

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS INSTITUTO DE BIOLOGIA

EDIMAR FARIA MENEZES LOPES

Morfoanatomia foliar e micromorfologia de Asparagales: Griffinieae (AMARYLLIDACEAE), HYPOXIDACEAE e *Hagenbachia* (ASPARAGACEAE)

CAMPINAS 2019

EDIMAR FARIA MENEZES LOPES

Morfoanatomia foliar e micromorfologia de Asparagales: Griffinieae (AMARYLLIDACEAE), HYPOXIDACEAE e Hagenbachia (ASPARAGACEAE)

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do Título de Doutor em Biologia Vegetal.

Orientadora: Prof.(a) Dr.(a) Juliana Lischka Sampaio Mayer

Co-orientadora: Prof.(a) Dr.(a) Julie Henriette Antoinette Dutilh

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO EDIMAR FARIA MENEZES LOPES E ORIENTADA PELA PROF.(A) DR.(A) JULIANA LISCHKA SAMPAIO MAYER.

Campinas 2019

Ficha catalográfica Universidade Estadual de Campinas Biblioteca do Instituto de Biologia Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

L881m	Lopes, Edimar Faria Menezes, 1985- Morfoanatomia foliar e micromorfologia de Asparagales : Griffinieae (Amaryllidaceae), Hypoxidaceae e <i>Hagenbachia</i> (Asparagaceae) / Edimar Faria Menezes Lopes. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.
	Orientador: Juliana Lischka Sampaio Mayer. Coorientador: Julie Henriette Antoinette Dutilh. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.
	 Anatomia vegetal. 2. Folhas. 3. Monocotiledônea. 4. Morfologia vegetal. Sementes. 6. Taxonomia vegetal. I. Mayer, Juliana Lischka Sampaio, 1979 II. Dutilh, Julie Henriette Antoinette. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Г

Título em outro idioma: Leaf anatomy and micromorphology of Asparagales : Griffinieae (Amaryllidaceae), Hypoxidaceae and Hagenbachia (Asparagaceae) Palavras-chave em inglês: Plant anatomy Leaves Monocotyledons Plant morphology Seeds Plant taxonomy Área de concentração: Biologia Vegetal Titulação: Doutor em Biologia Vegetal Banca examinadora: Juliana Lischka Sampaio Mayer [Orientador] Makeli Garibotti Lusa Gustavo Hiroaki Shimizu Agostina Belén Sassone Ana Carolina Devides Castello Data de defesa: 30-08-2019 Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a) - ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0003-4425-3117 - Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/3825207827125448

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof.(a) Dr.(a) Juliana Lischka Sampaio Mayer

Prof.(a) Dr.(a) Makeli Garibotti Lusa

Prof. Dr. Gustavo Hiroaki Shimizu

Prof.(a) Dr.(a) Agostina Belén Sassone

Prof.(a) Dr.(a) Ana Carolina Devides Castello

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.



Aos meus pais, Edila e Osmar, ao Rafael de Felício, à Leka e à professora e amiga, Julie Dutilh.

"Eu tinha um fusca. Com a pista cheia de lama depois de uma chuva daquelas, atolei, é claro. Sozinha, sem ter como seguir meu rumo, esperei ajuda, e ela veio. Rápida e certeira. Ele me ajudou, desatolou o carro e quis seguir seu rumo. Eu agradeci por meio de palavras, mas sem saber como retribuir o socorro pontual. Ele, sem querer me ouvir, retrucou da mesma forma repentina como quando surgiu em meio à lama: "Não precisa fazer nada para me agradecer, é só passar adiante. Gentileza não para, voa!". Virou e saiu. Eu ainda hoje sigo o comando. Afinal, agradecer e retribuir não é algo palpável e devolutivo, é um cânone de vida transparente que deve surgir sempre na hora, de forma rápida e certeira, sem que ninguém veja, apenas sinta."

Microconto baseado em história real (escrito por Luis Gabriel Sousa, Curitiba - PR)



AGRADECIMENTOS

Em "tese", nós nunca estamos sozinhos. A conclusão deste trabalho só foi possível porque desde o início tive pessoas que acreditaram em mim e, ao contrário do que muitos possam pensar, a ciência jamais será feita solitariamente. Dessa forma, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram com o encerramento desta etapa. Muito obrigado!

À Profa. Dra. **Juliana L. S. Mayer**, de colega de trabalho à orientadora! Pelo estímulo e motivação em 2013! Naquele ano, quando me sugeriu prestar a seleção do doutorado na Unicamp, você estava me fazendo um convite para embarcar num processo de autoconhecimento imensurável. Talvez, sem o seu incentivo, o sonho de estudar nesta instituição nunca se realizasse. Agradeço por seus ensinamentos, seja em laboratório ou em sala de aula, mas agradeço, especialmente, por você não ter desistido de mim ao longo desses anos! A você, Ju Mayer, eu serei para sempre grato!

Aos Amaryllidólogos do meu coração, dois presentes que ganhei pra vida toda: Julie e Antônio ♥!

À Profa. Dra. **Julie H. A. Dutilh**, sem a qual, indubitavelmente, esta tese não existiria. Pelo investimento no meu aprendizado, desde nossos primeiros encontros, pelos ensinamentos, seja com as plantas, seja no convívio com outras pessoas, ou com a vida! Chefe, verbalizar ou escrever sobre a minha gratidão não faria jus ao sentimento, mas como disse certa vez: você mudou a minha vida! Obrigado por acreditar em mim, pelo acompanhamento constante e pelas discussões e conversas sempre edificantes. A você e a sua família, estes agradecimentos serão complementados, a seguir.

Ao Dr. **Antônio Campos-Rocha** (sim, com o Dr. antecedendo o nome porque é apenas uma questão de tempo já que, na minha opinião, você é um pesquisador nato!). Pela parceria e amizade, pelas colaborações, por ceder material de coleta e por sempre se disponibilizar a coletar amostras para a anatomia, pelas viagens, pelos inúmeros cafés, pelos ensinamentos constantes, seja com as plantas ou com política, seja com a leveza no jeito de ser ou se fazendo presente nas horas mais importantes: sem você, Antônio, esta tese também não existiria! Obrigado, grande amigo, muito obrigado!

Agradeço à Universidade Estadual de Campinas, instituição que me acolheu durante estes cinco anos, ao Instituto de Biologia e, especialmente, ao Departamento de Biologia Vegetal, com seus professores, técnicos, colegas dos diferentes laboratórios e da aconchegante copa com seus cafés. À Coordenação do **Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal** pela oportunidade de realização deste trabalho. Aos membros da secretaria da pós-graduação **Beatriz S. de Toledo**, **Silvia Zeferino**, **Marcos**, **Sílvia Adriana**, **Jaqueline** e, especialmente, à **Maria Roseli** pela prontidão e paciência constantes.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (**CAPES**) – Código de Financiamento 001, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**) (140473/2017-3). Obrigado pelo suporte financeiro que possibilitou o desenvolvimento da minha pesquisa e a minha participação em eventos de aprendizado e divulgação científica.

Às professoras Dra. Sandra Maria Carmello-Guerreiro, Dra. Samantha Koehler e Dra. Maria das Graças Sajo, pela participação, críticas e sugestões realizadas no exame de qualificação.

Aos professores Dra. Agostina Sassone, Dra. Ana Carolina Devides Castello, Dr. Gustavo Shimizu e Dra. Makeli Garibotti Lusa pelas críticas, sugestões e toda contribuição tanto na pré-banca quanto na defesa de doutorado. À Dra. Letícia Souto e ao Dr. Marcelo Monge Egea pelo aceite de participação como membros suplentes da banca de defesa. Um beijo especial de agradecimento à Dra. Ingrid Koch.

Aos técnicos dos Laboratórios de Anatomia Vegetal e Taxonomia, **Sebastião Militão Junior** e **João Carlos Galvão** por toda a colaboração, por me "aguentarem" durante estes cinco anos e por todos os auxílios prestados. Muito obrigado, queridões! À querida **Fran**, à **Almira** e todas as outras funcionárias responsáveis pela limpeza do Departamento!

À equipe do Laboratório de Microscopia Eletrônica pelos auxílios, aprendizado e agradável convívio: Adriane Sprogis, Stella Ferraz, Laís, Denize e Ana, vocês foram ótimas! Muito obrigado!

A realização prática de algumas etapas deste trabalho só foi possível graças à ajuda e ao empenho de pessoas incríveis a quem sou imensamente grato pela ajuda, disponibilidade, convívio e amizade: **Verônica dos Santos Sales**, Vê, você foi um dos maiores presentes durante o meu doutorado (melhor IC!) e, certamente, a sua contribuição sempre impecável e o seu interesse em ajudar constantemente possibilitaram esta realização! Por diversas vezes, o seu cuidado e jeito doce me salvaram do desânimo, muito obrigado! **Victor & Leo**, querida dupla sertaneja, **Victor**

de Souza Teixeira e Leonardo Vitor da Silva, agradeço toda a ajuda, especialmente com as medições, e a convivência descontraída. **Erica Ribeiro Justo**, obrigado por aceitar o desafio de me ajudar na reta final, pela contribuição sempre de qualidade e pelo convívio! **Fábio C.** (mãe natureza), pela ajuda sempre recheada de descontração e irreverência, seja nas lâminas, nos testes histoquímicos ou no dia-a-dia, muito obrigado, meu amigo! Gratidão por sua amizade e por todas as nossas aventuras juntos! Ps: Te devo uma pizza! **Diego Graciano**, pelo convívio, pela ajuda sempre presente e pela personalidade única: saiba que minha admiração por você como ser humano e profissional é "imensa"! **Eliana de Medeiros Oliveira**, pela ajuda e suporte com Microscopia Eletrônica de Varredura, muito obrigado! À **Mariana Ferreira Alves** e **Ana Cláudia Alencar** (e ao **Zé Júnior**), amigxs para todas as horas, sem a ajuda e o apoio de vocês, certamente, eu não teria conseguido! Obrigado, de coração!

Aos companheiros de Departamento, especialmente dos Laboratórios de Taxonomia, Biossistemática e Polinização, Ecologia e Anatomia Vegetal. Aos colegas e aos que se tornaram grandes amigos, fundamentais durante esse processo, por compartilhar as alegrias e ajudar a suportar as frustrações (recorrentes) deste período e por celebrar as vitórias. Pela companhia nos cafés, no "bandejão" e em todos os grandes eventos, científicos ou sociais. Estendo os agradecimentos aos técnicos e responsáveis pelo Herbário (UEC) da Unicamp.

Aos companheiros de viagens de campo e/ou congressos, professores e botânicos que tive a oportunidade de conhecer e admirar o trabalho durante esses anos, especialmente Mauro Peixoto, Danilo Lima, Alan Meerow, José Ataliba, Eliana Ramos, Suelen Loesch.

Ao Mestre e ser humano singular, **João Semir**, *in memoriam*! João, querido professor e amigo, com quem aprendi sobre botânica e sobre a vida! Com ele, aprendi que o respeito é um perfume nas relações interpessoais e também entre o homem e a natureza. Pelos ensinamentos, sugestões e, principalmente, pelas motivações, afinal de contas, aos 81 anos de vida ele "estava muito melhor do que eu". E sempre estará, Mestre!

Às **famílias** que me acolheram ao longo dessa jornada e que acreditaram em mim, em especial às de **São José dos Campos**, às de **Londrina**, às de **Curitiba** e às de **Guarapuava**. Pela amizade, pelo amor e por toda a ajuda fundamentais para alcançar a realização deste trabalho. À **Cristiane Hiert**, bióloga, ecóloga, pererecóloga e melhor amiga que me deu de presente a "**Família Floripa**" esse suspiro de felicidade em meio

às provações da vida neste plano. Obrigado Cris, minha "irmã-mais-velha", sem o seu amor e apoio, eu jamais teria conseguido! Às "**Spice Girls"** (Fábio, Gleicy, Mari e Rhaniel), a família que me acolheu no laboratório, no dia-a-dia e na amizade!

