apenas dois gêneros são reconhecidos dentro da família Aspleniaceae: *Asplenium* e *Hymenasplenium* Hayata. Segundo estudos moleculares, *Hymenasplenium*, considerado como seção de *Asplenium* por Tryon & Tryon (1982), parece representar um gênero independente, constituindo um grupo irmão de *Asplenium* (Smith *et al.* 2008).

Perrie & Brownsey (2005) demonstraram, através de análises moleculares, que a variação na morfologia das pínulas de *Asplenium hookerianum* Colenso e *Asplenium colensoi* Colenso é um caráter infraespecífico, não podendo, dessa forma, *A. colensoi* ser segregada como espécie distinta. Yatabe & Murakami (2003), estudando vários indivíduos da espécie epifítica *Asplenium nidus* L., reconheceram a formação de um grande grupo denominado “complexo *A. nidus*”, em decorrência da variação nas sequências do gene plastidial *rbcL*, observadas em 5% das plantas identificadas como *A. nidus*.

Os estudos de morfologia e anatomia são, reconhecidamente, ferramentas para a taxonomia (Solleder 1908; Metcalfe & Chalk 1950, 1979, 1983; Ogura 1972). As

características anatômicas, principalmente as foliares, em muitos casos, têm sido úteis para elucidar problemas taxonômicos em diversas famílias de plantas (Lersten & Curtis 1994; Moraes & Paoli 1999; Scatena *et al.* 1999; Kong 2001; Alves *et al.* 2002; Sartori & Tozzi 2002). Considerando a importância da anatomia como subsídio para a taxonomia, dados sobre a família Aspleniaceae são fundamentais para auxiliar na elucidação dos problemas taxonômicos expostos.

Ching (1940) agrupou *Asplenium* e Athyriaceae na família Aspleniaceae, enquanto que para Christensen (1938) os dois grupos pertenciam à subfamília Asplenoideae. Estudos anatômicos desenvolvidos por Umikalsen (1992) permitiram reconhecer que os dois grupos são distintos: Aspleniaceae é caracterizada por dois feixes de xilema em forma de “C” no pecíolo, que se fusionam na raque formando um “X”, enquanto em Athyriaceae, os dois feixes de xilema se unem na base formando um “U” ou “V”. Essas diferenças são importantes critérios diagnósticos para esses grupos, os quais apresentam similaridades no arranjo dos soros.

Wagner (1953), utilizando caracteres tais como o tipo de escama e esporo, ontogenia dos soros e estrutura do gametófito, mostrou a afinidade de *Diellia* com a família Aspleniaceae. Atualmente, análises moleculares eliminaram dúvidas com respeito ao posicionamento filogenético do gênero, incluindo *Diellia* em *Asplenium* L. (Murakami & Schaal 1994; Murakami *et al.* 1999; Pinter *et al.* 2002; Schneider *et al.* 2004, 2005; Perrie & Brownsey 2005).

Chandra (1979), em seu trabalho sobre a epiderme foliar de *Asplenium*, investigou 33 espécies, separando-as em três grupos, de acordo com o tipo de estômato predominante.

As falsas venações, que são morfológicamente similares a venações verdadeiras, mas diferem destas pela ausência de vascularização, foram relatadas em um grupo de espécies africanas de *Asplenium* por Chaerle & Viane (2004), com o intuito de facilitar a problemática identificação das espécies do grupo. Os autores sugerem que, em combinação com outros caracteres anatômicos, micromorfológicos e citológicos, as falsas venações podem ser utilizadas na taxonomia do grupo.

Mesmo fragmentários, os caracteres morfológicos e anatômicos vêm contribuindo para a solução de problemas taxonômicos nos diferentes grupos de plantas vasculares. Bercu (2005) estudou anatomicamente *Asplenium ruta-muraria* L., descrevendo variações na estrutura do córtex e na organização do sistema vascular ao longo da raiz, rizoma, pecíolo e lâmina foliar. Lavalley & Prada (2007) realizaram análise da morfologia do esporófito e do gametófito de *Asplenium*

dareoides Desv., obtendo dados que descartaram o parentesco de *A. dareoides* e *A. flabellifolium* Cav., sugerido por Schneider *et al.* (2004) com base em caracteres moleculares.

Trabalhos referentes à anatomia de espécies de Aspleniaceae são escassos, podendo ser citado o estudo realizado por Pôrto de Paula (1996), envolvendo espécies de samambaias ocorrentes nos Campos Rupestres de Minas Gerais, dentre elas *Asplenium auritum* Sw. Foram realizadas análises fenológicas, fisiológicas, anatômicas e histoquímicas que indicaram claramente a influência do ambiente xérico na morfologia e anatomia dos indivíduos.

Considerando-se o número reduzido de informações sobre a anatomia das Aspleniaceae, foi realizada a caracterização anatômica de espécies encontradas no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), com o objetivo de selecionar caracteres relevantes para a identificação das espécies.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1- Caracterização da área de estudo

O Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) foi criado oficialmente em 1996 e é administrado pelo Instituto Estadual de Florestas (IEF-MG), sendo considerado uma das mais importantes Reservas Naturais do Estado de Minas Gerais. A área do Parque ocupa o extremo norte da serra da Mantiqueira e pertence aos municípios de Araponga, Fervedouro, Miradouro, Ervália, Sericita, Pedra Bonita, Muriaé e Divino (Figura 1A). O Parque apresenta fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual Montana, um dos tipos de Floresta Atlântica, com graus variáveis de interferência antrópica (Veloso *et al.* 1991; [http:// www.ief.mg.gov.br](http://www.ief.mg.gov.br)).

O PESB está localizado entre as coordenadas 42°20' - 42°40'W e 20°20' - 21°00'S, ocupando uma área de 13.210 hectares (Paula 1998). Possui inúmeras nascentes, que contribuem de maneira significativa para a formação de duas importantes bacias hidrográficas do Estado: a do Rio Doce e a do Rio Paraíba do Sul ([http:// www.ief.mg.gov.br](http://www.ief.mg.gov.br)). O clima é mesotérmico, caracterizado por verões brandos a quentes e úmidos; a precipitação média anual varia em torno de 1.300 mm e a temperatura média anual é na ordem de 18° C. A altitude, entre 1.000 e 2.000 m, e o relevo exercem importante influência nas características climáticas do PESB, amenizando as temperaturas e criando um microclima tipicamente serrano nas regiões mais elevadas (ENGEVIX 1995). A área de estudo foi a Trilha do Muriqui, diversa em número de espécies e localizada na região central do PESB (Figuras 1A e 1B), a 200 metros da sede administrativa, com altitudes entre 1.230 e 1.274 m e 1,2 Km de extensão (ENGEVIX 1995).

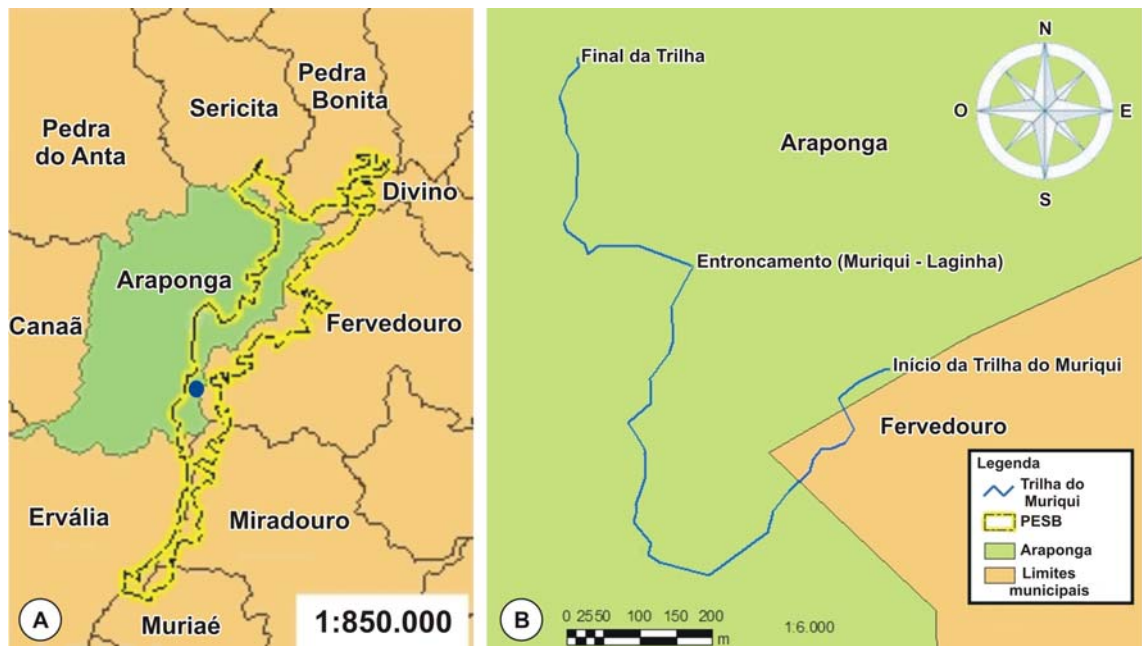


Figura 1- A: Municípios limites do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB) e localização da Trilha do Muriqui (●). B: Trilha do Muriqui.

2.2- Metodologia

Foram realizadas seis excursões para observação e coleta de material botânico dos representantes da família Aspleniaceae ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, ao longo da Trilha do Muriqui. Todo material botânico foi coletado fértil, herborizado, seguindo as técnicas usuais, e incluído no acervo do Herbário VIC, do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa. Duplicatas desses espécimes foram enviadas para o Herbário do Instituto de Botânica (SP).

No campo, foram feitas anotações referentes ao hábito e hábitat de cada exemplar coletado e, sempre que possível, a documentação fotográfica das espécies.

As espécies epífitas de *Asplenium* foram coletadas a uma altura máxima de 2 m em forófitos localizados a uma distância de até 2 m mata a dentro, em relação à trilha.

A identificação do material foi realizada com o auxílio de literatura especializada, por meio de consultas ao Dr. Jefferson Prado, do Instituto de Botânica (SP), especialista do grupo, e por comparação com material de herbário já identificado.

Para os estudos anatômicos, em microscopia de luz, amostras das regiões proximal, mediana e distal do pecíolo e da região mediana da lâmina foliar das espécies foram coletadas e fixadas em FAA (formaldeído 37%, ácido acético glacial e etanol

50%; 1:1:18, v:v). Para confecção de lâminas histológicas, as amostras foram processadas segundo as técnicas usuais para montagem de lâminas permanentes, com desidratação em série etanólica (Johansen 1940) e inclusão em metacrilato (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha) ou em parafina (Johansen 1940). Cortes transversais e longitudinais foram obtidos com a utilização de micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA). Os cortes de material incluído em metacrilato foram corados com Azul de Toluidina pH = 4,0 (O'Brien & Mc Cully 1981) e as lâminas, montadas em Permout (SP15-500, Fisher Scientific, New Jersey, USA). Os cortes incluídos em parafina foram desparafinizados, corados com Azul de Astra e Fucsina Básica (Roeser 1972 modificado por Luque *et al.* 1996), desidratados e as lâminas montadas em Permout. Também foram realizados cortes transversais de material sem inclusão, utilizando-se micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil); os cortes foram clarificados em hipoclorito de sódio (20%), lavados, corados com Safrablau e montados entre lâmina e lamínula com gelatina glicerinada.

Para evidenciar a venação, os estômatos e os tricomas, amostras das lâminas foliares e dos folíolos foram coletadas e colocadas em etanol 50% para posterior diafanização, conforme técnica descrita por Johansen (1940).

Em algumas espécies coletadas foram feitos testes histoquímicos utilizando-se floroglucina acidificada (Johansen 1940), lugol (Berlyn & Miksche 1976) e Vermelho de Rutênio (Johansen 1940), para evidenciar, respectivamente, lignina, amido e substâncias pécicas.

As observações e a captura de imagens foram realizadas em microscópio de luz (modelo Olympus AX70TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) com sistema U-Photo, com câmera digital acoplada (modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic instruments inc. New York, USA), do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV.

Imagens do material herborizado foram obtidas utilizando-se lupa (modelo Olympus SZX7 com câmera acoplada Olympus Evolt E-330) do Laboratório de Cultura de Tecidos da UFV.

Os estômatos foram classificados de acordo com van Cotthem (1973). Os padrões de distribuição do sistema vascular do pecíolo, da lâmina foliar e o padrão de venação foram determinados segundo Ogura (1972). Os tipos de tricomas foram classificados de acordo com Fahn (1990). Segundo este autor, pêlos, escamas e papilas são apêndices epidérmicos que podem ser definidos como tricomas.

3-RESULTADOS

Ao longo da Trilha do Muriqui, foram observadas e coletadas apenas espécies do gênero *Asplenium* (Aspleniaceae): *Asplenium scandicinum* Kaulf. (VIC 31831); *A. jucundum* Fée (VIC 31888); *A. pseudonitidum* Raddi (VIC 21573); *A. oligophyllum* Kaulf. (VIC 31890); *A. feei* Kunze ex Fée (VIC 31458) e *A. harpeodes* Kunze (VIC 31889).

Cinco, das seis espécies estudadas são epífitas, coletadas em locais sombreados, sobre caules de eudicotiledôneas e em samambaias arborescentes. Apenas *Asplenium harpeodes* apresenta hábito terrestre, ocorrendo em local onde o dossel propicia grande sombreamento.

Tanto na espécie terrestre como nas epífitas, a lâmina foliar apresenta epiderme uniestratificada, com células contendo cloroplastos (Figura 2A). *A. pseudonitidum* e *A. harpeodes* apresentam, na epiderme da face adaxial, células de aspecto unguilado (Figura 2A). A parede periclinal externa é relativamente fina, entretanto, em *A. oligophyllum*, *A. scandicinum* e *A. harpeodes* pode ser observado maior espessamento, com flanges cuticulares na face adaxial (Figura 2B). Em vista frontal, observa-se, na epiderme da face adaxial, células de paredes levemente sinuosas (Figuras 2C e 2D); apenas em *A. feei* as paredes apresentam sinuosidades muito evidentes (Figura 2E). Na epiderme da face abaxial, as paredes anticlinais apresentam-se sinuosas, em todas as espécies analisadas (Figura 2F).

Estômatos estão presentes apenas na face abaxial das folhas, sendo o tipo polocítico predominate na maioria das espécies (Figura 2H), entretanto, estômatos anomocíticos podem ocorrer, simultaneamente, como em *Asplenium pseudonitidum*, *A. harpeodes* e *A. oligophyllum*. Apenas em *A. feei* os estômatos são, predominantemente, anomocíticos, apresentando células-guarda com conteúdo denso (Figura 2G). Em *A. pseudonitidum*, ocorre espessamento da parede na região de união das células-guarda (Figura 2H); observa-se também, em corte transversal, que as células-guarda encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figura 3A).

Pêlos unisseriados, com quatro células, sendo a apical dilatada, de conteúdo denso, podem ser observados na epiderme da face abaxial de *Asplenium pseudonitidum* (Figura 2I).

O mesofilo é homogêneo na maioria das espécies estudadas (Figuras 3C, 3E e 3F), apresentando células braciiformes (Figura 3B). Apenas em *Asplenium pseudonitidum* observa-se que as células do parênquima clorofiliano apresentam arranjo mais compacto nas camadas próximas à face adaxial, indicando tendência à organização dorsiventral do mesofilo (Figura 3A). Células lobadas podem ser verificadas no mesofilo de *A. oligophyllum* e *A. scandicinum* (Figuras 3C e 3D). Em *A. harpeodes*, espécie terrestre, coletada em local sombreado, o mesofilo apresenta-se estreito, com três a quatro camadas celulares (Figura 3E), enquanto nas demais espécies, varia de seis a oito camadas (Figuras 3A, 3C e 3F). Em *A. feei*, foi observado um arranjo radiado das células do parênquima clorofiliano em torno da nervura mediana (Figura 3G).

Em *Asplenium jucundum* e *A. feei*, foram verificados grãos de amido nos cloroplastos, tanto nas células da epiderme, quanto no mesofilo (Figura 3H).

O sistema vascular da lâmina foliar de *Asplenium* é constituído por feixes anficrivais na região da nervura mediana (Figura 4A) e por feixes colaterais, de menor porte, distribuídos pela região mediana do mesofilo (Figura 4B), ambos circundados pelo periciclo, contendo de 1-3 camadas de células e pela endoderme, com estrias de Caspary (Figura 4A). Quanto ao padrão de venação, observou-se que, em todas as espécies estudadas, ocorre venação dicotômica, com extremidades livres (Figura 4C). Em *A. pseudonitidum* e *A. oligophyllum*, as terminações são formadas por um conjunto de traqueídes, conferindo aspecto dilatado à extremidade da nervura (Figura 4D).

Soros estão presentes na superfície abaxial da lâmina, posicionados paralelamente ao lado das nervuras, recobertos por indúcio estreito e hialino e compostos por uma camada de células (Figura 5 A-D e Figura 6 A-D). Em cinco das seis espécies analisadas, os soros são lineares, apenas em *Asplenium feei* são elípticos (Figura 5A), apresentando indúcio de mesmo formato e com as mesmas características das demais espécies.

Assim como na lâmina foliar, todas as espécies de *Asplenium* analisadas apresentam o pecíolo com epiderme uniestratificada, constituída por células de forma e tamanho variáveis; algumas vezes, ocorre impregnação por compostos fenólicos na parede periclinal externa, como em *A. pseudonitidum*, *A. feei* e *A. oligophyllum* (Figura

7A). Estômatos foram observados em *A. scandicinum*, *A. oligophyllum* e *A. feei* (Figura 7B).

Pêlos tectores unisseriados, pluricelulares e com paredes espessadas podem ser, ocasionalmente, encontrados nas regiões proximal e mediana do pecíolo de *Asplenium jucundum* e *A. pseudonitidum*. Em *A. harpeodes*, pêlos tectores, unisseriados, pluricelulares e com célula apical dilatada podem ser observados na região proximal do pecíolo (Figura 7C). Escamas, com células espessadas e também localizadas na região proximal do pecíolo, foram verificadas em *A. oligophyllum* (Figura 7D) e em *A. feei* (Figura 7E), sendo que, neste último, as escamas não se mantiveram íntegras nos cortes transversais analisados. Em *A. scandicinum*, não foram observados tricomas no pecíolo.

Fibras podem ser verificadas internamente à epiderme em *Asplenium feei*, *A. harpeodes*, *A. jucundum* e *A. oligophyllum* (Figuras 7A, 7D e 8A). Em *A. jucundum*, as fibras apresentam lúmen irregular e paredes de constituição celulósica, como verificado pelo teste histoquímico com Vermelho de Rutênio (Figura 8A). Em *A. scandicinum*, *A. pseudonitidum* e *A. oligophyllum* a camada subepidérmica está representada por um tecido de sustentação, formado por células parenquimáticas de paredes espessadas (Figura 7A). Em *A. scandicinum*, nas regiões mediana e distal do pecíolo, este tecido é intercalado com regiões de parênquima clorofiliano, onde estômatos podem ser observados na epiderme (Figura 8B).

Células parenquimáticas, adjacentes aos meristelos, encontram-se impregnadas com compostos fenólicos em *Asplenium pseudonitidum* e *A. feei* (Figura 8C); as demais, apresentam paredes celulósicas delgadas, havendo, entre estas, poucos espaços intercelulares (Figura 8C).

Em *Asplenium feei* verifica-se grande quantidade de amido, tanto no córtex, como na epiderme e no sistema vascular (Figura 8D).

A endoderme, presente em todas as espécies estudadas, apresenta uma camada de células tabulares (Figura 8E) com estrias de Caspary.

O sistema vascular do pecíolo de *Asplenium* apresenta conformações bastante variáveis, tanto no que se refere às espécies estudadas, quanto em relação à região analisada; entretanto, em todas elas, cada um dos meristelos apresenta periciclo com 1-4 camadas de células e floema em torno do xilema (Figura 9A). Em *A. feei*, o sistema vascular do pecíolo está representado, na região proximal, por dois meristelos independentes, cada um deles com xilema em forma de “C”, com região superior

recurvada (Figura 9A); na região mediana, um único meristelo compõe o sistema vascular, sendo, nesse caso, o xilema formado por dois semi-arcos, em forma de “C” (figura 9B); na região distal, também um único meristelo representa o sistema vascular, entretanto, o xilema é em forma de “V”, com vértice em forma de gancho e três pólos de protoxilema (Figura 9C). Em *A. oligophyllum*, nas regiões proximal e mediana, ocorrem dois meristelos, sendo o xilema em forma de “C”, com região superior recurvada e dois pólos de protoxilema (Figura 9D); já na região distal, um único meristelo está presente, sendo o xilema representado por dois semi-arcos, em forma de “C” (Figura 9E). *A. scandicinum* apresenta dois meristelos independentes e xilema em forma de “C” nas regiões proximal e mediana (Figura 9F); na região distal, ocorre apenas um meristelo, sendo o xilema em forma de “X”, com quatro pólos de protoxilema (Figura 9G).

Em *Asplenium jucundum* e *A. harpeodes*, o sistema vascular do pecíolo está representado por um único meristelo em toda sua extensão. Em *A. jucundum*, o xilema forma um “X” (Figura 9H) e em *A. harpeodes*, dois semi-arcos, em forma de “C” (Figura 9I). Já em *A. pseudonitidum*, dois meristelos independentes estão presentes ao longo do pecíolo, cada um deles com xilema em forma de “cavalo-marinho” (tipo *Onoclea*); os pólos de protoxilema estão localizados nas extremidades recurvadas (Figura 9J).

Os caracteres anatômicos das espécies de *Asplenium* estudadas podem ser comparativamente analisados na Tabela 1.

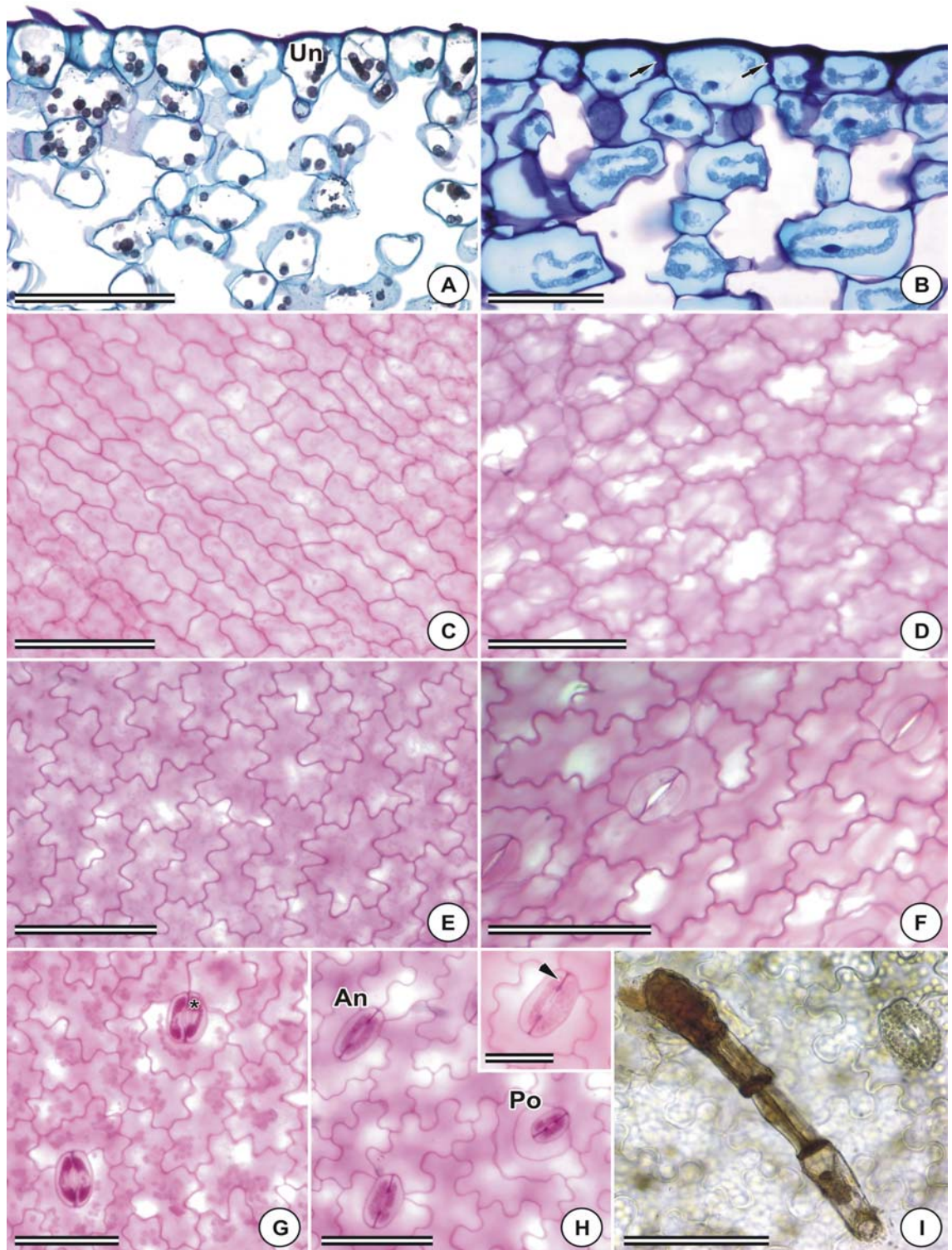


Figura 2 - Anatomia foliar de espécies *Asplenium*. A e B (cortes transversais), C-H (material diafanizado), I (corte paradérmico). A: células unguladas em *A. pseudonitidum*. B: flanges cuticulares (→) em *A. oligophyllum*. C: epiderme da face adaxial de *A. jucundum*. D: epiderme da face adaxial de *A. oligophyllum*. E: epiderme da face adaxial de *A. feei*. F: epiderme da face abaxial de *A. oligophyllum* com estômatos anomocíticos. G: estômatos anomocíticos e células-guarda com conteúdo denso (*) em *A. feei*. H: estômato polocítico e espessamento das células-guarda (cabeça de seta) em *A. pseudonitidum*. I: pêlo secretor de *A. pseudonitidum*. Abreviaturas: Un: célula ungulada, An: estômato anomocítico, Po: estômato polocítico. Barras: A, B, G, H e I: 100 µm; C-F: 150 µm; detalhe em H: 50 µm.