À toda a família da professora, amiga, "mãe" e terapeuta **Julie Dutilh**. O que vocês fizeram por mim jamais será esquecido! Obrigado pelo acolhimento, estrutura, apoio, ajuda, confiança e carinho! **Julie** e **Eduardo**, obrigado pela oportunidade de aprendizado constante, pelo cuidado comigo e por me "adotarem". O enriquecimento com vocês foi muito além da vida acadêmica e minha gratidão em palavras é insuficiente diante do valor e do significado de tudo o que vocês me proporcionaram. **Joana**, **Mariana**, **Zé**, **Pedro**, **Antônio**, **Maria** e, em especial, à pequena "grande" **Alice**, obrigado por tudo!

À Maria do Carmo Barbosa e família, Gilson e família, Fernanda Lara Pupo e Rogério Salviani, vocês foram essenciais e serei para sempre grato pelo cuidado, carinho, cafés e risadas. A amizade de vocês, particularmente nesta reta final, foi um dos maiores pilares para que eu conseguisse encerrar esta etapa. À Carmo, por ter cuidado de mim como um filho. À Fernanda Pupo, em particular, pela amizade e pelas lindas aquarelas que adornam o interior desta tese. De coração, muito obrigado!

Aos familiares que torceram mesmo de longe, em especial ao meu tio **José Godoi** por sempre ter sido um grande incentivador e por acreditar no meu potencial desde pequeno, e à tia **Magna**. Aos meus avós, **Antônia** e **Aarão**, *in memoriam*, que depositaram amor, credibilidade e investiram constantemente na minha formação.

Aos anjos de quatro patas que me consolaram, ajudaram a dissipar todo tipo de energia, especialmente nos momentos de tensão, e que me reequilibraram no dia-a-dia: Ginga, Milu, Bela, Ônix e aos queridos Duke e Feliz *in memoriam*. Aos queridos Alaska e Bob, pelo convívio no período que morei em república. À Leka de Felício, anjo que entrou na minha vida para mudar todos os parâmetros de sentimento, você foi, é e sempre será a filha adorada! Obrigado, Leka, pelos 4 anos de convívio e amor incondicional! O papai seguirá te amando! ♥

Aos amigos do Grupo Espírita Aprendizes do Evangelho (GEAE) de Barão Geraldo, Guerreiros da Luz em Paulínia (SP) e Centro Espírita Casa de Oração Fé e Amor (Barão Geraldo) pelo carinho, cuidado, aprendizado e oportunidade. Gratidão a estas pessoas especiais que costumo nomear como "presentes de Deus na minha vida": Priscila Ribeiro, Taciana, Sílvia Íscaro, Sandra Costa, Fátima, Cristiana, Douglas, Alice, Dona Célia e Dona Cida *in memoriam*, além de todos os outros. ♥ Ao Dr. **Rafael de Felício** que, quando eu mais duvidei da minha capacidade de concretizar os meus sonhos, estava lá me motivando. Aliás, você me ensinou a sonhar novamente. Certamente, foi com você que eu reaprendi a sonhar. Quando eu desanimava, você estava lá me apoiando. Quando eu duvidava da minha capacidade, você me passava autoconfiança, dizia sempre que eu era capaz de conseguir. Você acreditava tão piamente em mim, que eu interpretava como chatice quando você insistia do seu modo, do seu jeito, para eu continuar. Você fez parte deste processo, você foi uma das principais razões para eu chegar até aqui. A vida toma rumos que a gente não compreende, mas os nossos caminhos terem se cruzado foi um presente de Deus nessa minha passagem por aqui, por este plano. Agradeço tudo o que você trouxe de maravilhoso para a minha vida: a Leka, o Espiritismo e este Doutorado. Obrigado, Rafa, muito obrigado! Obrigado por me aproximar do degrau das realizações. Passaria mil anos te agradecendo, tenha certeza disso. Eternamente e para sempre, muito obrigado! ♥

Aos meus pais, **Edila e Osmar**, pelo amor incondicional e constante, pelo suporte emocional, financeiro, amizade e por serem sempre o meu *maior refúgio*. Valeu a pena! E chegar até aqui sem vocês seria impossível! Obrigado pela dedicação exclusiva, pelo investimento na minha educação e, especialmente, por me tranquilizarem como num passe de mágica nas inúmeras ligações telefônicas durante a reta final do desenvolvimento da tese. \checkmark

A todos que por ventura eu não tenha mencionado (foram muitos!), os quais levarei no coração e na lembrança e que, direta ou indiretamente, contribuíram durante estes meus 6 anos de vida em Campinas. Muito obrigado!

Por fim, obrigado a toda espiritualidade que me acompanha desde sempre! 🕈



RESUMO

Asparagales é a maior e mais diversa ordem das Monocotiledôneas, com aproximadamente 29.300 espécies distribuídas em 14 famílias, entre elas Amaryllidaceae, Asparagaceae e Hypoxidaceae. Estas três famílias possuem um histórico taxonômico problemático e caracterizado por questões de delimitação em níveis infragenéricos e interespecíficos de grupos distribuídos exclusivamente na América Latina. Em Amaryllidaceae a tribo Griffinieae é endêmica do Brasil e inclui os gêneros Cearanthes, Griffinia e Worsleya distribuídos em uma ampla variedade de domínios fitogeográficos. A morfoanatomia e a micromorfologia foliar de 32 acessos da tribo foram analisadas, caracterizadas e comparadas a fim de identificar caracteres com valor diagnóstico. Os padrões de similaridade morfoanatômica nas espécies de Griffinieae foram identificados e correlacionados pela Análise de Correspondência Múltipla. Os resultados mostraram que os caracteres selecionados apresentam potencial diagnóstico e os padrões observados estão relacionados com a morfologia externa das folhas e o ambiente de ocorrência. Para a família Hypoxidaceae no Brasil, são reconhecidas três espécies: Hypoxis atlantica, H. decumbens e Curculigo scorzonerifolia. A morfoanatomia e a micromorfologia foliar, como também a micromorfologia das sementes das espécies de Hypoxis foram comparadas entre si e com H. wrightii, descrita para a América do Norte e Central e com H. angustifolia, espécie africana. Além da caracterização morfoanatômica foliar, os resultados apresentaram as características com potencial taxonômico entre as espécies brasileiras e sugerem a ocorrência de hibridação entre os diferentes acessos. As características qualitativas e quantitativas compartilhadas apontaram que H. atlantica e H. wrightii parecem ser a mesma espécie. De Asparagaceae, o gênero Hagenbachia, um dos representantes da família na América Latina e taxonomicamente negligenciado, possui três espécies reconhecidas que seguem com problemas nomenclaturais e de identificação desde a criação do gênero. A morfologia foliar e a micromorfologia comparativa de estruturas florais e de sementes forneceram características diagnósticas entre as espécies, tais como: as margens foliares, a presença de fibras esclerenquimáticas, a forma, inserção e superfície dos filetes, como também a forma e a superfície das sementes.

Palavras-chave: Anatomia, Folhas, Monocotiledôneas, Morfologia, Sementes.

ABSTRACT

Asparagales is the largest and most diverse order of the Monocotyledons, with approximately 29.300 species distributed in 14 families among which Amaryllidaceae, Asparagaceae and Hypoxidaceae. These three families have an troubled taxonomic history characterized by delimitation issues at infrageneric and interspecific levels of groups, distributed exclusively in Latin America. In Amaryllidaceae the tribe Griffinieae is endemic to Brazil and includes the genera Cearanthes, Griffinia and *Worsleya* distributed in a wide variety of phytogeographic domains. The morphoanatomy and leaf micromorphology of 32 accessions of the tribe species were analyzed, characterized and compared in order to identify diagnostic characters. The patterns of morphoanatomical similarity in Griffinieae species were identified and correlated by Multiple Correspondence Analysis. The results showed that the selected characters have diagnostic potential and the patterns we observed are related to the external leaf morphology and the environment of occurrence. The Hypoxidaceae family in Brazil is represented by three species: Hypoxis atlantica, H. decumbens and Curculigo scorzonerifolia. Morfoanatomy and leaf micromorphology, as well as the seed micromorphology of *Hypoxis* species, were compared with each other and with *H*. wrightii, described for North and Central America and with H. angustifolia, from Africa. Besides the leaf morphological and anatomical characterization, the results indicated the characteristics with taxonomic potential among the Brazilian species and suggest the occurrence of hybridization between different accessions. Shared qualitative and quantitative characteristics indicated that H. atlantica and H. wrightii appear to be the same species. In Asparagaceae, Hagenbachia, a taxonomically neglected representative in Latin America has three recognized species that have nomenclatural and identification problems since the genus was described. Leaf morphology and comparative micromorphology of flower and seed structures provided diagnostic characteristics for the species, such as leaf margins, presence of sclerenchyma in vascular bundles, the shape, insertion and surface of the filaments, as well as shape and seeds surface.

Key-words: Anatomy, Leaves, Monocotyledons, Morphology, Seeds.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1: Diversidade de ambientes de ocorrência de espécies da tribo Griffinieae.	33
Figura 2: Indivíduos de diferentes acessos de espécies da tribo Griffinieae	36
Figura 3: Variedade morfológica das folhas de espécies da tribo Griffinieae	38
Figura 4: Esquema ilustrando as três regiões foliares consideradas no estudo	45
Figura 5: Secções paradérmicas das folhas de espécies da tribo Griffinieae	52
Figura 6: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície foliar de espécies	
da tribo Griffinieae	53
Figura 7: Contorno do pseudopecíolo de espécies de Griffinieae, em secção	
transversal	60
Figura 8: Características epidérmicas do pseudopecíolo de espécies de Griffinieae,	
em secção transversal	61
Figura 9: Caracterização do mesofilo de pseudopecíolos de espécies da tribo	
Griffinieae	62
Figura 10: Caracterização morfoanatômica da região intermediária na região	
mediana das folhas de espécies da tribo Griffinieae	65
Figura 11: Caracterização morfoanatômica da região central em folhas de	
espécies da tribo Griffinieae	67
Figura 12: Caracterização morfoanatômica das margens foliares na região	
mediana de espécies da tribo Griffinieae. a-k: Secções transversais	69
Figura 13: Caracterização morfoanatômica da região apical em folhas de espécies	
de Griffinieae	71
Figura 14: Testes histoquímicos realizados na região intermediária e na margem	
em folhas de espécies da tribo Griffinieae	73
Figura 15: Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae	
incluindo variáveis ambientais	80
Figura 16:Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae incluindo	
variáveis ambientais	81
Figura 17:Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae com	
exclusão das variáveis ambientais	82

Figura 18: Análise de Correspondência Múltipla para o gênero Griffinia	83
Figura 19: Análise de Correspondência Múltipla para os acessos de Griffinia	
liboniana	85
Figura 20: Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae com	
exclusão de Griffinia hyacinthina e dos gêneros Worsleya e Cearanthes	86
Figura 21: Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae com	
apenas um acesso de cada espécie, incluindo variáveis ambientais	87
Figura 22: Análise de Correspondência Múltipla para o gênero Griffinia com	
apenas um acesso de cada espécie e exclusão dos gêneros Worsleya e Cearanthes	88

CAPÍTULO 2

Figura 1: Indivíduos das três espécies de Hypoxidaceae do Brasil	125
Figura 2: Anatomia foliar de Hypoxis atlantica	130
Figura 3: Anatomia foliar de Hypoxis decumbens	132
Figura 4: Variações morfoanatômicas em dois acessos de Hypoxis decumbens	134
Figura 5: Anatomia foliar de Curculigo scorzonerifolia	136
Figura 6: Superfície foliar das espécies de Hypoxidaceae do Brasil	138
Figura 7: Sementes das espécies brasileiras do gênero <i>Hypoxis</i>	140
Figura 8: Secções transversais de folhas de espécies do gênero Hypoxis	
relacionadas morfológica e/ou filogeneticamente	142

CAPÍTULO 3

Figura 1: As três espécies brasileiras do gênero Hagenbachia	161
Figura 2: Caracterização morfoanatômica foliar e comparação entre as espécies	
de Hagenbachia	165
Figura 3: Micromorfologia em estereomicroscópio de estruturas vegetativas e	
reprodutivas de material herborizado das espécies brasileiras de Hagenbachia	168
Figura 4: Caracterização micromorfológica de verticilos reprodutivos das espécies	
brasileiras de <i>Hagenbachia</i>	170
Figura 5: Caracterização micromorfológica comparativa de sementes das espécies	
brasileiras de <i>Hagenbachia</i>	172

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Lista de espécies reconhecidas pela Flora do Brasil para a tribo	
Griffinieae	32
Tabela 2: Lista de espécies/vouchers das amostras utilizadas no estudo. Em	
"Faixa de altitude", ausência de asterisco = ambiente predominantemente seco;	
presença de asterisco: ambiente com disponibilidade hídrica	46
Tabela 3: Padrões de estrias, por ordem de espessamento e tipo de	
ornamentação, identificados em Microscopia Eletrônica de Varredura na	
superfície das lâminas foliares na região intermediária (entre nervura central e	
margem) em espécies da tribo Griffinieae subdivididos em complexos	
morfológicos	56
Tabela 4: Matriz das características selecionadas e respectivos estados de	
caráter referentes às folhas das espécies da tribo Griffinieae (Amaryllidaceae).	
Os espaços em branco referem-se às características ambientais dos indivíduos	
cultivados	79

CAPÍTULO 2

Tabela 1	. Lista de	espécies e r	espectivos	vouchers u	utilizados no e	studo	128

CAPITULO 3

Tabela 1. Lista de espécies e respectivos vouchers utilizados no estudo	163
Tabela 2: Principais características diagnósticas entre as diferentes espécies	
brasileiras de <i>Hagenbachia</i>	173

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ESTRUTURA DA TESE	
I. CAPÍTULO I – Morfoanatomia	a e Micromorfologia foliar
comparativa de Griffinieae (An ~	1aryllidaceae)
1. INTRODUÇAO	
2. OBJETIVOS	
3. MATERIAL E MÉTODOS	
3.1 Análises morfoanatômicas	
3.2 Testes histoquímicos	
3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	
3.4 Análise de Correspondência Múltipla	
4. RESULTADOS	
4.1. Anatomia da superfície foliar	
4.1.1 Padrões de ornamentação (estrias)	
4.2. Morfoanatomia do pseudopecíolo ou b	ase 5
4.3. Morfoanatomia da região intermediári	a 6
4.4. Morfoanatomia da região central	
4.5. Morfoanatomia da margem	
4.6. Morfoanatomia da região apical	
4.7. Testes histoquímicos	
4.8. Seleção de caracteres morfoanatômico	s
4.9. Análise de Correspondência Múltipla	(ACM) 8
4.9.1. ACM para a tribo Griffinieae inclu	indo variáveis ambientais 8
4.9.2 ACM para a tribo Griffinieae com	exclusão das variáveis ambientais 8
4.9.3 ACM das espécies do gênero Griffi	nia
4.9.4 ACM dos acessos de Griffinia libor	<i>1iana</i> 8
4.9.5 ACM em espécies da tribo Griffinio acessos de <i>Griffinia hyacinthina</i>	eae, exceto Worsleya, Cearanthes e
4.9.6 ACM da tribo Griffinieae (apenas u variáveis ambientais)	m acesso de cada espécie, incluindo
4.9.7 ACM do gênero <i>Griffinia</i> (apenas u de <i>Worsleya</i> e <i>Cearanthes</i>)	im acesso de cada espécie e exclusão

5. DISCU	JSSÃO	90
5.1. Mo	rfoanatomia foliar	90
5.2. Cor	rrelações ambientais e de correspondência	102
6. CONS	IDERAÇÕES FINAIS	105
7. REFEI	RÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108
II.	CAPÍTULO II – Considerações taxonômicas para as Hypoxidaceae do Brasil à luz da morfoanatomia foliar e micromorfologia	114
Resumo		115
Abstract		116
1. INTRO	DDUÇÃO	117
2. OBJET	ΓΙVOS	126
3. MATE	RIAL E MÉTODOS	127
4. RESU	LTADOS	129
4.1. Mo	rfoanatomia foliar de Hypoxis atlantica	129
4.2. Mo	rfoanatomia foliar de Hypoxis decumbens	131
4.3. Var	riações morfoanatômicas das folhas de Hypoxis decumbens	133
4.4. Mo	rfoanatomia foliar de Curculigo scorzonerifolia	135
4.5. Sup scorzon	perfície foliar de Hypoxis atlantica, H. decumbens e Curculigo perifolia	137
4.6. Sen	nentes de Hypoxis decumbens e H. atlantica	139
4.7. Mo relacion	rfoanatomia foliar comparativa entre espécies do gênero <i>Hypoxis</i> nadas morfológica e filogeneticamente	141
5. DISCU	JSSÃO	143
6. CONS	IDERAÇÕES FINAIS	147
7. REFEI	RÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	148
III.	CAPÍTULO III – Implicações taxonômicas da anatomia foliar e micromorfologia nas espécies brasileiras de <i>Hagenbachia</i> Nees & Mart. (Asparagaceae): Um enigmático gênero da América Latina	154
Resumo		155
Abstract		156
1. INTRO	DDUÇÃO	157
2. OBJET	ΓΙVOS	162
3. MATE	RIAL E MÉTODOS	163
4. RESU	LTADOS	164
4.1. Ana	atomia foliar	164
4.2. Mic	cromorfologia de estruturas reprodutivas	166
	v 1	

5. DISCUSSÃO	174
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	178
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	179
CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE	182
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS	184
ANEXOS	199

INTRODUÇÃO GERAL

Asparagales Link é a maior ordem dentre as Monocotiledôneas e representa cerca de 10-15% das angiospermas (Pires *et al.*, 2006) sendo constituída por 14 famílias e aproximadamente 29.300 espécies (Judd *et al.*, 2001; Chase *et al.*, 2006; Magallón & Castillo, 2009; Chen *et al.*, 2013). O hábito herbáceo é característico para a maioria das espécies deste grupo de plantas com alta diversidade e importância econômica na flora tropical. Apesar do monofiletismo ser suportado por análises cladísticas baseadas em caracteres morfológicos e sequenciamento genético (Chase *et al.* 1995), muitas famílias ainda possuem circunscrições mal resolvidas e discrepâncias taxonômicas (Judd, 2001; Soltis *et al.*, 2018; APGIV 2016).

Das famílias reconhecidas para Asparagales, Amaryllidaceae J. St.-Hil., Asparagaceae Juss., Hypoxidaceae R. Br., Iridaceae Juss. e Orchidaceae Juss. possuem representantes na flora brasileira (MMA, 2014; Dutilh, 2019). Problemas quanto à escassez de informações, estudos taxonômicos e a baixa representatividade ou subamostragem em coleções, fruto do pequeno número de coletas, são compartilhados entre as famílias Amaryllidaceae, Asparagaceae e Hypoxidaceae (Dutilh 2005, Alves-Araújo *et al.*, 2009, Cornehl, 2009, Oliveira *et al.*, 2010, Campos-Rocha, 2015, Dutilh *et al.*, 2017). Aliado a isso, as questões taxonômicas infrafamiliares existentes nestes grupos, tanto genéricas quanto específicas, os tornam uma lacuna de conhecimento a ser preenchida.

Em Amaryllidaceae, os estudos morfoanatômicos e taxonômicos seguem escassos, todavia existe um aporte recente de novos trabalhos (Alves-Araújo *et al.*, 2005; Dutilh, 2005; Oliveira *et al.* 2008, Oliveira *et al.*, 2010; Alves-Araújo *et al.*, 2012; Amaral-Lopes & Cavalcanti, 2015). Os indivíduos desta família, geralmente, produzem reduzido número de escapos e o período de floração é curto, dificultando uma identificação mais precisa das espécies durante a maior parte do ano (Arroyo, 1981; Dutilh, 1989). Grande parte dos trabalhos publicados foi realizada com material herborizado, o que não oferece informações suficientemente adequadas para o reconhecimento dos táxons e corretas caracterização e identificação das espécies (Dutilh, 1989; Campos-Rocha, 2015). A tribo Griffinieae, endêmica da flora brasileira, foi proposta para Amaryllidaceae na década de 70 e é formada pelos gêneros *Griffinia, Cearanthes* e *Worsleya*, os dois últimos monotípicos. O conhecimento taxonômico e morfológico sobre *Griffinia*, recentemente ampliado com a revisão realizada por

Campos-Rocha (2015), e sobre *Worsleya* (Moraes, 2012) não se estende para *Cearanthes*, gênero descrito no ano 2000 (Ravenna, 2000). A variação presente nas características de morfologia tanto foliar quanto floral nas espécies de *Griffinia*, segundo Campos-Rocha (2015), pode estar associada a fatores ambientais, necessitando de maiores investigações.

A variabilidade morfológica observada na tribo Griffinieae é do mesmo modo encontrada em Hypoxidaceae, família com taxonomia historicamente relacionada às Amaryllidaceae (Brown, 1810). Os gêneros *Curculigo* e *Hypoxis* foram incluídos na subfamília Amaryllideae, devido à presença de ovário ínfero. Atualmente, apenas os dois gêneros são reconhecidos para o continente americano e a família Hypoxidaceae é constituída por dez gêneros e cerca de duzentas espécies (Kocyan *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012). No Brasil, *Curculigo* é um gênero com uma única espécie, *C. scorzonerifolia,* distinta especialmente pelo ovário rostrado e por duas espécies do gênero *Hypoxis, H. decumbens* e *H. atlantica*, com características morfológicas compartilhadas, tendo sido observada ampla variação das folhas, flores e sementes nas duas espécies (Dutilh *et al.*, 2017) e semelhanças com outros táxons congenéricos da América do Norte e da África.

Outra família que compartilha das mesmas questões de delimitação específica é Asparagaceae, na qual está inserido o gênero *Hagenbachia*, pouco explorado e com informações conflitantes na literatura (Cruden, 1987; 2009; Nordal & Tulin, 1993; Bjora *et al.*, 2017). As variações morfológicas no sistema subterrâneo, flores e sementes das espécies deste gênero fundamentam divergências taxonômicas persistentes. No Brasil, além da espécie tipo, *Hagenbachia brasiliensis* Nees & Mart., ocorrem outras duas espécies, *H. matogrossensis* (Poelln.) Ravenna e *H. angusta* Ravenna, com distribuição sobreposta e indefinições nomenclaturais.