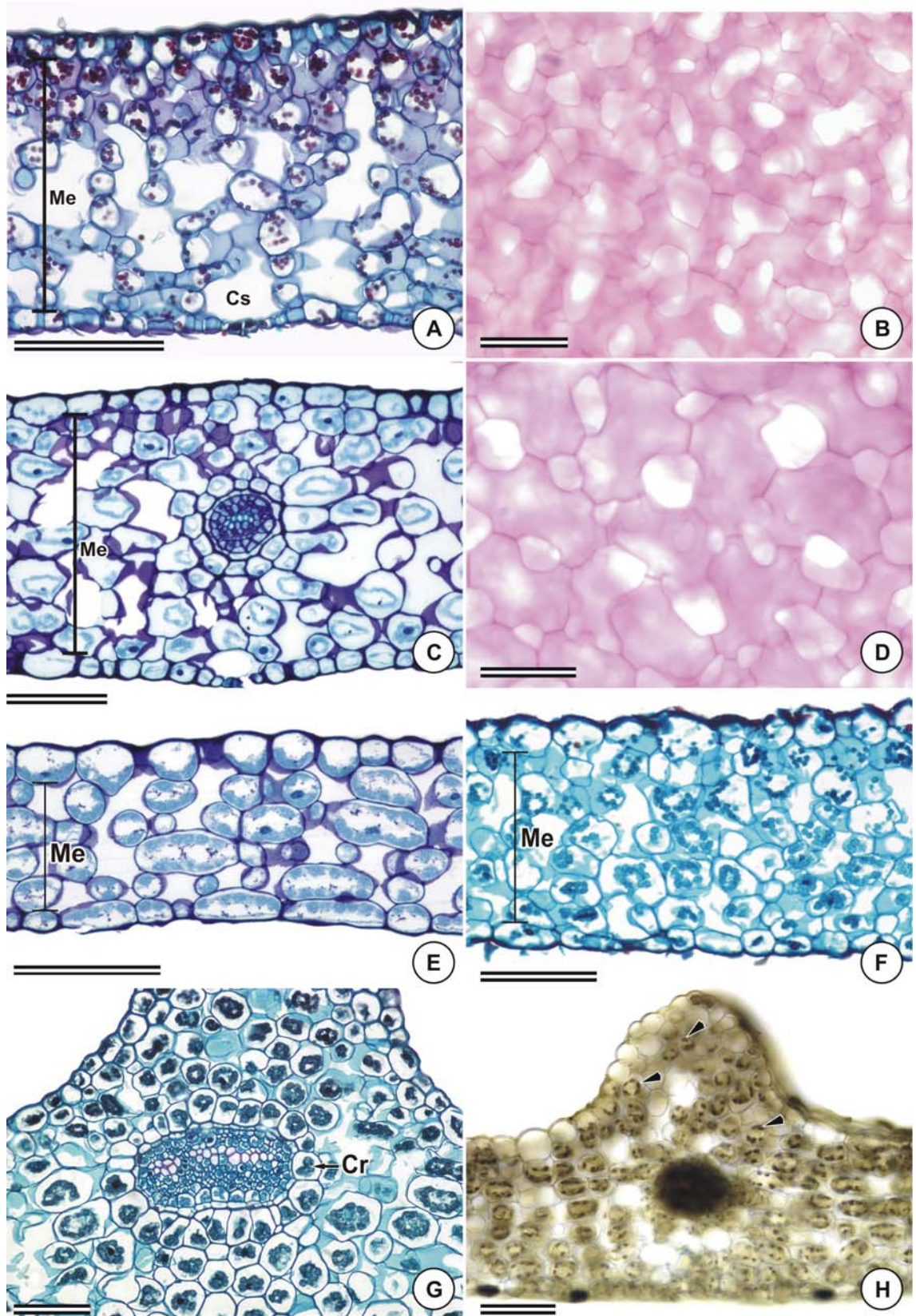


Figura 3 - Anatomia foliar de espécies de *Asplenium*. A, C, E-H (cortes transversais), B e D (material diafanizado). A: mesofilo de *A. pseudonitidum*. B: mesofilo com células braciformes em *A. pseudonitidum*. C: mesofilo de *A. oligophyllum*. D: mesofilo com células lobadas em *A. oligophyllum*. E: mesofilo de *A. harpeodes*. F: mesofilo de *A. scandinum*. G: células radiadas em *A. feei*. H: grãos de amido em *A. jucundum* (cabeças de seta). Abreviaturas: Me: mesofilo, Cr: células radiadas. Barras = A-H: 100 μ m.

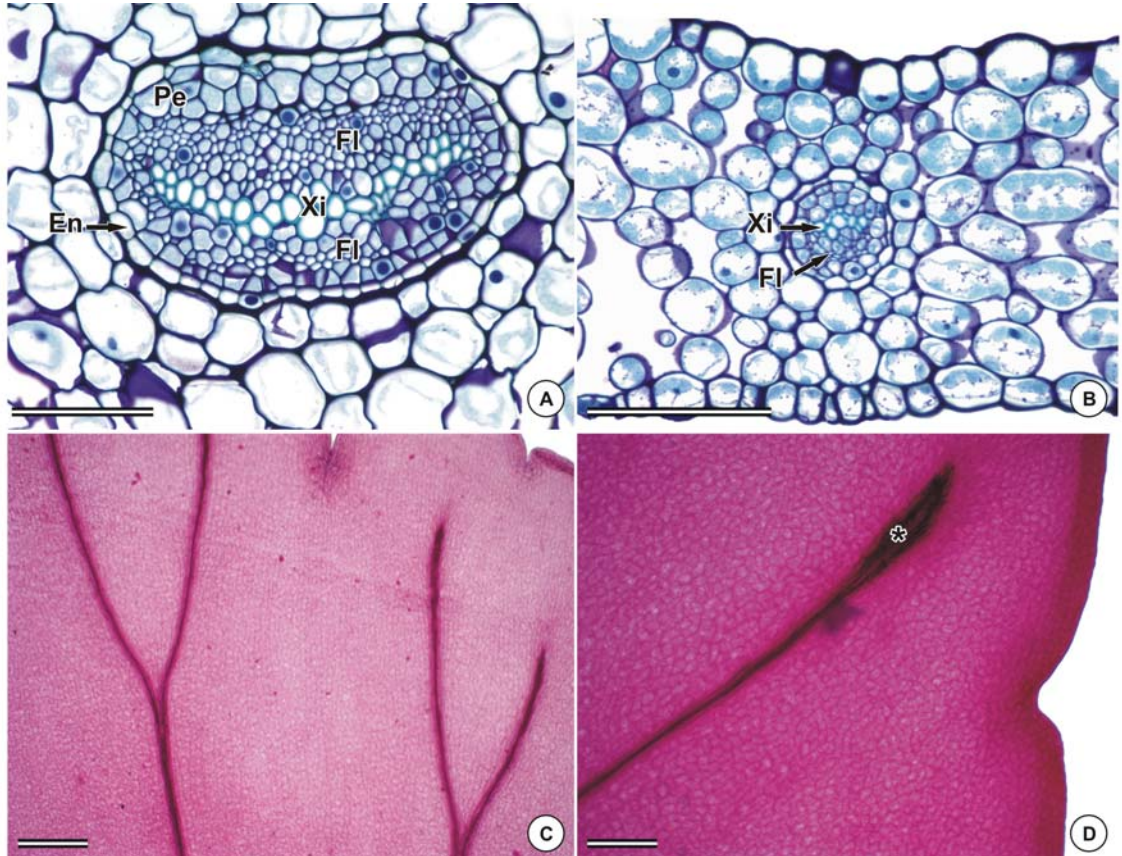


Figura 4- Anatomia da lâmina foliar de espécies de *Asplenium*. A e B (cortes transversais), C e D (material diafanizado). A: feixe anficrival em *A. oligophyllum*. B: feixe colateral em *A. harpeodes*. C: venação dicotômica em *A. harpeodes*. D: dilatação na terminação da nervura em *A. oligophyllum* (*). Abreviaturas: Xi: xilema, Fl: floema, En: endoderme, Pe: periciclo. Barras: A-B = 100 μ m; C-D = 400 μ m.

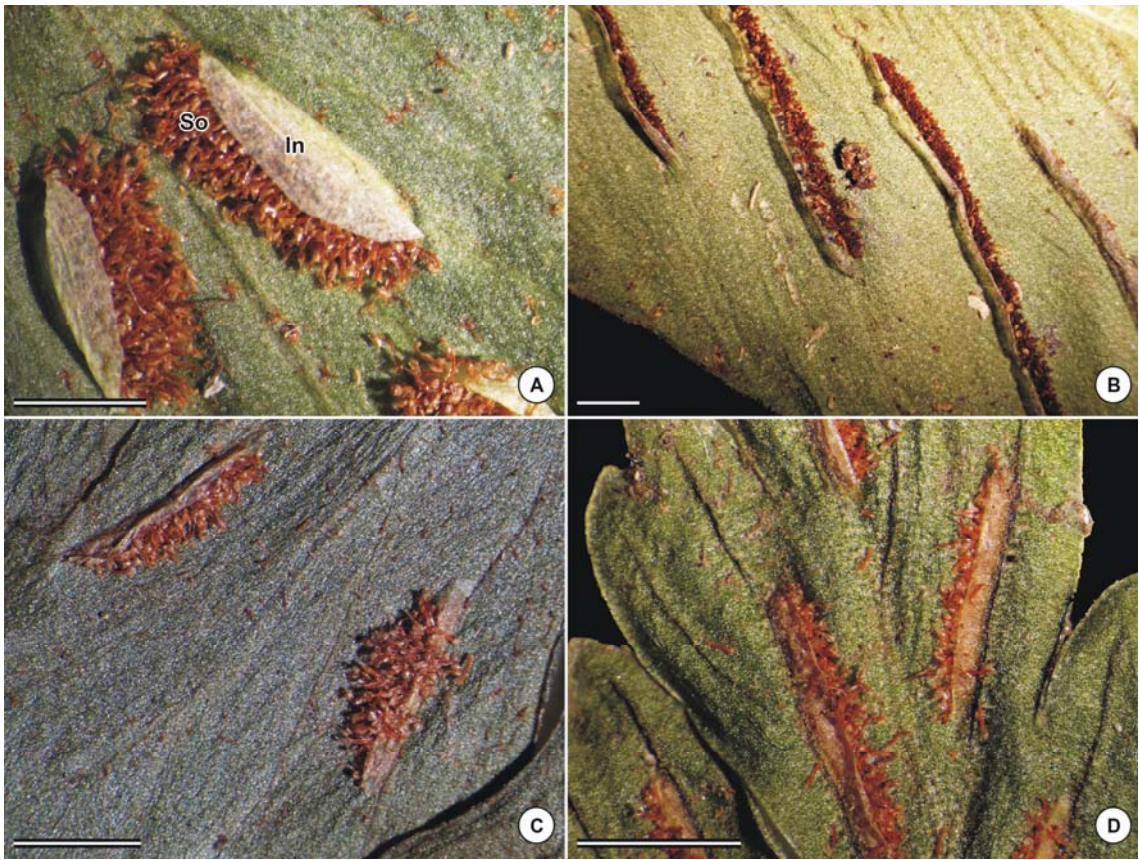


Figura 5- Face abaxial da lâmina foliar de espécies de *Asplenium* mostrando os soros recobertos por indúcio. A - D (material herborizado). A: *A. feei*. B: *A. oligophyllum*. C: *A. pseudonitidum*. D: *A. scandicinum*. Abreviaturas: In: indúcio, So: soro. Barras = 2,0 mm

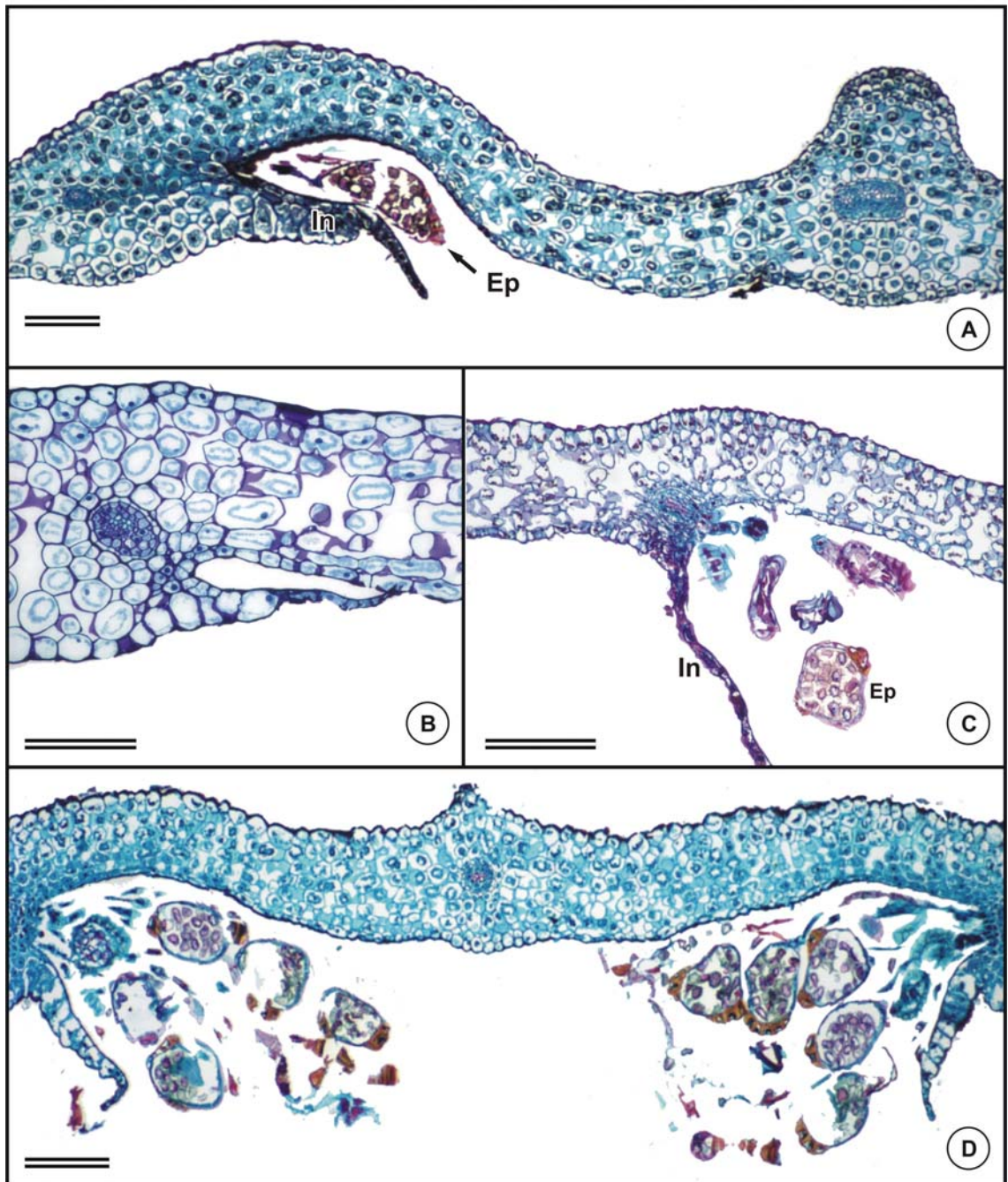


Figura 6- Anatomia da lâmina foliar de espécies de *Asplenium* na região dos soros. A-D (cortes transversais). A: *A. feei*. B: *A. oligophyllum*. C: *A. pseudonitidum*. D: *A. scandicinum*. Abreviaturas: In: indúcio, Ep: esporângio. Barras = 200 μ m

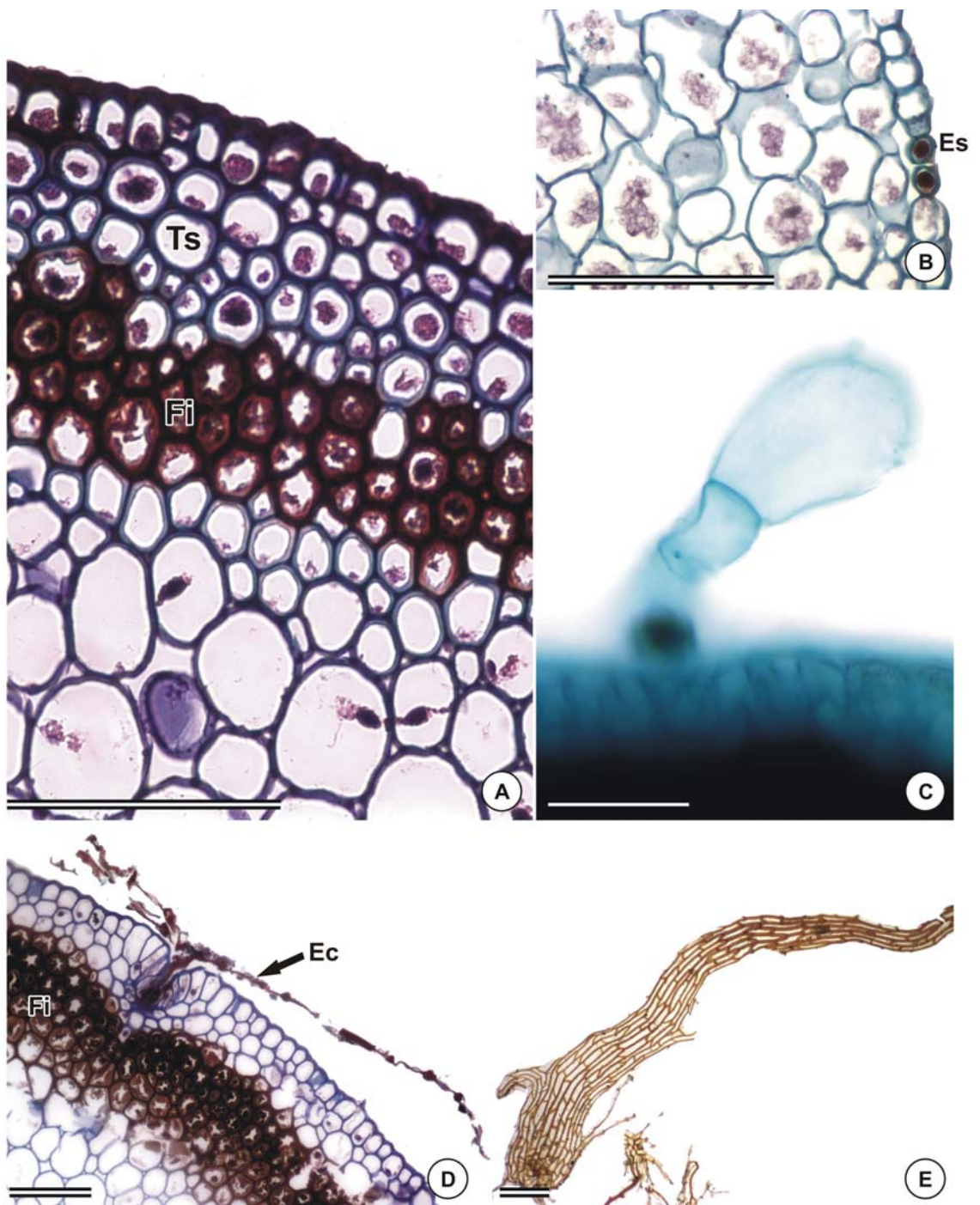


Figura 7- Anatomia do pecíolo de espécies de *Asplenium*. A -D (cortes transversais), E (material dissociado). A: tecido de sustentação e fibras na região proximal do pecíolo de *A. oligophyllum*. B: estômato na região distal do pecíolo de *A. feei*. C: pêlo tector na região proximal do pecíolo de *A. harpeodes*. D: escama e fibras na região proximal do pecíolo de *A. oligophyllum*. E: escama de *A. feei*. Abreviaturas: Ps: células parenquimáticas com paredes espessadas, Fi: fibras, Es: estômato, Ec: escama. Barras: A-B, D = 150 μm ; C = 50 μm ; E = 400 μm .

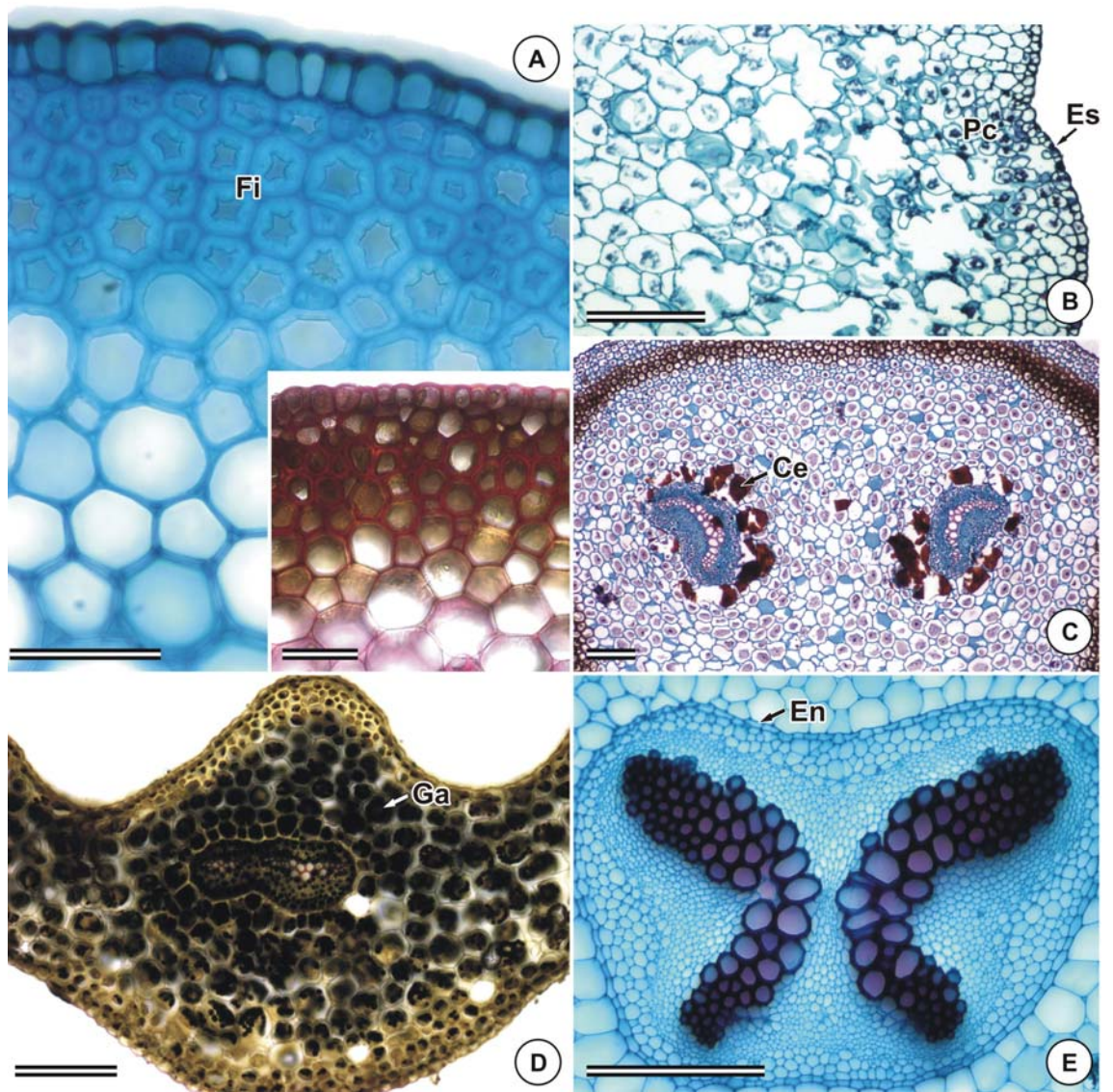


Figura 8- Anatomia do pecíolo de espécies *Asplenium*. A – E (cortes transversais). A: fibras na região mediana do pecíolo de *A. jucundum*. Em detalhe: fibras de paredes celulósicas evidenciadas pelo Vermelho de Rutênio. B: parênquima clorofiliano e estômato na região mediana do pecíolo de *A. scandicinum*. C: compostos fenólicos nas células parenquimáticas na região proximal do pecíolo de *A. feei*. D: grãos de amido na região mediana do pecíolo de *A. feei*. E: endoderme na região mediana do pecíolo de *A. harpeodes*. Abreviaturas: Fi: fibras, Pc: parênquima clorofiliano, Es: estômato, Ce: compostos fenólicos nas células parenquimáticas, Ga: grão de amido, En: endoderme. Barras: A= 50 μ m; B-E = 200 μ m.; detalhe em A: 50 μ m.