A escolha dos grupos investigados neste estudo baseou-se na relação taxonômica entre as três famílias, na escassez de informações sobre os gêneros e na necessidade de esclarecimentos em nível específico para a inclusão de informações na Flora do Brasil (2020 in prep.). Os três grupos de Asparagales supracitados possuem características foliares e de estruturas reprodutivas que analisadas sob o mesmo parâmetro metodológico podem fornecer informações que agregam elevado valor taxonômico. Dessa forma, o presente estudo teve como principal objetivo ampliar o conhecimento acerca da morfoanatomia foliar e micromorfologia tanto floral quanto de sementes nestes três grupos inexplorados da flora nativa brasileira, contribuindo na resolução de questões taxonômicas das famílias Amaryllidaceae, Asparagaceae e Hypoxidaceae.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification of the orders and families of flowering plants: APG IV. Bot. J. Lin. Soc. 181: 1-20.

Alves-Araújo, A. & Alves, M. 2005. Anatomical features of three species of Amaryllidaceae from northeastern Brazil. Herbertia (59), p.94-106.

Alves-Araújo, A.; Pessoa, E. & Alves, M. 2012. Caracterização morfoanatômica de espécies de Amaryllidaceae *s.s.* e Alliaceae *s.s.* do Nordeste brasileiro. Mossoró: Revista Caatinga (25), n.4, p.68-81.

Amaral-Lopes, A. C.; Cavalcanti, T. B. 2015. *Habranthus* (Amaryllidaceae) of Brasil. Rodriguésia. 66: 1, 203-220.

Arroyo, S. C. 1981. Systematic Anatomical Studies on Amaryllidaceae including morphological cytological and phytogeographical considerations. PhD Thesis. University of Reading. 238 pp.

Brown, R. 1810. Genera inter Asphodeleas *et* Amaryllideas media. Prodromus Florae Novae Hollandiae (1960 facsmile) Engelman & Wheedon & Wesley LTD, New York.

Bjora, C. S., Elden, M., Nordal, I., Brysting, A. K., Awas, T., Demissew, S., Bendiksby, M. 2017. Speciation in the genera *Anthericum* and *Chlorophytum* (Asparagaceae) in Ethiopia – a molecular phylogenetic approach. Phytotaxa 297 (2): 139-156.

Campos-Rocha, A. 2015. Estudos Taxonômicos e Morfológicos do Gênero *Griffinia* Ker Gawl. (Amaryllidaceae). M.S. thesis. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.

Campos-Rocha A., A. W. Meerow, E. F. M. Lopes, J. Semir, J. L. S. Mayer, and J. H. A. Dutilh. 2017. *Eithea lagopaivae*, a new critically endangered species in the previously monotypic genus *Eithea* Ravenna (Amaryllidaceae). *PhytoKeys* 85: 45–58.

Chase, M. W.; Duvall, M. R.; Hills, H. G.; Hartwell, J. G.; Fay, M. F.; Caddick, L. R.; Cameron, K. M.; Hoot, S. 1995. Molecular systematics of Lilianae. *In Monocotyledons: Systematics and evolution*, Rudall, P. J.; Cribb, P. J.; Cutler, D. F.; Humphries, C. J. (eds.), 109-137. Royal Botanic Gardens, Kew.

Cornehl, C. L. 2009. Posicionamento sistemático de *Hagenbachia* Nees & Mart. através de caracteres morfológicos e anatômicos. Monografia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 22p. Chase, M.W., Fay, M.F., Devey, D.S., Maurin, O., Rønsted, N., Davies, T.J., Pillon, Y., Petersen, G., Seberg, O., Tamura, M.N., Asmussen, C.B., Hilu, K., Borsch, T., Davis, J.I., Stevenson, D.W., Pires, J.C., Givnish, T.J., Sytsma, K.J., McPherson, M.M., Graham, S.W., Rai, H.S., 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. Aliso 22, 63–75.

Cruden, R. W. 1987. *Hagenbachia*, a misplaced genus of New World Liliacea. Nord. J. Bot. 7: 255 - 260.

Dutilh, J.H.A. 1989. Morphological variation in a population of Hippeastrum Herb. Herbertia 45:152-155.

Dutilh, J.H.A. 2005. Amaryllidaceae. In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S.; Martins, S.E.; Kirizawa, M. & Giulietti, A.M. (eds.). Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo. São Paulo. p.244-256.

Dutilh, J. H. A., Lopes, E. F. M., Campos-Rocha, A. 2017. Flora do Espírito Santo: Hypoxidaceae. Rodriguésia 68(5): 1607-1612.

Dutilh, J. H. A. 2019. Hypoxidaceae. *In:* Flora do Brasil (2020 em construção) Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB134>. Acesso em 10 dez 2018.

Judd, W.S., Campbell, C.; Kellogg, E. Stevens, P. 2001. Amaryllidaceae J. St. Hilaire. Plant Systematics – A phylogenetic approach. Sinnauer Associates, Sunderland.

Kocyan, A., Snijman, D.A., Forest, F., Devey, D.S., Freudenstein, J.V., Wiland-Szymańska, J., Chase, M.W. & Rudall, P.J. 2011. Molecular phylogenetics of Hypoxidaceae – evidence from plastid DNA data and inferences on morphology and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution 60:122-136*.

Liu K-W, Xie G-C, Chen L-J, Xiao X-J, Zheng Y-Y, *et al.* 2012 *Sinocurculigo*, a New Genus of Hypoxidaceae from China Based on Molecular and Morphological Evidence. *PLoS ONE* 7(6): e38880.

Magallón, S., & Castillo, A. 2009. Angiosperm diversification through time. American Journal of Botany, 96(1), 349–365.

MMA, 2014. Ministério do Meio Ambiente. Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014. Reconhece como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de espécies da flora ameaçada de Extinção".

Moraes, M. A. 2009. Conservação e manejo de *Worsleya rayneri* (Amaryllidaceae) – uma espécie de campos de altitude ameaçada de extinção. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Nordal, I. & Thulin, M. 1993. Synopsis of *Anthericum* and *Chlorophytum* in the Horn of Africa, including the description of nine new species. *Nordic Journal of Botany* 13: 257–280.

Oliveira, R. S., Dutilh, J.H.A., Sano, P.T.. 2008. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Amaryllidaceae. Bol. Bot. Univ. São Paulo 26: 35-39.

Oliveira, R.S., Dutilh, J.H.A., Sano, P. T. 2010. *Habranthus* (Amaryllidaceae) da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil. Rodriguésia 61: 491-513.

Pires, J.C., Maureira, I.J., Givnish T.J., Sytsma, K. J. 2006. Phylogeny, genome size, and chromosome evolution of Asparagales. In: Columbus, J.T., Friar E.A., Hamilton C.W., Porter J.M, Prince L.M, Simpson M.G. eds. Monocots: Botanic Garden. Aliso 22: 287–304.

Soltis, D., Soltis, P. Endress, P., Chase, M. W., Manchester, S. Judd, W. Majure, L. Mavrodiev, E. 2018. Phylogeny and evolution of the angiosperms: revised and updated edition. University of Chicago Press. Chicago and London.

ESTRUTURA DA TESE

A presente tese está subdividida em três capítulos. O **Capítulo 1** tem como título "Morfoanatomia e micromorfologia foliar comparativa de Griffinieae (Amaryllidaceae)" apresentando a caracterização anatômica foliar comparativa de 32 diferentes acessos incluindo praticamente todas as espécies dos três gêneros que compõem a tribo: *Cearanthes, Griffinia* e *Worsleya*. Neste capítulo, além da caracterização morfoanatômica foliar inédita, foram selecionados 24 características morfológicas e 4 variáveis ambientais com os quais foi realizada a Análise de Correspondência Múltipla. As principais características anatômicas observadas e os resultados obtidos com as análises de correspondência múltipla foram discutidos.

No **Capítulo 2**, **"Considerações taxonômicas para as Hypoxidaceae do Brasil** à **luz da morfoanatomia foliar e micromorfologia"** foi apresentada a caracterização morfoanatômica foliar das três espécies reconhecidas para a família Hypoxidaceae no Brasil, *Hypoxis atlantica*, *Hypoxis decumbens* e *Curculigo scorzonerifolia*, incluindo variedades morfológicas, além de caracterização micromorfológica de folhas e sementes das duas espécies do gênero *Hypoxis*. Os resultados obtidos foram discutidos, incluindo considerações comparativas com espécies morfológica e filogeneticamente próximas.

Quanto ao Capítulo 3, "Implicações taxonômicas da anatomia foliar e micromorfologia nas espécies brasileiras de *Hagenbachia* Nees & Mart. (ASPARAGACEAE): um enigmático gênero da América Latina" foram apresentadas diferentes abordagens para a identificação de espécies do gênero *Hagenbachia*: através da microscopia de luz, utilizando estereomicroscópio e analisando a micromorfologia de estruturas reprodutivas por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados forneceram caracteres morfoanatômicos e micromorfológicos diagnósticos para as espécies reconhecidas do gênero e foram discutidos.

Morfoanatomia e micromorfologia foliar comparativa de Griffinieae (Amaryllidaceae)

Comparative leaf micromorphology and anatomy of Griffinieae (Amaryllidaceae)

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização taxonômica

A família Amaryllidaceae J. Saint-Hilaire está incluída na ordem Asparagales e é formada por espécies que apresentam hábito herbáceo com relativo curto tempo de floração. Essa característica, segundo Arroyo (1990), impede uma identificação mais precisa durante a maior parte do ano. Além disso, as plantas herbáceas geralmente possuem poucos elementos úteis para uma confiável identificação na fase vegetativa de desenvolvimento, podendo apresentar frequentemente folhas com morfologia externa bastante semelhante entre as espécies de um mesmo gênero ou família. No entanto, estudos morfoanatômicos comparativos, apesar de escassos, revelaram-se importantes ferramentas fornecendo informações quanto à caracterização de grupos em Amaryllidaceae (Cheadle, 1969; Arroyo & Cutler, 1984; Meerow 1987 e 1989; Davis & Barnett, 1997; Raymúndez *et al.*, 2000 e 2005; Alves-Araújo & Alves, 2005; Oliveira *et al.*, 2010; Alves-Araújo *et al.*, 2012; Mashayekhi & Columbus, 2014). Griffinieae Ravenna é uma das tribos em Amaryllidaceae ainda com importantes questões acerca de sua taxonomia indicando a necessidade de identificação de novos caracteres a serem empregados na delimitação de seus gêneros e espécies.

Com 75 gêneros e 1600 espécies (Stevens, 2016), Amaryllidaceae possui distribuição cosmopolita e tem os continentes sul-americano e sul-africano como centros de distribuição dos seus gêneros. Muitos gêneros mostram endemismo mais restrito, podendo variar no alcance de sua ocorrência (Arroyo & Cutler, 1984; Dutilh *et al.*, 2010; Dutilh & Oliveira, 2015). As amarilidáceas são plantas perenes, com bulbos (raramente rizomas), filotaxia dística ou espiralada, inflorescências escaposas e umbeliformes (uni ou plurifloras), envoltas por duas ou três brácteas maiores (espatas), perianto tubular ou não, flores bissexuadas com estilete longo, estigma seco ou úmido (Meerow, 1998, 2004). Os representantes desta família são adaptados aos mais diferentes tipos de ambientes: desde os xerófitos aos mesófitos e hidrófitos (Dutilh & Oliveira, 2015). Uma dificuldade para a taxonomia e filogenia da família, segundo Meerow (2010), é que Amaryllidaceae apresenta evolução reticulada e convergências morfológicas, o que dificulta o reconhecimento das características diagnósticas de grupos evolutivamente relacionados.