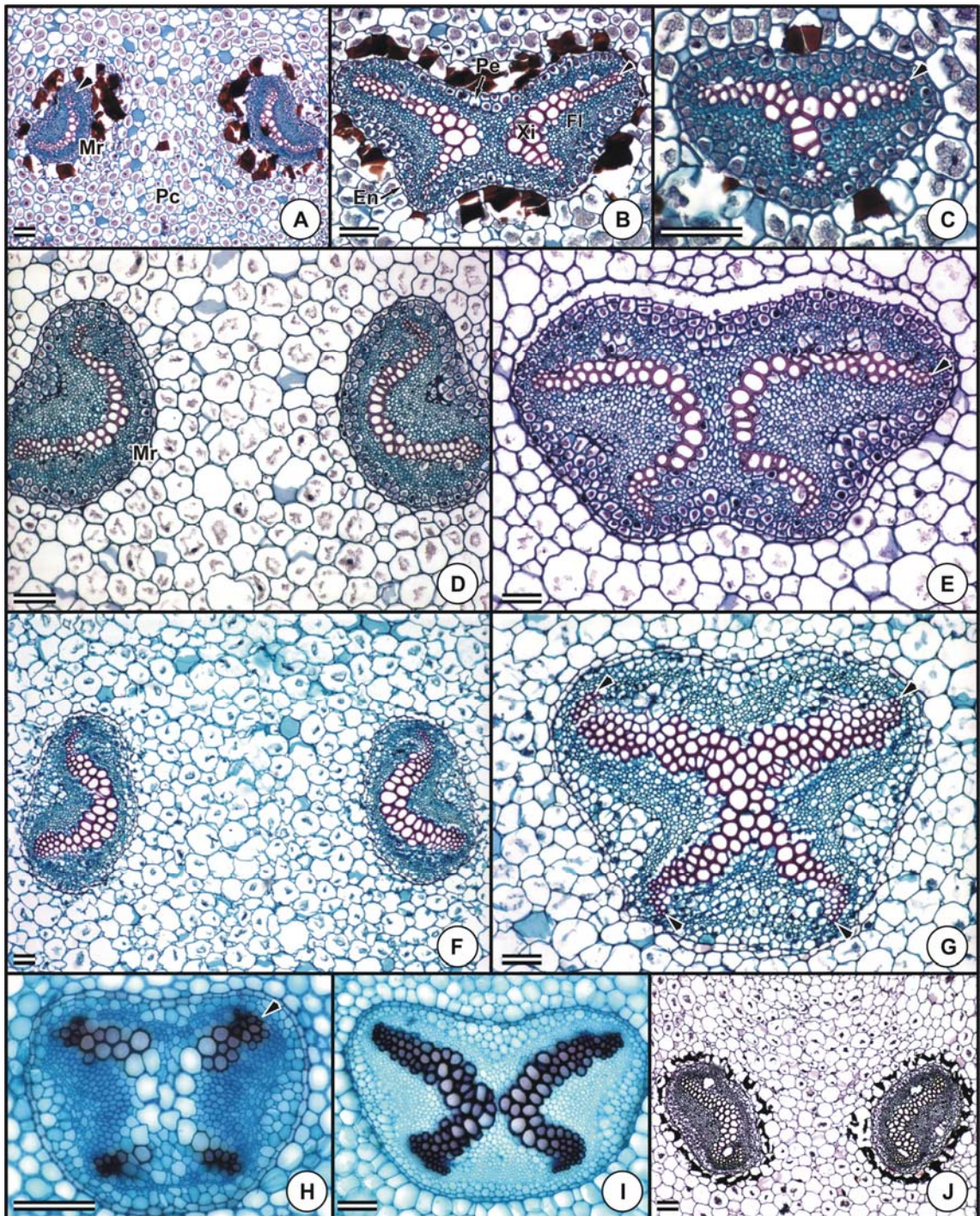


Figura 9- Sistema vascular do pecíolo de espécies de *Asplenium*. A - J (cortes transversais). A-C: *A. feei*. A: região proximal com dois meristelos e xilema em forma de “C”. B: região mediana com xilema em forma de “C”. C: região distal com xilema em forma de “V”. D e E: *A. oligophyllum*. D: região proximal com dois meristelos e xilema em forma de “C”. E: região distal com xilema em forma de “C”. F e G: *A. scandicinum*. F: região proximal com dois meristelos e xilema em forma de “C”. G: região distal com xilema em forma de “X”. H: *A. jucundum*: região proximal com xilema em forma de “X”. I: *A. harpeodes*: região proximal com xilema em forma de “X”. J: *A. pseudonitidum*: região proximal com xilema em forma de “cavalo-marinho”. Abreviaturas: Mr: meristelo, Pc: parênquima cortical, Xi: xilema, Fl: floema, Pe: periciclo, En: endoderme. Cabeças de seta: pólos de protoxilema. Barras: 100 μ m.

Tabela 1 – Caracteres anatômicos observados nas espécies de *Asplenium* ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB)

Característica	<i>A. oligophyllum</i>	<i>A. pseudonitidum</i>	<i>A. scandicinum</i>	<i>A. feei</i>	<i>A. harpeodes</i>	<i>A. jucundum</i>
Células unguladas		X			X	
Flanges cuticulares	X		X		X	
Estômatos polocíticos			X			X
Estômatos anomocíticos				X		
Estômatos polocítios e anomocíticos	X	X			X	
Pêlos na lâmina foliar		X				
Mesofilo com células braciiformes		X	X	X	X	X
Mesofilo com células lobadas	X					
Presença de amido				X		X
Espessamento da nervura terminal	X	X				
Pêlos no pecíolo		X			X	X
Escamas no pecíolo	X			X		
Pecíolo com xilema em forma de “C”	X		X	X	X	
Pecíolo com xilema em forma de “X”						X
Pecíolo com xilema tipo <i>Onclea</i>		X				

4- DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As samambaias representam o terceiro maior grupo de plantas com espécies epífitas, depois das orquídeas e bromélias. As três famílias com maior número de representantes epifíticos são Hymenophyllaceae, Polypodiaceae e Aspleniaceae, sendo que pelo menos 50% de suas espécies ocupam este hábitat (Gentry & Dodson 1987).

A maioria das espécies coletadas no PESB é epífita, de locais sombreados, apenas *Asplenium harpeodes* apresenta hábito terrestre, ocorrendo em local onde o dossel propicia grande sombreamento. Segundo Dickison (2000) e Metcalfe & Chalk (1979), entre outros, folhas expostas à sombra tendem a apresentar cutícula fina e mesofilo estreito, com muitos espaços intercelulares, como verificado em *A. harpeodes*. Estas características, segundo os autores, otimizam a captação e a utilização de luz e CO₂, evitando o comprometimento do processo fotossintético.

Flanges cuticulares foram verificadas em *Asplenium scandicinum*, *A. oligophyllum* e *A. harpeodes*. Cabe ressaltar que *A. scandicinum* e *A. harpeodes* além de serem espécies ocorrentes em local sombreado, apresentam pínulas muito delicadas se comparadas às de *A. oligophyllum*. Segundo Metcalfe & Chalk (1979), flanges cuticulares são infreqüentes em plantas herbáceas com folhas membranáceas.

Na maioria das espécies de *Asplenium* estudadas, as células epidérmicas da face adaxial da folha apresentaram paredes anticlinais menos sinuosas, se comparadas às da face abaxial. Em geral, em plantas de sol e de ambientes xéricos, as células epidérmicas, especialmente as da face adaxial, apresentam contorno mais retilíneo; nas plantas de sombra a ocorrência de células com contorno sinuoso, em ambas as faces da folha, é mais comumente observada (Wilkinson 1979). Nas folhas de sol, a cutícula e as paredes celulares se espessam e ficam rígidas mais rapidamente, ao contrário do que ocorre nas folhas de sombra, nas quais as paredes celulares permanecem delicadas e plásticas por mais tempo, favorecendo o desenvolvimento de ondulações (Watson 1942). *Asplenium feei*, espécie coletada em região de menor sombreamento, apresenta, tanto na face adaxial quanto na abaxial, paredes anticlinais com sinuosidades extremamente profundas. Dessa forma, apesar de forte significado adaptativo, acredita-se que outros fatores possam influenciar a expressão desse caráter. Para Panteris & Galatis (2005), a organização do citoesqueleto, mediada por controle molecular, seria responsável pela

formação das sinuosidades das paredes das células epidérmicas e pelas células lobadas no mesofilo.

A presença de células unguladas e de células de paredes periclinais externas convexas na epiderme de *Asplenium pseudonitidum* e *A. harpeodes* contribuem para maximizar a eficiência na absorção de luz; as superfícies convexas funcionam como lentes, direcionando a luz aos cloroplastos com maior eficiência (Haberlandt 1912; Moran 2004). A ocorrência das células unguladas distingue *A. pseudonitidum* e *A. harpeodes* das demais espécies estudadas; a análise desta característica em indivíduos provenientes de outros ambientes, aliado a outros caracteres taxonômicos, pode ser útil na identificação destas espécies.

O tipo de estômato verificado nas espécies de *Asplenium* pode ser considerado um caráter taxonômico válido, sendo possível separar as espécies estudadas em três grupos: *A. scandicinum* e *A. jucundum* com estômatos predominantemente polocíticos; *A. pseudonitidum*, *A. oligophyllum* e *A. harpeodes* com estômatos polocíticos e anomocíticos associados e, *A. feei*, com estômatos predominantemente anomocíticos. Estes tipos estomáticos foram relatados para a família Aspleniaceae por diversos autores (van Cotthen 1973; Chandra 1979; Bercu 2005). Bercu (2005), estudando a anatomia de *Asplenium ruta-muraria*, relatou a ocorrência concomitante de estômatos polocíticos e anomocíticos; Chandra (1979), em seu trabalho com 33 espécies de *Asplenium*, também verificou os tipos polocítico, anomocítico e a ocorrência simultânea dos dois tipos em uma mesma espécie.

A distribuição dos estômatos na lâmina foliar é muito variável em samambaias, podendo ocorrer em ambas as faces, como em *Ceratopteris* Brongn. e *Marsilea* L., ou apenas na face adaxial, como em *Anemia elegans* (Gardn). Presl., entretanto, na maioria das espécies, os estômatos estão distribuídos apenas na epiderme da face abaxial (Ogura 1972). Folhas hipoestomáticas, observadas em todas as espécies estudadas, são comuns em espécies de florestas tropicais e tal fato pode representar uma proteção contra o recobrimento e a obliteração das fendas estomáticas por musgos, hepáticas e fungos, comuns nesse ambiente (Coutinho 1962).

Espessamentos cuticulares da parede na região de união das células-guarda, como verificado em *Asplenium pseudonitidum*, são denominados na literatura como peça “T” (Metcalfé & Chalk 1979) e já foram descritos e utilizados como caracteres taxonômicos por vários outros autores (Bailey & Nast 1948; Stace 1965; Baranova 1972;) para famílias de dicotiledôneas.

Apenas em *Asplenium pseudonitidum* foram observados pêlos, com célula apical dilatada, de coloração escura. Estas características apontam para uma provável condição secretora, entretanto não foram realizados testes histoquímicos para comprovação. Mickel & Smith (2004) descreveram, para o gênero, pêlos tectores, com 3-6 células curtas, sendo a apical de cabeça globular. Segundo os autores, à primeira vista, a lâmina foliar de *Asplenium* tem aparência glabra, ocultando um carácter de grande importância taxonômica; o número de células, a cor e a presença ou ausência da célula apical globular, podem caracterizar uma determinada espécie.

A localização e formato dos soros e a presença de indúcio em todas as espécies estudadas estão de acordo com o que foi descrito por Mickel & Smith (2004) para o gênero.

O mesofilo homogêneo, com muitos espaços intercelulares, observado na maioria das espécies analisadas, é comum em espécies de locais sombreados (Dickison 2000; Fahn 1990). Segundo (Fahn 1990), células braciiformes, comuns no parênquima lacunoso, facilitam a conexão entre células vizinhas, sendo descritas por Graçano *et al.* (2001) em espécies de Pteridaceae e por Ogura (1972) em *Blechnum niponicum* (Kze.). Dentre as espécies estudadas, *Asplenium harpeodes* foi a que apresentou o mesofilo mais estreito, com quatro camadas de células. Tal característica reforça o que foi descrito por Dickison (2000) e Metcalfe & Chalk (1979) para espécies de sombra, já que *A. harpeodes* foi a única espécie terrícola estudada, sendo coletada em região sombreada. Embora a diferenciação do mesofilo seja interpretada como um caráter adaptativo, *A. pseudonitidum* pode ser distinguida das demais espécies estudadas por apresentar mesofilo com tendência à dorsiventral.

Uma característica marcante observada em *Asplenium jucundum* e *A. feei* foi a presença de amido, tanto no mesofilo quanto na epiderme. Segundo Bower (1923), o amido é um material de estocagem comum no parênquima e esclerênquima das samambaias. É importante ressaltar que a ocorrência de amido não pode ser considerado um caráter diagnóstico válido, já que as condições fisiológicas podem ser responsáveis por este acúmulo.

Em relação à venação, *Asplenium pseudonitidum* e *A. oligophyllum* diferem das demais espécies por apresentar terminações livres espessadas. Segundo Ogura (1972), a terminação espessada consiste em uma rede de traqueídes de paredes espiraladas.

Assim como na lâmina foliar, a ocorrência e a morfologia dos tricomas do pecíolo podem ser considerados caracteres diagnósticos úteis na taxonomia das espécies de *Asplenium* estudadas. Pêlos foram observados nas regiões proximal e mediana dos

pecíolos de *A. jucundum*, *A. pseudonitidum* e *A. harpeodes*; escamas foram verificadas nas regiões proximais dos pecíolos de *A. oligophyllum* e *A. feei*. De acordo com Ogura (1972), os tricomas do pecíolo são similares aos do caule, mas menores e mais simples, sendo amplamente utilizados na determinação de espécies. O tamanho e a densidade dos tricomas são variáveis em resposta às condições ambientais, mas, a presença de um tipo particular de tricoma pode delimitar espécies, gêneros e até famílias inteiras (Metcalf & Chalk 1950).

Na maioria das espécies estudadas, o tecido subepidérmico do pecíolo é constituído por fibras e células de paredes espessadas, impregnadas com compostos fenólicos. Segundo Ogura (1972), a presença de compostos fenólicos, de coloração marrom, é característica marcante em samambaias, ocorrendo principalmente nos tecidos de sustentação e próximo aos feixes vasculares. Segundo Haslam (1988), os taninos contribuem para a dureza da parede celular, atuando como a lignina para a sustentação.

Em *Asplenium feei* e *A. pseudonitidum*, células parenquimáticas com conteúdo fenólico podem ser observadas na região cortical do pecíolo, adjacentes à endoderme. Sais minerais e fotossimilados são fontes nutritivas para muitos organismos, sendo importante a presença de uma barreira química ao redor do feixe vascular (Dreyer & Campbell 1987).

A união dos meristelos na região distal do pecíolo em *Asplenium scandicinum*, *A. oligophyllum* e *A. feei* e a consequente formação de um único feixe em forma de “X” ou “V” confirma o que Ogura (1972) e Tryon & Tryon (1982) descreveram para a família Aspleniaceae. Em *A. jucundum* e *A. harpeodes*, meristelos com xilema em forma de “X” ou “C” ao longo de todo o pecíolo também estão dentro dos padrões de vascularização descritos por Ogura (1972) para a família. Apenas a conformação do pecíolo de *A. pseudonitidum* diverge do proposto por Ogura (1972) para Aspleniaceae, sendo denominado hippocampus ou “tipo *Onoclea*” (cavalo-marinho). Segundo o autor, esse padrão é característico dos gêneros *Onoclea* L. (Onocleaceae), *Athyrium* Roth e *Woodsia* R. Br. (Woodsiaceae).

O sistema vascular do pecíolo é de fundamental importância na taxonomia das samambaias. O número, o formato e o arranjo dos meristelos são bastante variáveis, não apenas entre as espécies, mas, também nas diferentes regiões do pecíolo. Dessa forma, deve-se ressaltar a necessidade de seccionar o pecíolo nas regiões proximal, mediana e distal para a correta identificação do padrão de distribuição dos tecidos vasculares.

Em relação à lâmina foliar, as características anatômicas das espécies não variaram significativamente. Tal conclusão pode estar associada a uma certa homogeneidade dos caracteres anatômicos em espécies de um mesmo gênero, aliada às estratégias adaptativas das espécies ao ambiente de pouca luz.

Os tipos de estômatos predominantes, a presença de pêlos em *Asplenium pseudonitidum* e o espessamento da nervura em *A. oligophyllum* e *A. pseudonitidum* podem ser considerados caracteres diagnósticos válidos para o gênero e para as espécies.

O pecíolo apresentou caracteres promissores na identificação das espécies coletadas. A ocorrência de pêlos tectores com célula apical dilatada, mostrou-se útil na distinção de *A. harpeodes* das demais espécies. As escamas, verificadas apenas na base do pecíolo de *A. oligophyllum* e *A. feei*, também foram caracteres diagnósticos válidos para a taxonomia destas espécies.

O número de meristelos e a conformação do xilema, nas regiões proximal, mediana e distal do pecíolo, se mostraram diferentes nas seis espécies analisadas. Dessa forma, a vascularização do pecíolo foi o caracter de maior importância taxonômica para a distinção das espécies de *Asplenium* estudadas.

5- REFERÊNCIAS BOBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M.V., ESTELITA, M.E.M., WANDERLEY, M.G.L. & THOMAS, W.W. 2002. Aplicações da anatomia foliar de espécies brasileiras de *Hypolytrum* Rich. (Cyperaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 25: 1-9.
- BAILEY, I.W. & NAST C.G. 1944. The comparative morphology of the Winteraceae V. Foliar epidermis and sclerenchyma. **Journal of the Arnold Arboretum** 25: 342 – 348.
- BARANOVA, M. A. 1972. Systematic anatomy of the leaf epidermis in the Magnoliaceae and some related families. **Taxon** 21: 447- 469.
- BERCU, R. 2005. Contributions to the anatomy of *Asplenium ruta-muraria*. **Studia Botanica Hungarica** 36: 13-20.
- BERLYN, G.P. & MIKSCHE, J.P. 1976. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. The Iowa State Press. Ames, 326p.
- BOWER, F.O. 1923. **The ferns (Filicales): treated comparatively with a view to their natural classification**. v.1. Today, Tomorrow's Book Agency, New Delhi.
- CHAERLE, P. & VIANE, R.L.L. 2004. Leaf anatomy and occurrence of false veins in *Asplenium* (Aspleniaceae, Pteridophyta). **Botanical Journal of the Linnean Society** 145: 187-194.
- CHANDRA, P. 1979. Leaf epidermis in some species of *Asplenium* L. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences** 88: 269-275.
- CHING, R.C. 1940. On natural classification of the family Polypodiaceae. **Sunyatsenia** 5: 201-268.
- CHRISTENSEN, C. 1938. Filicinae. In: Verdoorn, F. **Manual of Pteridology**. Den Haag: Nijhof. p.522-550.
- COUTINHO, L. M. 1962. Contribuição ao conhecimento da mata pluvial tropical. **Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica** 18: 1-219.
- DICKISON, W. C. 2000. **Integrative plant anatomy**. Academic Press, San Diego. 533p.

- DREYER, D.L. & CAMPBELL, B.C. 1987. Chemical basis of host-plant resistance to aphids. **Plant Cell and Environment** 10: 353-361.
- ENGEVIX ENGENHARIA S/A 1995. **Caracterização do meio físico da área autorizada para a criação do Parque Estadual Serra do Brigadeiro – Relatório técnico final dos estudos-8296-RG-H4-003/94, “VER. 1”**. Instituto Estadual de Floresta, BIRD/PRÓ-FLORESTA/SEPLAN, 34p.
- FANH, A. 1990. **Plant anatomy**. 4 ed. Pergamon Press, New York. 588p.
- GASTONY, G.J. & JOHNSON, W.P. 2001. Phylogenetic placements of *Loxoscaphe thecifera* (Aspleniaceae) and *Actiniopteris radiata* (Pteridaceae) based on analysis of *rbcL* nucleotide sequences. **American Fern Journal** 91: 197-213.
- GENTRY, A. & DODSON, C.H. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 74: 205-233.
- GRAÇANO, D., AZEVEDO, A.A. & PRADO, J. 2001. Anatomia foliar das espécies de Pteridaceae do Parque Estadual do Rio Doce (PERD)-MG. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 333 – 347.
- HABERLANDT, G. 1912. **Physiological plant anatomy**. Macmillan, London.
- HASLAM, E. 1988. Plant polyphenols (syn. Vegetable tannins) and chemical defense – a reappraisal. **Journal of Chemical Ecology** 14: 1789-1805.
- HOLTTUM, R.E. 1947. A revised classification of leptosporangiate ferns. **Botanical Journal of the Linnean Society** 53: 123-158.
- HOLTTUM, R.E. 1949. The classification of ferns. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society** 24: 267-296.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. Mc Graw Hill Book, New York. 523p.
- KONG, H.Z. 2001. Comparative morphology of leaf epidermis in the Chloranthaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 136: 279-294.
- LAVALLE, M.C. & PRADA, C. 2007. Morfología del esporófito y el gametófito de *Asplenium dareoides* (Aspleniaceae, Pteridophyta). **Darwiniana** 45: 13-22.

- LERSTEN, N.R. & CURTIS, J.D. 1994. Leaf anatomy in *Caesalpina* and *Hoffmannseggia* (Leguminosae, Caesalpinioideae) with emphasis on secretory structures. **Plant Systematic and Evolution** 192: 231-255.
- LUQUE, R., SOUSA, H.C. & KRAUS, J.E. 1996. Métodos de coloração de Roeser (1972) – modificado e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. **Acta Botanica Brasilica** 10: 199 - 211.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol II. Oxford Clarendon Press, Oxford. 1500p.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol I. **Systematic anatomy of the leaf and stem**. 2.ed. Oxford Clarendon Press, Oxford. 276p.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1983. **Anatomy of the dicotyledons: wood structure and conclusion of the general introduction**. 2 ed. Oxford Clarendon Press, Oxford. 297p.
- MICKEL, J.T. & SMITH, A.R. 2004. **The Pteridophytes of Mexico – Part I (Descriptions and Maps)**. *Memoris of the New York Botanical Garden Press*, New York. 88: 1 – 702.
- MORAES, P.L.R. & PAOLI, A.A.S. 1999. Epiderme e padrão de venação foliar de Lauraceae **Acta Botanica Brasilica** 13: 87-97.
- MORAN, R.C. 2004. **A natural history of ferns**. Timber Press, Portland. 301p.
- MURAKAMI, N., NOGAMI, S., WATANABE, M. & IWATSUKI, K. 1999. Phylogeny of Aspleniaceae inferred from *rbcL* nucleotide sequences. **American Fern Journal** 89: 232-243.
- MURAKAMI, N. & SCHAAL, B.A. 1994. Chloroplast DNA variation and the phylogeny of *Asplenium* sect. *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) in the New World tropics. **Journal of Plant Research** 107: 245-251.
- O'BRIEN, T. P. & Mc CULLY, M. E. 1981. **The study of plant structure principles and select methods**. Termarcarphi Pty. Ltda, Melbourne. 45p.
- OGURA, Y. 1972. **Comparative anatomy of vegetative organs of the pteridophytes**. 2nd ed. Gebriider Bornr Raeder, Berlin. 502p.

- PANTERIS, E. & GALATIS, B. 2005. The morphogenesis of lobed plant cells in the mesophyll and epidermis: organization and distinct roles of cortical microtubules and actin filaments. **New Phytologist** 167: 721-732.
- PARQUE ESTADUAL SERRA DO BRIGADEIRO. Disponível em: <<http://www.ief.mg.gov.br>> Acesso em: 01 set. de 2007>.
- PAULA, C.C. 1998. **Florística da família bromeliaceae no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais, Brasil**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro. 238p.
- PERRIE, L.R. & BROWNSEY, P.J. 2005. Insights into the biogeography and polyploid evolution of New Zealand *Asplenium* from chloroplast DNA sequence data. **American Fern Journal** 95: 1-21.
- PINTER, I., BAKKER, F., BARRET, J., COX, C., GIBBY, M., HENDERSON, S., MORGAN-RICHARDS, M., RUMSEY, F., RUSSEL, S., TREWICK, S., SCHNEIDER, H. & VOGEL, J. 2002. Phylogenetic and biosystematic relationships in four highly disjunct polyploid complex in the subgenera *Ceterach* and *Phyllitis* in *Asplenium* (Aspleniaceae). **Organism Diversity and Evolution** 2: 299-311.
- PÔRTO de PAULA, L.M. 1996. **As estratégias adaptativas de sete espécies de pteridófitas ocorrentes nos Campos Rupestres da Serra da Piedade, Caeté, MG**. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 264p.
- PRADO, J. 2005. Flora da Reserva Ducke, Amazônia, Brasil: Pteridophyta- Aspleniaceae. **Rodriguésia** 56: 29-32.
- SACTENA, V.L., CARSOLO, V.A. & GIULIETTI, A.M. 1999. Morfoanatomia de espécies de *Blastoculon* Ruhland (Eriocaulaceae). **Acta Botanica Brasilica** 13: 29-41.
- SARTORI, A.L.B. & TOZZI, A.M.G.A. 2002. Comparative leaflet anatomy in *Myrocarpus* Allemão, *Myroxylon* L.f. and *Myrospermum* Jacq. (Leguminosae-Papilionoideae- Sophoreae) species. **Botanical Journal of the Linnean Society** 140: 249-259.
- SCHNEIDER, H., RUSSELL, S.J., COX, C.J., BAKKER, F., HENDERSON, S., GIBBY, M. & VOGEL, J.C. 2004b. Chloroplast phylogeny of asplenioid ferns based on *rbcL* and *trnL-F* spacer sequences (Polypodiidae, Aspleniaceae) and its implication for the biogeography. **Systematic Botanic** 29: 260-274.
- SCHNEIDER, H., RANKER, T.A., RUSSELL, S.J., CRANFILL, R., GEIGER, J.M.O., AGURAIUJA, R., WOOD, K.R., GRUNDMANN, M., KLOBERDANZ, K. & VOGEL, J.C. 2005. Origin of the endemic fern genus *Diellia* coincides with the renewal of Hawaiian terrestrial life in Miocene. **Proceedings of the Royal Society of London** 272: 455-460.

- 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.
- SMITH, A.R., PRYER, K.M., SCHUETTPELZ, E., KORALL, P., SCHNEIDER, H. & WOLF, P.G. 2008. Fern Classification. *In*: T.A. Ranker & C.H. Haufler (eds.). **Biology and evolution of ferns and lycophytes**. Cambridge University Press, Cambridge. 480p.
- STACE, C.A. 1965. The significance of the leaf in the taxonomy of the Combretaceae. I. A general view of tribal, generic and specific characters. **Botanical Journal of the Linnean Society** 59: 229-252.
- SOLEREDER, H. 1908. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Clarendon Press, Oxford. v.1. 1182p.
- SYLVESTRE, L.S. 2001. Revisão taxonômica das espécies da família Aspleniaceae A.B. Frank no Brasil. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade de São Paulo – São Paulo. 573p.
- TRYON, R.M. & TRYON, A.F. 1982. **Ferns and allied plants, with special reference to tropical America**. Springer Verlag, Berlin. 857p.
- TRYON, R.M. & STOLZE, R.G. 1993. Pteridophyta of Peru. Part V.18. Aspleniaceae 21. Polypodiaceae. **Fieldiana Botany** 32: 1-190.
- UMIKALSON, Y. 1992. Anatomical studies of the Malaysian Aspleniaceae and Athyriaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 110: 111-119.
- VAN COTTHEM, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematics. *In*: Crabbe J. A. & Thomas B. A. (eds.). The phylogeny and classification of the ferns. **Botanical Journal of the Linnean Society** 67(Suppl.1): 59-71.
- VAN DEN HEEDE, C.J., VIANE, R.L.L. & CHASE, M.W. 2003. Phylogenetic analysis of *Asplenium* subgenus *Ceterach* (Pteridophyta: Aspleniaceae) based on plastid and nuclear ribosomal ITS DNA sequences. **American Journal of Botany** 90: 481-493.
- VELOSO, H.P., RANGEL FILHO, A.L.R. & LIMA, J.C.A. 1991. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. IBGE, Rio de Janeiro. 124p.
- YATABE, Y. & MURAKAMI, N. 2003. Recognition of cryptic species in the *Asplenium nidus* complex using molecular data – a progress report. **Telopea**: 487-496.
- WAGNER, W.H. 1953. The genus *Diellia* and the value of characters in determining fern affinities. **American Journal of Botany** 40: 34-40.