Segundo as circunscrições mais recentes, Amaryllidaceae é um grupo monofilético fortemente sustentado (Fay & Chase 1996, Fay *et al.*, 2000, Givnish *et al.*, 2006, Pires *et al.*, 2006), constituído por três subfamílias: Agapanthoideae Endlicher, Allioideae Herbert e Amaryllidoideae Dumortier (APG III, 2009 e APG IV, 2016) sendo que todas já foram consideradas famílias em classificações anteriores, Agapanthaceae F. Voigt, Alliaceae Borkhausen e Amaryllidaceae *sensu stricto* (Givnish *et al.*, 2006). A subfamília Allioideae concentra-se principalmente no hemisfério norte e Agapanthoideae no sul da África (Stevens, 2001), ambas possuem ovário súpero. Já os cerca de 60 gêneros e as 800 espécies da subfamília Amaryllidoideae possuem ovário ínfero, alcaloides norbeladínicos e aminoácidos não proteicos como sinapomorfias, diversificaram-se na América do Sul e África, podendo ocorrer também em áreas temperadas (Meerow & Snijman, 1998; Stevens, 2001).

Um total de 15 tribos é reconhecido atualmente para Amaryllidoideae e seis delas são americanas: Hymenocallideae, Stenomesseae, Eustephieae, Hippeastreae e Griffinieae. Meerow *et al.* (2000b) publicaram a filogenia das espécies exclusivamente americanas indicando que existem dois grandes clados: o Clado Andino, com as tribos Eustephieae, Clinantheae Meerow, Hymenocallideae e Eucharideae; e o clado "Hippeastroide" (extra-andino), formado por Hippeastreae com uma distribuição mais ampla e Griffinieae, endêmica do Brasil.

Para o Brasil, estão citados 14 gêneros distribuídos em mais de 100 espécies de Amaryllidaceae: *Cearanthes* Ravenna, *Crinum* L., *Eithea* Ravenna, *Eucharis* Planch. & Linden, *Griffinia* Ker Gawl., *Habranthus* Herb., *Hippeastrum* Herb., *Hymenocallis* Salisb., *Ipheion* Raf., *Nothoscordum* Kunth, *Rodophiala* C. Presl, *Tocantinia* Ravenna, *Worsleya* (W. Watson ex Traub) Traub e *Zephyranthes* Herb. (Dutilh & Oliveira, 2015). Desses gêneros, cinco são exclusivamente brasileiros: *Cearanthes*, *Eithea*, *Griffinia*, *Tocantinia* e *Worsleya*, sendo *Cearanthes*, *Griffinia* e *Worsleya* pertencentes à Griffinieae.

Ravenna propôs a tribo Griffinieae em 1974 incluindo, num primeiro momento, apenas o gênero *Griffinia*, pelas seguintes características: posição, forma dos óvulos e frequente separação do estame superior dos demais com associação à sépala superior. Tais características foram observadas por Ker Gawler (1820) na descrição do gênero e sustentadas, posteriormente, por Lindley (1826). Desde o estabelecimento do gênero, diferentes abordagens determinaram o histórico de classificação dos subgêneros e espécies em *Griffinia* (Herbert, 1837; Seubert, 1847; Roemer, 1847; Traub & Moldenke, 1949; Preuss 1999a).

Herbert (1837) afirmou que, levando em consideração exclusivamente a morfologia das folhas das três primeiras espécies de Griffinia descritas (G. hyacinthina (Ker Gawl.) Ker Gawl., G. parviflora Ker Gawl. e G. intermedia Lindl.), as mesmas estariam diretamente associadas aos gêneros sul-americanos Eucrosia Ker Gawl. e Urceolina Rchb., com folhas pseudopecioladas. Este mesmo autor, em 1841, criou o gênero Hyline Herbert que, aproximadamente 130 anos depois, foi combinado com Griffinia por Ravenna (1969) devido à semelhança do aspecto geral das flores, sendo aquele reduzido a subgênero deste. Flores noturnas, com tépalas longas e estreitas, seis estames fasciculados e muitos óvulos por lóculo foram características distintivas de *Hyline* para *Griffinia*, o qual possui flores diurnas, quase sempre com estame epissépalo ascendente, distinto dos demais, e poucos óvulos por lóculo. Não houve menção sobre a forma dos óvulos e das sementes, que podem ser consideradas as características mais importantes para distinguir o gênero na América. Considerado próximo a Hymenocallis por Herbert (1841) e Baker (1888), o gênero Hyline acabou sendo posicionado por Hutchinson (1934) na tribo Eucharideae, sendo associado a outros gêneros sulamericanos como Pamianthe Stapf. e Stenomesson Herb., e ao gênero africano Pancratium L.

Outro gênero igualmente inserido em Griffinieae é *Worsleya*, monotípico e endêmico da Serra da Mantiqueira, no estado do Rio de Janeiro. Em 1974, Ravenna mencionou a proximidade entre *Worsleya* e a tribo Griffinieae e, em 1999, Preuss (1999) discute a tribo, todavia apenas com *Griffinia*. Meerow e colaboradores (2000), utilizando análises filogenéticas, mostraram que os gêneros *Worsleya* e *Griffinia* constituem nitidamente um clado bem suportado e ainda sugerem a tribo como a linhagem mais basal da subfamília Amaryllidoideae nas Américas (Meerow *et al.*, 2000; Campos-Rocha, 2015). Quanto ao histórico deste táxon, inicialmente *Amaryllis procera* Duchartre foi descrita e transferida, em seguida, para *Worsleya procera* (Duch./Lem) Traub e, posteriormente, para *W. rayneri* (Hook.f.) Traub & Moldenke. A espécie possui características singulares (e.g. mucilagem, bulbo, quatro espatas, paraperigônio ausente) que, associadas ao seu isolamento geográfico, sugerem-na como uma linhagem evolutiva independente em Amaryllidaceae (Traub & Moldenke, 1949; Martinelli, 1984, Moraes & Martinelli, 2007).

No mesmo ano de publicação da filogenia das Amaryllidaceae americanas, Ravenna (2000), a partir da exsicata de uma única planta, sem folhas e com apenas uma inflorescência com flores de estigma trífido, caráter inédito para o grupo, descreve *Cearanthes fuscoviolacea* Ravenna, inserindo o gênero à tribo Griffinieae, junto ao gênero *Griffinia*, sem mencionar qualquer relação com *Worsleya*. Na descrição de *Cearanthes*, o autor sugere que o gênero é significativamente próximo à *Griffinia* por características morfológicas florais não especificadas e comenta sobre o hábito muito similar entre os dois gêneros (Ravenna, 1974), apesar de não conhecer as folhas da espécie, descrita de material em cultivo.

Ao passo que *Cearanthes* e *Worsleya* seguem como gêneros monotípicos (*C. fuscoviolacea* e *W. rayneri*, respectivamente), *Griffinia* até 2015 possuía 21 táxons reconhecidos por Campos-Rocha (2015), na única recente revisão realizada para este táxon. Dessas 21 espécies, seis delas, à época, estavam ainda em processo de publicação. Neste trabalho, o autor apresentou um estudo morfológico e taxonômico bastante completo onde revisou a taxonomia, nomenclatura, caracterização e variação morfológica, distribuição geográfica das espécies, além de atualizar o estado de conservação do gênero (Campos-Rocha, 2015).

Os dois subgêneros considerados na divisão do gênero Griffinia, Hyline e Griffinia, diferem entre si tanto morfologicamente quanto ecologicamente (Alves-Araújo, 2009; Campos-Rocha 2015). As espécies que compõem o subgênero Hyline distribuem-se em áreas mais secas do Brasil, principalmente na Caatinga e no Cerrado podendo, eventualmente, ser encontradas em florestas estacionais e ambientes de restinga. Os representantes de Hyline apresentam folhas pecioladas a quase sésseis, geralmente ensiformes a falcadas, levemente eretas, inflorescência com duas a quatro flores grandes, brancas a levemente rosadas, fragrantes, de antese noturna e efêmeras. Preuss (1999) na filogenia do grupo confirmou G. gardneriana (Herb.) Ravenna e G. nocturna Ravenna como representantes deste subgênero. O subgênero Griffinia é caracterizado por folhas pseudopecioladas, flores zigomorfas lilases, esverdeadas ou púrpuras, raramente brancas, e com antese diurna, além de geralmente apresentar o estame epissépalo superior ascendente em relação aos demais declinados (ou eventualmente ausentes) (Dutilh, 2005; Campos Rocha, 2015). A distribuição das espécies se dá pelas florestas úmidas e estacionais desde o Estado de São Paulo até o Ceará. Houve um grande intervalo nas descrições de novas espécies para Griffinia entre o final do século XIX e o início da década de 60. Até a descrição de G. rochae Morel

(1960), o gênero contava com oito espécies além de duas do subgênero *Hyline*. As décadas de 60 e 70 foram bastante significativas para o histórico taxonômico do grupo com descrições de novas espécies para *Griffinia*, combinações e o estabelecimento de novos níveis hierárquicos: *G. espiritensis* Ravenna, *G. concinna* (Mar.) Ravenna, *G. itambensis* Ravenna e *G. aracensis* Ravenna (Ravenna 1969, 1971, 1974, 1978).

Preuss (1999a) publicou a primeira filogenia molecular do grupo. Contudo, nos quatro anos seguintes foram descritas dez novas espécies: *G.alba* K.D.Preuss & Meerow, *G. arifolia* Ravenna, *G. colatinensis* Ravenna, *G. cordata* K.D.Preuss & Meerow, *G. ilheusiana* Ravenna, *G. leucantha* K.D.Preuss, *G. mucurina* Ravenna e *G. paubrasilica* Ravenna (Preuss & Meerow, 2000, 2001a, 2001b; Ravenna 2000, 2003). A partir de então, deu-se início a uma nova era de rearranjos nomenclaturais e sinonimizações para o grupo. Nos últimos três anos, foram descritas quatro novas espécies para o gênero, sendo elas, por ordem de publicação: *G. angustifolia* Campos-Rocha, Dutilh & Semir, *G. capixabae* Campos-Rocha & Dutilh, *G. meerowiana* Campos-Rocha & M.Peixoto e *G. albolineata* Campos-Rocha (Campos-Rocha *et. al.*, 2017a, 2017b, 2018, 2019).

A Flora do Brasil 2020 (in prep.) reconhece um total de 27 espécies para o gênero *Griffinia* (http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4337, acesso em 23/março/2019), entretanto algumas delas estão em processo de sinonimização (Campos-Rocha com. pess.), o que irá reduzir o número de espécies aceitas para o gênero. A lista completa das espécies reconhecidas até o momento para Griffinieae está sumarizada na Tabela 1. A distribuição das espécies da tribo é restrita ao território brasileiro, sendo encontradas em praticamente todos os biomas (Fig.1 a-j), exceto nas matas densas da Floresta Amazônica, e nos pampas gaúchos (Dutilh & Oliveira, 2015; Campos-Rocha, Dutilh & Semir, 2017).

A partir de trabalhos de campo, exame de coleções herborizadas e em cultivo, Campos-Rocha & Dutilh (com. pess.) afirmam que as espécies de *Griffinia sensu lato* se correlacionam tanto morfologicamente quanto filogeneticamente. Para estes autores, muitas das variações intra e interespecíficas podem estar associadas a fatores ambientais, com os quais o indivíduo ou a população estão em interação (Campos-Rocha, 2015). A seguir será apresentado um panorama de distribuição e características morfológicas das espécies de Griffinieae para o qual adotamos, principalmente, os dados fornecidos pelo trabalho de Campos-Rocha (2015). **Tabela 1:** Lista de espécies reconhecidas pela Flora do Brasil 2020 para a tribo Griffinieae (Campos-Rocha, 2015; Campos-Rocha & Dutilh, 2019).