WATSON, R. W. 1942. Effect of cuticular hardening on the form of epidermal cells. **New Phytologist** 41: 223-229.

WILKINSON, H. P. 1979. The plant surface. *In*: Metcalfe, C. R. & Chalk, L. (Eds.) **Anatomy of the dicotyledons** - Systematic anatomy of the leaf and stem. 2 ed. Clarendon Press, Oxford. 276p.

CAPÍTULO 2

ANATOMIA FOLIAR DE DEZ ESPÉCIES DE POLYPODIACEAE DO PARQUE ESTADUAL DA SERRA DO BRIGADEIRO (PESB), MG, BRASIL

RESUMO

FERRARI, Flávia Bonizol, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009.
Anatomia foliar de dez espécies de Polypodiaceae do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), MG, Brasil. Orientadora: Aristéa Alves Azevedo. Co-orientadores: Luzimar Campos da Silva e Jefferson Prado.

As Polypodiaceae incluem samambaias leptosporangiadas com aproximadamente 56 gêneros e cerca de 1.200 espécies e representam a linhagem mais derivada dentre as monilófitas. Exibem uma grande variação nos aspectos morfológicos de seus representantes, mas ecologicamente, em contraste, apresentam menor variabilidade, já que a grande maioria cresce como epífita, constituindo uma abundante linhagem pantropical de epífitas vasculares. A maioria dos estudos referentes à família Polypodiaceae enfoca aspectos filogenéticos e da morfologia externa, sendo ainda escassos os trabalhos com informações sobre anatomia. Diante da pouca informação sobre a anatomia do grupo, foi realizada a caracterização anatômica de dez espécies de Polypodiaceae ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), ao longo da Trilha do Muriqui: *Campyloneurum repens*, *C. major*, *Pecluma sicca*, *P. recurvata*, *Pleopeltis macrocarpa*, *P. hirsutissima*, *Serpocaulon fraxinifolium*, *S. sehnemii*, *Niphidium crassifolium* e *Microgramma squamulosa*, com o objetivo de identificar caracteres relevantes para a taxonomia do grupo. Todo material botânico foi coletado fértil, herborizado e incluído no acervo do Herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa. Para os estudos anatômicos, amostras das regiões proximal, mediana e distal do pecíolo e da região mediana da lâmina foliar das espécies foram coletadas, fixadas em FAA 50 e processadas segundo as técnicas usuais para montagem de lâminas permanentes. Para evidenciar venação, estômatos e tricomas, amostras das lâminas foliares foram coletadas, colocadas em álcool 50% e diafanizadas. As espécies de

Polypodiaceae estudadas apresentam epiderme foliar uniestratificada, com células de paredes sinuosas em ambas as faces da lâmina foliar. Estômatos polocíticos e anomocíticos foram observados em *Campyloneurum* e estômatos polocíticos em *Serpocaulon*; estômatos anomocíticos em *Pecluma*, *Pleopeltis* e *Microgramma squamulosa* e estômatos diacíticos em *Niphidium crassifolium*. Pêlos bicelulares, claviformes foram verificados na maioria das espécies, não ocorrendo em *Pecluma sicca*, *Pleopeltis hirsutissima* e *M. squamulosa*; pêlos tectores foram observados apenas em *Pecluma* e *Serpocaulon fraxinifolium* e pêlos secretores em *Pecluma sicca*. Escamas estão presentes na lâmina foliar de *Campyloneurum major* e nas duas espécies de *Pleopeltis*. Camadas subepidérmicas de células volumosas foram observadas em *N. crassifolium* e *M. squamulosa*. O mesofilo é homogêneo em cinco dos seis gêneros estudados, apenas em *Pleopeltis* é dorsiventral. Quanto ao padrão de venação, apenas *Pecluma sicca* e *P. recurvata* apresentam venação aberta, todas as demais espécies apresentam venação reticulada. Nas dez espécies de Polypodiaceae estudadas, o pecíolo apresenta epiderme uniestratificada, sendo observado pêlos tectores em *Pecluma sicca* e pêlos tectores e secretores em *Pecluma recurvata*. Escamas estão presentes em *Campyloneurum repens* e nas duas espécies de *Pleopeltis*. Em todas as espécies estudadas, o sistema vascular do pecíolo apresenta variação em relação ao número de meristelos, ocorrendo fusões em direção à região distal. A ocorrência de pêlos claviformes bicelulares é um caráter unificante dentre as espécies de Polypodiaceae estudadas, não ocorrendo apenas em *Pecluma sicca*, *Pleopeltis hirsutissima* e *Microgramma squamulosa*. O estudo anatômico realizado permite concluir que a anatomia foliar pode fornecer dados para auxiliar na taxonomia da família. Dentre os caracteres analisados, o tipo de estômato, os tipos de tricomas, da lâmina foliar e do pecíolo, o padrão de venação e a vascularização do pecíolo podem ser considerados caracteres promissores na identificação de gêneros ou espécies de Polypodiaceae do PESB.

CHAPTER 2

LEAF ANATOMY OF TEN SPECIES OF POLYPODIACEAE IN THE PARQUE ESTADUAL DA SERRA DO BRIGADEIRO (PESB), MG, BRAZIL

ABSTRACT

FERRARI, Flávia Bonizol, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Leaf anatomy of ten species of Polypodiaceae in the the Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), MG, Brazil.** Adviser: Aristéa Alves Azevedo Co-advisers: Luzimar Campos da Silva and Jefferson Prado.

The Polypodiaceae species include leptosporangiate ferns, comprising approximately 56 genera and around 1,200 species. Polypodiaceae is a pan-tropical family constituted by species adapted to several environmental conditions, occurring in wet or dry places. The Polypodiaceae is the most derived line among the monilophytes and displays a great variation in the morphological aspects of their representatives. Most of the studies on the Polypodiaceae family are focused on its phylogenetic aspects and external morphology, with information on its anatomy still being scarce. This lack of information led us to carry out the anatomic characterization of ten species of Polypodiaceae found in the forest vegetation of the Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB): *Campyloneurum repens*, *C. major*, *Pecluma sicca*, *P. recurvata*, *Pleopeltis macrocarpa*, *P. hirsutissima*, *Serpocaulon fraxinifolium*, *S. sehnemii*, *Niphidium crassifolium* and *Microgramma squamulosa*, aiming to identify relevant characters for their taxonomy. All the botanical material collected was fertile, herborized and included as property of the VIC Herbarium of the Universidade Federal de Viçosa. For the anatomic studies, samples of the proximal, median and distal regions of the petiole and from the median region of the foliar blade of the species were collected, fixed in FAA 50 and processed according to the conventional techniques used to mount permanent slides. All the species present uniseriate epidermis, with sinuous wall cells on both leaf faces. Leaves are hypostomatic, with polocytic and anomocytic stomata occurring in *Campyloneurum* and *Serpocaulon*; anomocytic stomata in *Pecluma*, *Pleopeltis* and *Microgramma squamulosa* and diacytic stomata in *Niphidium crassifolium*. Bicellular claviform hairs were verified in most of the species; tector hairs

were observed only in *Pecluma* and *Serpocaulon fraxinifolium* and secreting hair in *Pecluma sicca*. Scales are present in the foliar blade of *Campyloneurum major* and in the two species of *Pleopeltis*. Mesophyll is homogeneous in five of the six genera studied, being dorsiventral only in *Pleopeltis*. *Pecluma sicca* and *P. recurvata* presented open venation with the other species presenting reticulated venation. In the 10 Polypodiaceae species studied, the petiole presents uniseriate epidermis, with tector hairs being observed in *Pecluma sicca* and tector and secreting hair in *Pecluma recurvata*. Scales are present in *Campyloneurum repens* and in the two species of *Pleopeltis*. In all the species, the vascular system of the petiole presents variation in number of meristeles, with fusions occurring towards the distal region. The anatomic study allows concluding that foliar anatomy can supply data to support family taxonomy. Among the characters analyzed, stomata and trichomes type, venation pattern, and petiole vascularization may be considered promising characters in the identification of genera or species of Polypodiaceae found in the PESB.

1- INTRODUÇÃO

As Polypodiaceae incluem samambaias leptosporangiadas com aproximadamente 56 gêneros e cerca de 1.200 espécies (Smith *et al.* 2008). Trata-se de uma família pantropical, constituída por espécies adaptadas a diversas condições ambientais, podendo ocorrer em locais úmidos ou secos. As florestas úmidas dos Andes e do sudeste do Brasil representam os centros de diversificação das espécies pertencentes a essa família (Sanín 2006; Labiak & Prado 2008).

As Polypodiaceae representam a linhagem mais derivada dentre as monilófitas e exibem uma grande variação nos aspectos morfológicos de seus representantes (Kreier *et al.* 2008). Ecologicamente, em contraste, apresentam menor variabilidade, já que a grande maioria cresce como epífita, constituindo, ao lado das orquídeas, uma abundante linhagem pantropical de epífitas vasculares (Kreier *et al.* 2008).

Algumas estratégias adaptativas das Polypodiaceae são únicas dentre as samambaias, apesar de já encontradas em outras epífitas vasculares: poiquiloidrismo em *Pleopeltis polypodioides* L., metabolismo CAM em *Pyrrosia piloselloides* (L.) Price, dispersão através de esporos clorofilados e nanismo da fase esporofítica em algumas espécies gramitidóides (Kreier *et al.* 2008).

Em função da diversidade morfológica, as relações filogenéticas entre os membros da família Polypodiaceae vêm sendo amplamente discutidas. Em recentes estudos moleculares, Smith *et al.* (2006a) apresentaram ampla circunscrição para a família, incluindo em Polypodiaceae representantes “gramitidóides”, um grupo de espécies frequentemente segregado na família Grammitidaceae (Labiak & Prado 2008). Entretanto, dados apresentados por Pryer *et al.* (1995), de caracteres morfológicos e, ou, moleculares (*rbcL*) mostram tendências distintas conforme a análise, combinada ou não, destes caracteres. Na análise utilizando-se apenas os caracteres morfológicos, Grammitidaceae (representada pelo gênero *Micropolypodium* Hayata) mostra-se mais estreitamente relacionada aos gêneros *Vittaria* Sw. (Pteridaceae) e *Loxogramme* (Bl.) C. Presl (Polypodiaceae), formando um grupo parafilético com Polypodiaceae (representada pelo gênero *Polypodium* L.). De maneira oposta, na análise baseada apenas nos caracteres moleculares, o gênero *Micropolypodium* aparece no mesmo clado de *Polypodium*, formando, assim, um grupo monofilético. Embora as duas famílias provavelmente sejam de origem monofilética (Grammitidaceae e Polypodiaceae), estudos

mais criteriosos, com inclusão de outros táxons e de novos caracteres morfológicos e moleculares, são necessários para o reconhecimento das prováveis relações filogenéticas entre ambas, e o reconhecimento das mesmas como táxons distintos ou não (Labiak & Prado 2003).

Polypodiaceae vem sofrendo uma série de segregações taxonômicas em todos os níveis (Sanín 2006). O gênero *Polypodium*, descrito em 1753 por Linnaeus, vem sendo continuamente redefinido, resultando em grupos monofiléticos menores (Sanín 2006; Labiak & Prado 2008); dentre eles, *Serpocaulon* A.R. Sm., segregado de *Polypodium* e descrito por Smith *et al.* (2006b). Morfológicamente, o gênero é caracterizado por apresentar venação gonioflebóide, rizoma longo, com escamas clatradas e peltadas e soros sem paráfises (Labiak & Prado 2008).

É indiscutível a importância de dados moleculares na interpretação das relações evolutivas, entretanto, os caracteres morfológicos são tradicionalmente empregados em estudos que visam caracterizar grupos monofiléticos, principalmente nos níveis de gênero e família. Em sua obra sobre Polypodiaceae e Grammitidaceae, de la Sota (1960) realizou uma revisão taxonômica baseada nos caracteres morfológicos de várias espécies, reunindo grande número de informações relevantes, utilizadas como aporte em análises filogenéticas.

Martínez & de la Sota (2007), através da comparação morfológica das pinas, descreveram *Pecluma barituensis* O. Martínez & de la Sota, anteriormente denominada *Pecluma oranensis* de la Sota (de la Sota); León (2004) identificou uma nova espécie de *Campyloneurum* C. Presl, *C. amazonensis* B. León, através da comparação do tipo de escama da nova espécie com as escamas de *C. repens* (Aubl.) C. Presl. Prado (2005), propôs, a partir de caracteres morfológicos, chaves dicotômicas para a identificação de gêneros de Polypodiaceae e de espécies de *Microgramma* C. Presl e *Polypodium*, ocorrentes na Amazônia.

Utilizando caracteres moleculares e morfológicos, algumas espécies, previamente pertencentes a um determinado gênero, foram transferidas para um outro gênero: Sundue (2007) propôs a transferência de duas espécies pertencentes ao gênero *Polypodium* para o gênero *Pleopeltis* Willd., denominando-as *Pleopeltis orientalis* Sundue e *Pleopeltis oreophila* Sundue; outra combinação, envolvendo os gêneros *Polypodium* (*Polypodium squalidum* (Vell.) e *Pleopeltis* foi sugerida por de la Sota (2003), com base em características das escamas foliares e dos dictiosoros e, como consequência, *Polypodium squalidum* foi redefinida como *Pleopeltis squalida* (Vell.).

A maioria dos estudos referentes à família Polypodiaceae enfoca aspectos filogenéticos e da morfologia externa, sendo ainda escassos os trabalhos com informações sobre anatomia. Pôrto de Paula (1996) caracterizou anatomicamente quatro espécies pertencentes aos gêneros *Pleopeltis* e *Polypodium*, ocorrentes em campos rupestres, correlacionando os dados encontrados com as condições xéricas do local; Viviani (2007) estudou o desenvolvimento de *Pleopeltis lepidopteris* (Langsd. & Fisch) Kze. e descreveu a morfoanatomia do gametófito e do esporófito da espécie.

O PESB, uma das áreas prioritárias para conservação no Estado de Minas Gerais, é ainda pouco conhecido no que diz respeito à composição florística, sendo necessários estudos para o reconhecimento e obtenção de dados sobre as espécies de samambaias do Parque. Diante da escassez de informação sobre a anatomia do grupo, foi realizada a caracterização anatômica de espécies de Polypodiaceae ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), com o objetivo de identificar caracteres relevantes para a taxonomia da família.

2- MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas seis excursões, em diferentes épocas do ano, para observação e coleta de material botânico dos representantes da família Polypodiaceae ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), ao longo da Trilha do Muriqui.

Todo material botânico coletado fértil foi herborizado, seguindo as técnicas usuais, e incluído no acervo do Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa. Duplicatas desses espécimes foram enviadas para o Herbário do Instituto de Botânica (SP).

No campo, foram feitas anotações referentes ao hábito e hábitat de cada exemplar coletado e, sempre que possível, a documentação fotográfica das espécies.

As espécies foram coletadas a uma altura máxima de 5m em forófitos localizados a uma distância de até 2 m mata a dentro, em relação à trilha.

A identificação do material foi realizada com o auxílio de literatura especializada, por meio de consultas ao Dr. Jefferson Prado, do Instituto de Botânica- SP, especialista do grupo, e por comparação com material de herbário já identificado.

Para os estudos anatômicos, em microscopia de luz, amostras das regiões proximal, mediana e distal do pecíolo e da região mediana da lâmina foliar das espécies foram coletadas e fixadas em FAA (formaldeído 37%, ácido acético glacial e etanol 50%; 1:1:18, v:v). Para confecção de lâminas histológicas, as amostras foram processadas segundo as técnicas usuais para montagem de lâminas permanentes, com desidratação em série etanólica (Johansen 1940) e inclusão em metacrilato (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha) ou em parafina (Johansen 1940). Cortes transversais e longitudinais foram obtidos com a utilização de micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA). Os cortes de material incluído em metacrilato foram corados com Azul de Toluidina pH = 4,0 (O'Brien & Mc Cully 1981) e as lâminas, montadas em Permunt (SP15-500, Fisher Scientific, New Jersey, USA). Os cortes incluídos em parafina foram desparafinizados, corados com Azul de Astra e Fucsina Básica (Roeser 1972 modificado por Luque *et al.* 1996), desidratados e as lâminas, montadas em Permunt. Também foram realizados cortes de material sem inclusão, utilizando-se micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA., Belo Horizonte, Brasil); os cortes

foram clarificados em hipoclorito de sódio (20%), lavados, corados com Safrablau e montados em gelatina glicerinada.

Para evidenciar venação, estômatos e tricomas, amostras das lâminas foliares foram coletadas e colocadas em etanol 50% para posterior diafanização, conforme técnica descrita por Johansen (1940).

Em algumas espécies coletadas foram feitos testes histoquímicos utilizando-se floroglucina acidificada e Vermelho de Rutênio (Johansen 1940), para evidenciar, respectivamente, lignina e substâncias pécicas.

As observações e a captura de imagens foram realizadas utilizando-se microscópio de luz (modelo Olympus AX70TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) com sistema U-Photo, com câmera digital acoplada (modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic instruments inc. New York, USA), do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV.

Os estômatos foram classificados de acordo com van Cotthem (1973). Os padrões de distribuição dos feixes vasculares do pecíolo e da lâmina foliar foram determinados de acordo com Ogura (1972). Os tipos de tricomas foram classificados de acordo com de la Sota (1960) e Fahn (1990). Segundo este último autor, pêlos, escamas e papilas são apêndices epidérmicos que podem ser definidos como tricomas. O padrão de venação foi determinado de acordo com de la Sota (1960).

3- RESULTADOS

Os representantes da família Polypodiaceae observados e coletados no PESB, ao longo da Trilha do Muriqui, foram: *Campyloneurum repens* (Aubl.) C. Presl (VIC 31461); *C. major* (Hieron. ex Hicken) Lellinger (VIC 31891); *Pecluma recurvata* (Kaulf.) M.G. Price (VIC 21461); *P. sicca* (Lindm.) M.G. Price (VIC 31842); *Serpocaulon fraxinifolium* (Jacq.) A. R. Sm. (VIC 31460); *S. sehnemii* (Pic. Serm.) Labiak & J. Prado (VIC 21578); *Pleopeltis macrocarpa* (Bory ex Willd.) Kaulf. (VIC 21467); *P. hirsutissima* (Raddi) de la Sota (VIC 21571); *Niphidium crassifolium* (L.) Lellinger (VIC 31894); *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) de la Sota (VIC 31887).

Todas as espécies estudadas são epífitas, coletadas em locais sombreados, sobre caules de eudicotiledôneas e em samambaias arborescentes.

Campyloneurum

A lâmina foliar das espécies de *Campyloneurum* apresenta epiderme uniestratificada, com cloroplastos; em *C. repens*, as células epidérmicas apresentam formato e tamanho variáveis (Figura 1A), já em *C. major* são tabulares (Figura 1B). A parede periclinal externa de *C. major* (Figura 1B) é bastante espessa quando comparada à de *C. repens* (Figura 1A) e apresenta reentrâncias. Em vista frontal, observa-se que as células epidérmicas da face adaxial de *C. repens* (Figura 1C) são menos sinuosas em relação às da face abaxial (Figura 1E); em *C. major*, as sinuosidades são proeminentes em ambas as faces (Figuras 1D e 1F).

Em *Campyloneurum repens* e *C. major*, estômatos polocíticos e copolocíticos ocorrem apenas na epiderme da face abaxial (Figuras 1E e 1F); espessamentos de parede, na região de união das células-guarda, podem ser observados nas duas espécies (Figuras 1E e 1F). Em corte transversal, observa-se que, em *C. major*, as células-guarda estão situadas acima do nível das demais células epidérmicas (Figura 1B), enquanto que em *C. repens*, encontram-se no mesmo nível (Figura 1A).

Pêlos claviformes, bicelulares, podem ser verificados na epiderme da face abaxial das duas espécies (Figura 1G); em *C. major*, escamas estão presentes na epiderme da face adaxial da lâmina foliar (Figura 1B).

Em *Campyloneurum major*, um tecido subepidérmico, formado por células parenquimáticas de paredes espessadas, pode ser observado na região da nervura mediana e dos feixes de menor calibre (Figuras 1H e 1I).

Nas duas espécies de *Campyloneurum*, o mesofilo é homogêneo, entretanto, *C. major* difere de *C. repens* por apresentar um maior número camadas de células, com poucos espaços intercelulares (Figuras 1A e 1B).

Na região da nervura mediana, o sistema vascular da lâmina foliar de *Campyloneurum repens* está representado por um feixe anficrival, delimitado pelo periciclo, com 1-2 camadas de células e circundado pela endoderme, com estrias de Caspary (Figura 2A). O xilema, em forma de “V”, apresenta três pólos de protoxilema (Figura 2A). Em *C. major*, três feixes anficrivais constituem o sistema vascular da nervura mediana (Figura 2B). O maior deles, voltado para a face adaxial, apresenta xilema em forma de “V” e é delimitado pelo periciclo, com 1-3 camadas de células e circundado pela endoderme; os dois feixes menores apresentam periciclo com uma camada de células e endoderme (Figura 2B).

Pode-se observar células parenquimáticas com conteúdo fenólico circundando os feixes vasculares da lâmina foliar de ambas as espécies de *Campyloneurum* (Figuras 2A e 2B).

Quanto à venação, observou-se que em *Campyloneurum repens* e *C. major* ocorre venação reticulada, com duas terminações livres em cada aréola (Figura 2C), entretanto, nas aréolas adjacentes à nervura mediana (aréolas costais), ocorre apenas uma terminação livre.

Os soros, arredondados e sem indúcio, encontram-se posicionados na região subterminal das vênulas (Figura 2D).

O pecíolo de *Campyloneurum* apresenta epiderme uniestratificada, com células de conteúdo fenólico e escamas na região proximal de *C. repens* (Figura 2E).

Em *Campyloneurum repens*, a região subepidérmica é constituída por células parenquimáticas de paredes espessadas (Figura 2E); já em *C. major*, camadas de fibras contornam o pecíolo em toda sua extensão (Figura 2F).

Em *Campyloneurum repens*, o sistema vascular do pecíolo constitui-se, ao longo de toda sua extensão, de três meristelos, sendo dois voltados para a face adaxial e um para a face abaxial (Figura 2G). Cada meristelo apresenta floema e periciclo, com 1-2

camadas de células em torno do xilema. Todos os meristemas são envolvidos pela endoderme, muitas vezes não íntegra, pois se rompe na região das estrias de Caspary (Figura 2G). Células parenquimáticas, com conteúdo fenólico, contornam os meristemas (Figura 2G).

O sistema vascular do pecíolo de *Campyloneurum major* é constituído, na região proximal, por doze meristemas, sendo os dois maiores, adaxiais (Figura 2I). Ao longo das regiões mediana e distal, ocorre fusão dos meristemas e o sistema vascular passa a ser representado por nove meristemas (Figura 2H). O periciclo, com 1-2 camadas de células, e a endoderme envolvem os feixes anficrivais. Células corticais de paredes espessadas podem ser observadas envolvendo cada um dos meristemas (Figuras 2H e 2I).

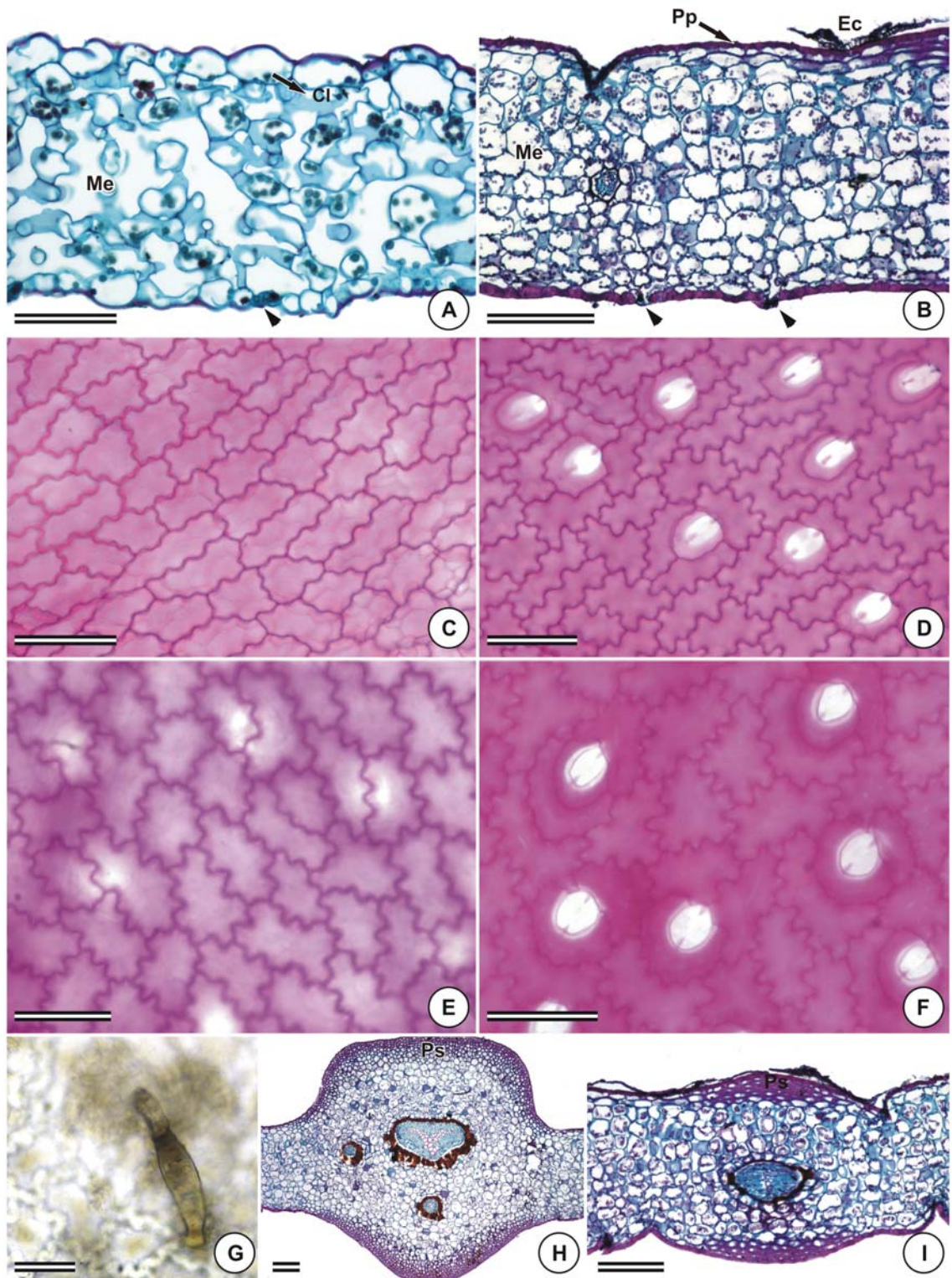


Figura 1- Anatomia da lâmina foliar de espécies de *Campyloneurum*. A, B, H e I (cortes transversais), C – F (material diafanizado), G (corte paradérmico). A: epiderme, mesófilo e estômato (cabeça de seta) de *C. repens*. B: parede periclinal externa, epiderme, mesófilo e estômato (cabeça de seta) de *C. major*. C: epiderme da face adaxial de *C. repens*. D: epiderme da face adaxial de *C. major*. E: epiderme da face abaxial de *C. repens* e espessamento de parede das células-guarda (→). F: epiderme da face abaxial de *C. major*. G: pêlo claviforme de *C. repens*. H e I: tecido subepidérmico com células parenquimáticas de paredes espessadas em *C. major*. Abreviaturas: Cl: cloroplasto, Ep: epiderme, Me: mesófilo, Pp; parede periclinal externa. Ec: escama, Po: estômato polocítico, Co: estômato copolocítico, Ps: células parenquimáticas com paredes espessadas. Barras: A, C – F: 100 µm; B, H, I: 200 µm; G: 50 µm.

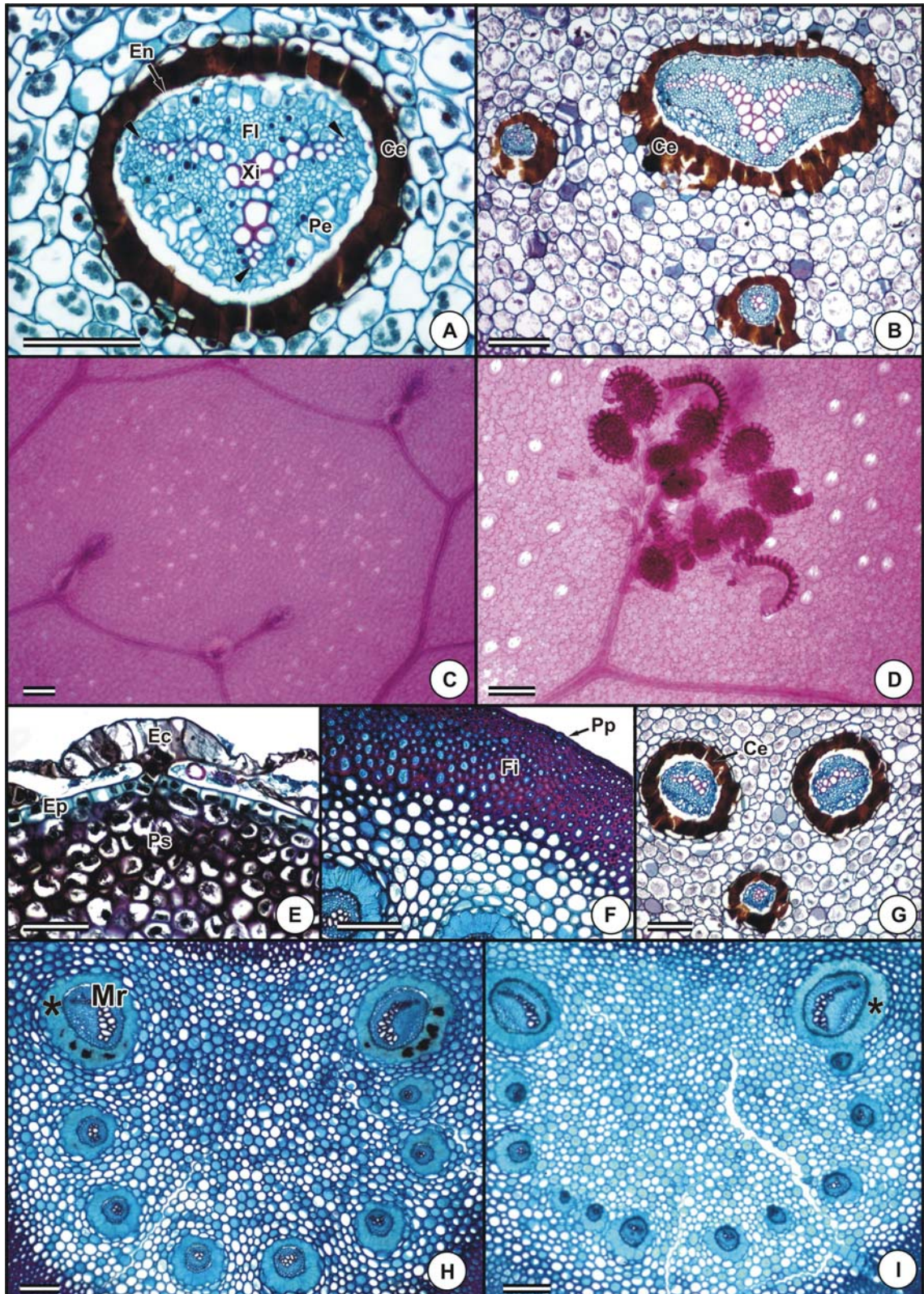


Figura 2 – Anatomia da lâmina foliar e pecíolo de espécies de *Campyloneurum*. A e B, E – I (cortes transversais), C e D (material diafanizado). A: feixe anficriaval de *C. repens*, pólos de protoxilema (cabeças de seta). B: feixes anficriavais de *C. major*. C: venação reticulada em *C. repens*. D: soro na epiderme da face abaxial de *C. repens*. E: epiderme e escama na região proximal do pecíolo de *C. repens*. F: fibras subepidérmicas na região proximal do pecíolo de *C. major*. G: meristelos na região distal do pecíolo de *C. repens*. H: meristelos da região mediana do pecíolo de *C. major* e células corticais de paredes espessadas (*). I: meristelos da região proximal do pecíolo de *C. major*. Abreviaturas: Xi: xilema, FI: floema, En: endoderme, Pe: periciclo, Ce: compostos fenólicos, Mr: meristelo, Ps: células parenquimáticas de paredes espessadas, Ep: epiderme, Ec: escama, Fi: fibras, Pp: parede periclinal externa. Barras: A, B, E, G: 100 μ m; C, D, F, H, I: 200 μ m.

Pecluma

A lâmina foliar das espécies de *Pecluma* apresenta epiderme uniestratificada, com cloroplastos em ambas as faces (Figura 3A). Pode-se observar, nas duas espécies estudadas, *P. sicca* e *P. recurvata*, que as células epidérmicas apresentam formatos variáveis, sendo as da face adaxial bem maiores que as da face abaxial (Figura 3A). As paredes periclinais externas são finas, em ambas as espécies, entretanto, é possível observar um maior espessamento na epiderme da face adaxial (Figura 3A). Em vista frontal, as paredes anticlinais das células epidérmicas são sinuosas (Figura 3B-E), com reentrâncias proeminentes na epiderme da face adaxial (Figuras 3C e 3E).

Estômatos estão presentes apenas na face abaxial, em ambas as espécies, sendo o tipo anomocítico predominante (Figuras 3B e 3D). Em *Pecluma sicca*, as células-guarda encontram-se mais elevadas em relação às demais células epidérmicas, sendo possível visualizar a câmara subestomática (Figura 3A).

Em *Pecluma recurvata*, a epiderme de ambas as faces é extremamente pilosa, tendo sido observados dois tipos de pêlos: tectores unisseriados e pluricelulares, com 4-5 células (Figura 3F), e bicelulares, com formato claviforme (Figura 3G). Em *P. sicca*, os pêlos estão localizados na margem foliar e na epiderme da face abaxial. Os pêlos da margem são tectores unisseriados e multicelulares, com 5-6 células (Figura 3H); na face abaxial foram observados pêlos, unisseriados e pluricelulares, com número variável de células (Figura 3I), e secretores, com seis células, sendo a apical dilatada (Figuras 3I e 3J).

O mesofilo é homogêneo e estreito, em ambas as espécies estudadas (Figuras 3A e 4A), podendo ser observados muitos espaços intercelulares em *Pecluma recurvata* (Figura 4A). Nesta espécie, fibras subepidérmicas podem ser observadas na região da nervura mediana (Figura 4A); em *P. sicca*, as fibras, impregnadas com compostos fenólicos, envolvem o feixe vascular da nervura mediana (Figura 4B).

Na região da nervura mediana, o sistema vascular de *Pecluma* está representado por um feixe anficrival, com xilema envolvido pelo floema (Figuras 4A e 4B); o periciclo apresenta uma camada de células em *P. sicca* (Figura 4B) e 1-2 camadas em *P. recurvata* (Figura 4A). A endoderme, estreita e com estrias de Caspary envolve o periciclo em ambas as espécies. Células parenquimáticas, com conteúdo fenólico, circundam o feixe vascular em *P. recurvata* (Figura 4A).

A venação é aberta, com nervuras 1-3 vezes furcadas e extremidades livres (Figuras 4C e 4D); Soros arredondados podem ser verificados sobre a terminação livre das vênulas (Figuras 4C e 4D).

O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada, com células de paredes periclinais externas finas (Figuras 5A e 5E); pêlos tectores unisseriados e pluricelulares, com 6-7 células, podem ser observados, ao longo de todo pecíolo em *P. sicca* (Figura 5B); já em *P. recurvata*, ocorrem pêlos curtos, com 1-2 células (Figura 5C) e pêlos secretores (Figura 5D).

Na região cortical, logo abaixo da epiderme, verifica-se, em ambas as espécies, camadas de fibras impregnadas com compostos fenólicos (Figuras 5A e 5E); as demais células corticais apresentam paredes delgadas e celulósicas (Figuras 5A e 5E).

O sistema vascular do pecíolo de *Pecluma sicca* está representado, ao longo de toda sua extensão, por um único meristelo, com xilema em forma de “V”, circundado pelo floema (Figura 5A); o periciclo, com 1-3 camadas de células e a endoderme, com conteúdo fenólico, envolvem o feixe vascular (Figura 5A).

O sistema vascular do pecíolo de *Pecluma recurvata* está representado, na região proximal, por seis meristelos, sendo os dois maiores voltados para a face adaxial (Figura 5F). O feixe vascular é do tipo anficrival, com xilema de vários formatos (Figura 5F); o periciclo é composto de 3-4 camadas de células nos meristelos maiores e de 1-2 camadas nos menores.

Nas regiões mediana e distal, ocorrem fusões sucessivas dos meristelos, e o sistema vascular passa a ser representado, na porção mediana, por cinco meristelos (Figura 5G), e na porção distal por apenas dois (Figura 5H). Os feixes anficrivals estão envolvidos pelo periciclo, com 3-4 camadas de células, nos meristelos maiores e 1-2 camadas nos menores (Figuras 5G e 5H). A endoderme, que envolve todos os meristelos ao longo do pecíolo, apresenta células com conteúdo fenólico (Figura 5 F-H).

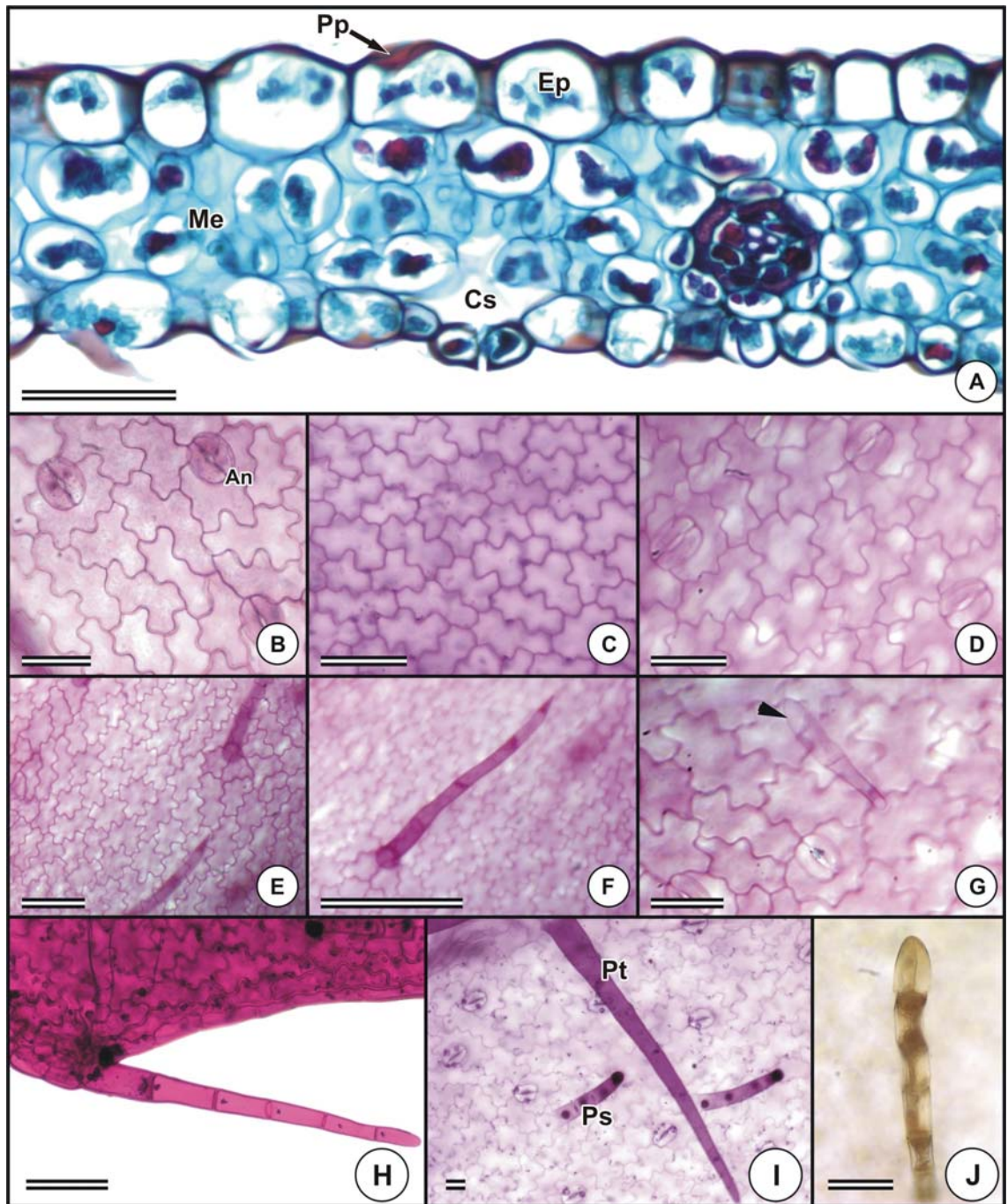


Figura 3 - Anatomia da lâmina foliar de espécies de *Pecluma*. A (corte transversal), B – I (material diafanizado), J (corte paradérmico). A: parede periclinal externa, epiderme, mesofilo e câmara subestomática de *P. sicca*. B: epiderme da face abaxial de *P. sicca* com estômatos anomocíticos. C: epiderme da face adaxial de *P. sicca*. D: epiderme da face abaxial de *P. recurvata* com estômatos anomocíticos. E: epiderme da face adaxial de *P. recurvata* com pêlos tectores. F: epiderme da face adaxial de *P. recurvata* com pêlo tector. G: epiderme da face abaxial de *P. recurvata* com pêlo claviforme (cabeça de seta). H: margem foliar de *P. sicca* com pêlo tector. I: pêlo tector e pêlos secretores na epiderme da face abaxial de *P. sicca*. J: pêlo secretor na epiderme da face abaxial de *P. sicca*. Abreviaturas: Cl: cloroplastos, Pp: parede periclinal, Ep: epiderme, Me: mesofilo, Cs: câmara subestomática, An: estômato anomocítico, Pt: pêlo tector, Ps: pêlo secretor. Barras: A, B, D, G, J: 50 μ m; C, E, F, H, I: 100 μ m.

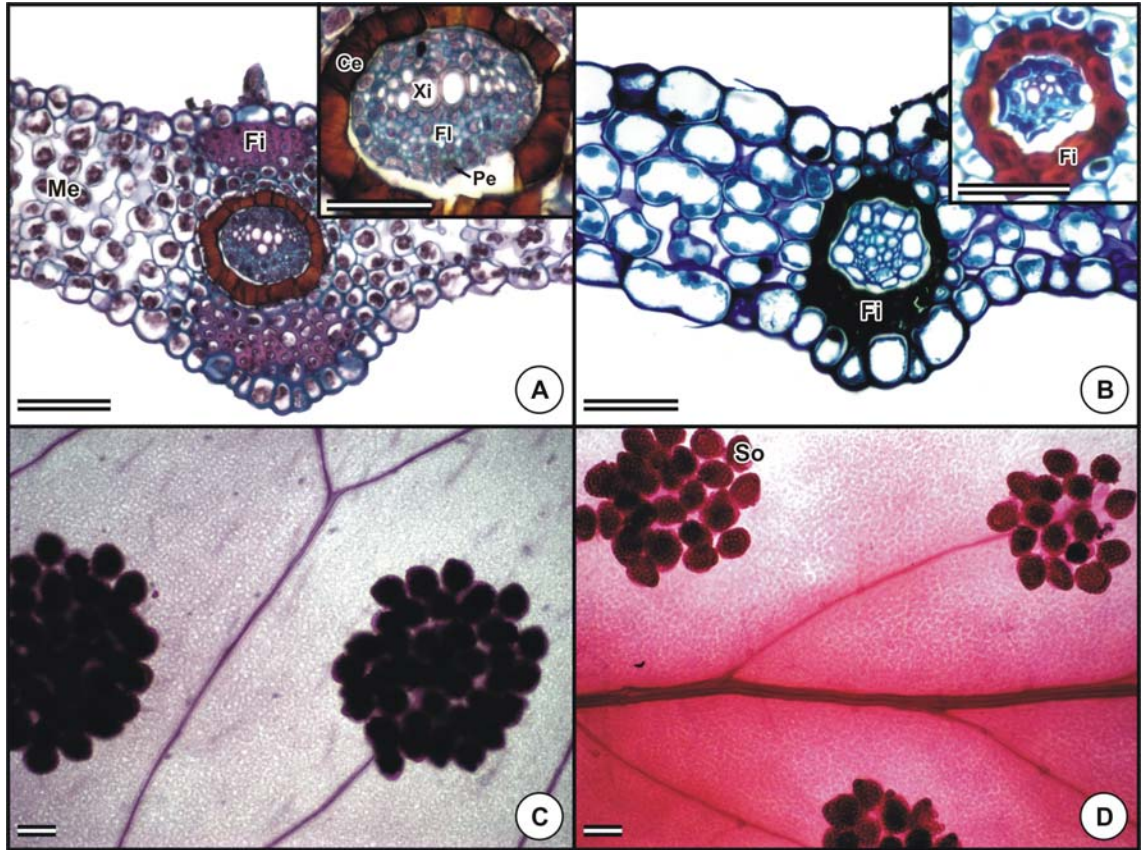


Figura 4 – Anatomia da lâmina foliar de espécies de *Pecluma*. A e B (cortes transversais), C e D (material diafanizado). A: mesófilo, fibras subepidérmicas e feixe vascular da nervura mediana de *P. recurvata*. B: nervura mediana e fibras de *P. sicca*. C: venação e soros na epiderme da face abaxial de *P. recurvata*. D: venação e soros na epiderme da face abaxial de *P. sicca*. Abreviaturas: Me: mesófilo, Fi: fibras, Ce: compostos fenólicos, Xi: xilema, Fl: floema, Pe: periciclo, So: soro. Barras: A: 100 μ m; B: 50 μ m; C, D: 200 μ m; detalhes em A e B: 50 μ m.

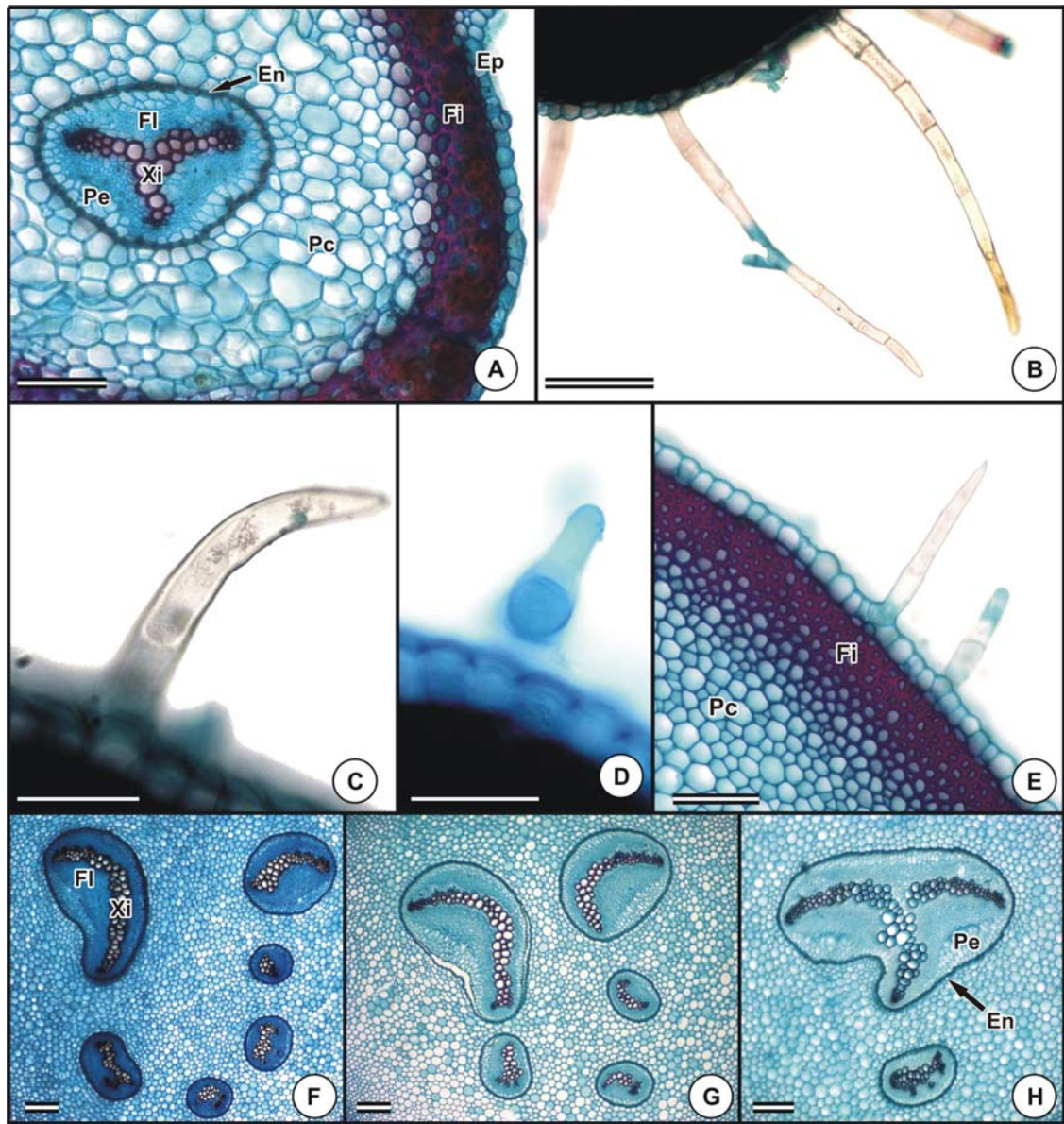


Figura 5 – Anatomia do pecíolo de espécies de *Pecluma* (cortes transversais). A: epiderme, fibras e sistema vascular da região proximal do pecíolo de *P. sicca*. B: pêlos tectores do pecíolo de *P. sicca*. C: pêlo tector do pecíolo de *P. recurvata*. D: pêlo secretor do pecíolo de *P. recurvata*. E: fibras subepidérmicas e parênquima cortical do pecíolo de *P. recurvata*. F: meristelos da região proximal do pecíolo de *P. recurvata*. G: meristelos na região mediana do pecíolo de *P. recurvata*. H: meristelos na região distal do pecíolo de *P. recurvata*. Abreviaturas: Ep: epiderme, Fi: fibras, Pc: parênquima cortical, Fl: floema, Xi: xilema, Pe: periciclo, En: endoderme. Barras: A: 100 μm ; C – E: 50 μm ; B, F – H: 200 μm .

Serpocaulon

A lâmina foliar de *Serpocaulon* apresenta epiderme uniestratificada, com cloroplastos (Figuras 6A e 6B). A parede periclinal externa de *S. sehnemii* (Figura 6B) é espessa, se comparada a de *S. fraxinifolium* (Figura 6A). Em vista frontal, células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas podem ser observadas em ambas as faces da lâmina foliar de *Serpocaulon* (Figura 6C-E).

Em *Serpocaulon fraxinifolium* e *S. sehnemii*, estômatos predominantemente polocíticos ocorrem na face abaxial (Figura 6C); espessamentos de parede, na região de união das células-guarda, podem ser observados nas duas espécies (Figura 6C).

Pêlos claviformes, com duas células (Figura 6C), podem ser verificados na epiderme, em ambas as faces da lâmina foliar. Em *S. fraxinifolium*, pêlos tectores, unisseriados e multicelulares, podem ser observados na epiderme da face abaxial (Figura 6F), principalmente próximo aos soros (Figura 6G).

O mesofilo é homogêneo, com células braciiformes e muitos espaços intercelulares (Figuras 6A e 6B); entretanto, em *S. fraxinifolium*, as células do parênquima clorofiliano têm arranjo mais compacto nas camadas próximas à epiderme da face adaxial (Figura 6A).

O sistema vascular da lâmina foliar está representado, na região da nervura mediana por um feixe anficrival, com xilema em forma de “V”, delimitado pelo periciclo com 1-2 camadas de células e circundado pela endoderme com estrias de Caspary (Figuras 6H e 6I). Células parenquimáticas, de formato quadrangular, envolvem os feixes vasculares da lâmina foliar (Figuras 6H e 6I).

Em relação ao padrão de venação, *Serpocaulon* caracteriza-se por apresentar venação reticulada, com uma única vênula livre por aréola (Figura 7A). Em *S. fraxinifolium*, os soros estão localizados sobre as vênulas livres, em aréolas costais ou não costais (Figura 7A), já em *S. sehnemii*, os soros se localizam apenas nas vênulas livres que partem da nervura principal (Figura 7B).