Táxons	Ano de descrição	Localidade tipo (Município/Estado)
Cearanthes fuscoviolacea Ravenna	2000	Viçosa/CE
Griffinia alba K.D. Preuss & Meerow	2000	São Lourenço da Mata/PE
Griffinia albolineata Campos-Rocha	2019	Santa Maria do Salto/MG
Griffinia angustifolia Campos-Rocha, Dutilh & Semir	2017	Povoado Bizamum/BA
Griffinia aracensis Ravenna	1978	Serra dos Araças/MG
Griffinia arifolia Ravenna	2000	Alcobaça/BA
Griffinia capixabae Campos-Rocha & Dutilh	2017	Santa Teresa/ES
Griffinia colatinensis Ravenna	2000	Colatina/ES
Griffinia concinna (Mart.) Ravenna	1971	Ouro Preto/MG
Griffinia cordata K.D.Preuss & Meerow	2001	Procedência incerta
Griffinia espiritensis Ravenna	1969	Linhares/ES
Griffinia espiritensis var. espiritensis Ravenna	1969	ES
Griffinia espiritensis var. baiana K.D.Preuss & Meerow	2002	Ituberá/BA
Griffinia espiritensis var. ituberae K.D.Preuss & Meerow	2002	Ituberá/BA
Griffinia gardneriana (Herb.) Ravenna	1840	CE
Griffinia hyacinthina (Ker Gawl.) Ker Gawl.	1820	RJ
Griffinia ilheusiana Ravenna	2000	Ilhéus/BA
Griffinia intermedia Lindl.	1826	Rio de Janeiro/RJ
Griffinia itambensis Ravenna	1974	Santo Antônio do Itambé/MG
Griffinia leucantha K.D.Preuss	2001	Procedência incerta
Griffinia liboniana C. Morren	1845	Lagoa Santa/MG
Griffinia meerowiana Campos-Rocha & M.Peixoto	2018	Santa Teresa/ES
Griffinia mucurina Ravenna	2000	Mucuri/BA
Griffinia nocturna Ravenna	1969	GO
Griffinia ornata Moore	1876	Rio de Janeiro/RJ
Griffinia parviflora Ker Gawl.	1820	Procedência incerta /BA
Griffinia paubrasilica Ravenna	2000	Itamarajú/BA
Griffinia rochae G. M. Morel	1961	Xerém/RJ
Worsleya rayneri (J.D.Hooker) Traub. & Moldenke	1949	Petrópolis/RJ



Figura 1: Diversidade de ambientes de ocorrência de espécies da tribo Griffinieae. a. Floresta Ombrófila Densa, Ubatuba, São Paulo (ocorrência de *Griffinia ornata*). b. Floresta Estacional Semidecidual, Santa Maria do Salto, Minas Gerais (*G. albolineata*). c. Floresta Estacional Semidecidual, Cariacica, Espírito Santo (*G. paubrasilica*). d. Floresta Estacional Semidecidual, Piracicaba, São Paulo (*Eithea lagopaivae*). e. Floresta Estacional Decidual sobre *inselberg*, Santa Teresa, Espírito Santo (*G. meerowiana*). f. Caatinga, Jaguarari, Bahia (*G. gardneriana*). g. Caatinga, Ceará (*Cearanthes fuscoviolacea*). h. Restinga sobre costão rochoso, relicto de Caatinga, Búzios, Rio de Janeiro (*G.*

gardneriana). i. Cerrado, G. nocturna. j. Inselberg, Petrópolis, Rio de Janeiro (Worsleya rayneri). Imagens: a,c,e: E.F.M. Lopes; b,f: J.H.A. Dutilh; d,g: A.C. Rocha; h: A. Tombolato. i: R. Forzza; j: A. Meerow.

1.2 Distribuição e caracterização morfológica de Griffinieae

As espécies do gênero *Griffinia*, neste estudo, foram reunidas em grupos morfológicos levando em consideração semelhanças de morfologia externa, sendo eles: Complexo *Hyline* (*G. alba*, *G. gardneriana* e *G. nocturna*), Complexo *Griffinia* de grande porte (*G. concinna*, *G. hyacinthina*, *G. intermedia*, *G. ornata* e *G. capixabae*), Complexo Liboniana (*G. liboniana*, *G. meerowiana* e *G. rochae*) e Complexo Espiritensis-paubrasilica (*G. espiritensis* e *G. paubrasilica*). As demais espécies de *Griffinia*, *G. albolineata*, *G. itambensis* e *G. parviflora*, possuem características morfológicas mais singulares sendo consideradas individualmente, como também *Cearanthes*, *Worsleya* e o grupo-externo *Eithea* (Hippeastreae) (Figs. 2a-k e 3a-k).

As espécies do complexo (e subgênero) Hyline têm uma distribuição que abrange diferentes fitofisionomias. Griffinia gardneriana (Fig. 2j) pode ocorrer em áreas semissombreadas de mata seca da Caatinga nordestina, como também em restingas próximo a costões rochosos no litoral do Rio de Janeiro e campinarana no Pará, além dos estados da BA, CE, PE, TO, MG e ES. Em adição, os ambientes de ocorrência de G. gardneriana podem variar dos supracitados à Floresta Estacional, inselbergs, falésias ou tabuleiros litorâneos, em solos arenosos ou areno-argilosos. As folhas de G. gardneriana são raramente pecioladas e podem, eventualmente, apresentar máculas cinéreas na lâmina foliar. Griffinia nocturna (Fig. 3b) teve sua ocorrência relatada para matas ciliares, de galeria, carrascal e cerrado; sua distribuição geográfica foi confirmada para as regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, nos estados de GO, MT, MA e TO. As folhas de G. gardneriana são raramente pecioladas enquanto as de G. nocturna apresentam base foliar e lâmina oblanceoladas a estreitamente elípticas, entretanto, ambas tendem a ser mais ensiformes se comparadas com as demais Griffinia. A espécie G. alba (Fig. 3a) ocorre em locais sombreados e úmidos de Floresta Estacional nos estados de AL e PE e a espécie possui folhas estreitamente elípticas, como G. nocturna. Campos-Rocha & Dutilh (com. pess.) comentam a proximidade filogenética entre G. alba e as demais Hyline com base em dados moleculares (dados não publicados).

Quanto ao complexo das "Griffinia de grande porte", Griffinia hyacinthina (Fig. 3d) ocorre na Serra do Mar, entre os estados do RJ e SP, em ambientes sombreados e úmidos da Floresta Ombrófila Densa; além de ser a espécie tipo de todo o gênero, ela representa o limite sul de ocorrência do mesmo. A espécie muito se assemelha morfologicamente à G. concinna (Fig. 2e), mas as espécies diferem quanto ao tamanho do tubo floral, distribuição geográfica e tipo de ambiente onde ocorrem. O exemplar tipo de G. concinna foi coletado por Martius em Ouro Preto/MG, todavia a espécie foi somente registrada para o norte do RJ, MG e sul do ES, ocorrendo em sub-bosques de Florestas Estacionais Semidecíduas. Duas espécies de ocorrência para o leste do estado de São Paulo e Rio de Janeiro, G. intermedia e G. ornata, são relacionadas quanto ao seu histórico nomenclatural, tendo sido a segunda considerada sinônimo da primeira. Griffinia intermedia (Fig. 2c-d) tem distribuição mencionada para os estados de SP, na Serra da Bocaina, e RJ, no Parque Nacional do Itatiaia e no município de Mangaratiba, em Floresta Ombrófila Densa. Dentre as características morfológicas de destaque para a espécie, as flores possuem máculas nas tépalas como exclusividade dentre as "Griffinia de grande porte" e suas folhas tem a base, ou pseudopeciolo, profundamente canaliculada. No gênero Griffinia, as folhas são subdivididas em duas regiões: pecíolo e lâmina (Campos-Rocha, 2015). Todavia, alguns autores optam por denominar a base da folha de pseudopecíolo, em decorrência da sua estrutura anatômica semelhante à lâmina foliar, ou seja, uma região mais volumosa que a lâmina foliar, mas que exibe dorsiventralidade (Alves-Araújo, 2007; Campos-Rocha, 2015, Oliveira, 2012). Segundo Bell (1991), diferentemente do que ocorre com as eudicotiledôneas, nas monocotiledôneas, durante o desenvolvimento de folhas dorsiventrais, a base do primórdio foliar origina tanto a base invaginante, e ou pecíolo, quanto a lâmina foliar, ou seja, o órgão por completo, formando folhas pseudopecioladas. Por isso, alguns autores denominam os pecíolos presentes em folhas dorsiventrais de monocotiledôneas de pseudopecíolos. Dessa forma, o presente trabalho optou pela utilização do termo pseudopecíolo para se referir à base das folhas, quando presente e morfologicamente distinto da lâmina foliar. Quanto à G. ornata (Fig. 2a), a espécie é distinta por apresentar flores maiores e em maior número, além de um padrão de venação com menor número de nervuras nas folhas. Sua ocorrência foi relatada para a Serra do Mar, no município de Ubatuba (Campos Rocha et al. in prep.). Griffia capixabae Campos-Rocha & Dutilh (Fig. 3c) é uma espécie morfologicamente também semelhante às demais Griffinia de grande porte. Descrita recentemente (Campos-Rocha et al., 2017),

esta espécie também possui caracteres de morfologia floral, além do pseudopeciolo, que a distinguem de *G. intermedia*. A distribuição geográfica de *G. capixabae* foi registrada para matas semidecíduas da Serra da Mantiqueira, no estado do ES.



Figura 2: Indivíduos de diferentes acessos de espécies da tribo Griffinieae. a. *Griffinia ornata*. b. *G. albolineata*. c. *G. intermedia* (Itatiaia, São Paulo). d. *G. intermedia* (São José do Barreiro, São Paulo). e. *G. concinna*. f. *G. espiritensis* (São Fidélis, Rio de Janeiro). g. *Eithea lagopaivae*. h. *G. paubrasilica*. i. *G. meerowiana*. j. *G. gardneriana* (Jaguarari, Bahia). k. *Worsleya rayneri*. Imagens: a. J.A.M.A. Gomes b-g: A.C. Rocha. h-i: E.F.M. Lopes, j: J.H.A. Dutilh, k: A. Meerow.
Preuss (1999a, 1999b) em seu trabalho com o gênero Griffinia, considerou a existência de um complexo morfológico "G. liboniana" formado por cinco espécies. Levando em consideração o estudo de Campos-Rocha (2015), o complexo "Liboniana" teria três espécies: Griffinia liboniana C. Morren, G. meerowiana Campos-Rocha & M.Peixoto e G. rochae G.M. Morel. A área de distribuição geográfica de G. liboniana é equivalente à de G. gardneriana, ocorrendo em uma variedade de ambiente bastante ampla, desde o Cerrado, Caatinga, Florestas Estacional e Ombrófila Densa, restingas e até as mussunungas (formações vegetacionais arbustivas associadas à Mata Atlântica, semelhantes às restingas, com áreas abertas e sobre solo oligotrófico - Nascimento, et al., 2017). A espécie ocorre na região Nordeste, nos estados da BA, CE, PE e RN e na região Sudeste, em MG e ES. Suas folhas podem ou não apresentar máculas e, quando presentes, podem ser dos mais diversos tipos: alvas, rosadas, cinéreas, eventualmente com estria esbranquiçada ou região mais clara próxima à nervura central (Fig. 3e-g). Griffinia rochae (Fig. 3h) é considerada a espécie de menor porte do gênero e muito semelhante à G. liboniana; sua distribuição é conhecida para os estados do RJ e ES, em Floresta Ombrófila Densa. Recentemente, ao descreverem G. meerowiana (Fig. 2i), Campos-Rocha et al. (2016) agruparam caracteres tanto de morfologia floral quanto foliar da espécie nova e de outras oito do gênero consideradas "Griffinia de pequeno porte". Em sua análise comparativa, quatro características morfológicas foliares foram levadas em consideração, como a forma da lâmina foliar, presença ou ausência de máculas, relação entre comprimento e largura foliares e o padrão de venação. A nova espécie foi o primeiro registro do gênero associado a formações rochosas do tipo inselberg (Campos-Rocha et al., 2018) e sua ocorrência é conhecida apenas para o estado do ES, em ambiente caracterizado por altitude relativamente baixa, porém bastante quente e seco (Tabacow 1992 apud Mendes & Padovan 2000, INCAPER 2011). Na descrição da espécie, os autores relataram um grande número de formigueiros junto à população de G. meerowiana, considerando que as formigas são conhecidas como os agentes dispersores das sementes de Griffinia (Meiado et al., 2012), especialmente por apresentarem elaiossomo (Preuss 1999, Campos-Rocha 2015).