O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada, com células de paredes periclinais externas espessadas. Em *S. sehnemii*, um tecido de sustentação subepidérmico, com células de paredes espessadas contorna o pecíolo em toda sua extensão, sendo interrompido nas regiões laterais, onde células de paredes delgadas estão

em contato com a epiderme; em *S. fraxinifolium*, o tecido subepidérmico é constituído por fibras e contorna o pecíolo em toda sua extensão (Figura 7E).

A região proximal do pecíolo de *Serpocaulon sehnemii* é constituída por seis meristelos, dois maiores adaxiais e quatro menores, abaxiais (Figura 7C). Em todos os meristelos, o feixe vascular é constituído por xilema, envolvido por floema, e pelo periciclo, com 1-3 camadas de células (Figura 7C); a endoderme, com conteúdo fenólico, está envolvida por células parenquimáticas de paredes espessadas (Figura 7C). Nas regiões mediana e proximal, ocorre união entre os meristelos, e o sistema vascular passa a ser representado por três meristelos, um adaxial, de maior porte, com xilema em forma de “X” e dois menores, voltados para a face abaxial (Figura 7D).

Em *Serpocaulon fraxinifolium*, dez meristelos podem ser observados na região proximal do pecíolo, um maior, adaxial, e nove menores, voltados para a face abaxial, formando um círculo (Figura 7F). Cada meristelo apresenta: periciclo com 1-2 camadas de células, floema situado em torno do xilema e endoderme, com estrias de Caspary. Ao longo das regiões mediana e distal, meristelos de menor porte unem-se ao de maior porte, e o sistema vascular passa a ser formado por nove e oito meristelos, respectivamente (Figuras 7G e 7H). Cada meristelo, constituído por periciclo com 1-2 camadas de células e floema em torno do xilema, está envolvido pela endoderme (Figuras 7G e 7H). Células parenquimáticas com paredes impregnadas com conteúdo fenólico circundam todos os meristelos ao longo do pecíolo (Figura 7F-H).

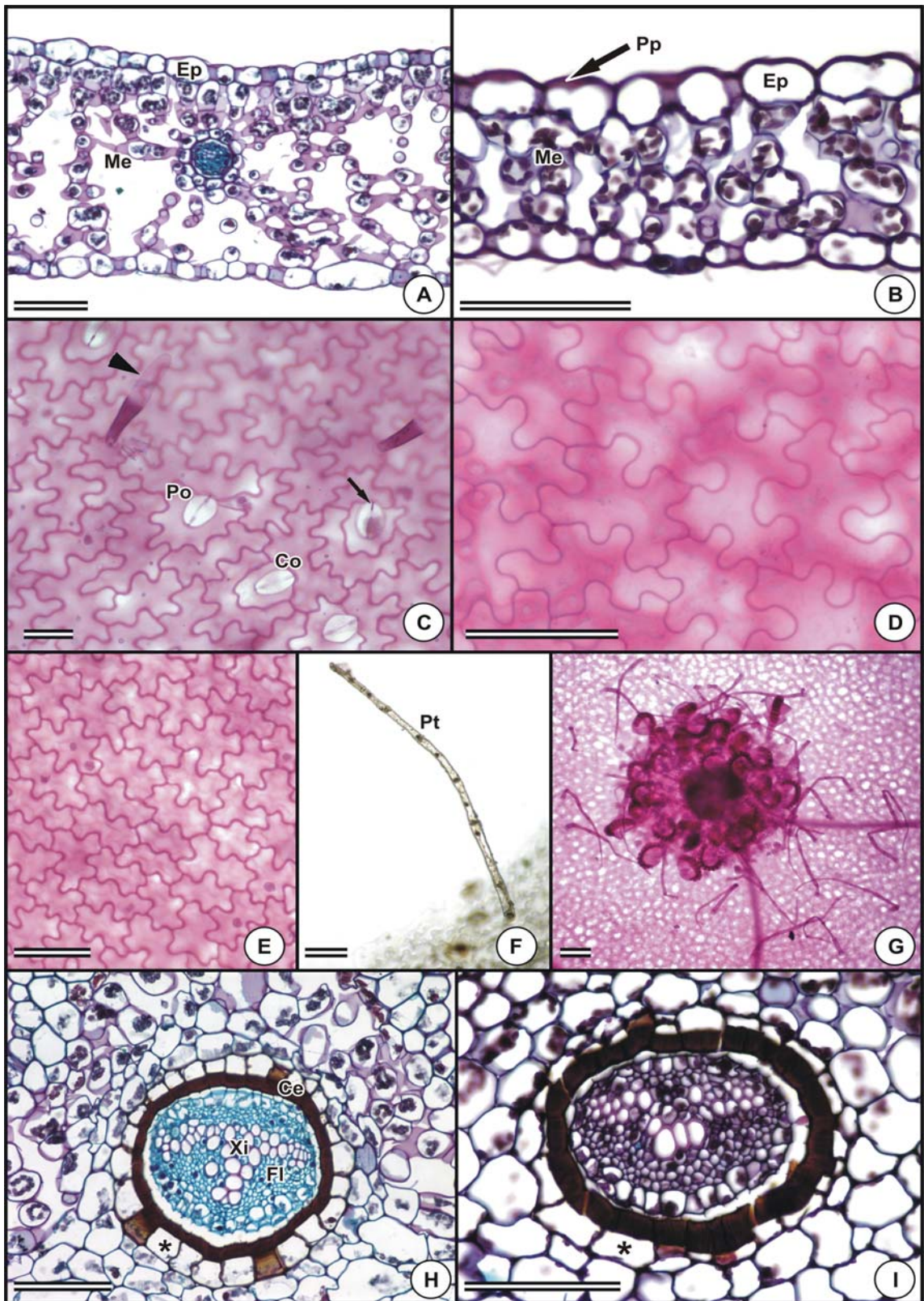


Figura 6 – Anatomia da lâmina foliar de espécies de *Serpocaulon*. A, B, H e I (cortes transversais), C – E e G (material diafanizado), F (corte paradérmico). A: epiderme e mesofilo de *S. fraxinifolium*. B: parede periclinal externa, epiderme e mesofilo de *S. sehnemii*. C: epiderme da face abaxial de *S. fraxinifolium* com estômatos polocíticos (→) e pêlo claviforme (cabeça de seta), espessamento de parede das células-guarda (→). D: epiderme da face adaxial de *S. fraxinifolium*. E: epiderme da face adaxial de *S. sehnemii*. F: pêlo tector de *S. fraxinifolium*. G: epiderme da face abaxial de *S. fraxinifolium* com soro e pêlos tectores. H: feixe vascular da nervura mediana de *S. fraxinifolium*. I: feixe vascular da nervura mediana de *S. sehnemii*. Abreviaturas: Ep: epiderme, Me: mesofilo, Pp: parede periclinal externa, Pt: pêlo tector, Ce: compostos fenólicos, Xi: xilema, Fl: floema, * em H e I: células parenquimáticas de formato quadrangular. Barras: A,B, D – F, H, I: 100 µm; C: 50 µm; G: 200 µm.

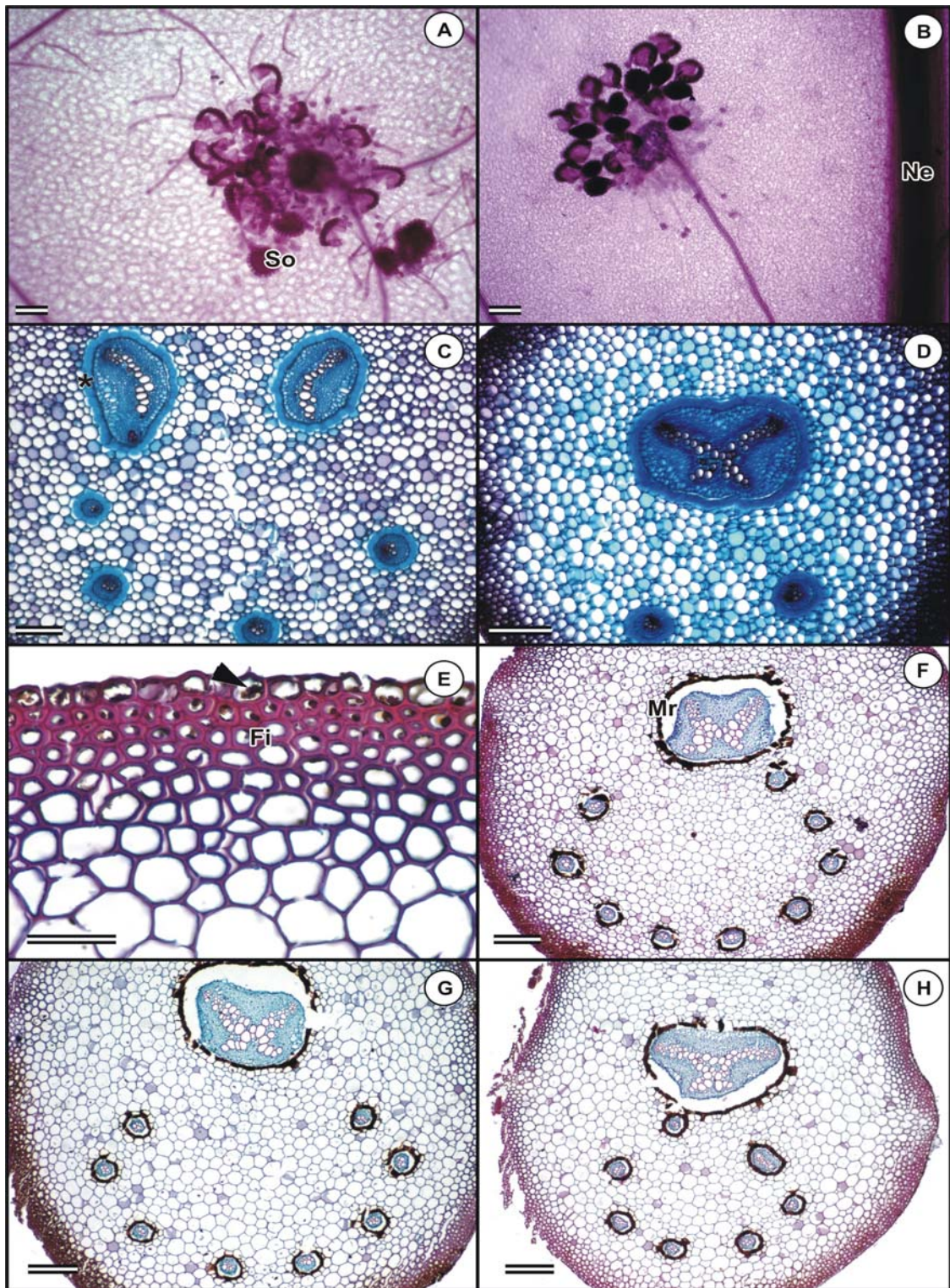


Figura 7 – Anatomia da lâmina foliar e do pecíolo de espécies de *Serpocaulon*. A e B (material diafanizado), C – H (cortes transversais). A: epiderme da face abaxial com aréola com soro em *S. fraxinifolium*. B: soro na epiderme da face abaxial de *S. sehnemii*. C: meristelos e células parenquimáticas de paredes espessadas (*) da região proximal do pecíolo de *S. sehnemii*. D: meristelos da região mediana do pecíolo de *S. sehnemii*. E: epiderme com conteúdo fenólico (cabeça de seta) e fibras subepidérmicas do pecíolo de *S. fraxinifolium*. F: meristelos da região proximal do pecíolo de *S. fraxinifolium*. G: meristelos da região mediana do pecíolo de *S. fraxinifolium*. H: meristelos da região distal do pecíolo de *S. fraxinifolium*. Abreviaturas: So: soro, Ne: nervura principal, Mr: meristelo, Fi: fibras. Barras: A, B, D, F - H: 200 μ m; C: 100 μ m; E: 50 μ m.

Pleopeltis

A lâmina foliar de *Pleopeltis hirsutissima* e *P. macrocarpa* apresenta epiderme uniestratificada, com células de paredes periclinais externas espessas na face adaxial (Figura 8A). Em vista frontal, *P. macrocarpa* apresenta células epidérmicas de paredes anticliniais pouco sinuosas na face adaxial (Figura 8B), se comparadas às da face abaxial (Figura 8C); já em *P. hirsutissima*, as células apresentam paredes anticliniais sinuosas na epiderme de ambas as faces (Figuras 8D e 8E).

Estômatos, predominantemente anomocíticos, estão presentes apenas na epiderme da face abaxial de ambas as espécies (Figuras 8C e 8E), cujas folhas são extremamente pubescentes, com inúmeras escamas distribuídas pela epiderme (Figuras 8F, 8G e 8H). Em *Pleopeltis hirsutissima*, as escamas são peltadas, com base arredondada e apêndice filiforme (Figuras 8G e 8I); em *P. macrocarpa*, as escamas são lanceoladas, com células centrais escuras e isodiamétricas e células marginais claras (Figura 8H). Em *P. hirsutissima*, as escamas encontram-se, muitas vezes, concentradas em torno das terminações das nervuras, onde ocorrem os soros (Figura 8I). Pêlos claviformes bicelulares podem ser observados na epiderme da face abaxial de *P. macrocarpa* (Figura 8J).

O mesofilo é dorsiventral, com diferenciação em parênquima paliçádico e lacunoso (Figuras 8A e 8F). Fibras subepidérmicas podem ser observadas na região da nervura mediana e na margem da lâmina foliar de *P. macrocarpa* (Figuras 9A e 9B).

Em *Pleopeltis hirsutissima*, na região da nervura mediana, o feixe vascular está envolvido pelo periciclo, pela endoderme, cujas células apresentam estrias de Caspary e por células parenquimáticas de paredes espessadas (Figura 9C).

Em *Pleopeltis macrocarpa*, na região da nervura mediana, o feixe vascular é anficrival, com xilema em forma de “V” e periciclo com 1-2 camadas de células; a endoderme, muitas vezes não íntegra, está envolvida por células parenquimáticas com conteúdo fenólico (Figura 9D).

A venação é do tipo reticulada, com uma terminação livre por aréola em *P. hirsutissima* (Figura 9E) e 1-3 terminações livres em *P. macrocarpa* (Figura 9F).

O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada, com células de paredes periclinais externas espessas (Figuras 10A e 10G). Escamas ocorrem ao longo de todo

pecíolo em *P. hirsutissima* (Figura 10G) e apenas na região proximal em *P. macrocarpa* (Figura 10B).

Em *Pleopeltis macrocarpa*, fibras podem ser observadas formando camadas e calotas subepidérmicas (Figura 10C).

Nas regiões proximal e mediana, o sistema vascular do pecíolo de *Pleopeltis macrocarpa* é constituído por quatro e três meristelos, respectivamente, sendo, cada um, constituído por feixe vascular anficrival e periciclo, envolvidos pela endoderme, com estrias de Caspary (Figuras 10D e 10E). Na região distal, ocorrem fusões entre os meristelos, dando origem a um sistema vascular composto de dois meristelos; periciclo e endoderme com conteúdo fenólico, envolvem cada um dos feixes anficrivais (Figura 10F). No meristelo formado a partir da fusão, o xilema é dividido em dois grupos de células, envolvidos pelo floema (Figura 10F).

Na região proximal do pecíolo de *Pleopeltis hirsutissima*, a porção interna do córtex é constituída por células parenquimáticas esclerificadas e na periferia ocorrem fibras (Figura 10H); nas regiões mediana e distal toda a região cortical é constituída por fibras (Figuras 10I e 10J).

Cinco meristelos compõe a região proximal do pecíolo de *Pleopeltis hirsutissima* (Figura 10H); o periciclo e a endoderme envolvem os feixes anficrivais. Contornando os meristelos, observam-se células parenquimáticas de paredes espessadas e conteúdo fenólico (Figura 10H). Ocorrem fusões dos meristelos nas regiões mediana e distal e, quatro e três meristelos, respectivamente, passam a constituir o sistema vascular do pecíolo (Figuras 10I e 10J).

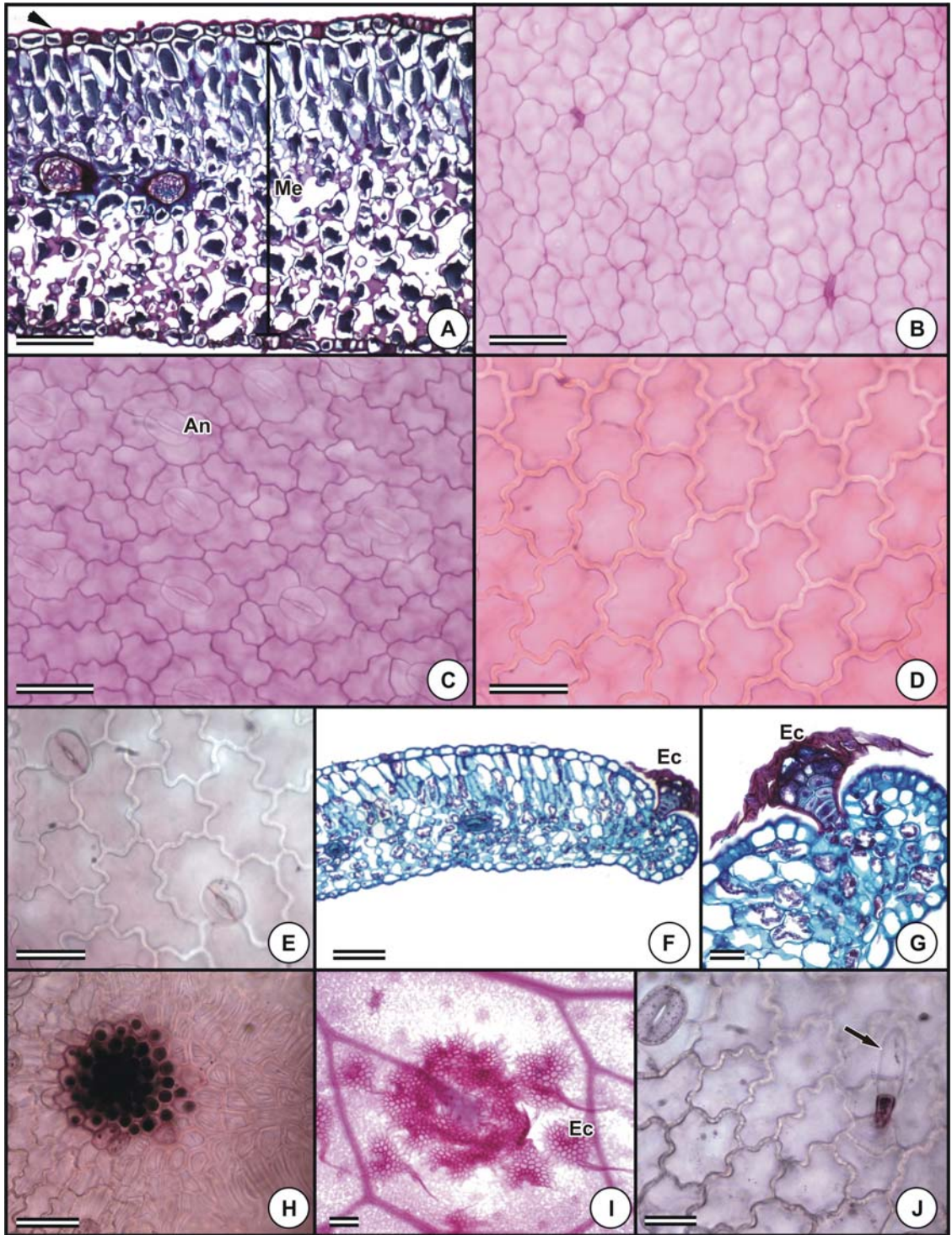


Figura 8 - Anatomia foliar de espécies de *Pleopeltis*. A, F e G (cortes transversais), B – E, H - J (material diafanizado). A: parede periclinal externa (cabeça de seta) e mesofilo de *P. macrocarpa*. B: epiderme da face adaxial de *P. macrocarpa*. C: epiderme da face abaxial de *P. macrocarpa* com estômatos anomocíticos. D: epiderme da face adaxial de *P. hirsutissima*. E: epiderme da face abaxial de *P. hirsutissima* com estômatos anomocíticos. F: mesofilo e escama de *P. hirsutissima*. G: escama na margem da lâmina foliar de *P. hirsutissima*. H: epiderme da face abaxial e escama de *P. macrocarpa*. I: escamas de *P. hirsutissima* em torno da nervura. J: pêlo claviforme na epiderme da face abaxial de *P. macrocarpa*. Abreviaturas: Me: mesofilo, An: estômato anomocítico, Ec: escama. Barras: A – C, H, J: 100 μm ; D, E, G: 50 μm ; F, I: 200 μm .

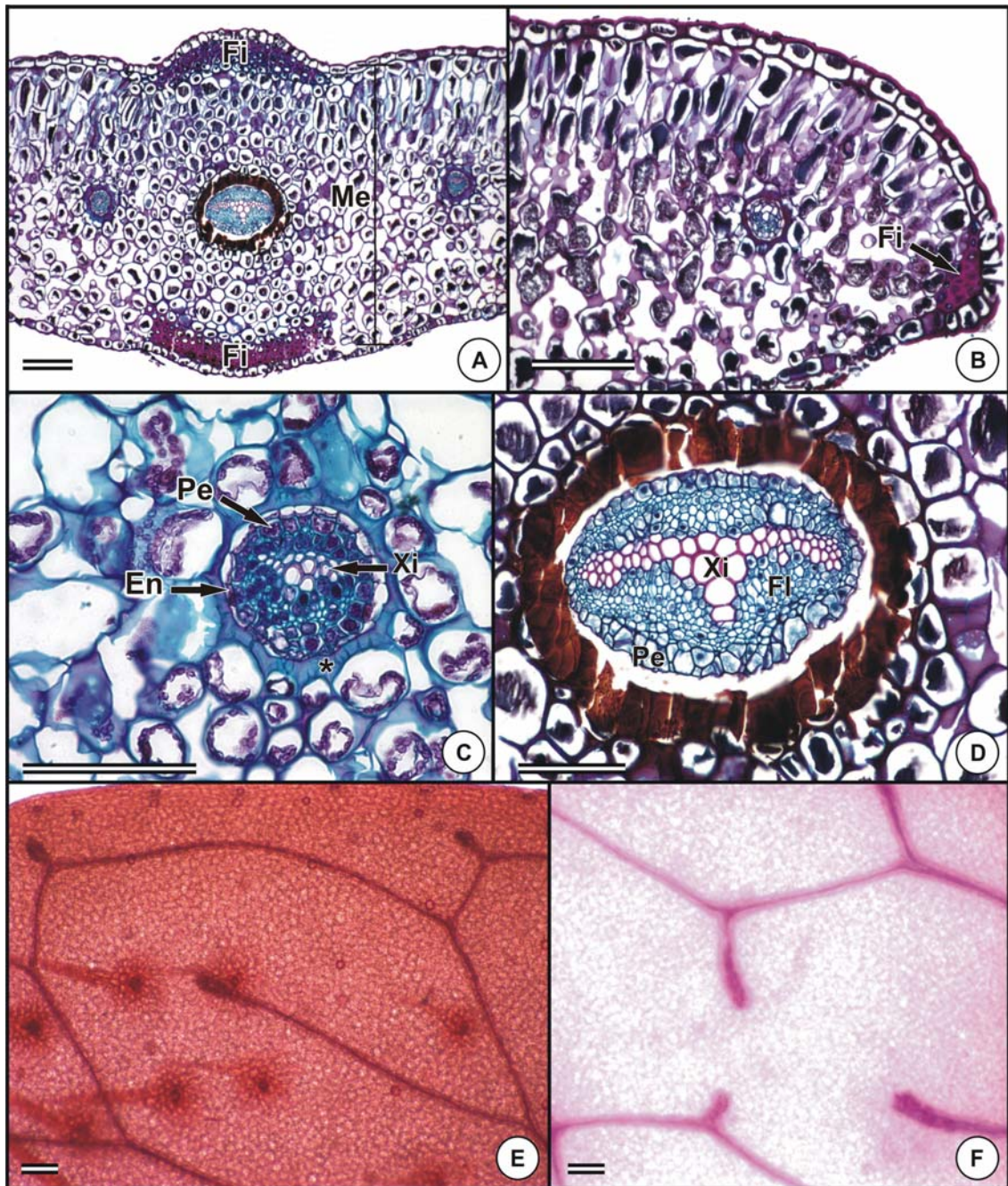


Figura 9 – Anatomia da lâmina foliar de *Pleopeltis*. A – D (cortes transversais), E e F (material diafanizado). A: mesofilo e fibras subepidérmicas de *P. macrocarpa*. B: fibras na margem da lâmina foliar de *P. macrocarpa*. C: feixe vascular da nervura mediana de *P. hirsutissima* e células parenquimáticas com paredes espessadas (*). D: feixe vascular da nervura mediana de *P. macrocarpa*. E: venação de *P. hirsutissima*. F: venação de *P. macrocarpa*. Abreviaturas: Fi: fibras, Me: mesofilo, En: endoderme, Pe: periciclo, Xi: xilema, Fl: floema. Barras: A, B, E, F: 200 µm; C, D: 100 µm.

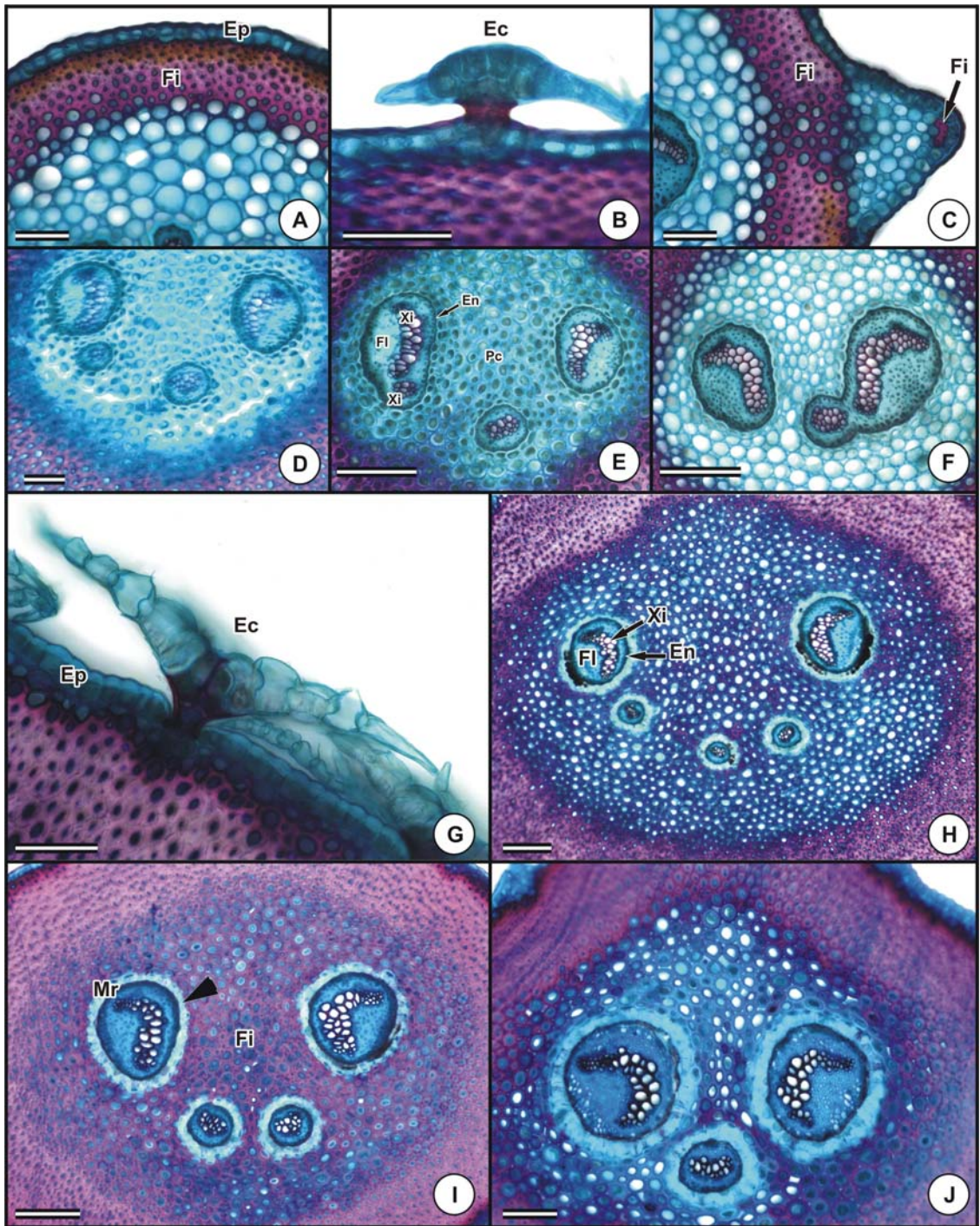


Figura 10 - Anatomia do pecíolo de *Pleopeltis* (cortes transversais). A: epiderme e fibras subepidérmicas da região distal do pecíolo de *P. macrocarpa*. B: escama do pecíolo de *P. macrocarpa*. C: calota de fibras subepidérmicas do pecíolo de *P. macrocarpa*. D: meristelos da região proximal do pecíolo de *P. macrocarpa*. E: meristelos da região mediana do pecíolo de *P. macrocarpa*. F: meristelos da região distal do pecíolo de *P. macrocarpa*. G: epiderme e escama de *P. hirsutissima*. H: meristelos da região proximal do pecíolo de *P. hirsutissima*. I: meristelos da região mediana do pecíolo de *P. hirsutissima* e células parenquimáticas de paredes espessadas (cabeça de seta). J: meristelos da região distal do pecíolo de *P. hirsutissima*. Abreviaturas: Ep: epiderme, Fi: fibras, Pc: parênquima cortical, Mr: meristelo, Ec: escama, Xi: xilema, Fl: floema, En: endoderme. Barras: A – C, F: 100 μm ; D, E, G – J: 200 μm .

Niphidium crassifolium

Niphidium crassifolium apresenta epiderme uniestratificada, com células tabulares e paredes periclinais externas finas (Figura 11A). Em vista frontal, o contorno das células epidérmicas da face adaxial é mais sinuoso (Figura 11B), se comparado ao da face abaxial (Figura 11C).

Estômatos, predominantemente diacíticos (Figura 11C), e pêlos secretores claviformes, com duas células (Figura 11D), ocorrem, em grande quantidade, na epiderme da face abaxial.

Sob a epiderme da face adaxial, observa-se 1-2 camadas de células volumosas (Figura 11A).

O mesofilo é homogêneo, com espaços intercelulares proeminentes (Figura 11A). Fibras podem ser verificadas contornando a nervura mediana e formando calotas na direção dos feixes vasculares situados no mesofilo (Figura 11E).

A nervura mediana da lâmina foliar, consideravelmente proeminente (Figura 11E), é constituída por cinco feixes vasculares, um maior adaxial e quatro menores, voltados para a face abaxial (Figura 11F). No feixe de maior calibre, o floema e as células do periciclo (1-3 camadas), envolvem o xilema, em forma de “V” (Figura 11F). A endoderme, estreita, tabular e com estrias de Caspary, é contornada por células parenquimáticas de paredes espessadas, em forma de “U”, com grande quantidade de compostos fenólicos (Figura 11F). Nos feixes vasculares de menor calibre, floema, periciclo, endoderme e células parenquimáticas com conteúdo fenólico, também envolvem o xilema (Figura 11F).

A venação é reticulada, com vênulas livres bifurcadas ou não e com terminação dilatada (Figura 12A). Os soros, arredondados (Figura 12B) formam uma única fileira entre duas nervuras secundárias laterais paralelas e estão posicionados sobre a bifurcação das nervuras de menor calibre.

O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada, com células de paredes periclinais externas espessas e conteúdo fenólico (Figura 12C).

Nas porções mediana e distal, células completamente preenchidas por compostos fenólicos podem ser observadas logo abaixo da epiderme (Figura 12C).

O sistema vascular do pecíolo é constituído, nas regiões proximal e mediana por 10-11 meristelos (Figura 12D) e na região distal por nove (Figura 12E). Os feixes vasculares, anficrivais, estão envolvidos pelo floema, pelo periciclo com 1-2 camadas de células e pela endoderme, com conteúdo fenólico (Figura 12F). Uma bainha de células radiadas, com conteúdo fenólico pode ser observada em torno de todos os meristelos (Figura 12F).

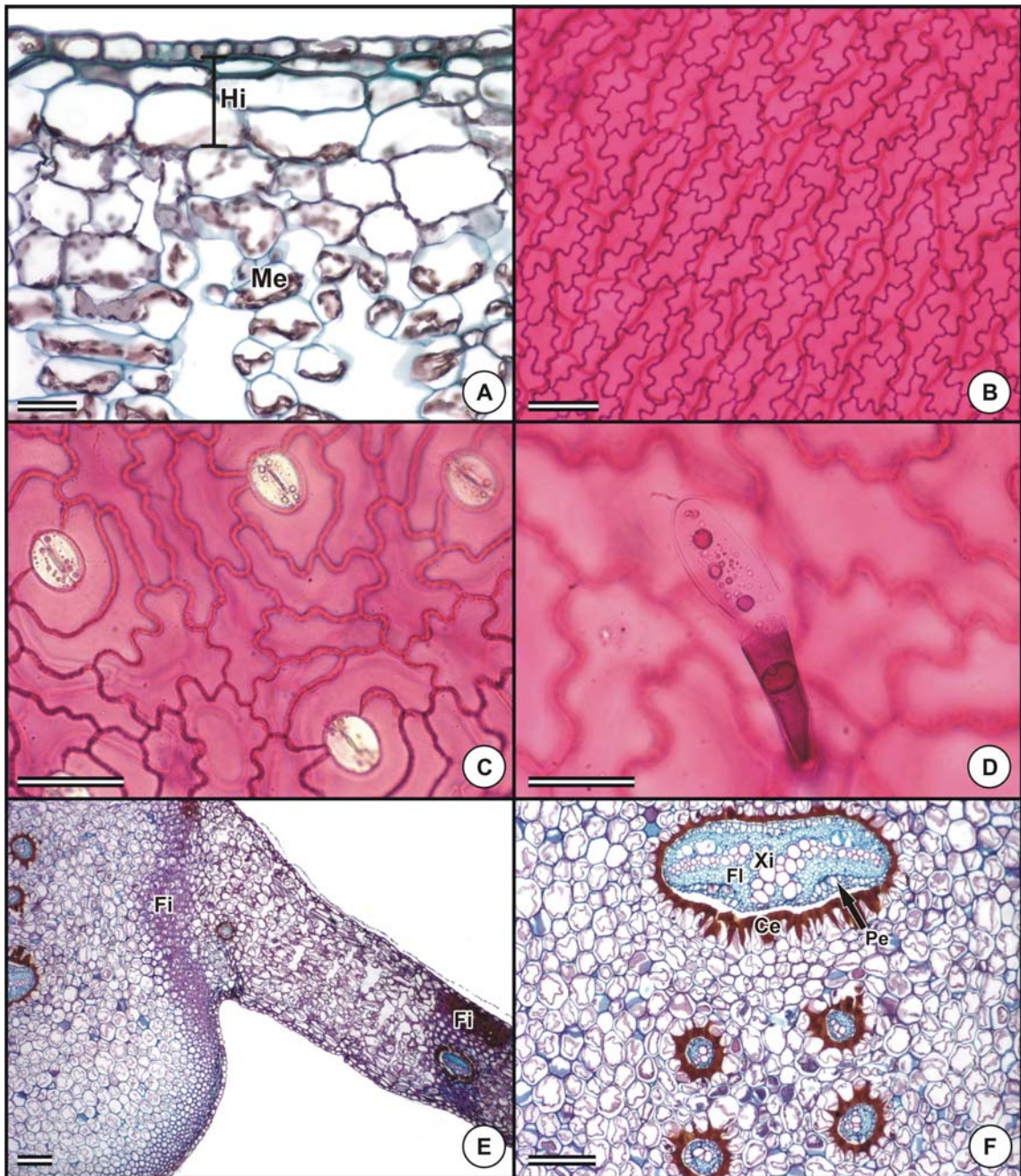


Figura 11-Anatomia da lâmina foliar de *Niphidium crassifolium*. A, E e F (cortes transversais), B – D (material diafanizado). A: hipoderme e mesofilo. B: epiderme da face adaxial. C: epiderme da face abaxial com estômatos diaclíticos. D: pêlo secretor na epiderme da face abaxial. E: fibras na região da nervura mediana e no mesofilo. F: feixes vasculares na região da nervura mediana. Abreviaturas: Hi: hipoderme, Me: mesofilo, Fi: fibras, Xi: xilema, Fl: floema, Pe: periciclo, Ce: compostos fenólicos. Barras: A - D: 100 µm; E, F: 200 µm.

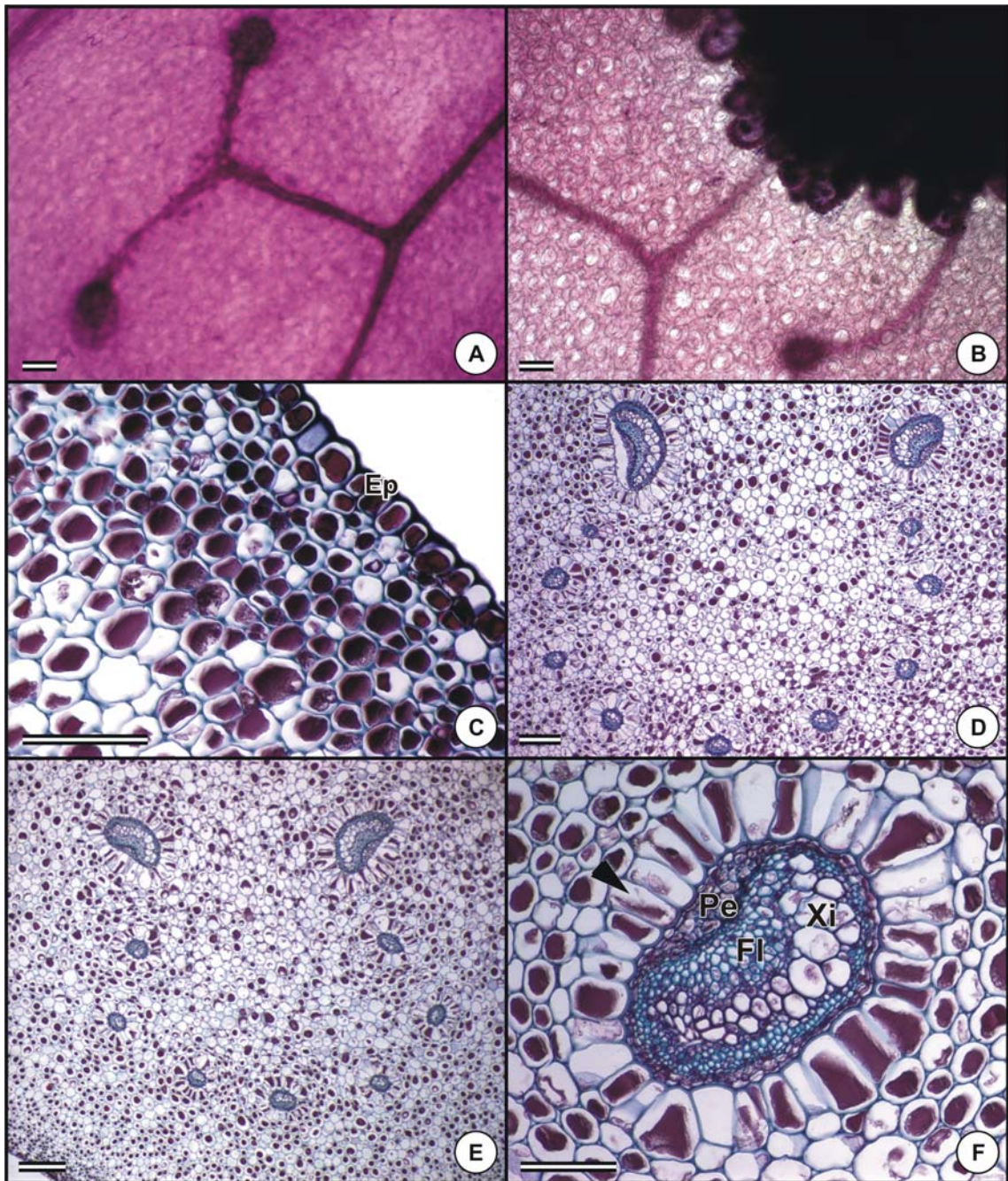


Figura 12 - Anatomia foliar e do pecíolo de *Niphidium crassifolium*. A e B (material diafanizado), C – F (cortes transversais). A: vênulas livres bifurcadas. B: soro na epiderme da face abaxial. C: epiderme e células subepidêrmicas com conteúdo fenólico na região mediana do pecíolo. D: meristelos da região mediana do pecíolo. E: meristelos da região distal do pecíolo. F: bainha de células radiadas envolvendo o meristelo (cabeça de seta). Abreviaturas: Ep: epiderme, Pe: periciclo, Xi: xilema, Fl: floema. Barras: A, B, D – F: 200 μ m; C: 100 μ m.

Microgramma squamulosa

A lâmina foliar de *Microgramma squamulosa* apresenta epiderme uniestratificada, com células tabulares, de parede periclinal externa fina (Figura 13A). Uma camada de células volumosas está presente sob a epiderme, em ambas as faces da folha (Figura 13A); através da realização de teste histoquímico com Vermelho de Rutênio, constatou-se a natureza mucilaginosa do conteúdo das células da camada subepidérmica (Figura 13B).

Em vista frontal, as células epidérmicas da face adaxial apresentam paredes anticlinais menos sinuosas (Figura 13C), se comparadas às da face abaxial (Figura 13D). Os estômatos, predominantemente anomocíticos e restritos à face abaxial, apresentam espessamento de parede na região de união das células-guarda (Figura 13D). Em corte transversal, observa-se que as células-guarda encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas e as câmaras subestomáticas são evidentes (Figura 13A).

O mesofilo é homogêneo, com tendência a dorsiventral, apresentando poucos espaços intercelulares; em algumas células, verifica-se conteúdo mucilaginoso (Figura 13A).

O sistema vascular da lâmina foliar é constituído, na região da nervura mediana, por um feixe anficrival, com xilema em forma de “V”, envolvido pelo floema e pelo periciclo, com 1-2 camadas de células (Figura 13E); a endoderme, estreita, com estrias de Caspary, é contornada por células com paredes impregnadas por compostos fenólicos (Figura 13E).

A venação é do tipo reticulada, com vênulas livres (Figura 13F). Os soros, arredondados, localizam-se na junção de 2 ou 3 vênulas (Figura 13G).

O pecíolo apresenta epiderme uniestratificada, com células de paredes periclinais externas muito espessas (Figura 14A).

Fibras subepidérmicas formam calotas nas porções proximal, mediana e distal do pecíolo (Figuras 14A e 14B). Estômatos podem ser observados na região das alas (Figura 14C).

Dois meristelos constituem as regiões proximal e mediana do pecíolo (Figura 14D). Os feixes, anficrivais, estão delimitados pelo periciclo, com 1-4 camadas de

células e pela endoderme, enegrecida (Figura 14D). Presença de dois pólos de protoxilema em cada meristelo (Figura 14D).

Na região distal do pecíolo, os dois meristelos se fundem, formando um único meristelo com xilema em forma de “V”, com vértice truncado; o periciclo com 1-2 camadas de células e a endoderme, com conteúdo fenólico, envolvem o feixe anficrival (Figura 14E). Ao longo de todo o pecíolo, contornando os meristelos, observam-se células parenquimáticas, de paredes espessadas, muitas vezes com conteúdo fenólico (Figuras 14D e 14E).

Os caracteres anatômicos dos gêneros de Polypodiaceae estudados podem ser comparativamente analisados na Tabela 1.

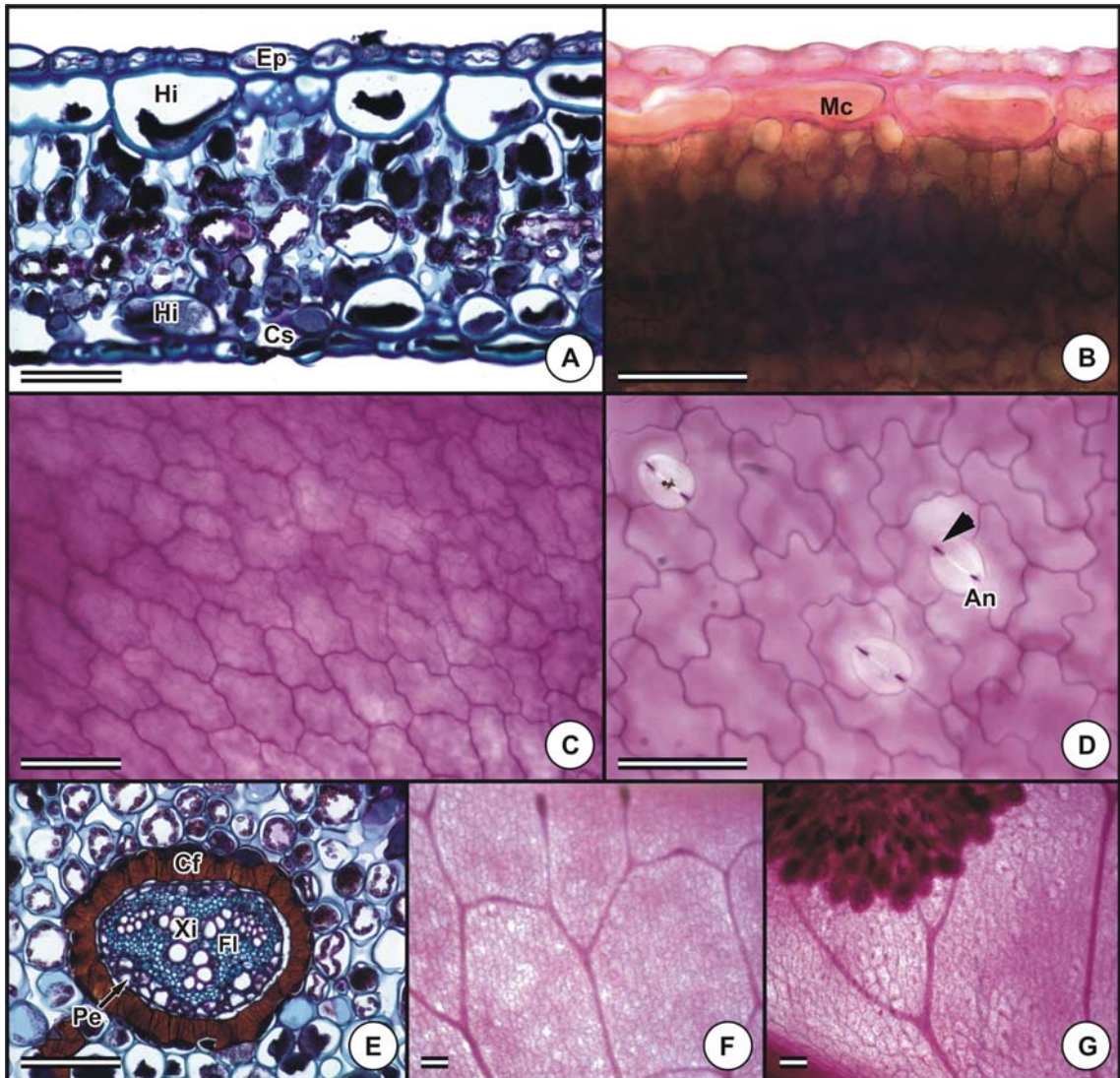


Figura 13 - Anatomia da lâmina foliar de *Microgramma squamulosa*. A, B e E (cortes transversais), C, D, F e G (material diafanizado). A: epiderme, hipoderme e câmara subestomática. B: conteúdo mucilaginoso na hipoderme. C: epiderme da face adaxial. D: epiderme da face abaxial com estômatos anomocíticos, espessamento de parede das células-guarda (cabeça de seta). E: feixe vascular na região da nervura mediana. F: venação. G: soro na epiderme da face abaxial. Abreviaturas: Ep: epiderme, Hi: hipoderme, Cs: câmara subestomática, Mc: mucilagem, An: estômato anomocítico, Ce: compostos fenólicos, Pe: periciclo, Xi: xilema, Fl: floema. Barras: A, B, D, E: 100 μ m; C, F, G: 200 μ m.

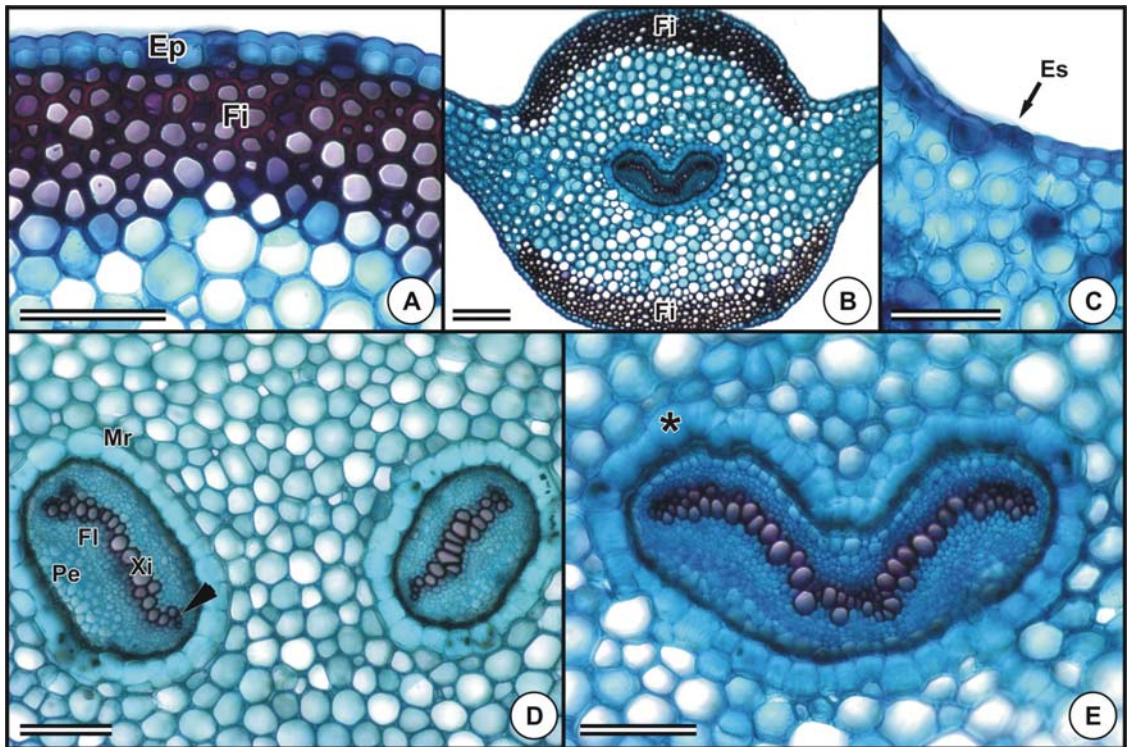


Figura 14 – Anatomia do pecíolo de *Microgramma squamulosa* (cortes transversais). A: epiderme com parede periclinal externa espessa e fibras subepidérmicas na região mediana do pecíolo. B: fibras subepidérmicas na região distal do pecíolo. C: estômato na região da ala. D: meristelos da região proximal do pecíolo, pólo de protoxilema (cabeça de seta). E: meristelo da região distal do pecíolo, células parenquimáticas de paredes espessadas (*). Abreviaturas: Ep: epiderme, Fi: fibras, Es: estômato, Mr: meristelo, Xi: xilema, Fl: floema, Pe: periciclo. Barras: A, C – E: 100 μm ; B: 200 μm .

Tabela 1 – Caracteres anatômicos observados nos gêneros de Polypodiaceae ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB)

Característica	<i>Campyloneurum</i>	<i>Pecluma</i>	<i>Serpocaulon</i>	<i>Pleopeltis</i>	<i>Niphidium</i>	<i>Micrograma</i>
Estômatos polocíticos/copolocíticos	X		X			
Estômatos diacíticos					X	
Estômatos anomocíticos		X		X		X
Escamas na lâmina foliar	X (<i>C. major</i>)			X		
Pêlos na lâmina foliar	X	X	X	X (<i>P. macrocarpa</i>)	X	
Mesofilo homogêneo	X	X	X		X	X
Mesofilo dorsiventral				X		
Venação reticulada	X		X	X	X	X
Venação aberta		X				
Pêlos no pecíolo		X				
Escamas no pecíolo	X (<i>C. repens</i>)			X		
Fibras subepidérmicas no pecíolo	X (<i>C. major</i>)	X	X (<i>S. fraxinifolium</i>)	X		X
Células com paredes espessadas no pecíolo	X (<i>C. repens</i>)		X (<i>S. sehnemii</i>)		X	
Hipoderme					X	X
Número de meristelos ao longo do pecíolo	3 - 12	1 - 6	3 - 10	2 - 5	9 - 11	1 - 2

4-DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Polypodiaceae compreende mais de 95% das espécies epífitas de samambaias, destacando-se em levantamentos florísticos, sendo especialmente abundantes em florestas e regiões úmidas (Peres *et al.* 2009). A família é bastante numerosa em espécies e apresenta uma expressiva variabilidade de caracteres morfológicos e anatômicos (Pereira *et al.* 2007; Dubuisson 2008).