Figura 3: Diversidade morfológica das folhas de espécies da tribo Griffinieae. a. *Griffinia alba*. b. *G. nocturna*. c. *G. capixabae* d. *G. hyacinthina* (Itatiaia). e-g. *G. liboniana*. h. *G. rochae*. i. *G. itambensis*. j. *G. parviflora*. k. *Cearanthes fuscoviolacea*. Imagens: a-k: A.C. Rocha.

Um dos complexos morfológicos que mais desafiam os taxonomistas do grupo em relação à identidade das espécies é formado por duas espécies e é denominado "Espiritensis-paubrasilica". Ao descrever *G. espiritensis* Ravenna (Fig. 2f), o autor considerou a espécie distinta por possuir longos pseudopecíolos eretos, os mais longos até então entre as *Griffinia*, porém muito próxima a *G. rochae* e *G. ornata*. Preuss (1999), Preuss & Meerow (2001) e Alves-Araújo *et al.* (2009, 2012 e 2014) mencionaram consultar materiais de *G. espiritensis* que, posteriormente, Campos-Rocha (2015) revelou tratarem-se de espécimes de *G. liboniana*. O autor inclusive sinonimizou as variedades de *G. espiritens* descritas por Preuss & Meerow (2001) em *G. liboniana*, evidenciando as divergências taxonômicas quanto à morfologia das espécies do grupo. *Griffinia paubrasilica* Ravenna (Fig. 2h) foi descrita em 2000 e é considerada morfologicamente semelhante à *G. liboniana* (Ravenna, 2000). Campos-Rocha (2015) afirma que, somente com a morfologia floral, não é possível distinguir com exatidão *G. paubrasilica* de *G. espiritensis*. Com ocorrência registrada para a região serrana do ES, norte do RJ e apenas um registro para o sul de MG, *G. paubrasilica* é típica de locais sombreados e úmidos de Floresta Ombrófila Densa. *Griffinia paubrasilica* tem sua ocorrência relatada apenas para as localidades-tipo, em áreas de sub-bosque de Floresta Ombrófila Densa, no estado da BA.

Algumas espécies de *Griffinia* apresentam características singulares a ponto de não serem incluídas em complexos morfológicos, como *G. parviflora*, *G. itambensis* e *G. albolineata*. Segunda espécie descrita para o gênero em 1820, *G. parviflora* (Fig. 3j) apresenta folhas longo-pecioladas, ovaladas a elípticas e, como o próprio epíteto menciona, flores pequenas, as menores comparadas com as demais, à época da descrição. Preuss (1999) e Alves-Araújo (2009) concordaram que a espécie seria distinta das demais *Griffinia*, sobretudo pela coloração avermelhada na base do pseudopecíolo e escapo. Todavia, o primeiro autor mencionou equivocadamente que *G. parviflora* teria proximidade filogenética com *G. intermedia* (Campos-Rocha, 2015). A ocorrência de *G. parviflora* foi relatada somente para o estado da BA, em sub-bosque de Floresta Ombrófila Densa.

Folhas estreitas, lanceoladas a lineares, geralmente com pigmentação vinácea na face abaxial e eventual presença de estria esbranquiçada na face adaxial caracterizam *G. itambensis* (Fig. 3i). Essa espécie é a única que possui distribuição geográfica restrita aos campos rupestres da Serra do Espinhaço (MG), em áreas de matas ciliares e de galeria. Campos-Rocha *et al.* (2017) ao descreverem *G. angustifolia* a consideram similar a *G. itambensis*, da qual afirmam se distinguir por apresentar folhas ainda mais estreitas, além de outros caracteres florais. A espécie foi recém descrita em 2017 para a Caatinga nordestina, com apenas três registros conhecidos nos estados de AL, BA e SE, ocorrendo sob a mata arbóreo-arbustiva na Caatinga, em solo rochoso a arenoso.

Griffinia albolineata Campos-Rocha (Fig. 2b) é a espécie mais recentemente descrita para o gênero, com folhas caracterizadas por um pseudopeciolo levemente canaliculado na face adaxial, uma faixa branca próxima à nervura central e ápice geralmente longo-acuminado (Campos-Rocha *et al.*, 2019). Sua ocorrência foi relatada para o Vale do Jequitinhonha, na fronteira entre Minas Gerais e Bahia, em área preservada de Mata Atlântica com características de Floresta Ombrófila Densa de Montanha. Segundo os autores, as flores das espécies são morfologicamente similares às de *G. intermedia*, porém esta apresenta um pseudopecíolo profundamente canaliculado e, eventualmente, em plântulas, pode ocorrer uma faixa branca próxima à nervura central.

A ação antrópica desenfreada, junto ao endemismo característico da maioria das espécies de Griffinia, pode ocasionar a extinção de grande parte das espécies do grupo, como é o caso de Griffinia arifolia, descrita a partir de um único indivíduo coletado para a espécie, apesar de esforços de coleta. Praticamente toda a região da localidade tipo foi transformada em plantação de eucalipto ou área de cultivo abandonada (Dutilh & Campos-Rocha, com. pess.). Morfologicamente, o principal caráter utilizado para distingui-la das outras Griffinia foi a única folha sagitada observada. Outro exemplo de táxon possivelmente extinto é a espécie G. colatinensis, descrita entre as décadas de 1930 e 1940 e que, desde então, não possui mais registros de coleta na literatura. A espécie é considerada "Criticamente em Perigo" pela Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção (MMA, 2014). Griffinia alba possui registro para apenas três populações conhecidas porém, em viagem de campo observamos que uma delas está provavelmente extinta pela ação antrópica. Dentre as demais espécies da tribo Griffinieae, G. meerowiana, G. ornata e C. fuscoviolacea possuem apenas o registro de uma única população, no ES, SP e CE, respectivamente. Tanto os conhecimentos taxonômicos quanto sistemáticos são de fundamental importância para a conservação da diversidade de espécies existentes (Cotterill, 1995). Segundo o "Livro Vermelho da Flora do Brasil", existem nove espécies do gênero *Griffinia* reconhecidas pela Flora do Brasil, "Ameaçadas de extinção" e, dessas, cinco estão "Criticamente em perigo" (2013).

Um dos estudos anatômicos mais abrangentes na família foi realizado com espécies americanas por Arroyo & Cutler (1984). Neste trabalho, dados sobre a morfologia e anatomia de órgãos vegetativos, incluindo escapo, de 125 espécies e 25 gêneros foram reportados, com espécies de diferentes tribos de Amaryllidaceae

examinando as afinidades entre gêneros do Velho e do Novo Mundo. Os autores apresentaram um panorama geral da estrutura anatômica dessas espécies, especialmente das folhas, aliando as características observadas ao seu valor taxonômico e diagnóstico para os táxons. Mashayekhi & Columbus (2014) observaram a evolução de caracteres anatômicos da lâmina foliar para as espécies norte-americanas do gênero Allium subgênero Amerallium e relataram potencial diagnóstico das características anatômicas, também identificadas em estudos previamente realizados, como suporte para identificar as relações filogenéticas no grupo. Em adição, os autores mencionaram a alta variação de determinadas características interespecíficas, exemplificando o número e a forma dos feixes vasculares variáveis em diferentes indivíduos dos mesmos acessos populacionais. Estudos morfoanatômicos aliados a diferentes abordagens como citologia, ecologia, geografia e biologia molecular oferecem informações que, combinadas, possibilitam uma análise taxonômica integrada dos diferentes grupos (Padial et al., 2010). Como exemplo deste tipo de estudo integrado, Perrone et al. (2015) utilizaram análises morfométricas correlacionando a resposta de plantas do gênero Pancratium ao ambiente onde ocorrem, além de anatomia e micromorfologia foliares. Em outro exemplo, Koçyigit & Tuna (2016) relacionaram a anatomia de secções transversais foliares com dados cariotípicos e moleculares em espécies de Sternbergia, gênero ocorrente na Eurásia.

O tipo de ornamentação epicuticular, contorno das células epidérmicas, presença ou ausência de papilas, presença ou ausência e tipo de estômatos são exemplos de características da superfície foliar relatadas com valor diagnóstico em Amaryllidaceae. Secções transversais das folhas possibilitaram a análise de diferentes tipos de características, como o contorno da lâmina foliar, especialmente da nervura central e margens foliares, contorno e espessamento péctico da parede das células epidérmicas, estrutura do mesofilo, distribuição e orientação dos feixes vasculares e a presença ou ausência de aerênquima e idioblastos (Arroyo, 1982; Arroyo & Cutler, 1984; Mashayekhi *et al.*, Marques, 2015; Koçyigit & Tuna 2016).

As folhas entre as espécies de Griffinieae possuem ampla variação na sua morfologia externa (Figs. 2 e 3) que, em algumas condições, pode ser maior até mesmo que a variação morfológica das flores, geralmente o órgão mais útil para distinguir as espécies de outros grupos entre si. O amplo alcance geográfico de distribuição das espécies da tribo e a ocorrência da mesma espécie em ambientes particularmente distintos pode ter um reflexo substancial na estrutura anatômica das folhas. Em vista dessas informações, foi possível constatar que, desde o estabelecimento dos táxons, as espécies da tribo Griffinieae apresentam problemas taxonômicos como a falta de informação sobre as espécies, o déficit de coleta e, o fato de que, para muitas, as descrições foram baseadas em um único espécime. Levando em consideração que nos materiais herborizados, principalmente as flores, perdem muitas das características do material *in vivo*, torna-se cada vez mais necessário o estudo e o agrupamento de características diagnósticas de material vegetativo, que é a fase menos efêmera ao longo do ano para essas plantas de florescimento esporádico. Em síntese, poucos são os aspectos morfoanatômicos conhecidos e que possam caracterizar as espécies de Griffinieae a fim de separá-las taxonomicamente, resultando em contínuas divergências quanto à delimitação específica no grupo.

Dessa forma, a realização deste estudo anatômico poderá contribuir com a caracterização das espécies, fornecendo informações com valor diagnóstico para a delimitação dos táxons da tribo, ampliando, sobretudo, o conhecimento acerca da anatomia foliar em Amaryllidaceae e de espécies nativas brasileiras que ocorrem em diferentes ambientes.