Nas espécies estudadas, as paredes anticlinais das células epidérmicas se mostraram sinuosas, com reentrâncias proeminentes na face adaxial de *Pecluma*, *Serpocaulon sehnemii* e *Niphidium crassifolium*. Segundo Pyykkö (1979) e Wilkinson (1979), as sinuosidades das paredes das células epidérmicas estariam ligadas às variações das intensidades luminosas, como já discutido para a família Aspleniaceae (Cap.1); dessa forma, vale ressaltar que, a utilização desse caráter para fins taxonômicos deva ser avaliada com cautela, pois faltam informações sobre a influência de outros fatores não adaptativos na morfogênese das células epidérmicas.

O tipo de estômato variou entre os gêneros estudados, demonstrando ser um caráter heterogêneo dentro da família; os tipos polocítico e copolocítico, associados, foram observados em *Campyloneurum* e *Serpoculon*; o tipo anomocítico em *Pecluma*, *Pleopeltis* e *Microgramma* e o tipo diacítico em *Niphidium*. Apenas estômatos polocíticos estão entre os tipos citados por van Cotthem (1973) para Polypodiaceae. A ocorrência de tipos diferentes de estômatos em uma mesma folha, a uma primeira vista, pode gerar dúvidas a respeito da validade taxonômica deste caráter, mas, por outro lado, existem muitas famílias que possuem tipos estomáticos constantes, e nestes casos uma variação estomática pode ser utilizada para a exclusão de uma determinada espécie da família (Pant & Banerji 1965).

Neste estudo, o tipo de estômato se mostrou constante em nível de gênero; entretanto, para a avaliação do valor taxonômico deste caráter, serão necessários estudos envolvendo um maior número de espécies por gênero, incluindo indivíduos provenientes de outros ambientes.

Nas espécies de *Polypodiaceae* analisadas, três tipos de pêlos foram verificados: claviformes, com duas células em *Campyloneurum*, *Serpocaulon*, *Niphidium crassifolium* e *Pecluma recurvata*; secretor, com seis células, em *Pecluma sicca*; e

tectores, multicelulares, em *S. fraxinifolium* e em *Pecluma*. Escamas foram observadas apenas em *Pleopeltis* e em *C. major*.

Polypodiaceae é conhecida por apresentar vários gêneros com lâminas foliares pubescentes. A natureza e a localização do indumento podem caracterizar uma espécie, além de estabelecer relações de parentesco (de la Sota 1960). Para as espécies de *Campyloneurum*, o tipo de pêlo encontrado foi relatado por de la Sota (1960), entretanto, cabe ressaltar que, de acordo com outros autores (Tryon & Tryon 1982; Mickel & Smith 2004), *Campyloneurum* constitui-se de espécies glabras ou com pêlos esparsamente distribuídos sobre a lâmina foliar, contrariando o que foi observado para *C. repens* e *C. major*, que apresentaram uma grande densidade de pêlos, principalmente na epiderme da face abaxial da lâmina.

Nas espécies de *Serpocaulon* estudadas, pêlos tectores unisseriados e multicelulares foram observados em *S. fraxinifolium* e pêlos claviformes com duas células foram verificados em ambas as espécies. Labiak & Prado (2008) descreveram, morfologicamente, dez espécies de *Serpocaulon*, confirmando a presença de pêlos curtos e hialinos no tecido laminar de *S. sehnemii*; já para *S. fraxinifolium*, os autores descreveram apenas a ocorrência de pêlos hialinos sobre a nervura principal, na epiderme da face abaxial da folha.

Em *Niphidium crassifolium*, a ocorrência de pêlos secretores na face abaxial, contraria o descrito por Mickel & Smith (2004) e Prado (2005), que relatam lâminas completamente glabras para a espécie. A análise de material herborizado em microscópio estereoscópico, muitas vezes, não permite visualizar a ocorrência de apêndices epidérmicos sensíveis à desidratação, como pêlos. A constatação de pêlos em *N. crassifolium* pode ser atribuída à utilização de material à fresco aliado à técnica de diafanização empregada e à observação em microscópio de luz.

Mickel & Smith (2004), analisando dez espécies de *Pecluma* ocorrentes no México, relataram, para todas elas, a ocorrência de pêlos tectores septados, tanto na lâmina quanto nas margens foliares. Dentre as espécies descritas pelos autores, apenas *P. sursumcurrens* apresentou pêlos bicelulares claviformes, como observado aqui em *P. recurvata*.

Em *Pleopeltis hirsutissima*, a epiderme se mostrou recoberta por escamas com base arredondada e apêndice filiforme. Segundo Mickel & Smith (2004), escamas peltadas, de formato arredondado a ovalado, possuem ampla distribuição dentro do gênero. Estas escamas, do tipo gonfóide, se caracterizam por apresentar ápice e base

dentados, com as células da parte basal isodiamétricas, com paredes espessadas e células apicais alargadas, com paredes delgadas (de la Sota 1960).

As samambaias são de ampla ocorrência em locais úmidos (Kessler 2001), mas um considerável número de espécies apresenta estratégias adaptativas ao estresse hídrico (Kessler & Siorak 2007). *Pleopeltis hirsutissima*, uma epífita comum em formações semi-abertas, apresenta, em condições de seca, folhas enroladas, enrijecidas e com coloração pardo-acinzentada, sugerindo desidratação dos tecidos (Schmeing *et al.* 2007). Em condições favoráveis, as escamas foliares absorvem água, ocorre reidratação dos tecidos e a planta adquire coloração verde característica. O poiquiloidrismo foi documentado em 19 gêneros de samambaias (Proctor & Pence 2002) e evidencia a capacidade de tolerância das espécies durante períodos de baixa umidade relativa (Schmeing *et al.* 2007).

Em *Niphidium crassifolium* e *Microgramma squamulosa*, espécies coletadas em locais com maior intensidade luminosa, verificou-se a presença de camadas células volumosas, com conteúdo mucilaginoso, indicando a ocorrência de hipoderme. Deve-se ressaltar que a diferenciação entre hipoderme e epiderme múltipla se baseia na ontogênese desses tecidos (Alquini *et al.* 2003); entretanto, apesar de não terem sido realizados estudos ontogenéticos, as camadas subepidérmicas observadas nas espécies analisadas foram consideradas como hipoderme, face às suas peculiaridades estruturais, tais como tamanho e formato diferenciados das células em relação às células epidérmicas e às demais células do mesofilo e ausência de cloroplastos (Esau 1977). Muitas samambaias epifíticas, de florestas tropicais úmidas, apresentam tecidos de reserva de água nas folhas (Kluge *et al.* 1989; Lüttge 1997). A hipoderme, além de armazenadora de água, atua como filtro de luz e desempenha função de sustentação (Kraus 1949; Costa 1989; Fahn & Cutler 1992). Apesar do caráter adaptativo atribuído à hipoderme, esta característica distingue *Niphidium crassifolium* e *Microgramma squamulosa* das demais espécies estudadas e, aliada a outros caracteres taxonômicos, pode ser útil na determinação das espécies.

Em relação à diferenciação do mesofilo, a maioria das espécies apresentou mesofilo homogêneo, apenas em *Pleopeltis* e *Serpocaulon fraxinifolium* foram verificados mesofilo dorsiventral e com tendência à dorsiventral, respectivamente. No mesofilo com tendência a dorsiventral, as células do parênquima clorofiliano, localizadas logo abaixo da epiderme da face adaxial, apresentam-se mais justapostas, formando camadas. A espessura da lâmina foliar, bem como a disposição das camadas dos tecidos fotossintéticos, constitui-se caracteres muito plásticos, sendo influenciados pela umidade

do ar, temperatura e principalmente pela disponibilidade luminosa (Larcher 2000). Folhas expostas a maiores intensidades luminosas tendem a apresentar parênquima paliçádico com células altas, perpendiculares à epiderme da face adaxial. Isto propicia condições favoráveis de exposição dos cloroplastos à luz, e o parênquima lacunoso, com células isodiamétricas de diferentes formatos e muitos espaços intercelulares, facilitaria as trocas gasosas entre o meio interno e o ambiente (Fahn 1990; Dickison 2000). Apesar de fortes indícios do caráter adaptativo da diferenciação do mesofilo, as duas espécies de *Pleopeltis* e *S. fraxinifolium* foram coletadas em locais de mesma intensidade luminosa das demais espécies de Polypodiaceae, sugerindo que outros fatores possam estar envolvidos na expressão desse caráter.

Em relação ao padrão de venação, apenas *Pecluma* apresentou venação aberta; em todas as demais espécies foi verificada venação reticulada. De acordo com o tipo de venação, de la Sota (1960) separou a maioria dos gêneros de Polypodiaceae em dois grandes grupos: venação anastomosada (reticulada), com aréolas costais estéreis, e venação anastomosada, com tendência à venação livre e formação de aréolas costais férteis. No segundo grupo, podem ser reconhecidos dois subtipos de venação, nos quais se enquadram a maioria das espécies analisadas no presente estudo: venação cirtoflebóide e venação gonioflebóide.

As espécies de *Campyloneurum*, *Pleopeltis macrocarpa* e *Niphidium crassifolium* apresentam venação cirtoflebóide, caracterizada por apresentar aréolas não costais contendo duas ou mais vênulas livres inclusas, com soros ou estéreis. O tipo gonioflebóide é caracterizado por apresentar apenas uma vênula livre portando soro por aréola; a este grupo, pertencem *Serpocaulon fraxinifolium*, *S. sehnemii* e *Pleopeltis hirsutissima*.

Microgramma squamulosa apresenta venação reticulada, com aréolas costais e não costais, diferindo do sugerido por de la Sota (1960), que atribuiu a esta espécie um tipo de venação reduzida basicamente a uma série de aréolas costais.

Em relação à *Pecluma*, o gênero não se enquadra na classificação de la Sota (1960), apresentando venação aberta, com nervuras 1-3 furcadas, como descrito por Mickel & Smith (2004) para o gênero e verificado por Prado (2005) em *Pecluma ptilodon* (Kunze) M.G. Price. A venação aberta é mais primitiva que a reticulada, mas, em alguns casos, durante a evolução, espécies com venação reticulada passaram a apresentar venação aberta, em consequência da redução e simplificação da vascularização (Wagner 1954).

A lâmina foliar das espécies de Polypodiaceae apresentou, na nervura mediana, feixe vascular anficrival, com xilema em forma de “V”; este tipo de feixe foi descrito por Ogura (1972) para *Pyrrosia lingua* (Thunb.) Farwell (Polypodiaceae).

Compostos fenólicos foram observados em todas as lâminas foliares e pecíolos das espécies estudadas. Conforme relatado por Ogura (1972) e já discutido para a família Aspleniaceae (Cap.1), a presença de compostos fenólicos, característica marcante em samambaias, proporciona coloração marrom, principalmente aos tecidos de sustentação e próximo aos feixes vasculares.

Pêlos tectores foram verificados no pecíolo de *Pecluma sicca*; em *P. recurvata* foram observados tanto pêlos tectores como secretores. Escamas foram observadas apenas nos pecíolos de *Pleopeltis* e *Campyloneurum repens*.

Os tricomas podem variar de acordo com as condições ambientais com relação ao tamanho e densidade, mas a presença de um tipo particular de tricoma pode, frequentemente, delimitar uma espécie, gênero ou famílias inteiras (Metcalfé & Chalk 1950; Ogura 1972). A ocorrência de escamas no pecíolo de *Campyloneurum repens* difere esta espécie de *C. major*; já em *Pecluma recurvata*, pêlos secretores do pecíolo diferem esta espécie de *P. sicca*, que apresenta apenas pêlos tectores.

Nas espécies estudadas, o tecido subepidérmico do pecíolo, constituído por fibras ou células de paredes espessadas, mostrou-se, muitas vezes, impregnado por compostos fenólicos, como relatado por Ogura (1972) para várias espécies. Conforme já discutido para a família Aspleniaceae (Cap.1), os taninos, combinados com polissacarídeos, contribuem para a dureza da parede celular, atuando como a lignina na sustentação (Haslam 1988). Em *Niphidium crassifolium* e *Pleopeltis macrocarpa*, espécies coletadas em locais mais iluminados, compostos fenólicos estão presentes em todas as células corticais do pecíolo. Marloth (1992) sugere uma possível função protetora destes compostos contra o excesso de luminosidade

Em relação ao sistema vascular do pecíolo, foram encontrados padrões variáveis de vascularização, e, segundo Ogura (1972), de acordo com o número de meristelos e a conformação do xilema, alguns tipos específicos de vascularização podem ser característicos para a família: o tipo *Grammitis*, observado em *Pecluma sicca*, caracteriza-se por apresentar número constante de meristelos e xilema em forma de “V” ou “X”; o tipo *Asplenium*, onde dois meristelos se unem, formando um único, distal, com xilema em forma de “V”, foi observado em *Microgramma squamulosa*; no tipo *Polypodium*, verificado em *Serpocaulon sehnemii*, o sistema vascular sofre rearranjo, ocorrendo a formação de um meristelo adaxial maior, com xilema em forma de “V” e

meristelos abaxiais menores; este tipo, muito comum em Polypodiaceae, é derivado do tipo *Asplenium*, a partir de fusões dos meristelos (Ogura 1972). De acordo com este autor, a fusão de meristelos menores, abaxiais, em direção à região distal é frequentemente observada em Polypodiaceae. O tipo e disposição dos feixes vasculares, tanto em samambaias, como em eudicotiledôneas, são usados para determinar gêneros, espécies e famílias (Ogura 1972; Metcalfe & Chalk 1979).

Dentre os caracteres analisados, os tipos de estômatos, os tipos de tricomas da lâmina foliar e do pecíolo, o padrão de venação e a vascularização do pecíolo podem ser considerados caracteres promissores na identificação de gêneros ou espécies de Polypodiaceae ocorrentes no PESB.

Em relação aos tipos de estômatos, as espécies estudadas podem ser separadas em quatro grupos: *Campyloneurum* apresenta estômatos polocíticos e copolocíticos; *Serpocaulon* apresenta estômatos predominantemente polocíticos; *Pecluma*, *Pleopeltis* e *Microgramma squamulosa* apresentam estômatos anomocíticos, e *Niphidium crassifolium*, estômatos diacíticos.

As escamas, presentes na lâmina foliar de *Campyloneurum major*, distingue esta espécie de *C. repens*. A ocorrência de pêlos claviformes, bicelulares, diferencia *Pecluma recurvata* de *P. sicca*, que apresenta pêlos secretores, com seis células, e *Pleopeltis macrocarpa* de *P. hirsutissima*, que não apresenta pêlos.

A ocorrência de pêlos claviformes bicelulares é um caráter unificante dentre as espécies de Polypodiaceae estudadas, não ocorrendo apenas em *Pecluma sicca*, *Pleopeltis hirsutissima* e *Microgramma squamulosa*.

Em relação ao padrão de venação, as duas espécies de *Pecluma* diferem das demais espécies estudadas por apresentar venação aberta.

No que se refere ao pecíolo, a ocorrência de pêlos secretores em *Pecluma recurvata* e de escamas em *Campyloneurum repens* diferenciam estas espécies de *P. sicca* e *C. major*, respectivamente. O número de meristelos das regiões proximal, mediana e distal do pecíolo, verificados em cada espécie, também são caracteres úteis para a taxonomia das espécies de Polypodiaceae ocorrentes no PESB.

O estudo anatômico realizado nas dez espécies de Polypodiaceae permite concluir que a anatomia foliar fornece dados para auxiliar na taxonomia da família.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALQUINI, Y, BONA, C, BOEGER, M.R.T., COSTA, C.G. & BARROS, C.F. 2003. Epiderme *In*: B.A. da Glória & S.M. Carmello-Guerreiro (eds.). **Anatomia vegetal**. Editora UFV, Viçosa. 438p.
- COSTA, C.G. 1989. Morfologia e anatomia dos órgãos vegetativos em desenvolvimento de *Marcgravia polyantha* Delp. (Macgraviaceae). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo. 325p.
- de LA SOTA, E.R. 1960. **Polypodiaceae y Grammitidaceae argentinas**. Opera Lilloana 5: 1-229.
- de LA SOTA, E.R. 2003. Nueva combinación em *Pleopeltis* (Polypodiaceae). **Hickenia** 47: 195-197.
- DICKISON, W.C. 2000. **Integrative plant anatomy**. Academic Press, San Diego. 533p.
- ESAU, K. 1977. **Anatomy of seed plants**. 2 ed. John Wiley & Sons, New York. 550p.
- FAHN, A. 1990. **Plant anatomy**. 4 ed. Pergamon Press, New York. 588p.
- FAHN, A. & CUTLER, D. 1992. **Xerophytes**. Gebrüder Borntraeger, Berlin. 178p.
- HASLAM, E. 1988. Plant polyphenols (syn. Vegetable tannins) and chemical defense – a reappraisal. **Journal of Chemical Ecology** 14: 1789-1805.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. Mc Graw Hill Book, New York. 523p.
- KESSLER, M. 2001. Pteridophyte species richness in Andean forests in Bolivia. **Biodiversity and Conservation**. 10: 1473- 1495.
- KESSLER, K. & SIORAK, Y. 2007. Desiccation and rehydration experiments on leaves of 43 pteridophyte species. **American Fern Journal**. 97: 175-185.
- KLUGE, M., AVADHANI, P.N. & GOH, C.J. 1989. Gas exchange and water relations in epiphytic tropical ferns. *In*: U. Lüttge (ed.) **Vascular plants as epiphytes evolution and ecophysiology**. Springer-Verlag. Berlin. pp.87-109
- KRAUS, B.H. 1949. Anatomy of vegetative organs of the pineapple *Ananas comosus* (L.) Merr. II. The leaf. **Botanical Gazette** 110: 303-404.
- KREIER, H.P., ZHANG, C.H., MUTH, H. & SCHNEIDER, H. 2008. The microsorioid ferns: Inferring the relationships of a highly diverse lineage of Paleotropical epiphytic ferns (Polypodiaceae, Polypodiopsida). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 48: 1155-1167.

- LABIÁK, P.H. & PRADO, J. 2003. Grammitidaceae (Pteridophyta) no Brasil com ênfase nos gêneros *Ceradenia*, *Cochlidium* e *Grammitids*. **Hoehnea** 30: 243-283.
- LABIÁK, P.H. & PRADO, J. 2008. New combinations in *Serpocaulon* and a provisional key for the Atlantic Rain Forest species. **American Fern Journal** 98:139-159.
- LARCHER, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. Rima Artes e Textos, São Carlos. 531p.
- LEÓN, B. 2004. A new species of *Campyloneurum* (Polypodiaceae) from northern Peru. **Revista Peruana de Biología** 11: 135-137.
- LUQUE, R., SOUSA, H.C. & KRAUS, J.E. 1996. Métodos de coloração de Roeser (1972) – modificado e Kropp (1972) visando a substituição do azul de astra por azul de alcião 8GS ou 8GX. **Acta Botanica Brasilica** 10: 199-211.
- LÜTTGE, U. 1997. **Physiological ecology of tropical plants**. Springer-Verlag, Berlin. 458p.
- MARLOTH, R. 1992. Die Schutzmittel der Pflanzen gegen übermäßige Insolation – **Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft** 27: 362-371.
- MARTÍNEZ, O.G. & de LA SOTA, E.R. 2007. A new species of *Pecluma* (Pteridophyta – Polypodiaceae) **Novon** 17: 43-45.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol II. Oxford Clarendon Press, Oxford. 1500p.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol I. **Systematic anatomy of the leaf and stem**. 2.ed. Oxford Clarendon Press, Oxford. 276p.
- MICKEL, J.T. & SMITH, A.R. 2004. The Pteridophytes of Mexico – Part I (Descriptions and Maps). **Memoirs of the New York Botanical Garden** 88: 1-702.
- O'BRIEN, T.P. & McCULLY, M.E. 1981. **The study of plant structure principles and select methods**. Termarcaphi Pty. Ltda, Melbourne. 45p.
- OGURA, Y. 1972. **Comparative anatomy of vegetative organs of the pteridophytes**. 2nd ed. Gebriider Borntraeger, Berlin. 502p.
- PANT, D.D. & BANERJI, R. 1965. Structure and ontogeny of stomata in some Piperaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 59: 223-228.

- PEREIRA, A.F.N., BARROS, I.C.L., XAVIER, S.R.S. & SANTIAGO, A.C.P. 2007. Composição florística e ecologia da pteridoflora de fragmentos de Floresta Atlântica (Reserva Ecológica de Gurjaú, Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil). **Revista Brasileira de Biociências** 5 (supl. 2): 489 – 491.
- PERES, M.T.L.P., SIMIONATTO, E. HESS, C.S., BONANI, V.F.L., CANDIDO, A.C. S., CASTELLI, C., POPPI, N. R., HONDA, N. K. CARDOSO, C. A. L. & FACCENDA, O. 2009. Estudos químicos e biológicos de *Microgramma vacciniifolia* (Langsd. & Fisch.) pel (Polypodiaceae). **Química Nova** 15: 1 -5.
- PÔRTO de PAULA, L.M. 1996. **As estratégias adaptativas de sete espécies de pteridófitas ocorrentes nos Campos Rupestres da Serra da Piedade, Caeté, MG.** Tese de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 264p.
- PRADO, J. 2005. Flora da Reserva Ducke, Amazônia, Brasil: Pteridophyta-Polypodiaceae. **Rodriguésia** 56: 76-84.
- PROCTOR, M.C.F. & PENCE, V.C. 2002. Vegetative tissues: Bryophytes, vascular plants and vegetative propagules. Pp: 207-237. *In*: M. Black and H.W. Pritchard, eds. Desiccation and survival in plants: drying and without dying. **CABI Publishing**, Wallingford, UK.
- PRYER, K.M., SMITH, A.R. & SKOG, J.E. 1995. Phylogenetic relationships of extant ferns based on evidence from morphology and *rbcL* sequences. **American Fern Journal** 85: 205-282.
- PYYKKÖ, M. 1966. Morphology and anatomy of leaves from some woody plants in a humid tropical forest of Venezuelan Guayana. **Acta Botanica Fennica** 112: 1-41.
- SANÍN, D. 2006. *Serpoculon* A.R. SM.(Polypodiaceae L.), uma revisão al género de helechos com forma de serpente. **Revista Universidad de Caldas** 89-103.
- SCHMEING, A., CAMPOS, V.M., BARBOSA, J.M., MEIRELLES, S.T. 2007. Comportamento higroscópico à dessecação em *Polypodium hirsutissimum* Raddi. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil.** Caxambú, MG.
- SMITH, A.R., PRYER, K.M., SCHUETTPELZ, E., KORALL, P., SCHNEIDER, H. & WOLF, P.G. 2006a. A classification for extant ferns. **Taxon** 55: 705-731.
- SMITH, A.R., H-P, KREIER, C.H., T.A. RANKER & H. SCHNEIDER 2006b. *Serpocaulon* (Polypodiaceae), a new genus segregated from *Polypodium*. **Taxon** 55: 919-930.

- SMITH, A.R., PRYER, K.M., SCHUETTPELZ, E., KORALL, P., SCHNEIDER, H. & WOLF, P.G. 2008. Fern Classification. *In*: T.A. Ranker & C.H. Haufler (eds.). **Biology and evolution of ferns and lycophytes**. Cambridge University Press. 480p.
- SUNDUE, M.A. 2007. Two new species of *Pleopeltis* (Polypodiaceae) from Andean South America. **American Fern Journal** 97: 107-112.
- TRYON, R.M. & TRYON, A.F. 1982. **Ferns and allied plants, with special reference to tropical America**. Springer Verlag, Berlin. 857p.
- VAN COTTHEM, W.R.J. 1973. Stomatal types and systematics. *In*: J.A. Crabbe & B.A. Thomas (eds.). The phylogeny and classification of the ferns. **Botanical Journal of the Linnean Society** 67(Suppl.1): 59-71.
- VIVIANI, D. 2007. **Desenvolvimento inicial de *Polypodium lepidopteris* (Langds. & Fisch) Kunze (Polypodiaceae): germinação de esporos e morfoanatomia de gametófitos e esporófitos**. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 62p.
- WAGNER, W.H.J. 1954. The evidence used in recent classifications of the ferns. – 8me. Congr. Inter. Bot.Rapp.et. Comm. Sect. 4: 9, Paris.
- WILKINSON, H.P. 1979. The plant surface. *In*: Metcalfe, C. R.; Chalk, L. (Eds.) **Anatomy of the Dicotyledons**. - Systematic anatomy of the leaf and stem. Clarendon Press, Oxford. 276p.

CONCLUSÕES GERAIS

Os caracteres anatômicos vêm contribuindo para a solução de problemas taxonômicos nos diferentes grupos de plantas, e algumas características têm se revelado promissoras, como critério adicional à Taxonomia. A partir dos estudos anatômicos de espécies de Aspleniaceae e Polypodiaceae ocorrentes no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB), foi possível destacar caracteres relevantes na distinção de gêneros e espécies destas famílias:

- Estômatos predominantemente polocíticos e anomocíticos em Aspleniaceae e estômatos polocíticos, copolocíticos e anomocíticos em Polypodiaceae.
- Pêlos claviformes bicelulares na maioria das espécies de Polypodiaceae, exceto em *Pecluma sicca*, *Pleopeltis hirsutissima* e *Microgramma squamulosa*.
- Xilema em forma de “V” na região da nervura mediana da lâmina foliar nas espécies de Polypodiaceae, exceto em *Pecluma sicca*. Em Aspleniaceae o xilema não apresenta uma forma padrão.
- Venação dicotômica aberta em Aspleniaceae e reticulada em Polypodiaceae, exceto em *Pecluma*.
- Número de meristelos nas regiões proximal, mediana e distal do pecíolo. Em Aspleniaceae foram observados um ou dois meristelos, de acordo com a região analisada; em Polypodiaceae, o número de meristelos ao longo do pecíolo é variável.
- Sistema vascular do pecíolo com xilema em forma de “C”, “X” ou *Onoclea* (cavalo-marinho) em Aspleniaceae. Em Polypodiaceae, o xilema não apresenta uma forma padrão.
- Presença de indúsio em Aspleniaceae e ausência nas espécies de Polypodiaceae estudadas.