2. OBJETIVOS

Este capítulo de tese teve como principais objetivos:

- a) Investigar e caracterizar a morfoanatomia foliar das espécies de Griffinieae e de espécies relacionadas morfológica e filogeneticamente com a tribo;
- b) Identificar caracteres morfoanatômicos com valor diagnóstico para o grupo;
- c) Verificar possível variação morfoanatômica foliar em diferentes acessos das espécies para fins de esclarecimento taxonômico;
- d) Verificar a ocorrência ou não de um padrão, ou padrões, na estrutura anatômica das folhas nas espécies de *Griffinia*, correlacionando-os com o ambiente;
- e) Comparar a estrutura anatômica das folhas entre indivíduos de diferentes populações de uma mesma espécie, em localidades distintas;
- f) Identificar os padrões de similaridade morfoanatômica entre as espécies da tribo Griffinieae.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Análises morfoanatômicas

Este estudo avaliou a morfoanatomia foliar de um total de 32 acessos, sendo 30 da tribo Griffinieae e duas espécies da tribo Hippeastreae. Do gênero *Griffinia*, o mais representativo da tribo, foram analisadas 16 espécies e, em adição, outros 12 acessos de diferentes localidades das mesmas. As espécies *C. fuscoviolacea* e *W. rayneri*, representantes dos outros dois gêneros monotípicos da tribo foram igualmente analisadas. As duas espécies escolhidas como grupo externo, *Eithea blumenavia* e *E. lagopaivae* estão incluídas na tribo Hippeastreae, a mais próxima filogeneticamente de Griffinieae (Meerow *et al.*, 2000; Oliveira, 2012; García *et al.*, 2014, 2017; Campos-Rocha *et al.*, 2017). As amostras foram coletadas diretamente de seus domínios fitogeográficos, abrangendo os mais distintos tipos de ambiente e ampla variedade de fitofisionomias, sendo Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Decidual e Semidecidual, Caatinga, Cerrado, Restinga e *Inselberg*, e quando necessário, foram utilizados materiais herborizados e ou de cultivo, com procedência confirmada. A lista de espécies do estudo, características dos ambientes de ocorrência das mesmas e os respectivos vouchers estão sumarizados na Tabela 2.

Para as análises morfoanatômicas, três folhas totalmente expandidas de um ou mais indivíduos de cada espécie foram coletadas e fixadas em álcool etílico 70% ou Karnovsky (Karnovsky, 1965). No momento da coleta das amostras, o órgão foi subdividido em três regiões (Fig. 4): pseudopecíolo ou base foliar, lâmina foliar na região mediana e região apical da folha (correspondendo aos últimos 2 cm da porção distal do órgão, longitudinalmente). A região selecionada e correspondente à região mediana da lâmina foliar foi também subdividida em três regiões, delimitadas da seguinte forma: margem (1 cm da extremidade transversal), região intermediária (entre a margem e a região central) e região central (1-2 cm correspondente à porção central da folha entre as duas margens) (Fig. 4). O comprimento das áreas selecionadas variou conforme as dimensões das folhas de cada espécie. A subdivisão da folha em pseudopecíolo e lâmina vêm sendo utilizada por diferentes autores (Alves-Araújo, 2007; Campos-Rocha, 2015, 2017a, 2017b), todavia é importante ressaltar que, para as espécies com folhas ensiformes, no caso do subgênero *Hyline* e *Worsleya*, devido à

ausência de pseudopecíolo, optamos por utilizar o termo "base" foliar. Os termos utilizados na descrição anatômica e morfológica estão de acordo com Stearn (1992).

As amostras fixadas em Karnovsky foram submetidas a vácuo para retirada do ar contido nos tecidos, lavadas em água destilada, desidratadas em série etílica (10% - 30% - 50%) e armazenadas em álcool 70%.



Figura 4: Esquema ilustrando as três regiões foliares consideradas no estudo. P: pseudopecíolo ou base foliar; M: região mediana; A: Região apical (correspondendo aos últimos 2 cm da porção distal do órgão, longitudinalmente). A região mediana da folha foi subdividida em três regiões distintas, sendo elas: região central (1-2 cm correspondente à porção central da folha entre as duas margens), região intermediária (entre a margem e a região central) e margem (1 cm da extremidade transversal).

Tabela 2: Lista de espécies/vouchers das amostras utilizadas no estudo. Em "Faixa de altitude", ausência de asterisco = ambiente predominantemente seco; presença de asterisco: ambiente com disponibilidade hídrica.

E	spécies / Acessos populacionais	Localidade Município-Estado	Ambiente	Faixa de Altitude	Código /Coletor	Herbário
1	<i>Griffinia alba</i> K.D.Preuss & Meerow	São Lourenço da Mata/PE	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m *	Campos-Rocha 1478	UEC
2	<i>Griffinia albolineata</i> Campos-Rocha	Santa Maria do Salto/MG	Floresta Ombrófila Densa	400 – 900 m *	Lombardi 6006	BHCB
3	<i>Griffinia capixabae</i> Campos-Rocha & Dutilh	Marilândia/ES	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m	Campos-Rocha 1441	UEC
4	<i>Griffinia concinna</i> (Mart.) Ravenna	Atílio Vivácqua/ES	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m *	Kollmann 9705	MBML
5	<i>Griffinia espiritensis</i> Ravenna	Domingos Martins/ES	Floresta Estacional Semidecidual	400 – 900 m	Campos-Rocha 965	UEC
6	<i>Griffinia espiritensis</i> Ravenna	São Fidélis/RJ	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m *	Campos-Rocha 1507	UEC
7	<i>Griffinia gardneriana</i> (Herb) Ravenna	Jaíba/MG	Caatinga	400 – 900 m	Lombardi 4475	BHCB
8	<i>Griffinia gardneriana</i> (Herb) Ravenna	Búzios/RJ	Restinga	0 m	Campos-Rocha 1580	UEC
9	<i>Griffinia gardneriana</i> (Herb) Ravenna	Jaguaré/ES	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m	Campos-Rocha s/n	UEC
10	Griffinia hyacinthina (Ker. Gawl.) Ker Gawl.	Parati/RJ	Floresta Ombrófila Densa	0 m *	M. Peixoto 13197	UEC
11	Griffinia hyacinthina (Ker. Gawl.) Ker Gawl.	Ubatuba/SP	Floresta Ombrófila Densa	0 m *	Campos-Rocha 1610	UEC
12	<i>Griffinia intermedia</i> Lindl.	São José do Barreiro/SP	Floresta Ombrófila Densa	400 – 900 m *	Campos-Rocha 1608	UEC
13	<i>Griffinia intermedia</i> Lindl.	Itatiaia/RJ	Floresta Ombrófila Densa	Acima de 900 m *	Campos-Rocha 1603	UEC
14	<i>Griffinia intermedia</i> Lindl.	Mangaratiba/RJ	Floresta Ombrófila Densa	400 – 900 m	Campos-Rocha 1876	UEC
15	<i>Griffinia itambensis</i> Ravenna	São Gonçalo do Rio Preto/MG	Floresta Estacional Semidecidual	Acima de 900m *	Campos-Rocha 1463	UEC
16	<i>Griffinia liboniana</i> C. Morren	Ituberá/BA	Floresta Ombrófila Densa	0 m *	Campos-Rocha 1480	UEC

E	Cspécies / Acessos populacionais	Localidade Município-Estado	Ambiente	Faixa de Altitude	Código /Coletor	Herbário
17	<i>Griffinia liboniana</i> C. Morren	Material cultivado			Campos-Rocha 1155	
18	<i>Griffinia liboniana</i> C. Morren	Material cultivado			Campos-Rocha 833 x 1382	
19	<i>Griffinia liboniana</i> C. Morren	Itacaré/BA	Floresta Estacional Semidecidual	0 m	Campos-Rocha 1492	UEC
20	<i>Griffinia liboniana</i> C. Morren	Ilhéus/BA	Floresta Ombrófila Densa	0 m *	Campos-Rocha 1494	UEC
21	<i>Griffinia liboniana</i> C. Morren	Itapebi/BA	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m	Campos-Rocha 833	UEC
22	<i>Griffinia liboniana</i> C. Morren	Salto da Divisa/MG	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m	Kollmann 11893	MBML
23	<i>Griffinia meerowiana</i> Campos-Rocha & M. Peixoto	Santa Teresa/ES	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m	Campos-Rocha 1818	UEC
24	Griffinia nocturna Ravenna	Alta Floresta/MT	Cerrado	50 – 400 m	Campos-Rocha 1540	UEC
25	<i>Griffinia ornata</i> Moore	Ubatuba/SP	Floresta Ombrófila Densa	0 m *	Campos-Rocha s/n	UEC
26	<i>Griffinia parviflora</i> Ker. Gawl.	Ubaitaba/BA	Floresta Ombrófila Densa	0 – 50 m *	Campos-Rocha 1282	HPL
27	Griffinia paubrasilica Ravenna	Cariacica/ES	Floresta Estacional Semidecidual	50 – 400 m *	Campos-Rocha s/n	UEC
28	<i>Griffinia rochae</i> G. M. Morel	Santa Leopoldina/RJ	Floresta Ombrófila Densa	50 – 400 m	Campos-Rocha 1382	UEC
29	<i>Cearanthes fuscoviolacea</i> Ravenna	Viçosa do Ceará/CE	Caatinga	400 – 900 m	Campos-Rocha 1577	UEC
30	<i>Worsleya rayneri</i> (J.D.Hooker) Traub. & Moldenke	Petrópolis/RJ	Inselberg	Acima de 900m *	M. Peixoto s/n	UEC
31	<i>Eithea blumenavi</i> a(Carrière) Ravenna	Ponta Grossa/PR	Floresta Ombrófila Densa	400 – 900 m *	Campos-Rocha 1624	UEC
32	<i>Eithea lagopaivae</i> Campos-Rocha & Dutilh	Piracicaba/SP	Floresta Estacional Decidual	400 – 900 m	Campos-Rocha 1647	UEC

O material selecionado correspondente à base da folha ou pseudopecíolo, margem, região intermediária, região central e região apical da folha foi infiltrado em resina plástica hidroxi-etil-metacrilato (Historesin Leica®, Heraeus-Kulzer, Hanau, Germany) seguindo as normas do fabricante. Algumas amostras do material foram infiltradas em Paraplast X-tra® (Fisher). Para tanto, o material foi desidratado em série alcoólico-butílica (70% - 85% - 95 % e 100%) (Johansen, 1940), por um período de 48 horas em cada solução. O álcool butílico 100% foi trocado por três vezes pelo mesmo período. A seguir, ¾ do volume de Paraplast sólido X-tra® (Fisher) foi adicionado ao material, mantido à temperatura de 60°C. Foram realizadas três trocas de Paraplast a cada 12 horas e, ao fim das trocas, as amostras foram colocadas em moldes de papel para solidificar. Secções transversais e longitudinais com espessura de 5–7 μ m (material infiltrado em resina plástica) e 10 μ m (material infiltrado em paraplast) foram obtidas em micrótomo rotativo manual com navalha descartável de aço.

As lâminas histológicas do material infiltrado em resina plástica foram coradas com azul de toluidina 0,05% (tampão citrato, pH 4,5) (Sakai, 1973) por 10 min e, posteriormente, montadas em resina sintética Entellan® (Merck®, Darmstadt, Germany). As lâminas histológicas do material infiltrado em Paraplast foram submetidas à imersão em xilol para remoção do mesmo e, reidratação gradativa com álcool e água destilada. Para este material, a coloração foi realizada com a combinação de Safranina e Azul de Astra. Secções longitudinais paradérmicas de ambas as faces da epiderme na região mediana das folhas armazenadas foram obtidas com lâmina de barbear virgem e igualmente coradas com azul de toluidina. A documentação das imagens foi realizada por captura em câmera digital (modelo DP71) acoplada ao fotomicroscópio Olympus BX51.

3.2 Testes histoquímicos

Testes histoquímicos foram realizados com material fresco e/ou fixado, conforme supracitado. Para substâncias lipídicas, evidenciando mais precisamente a cutícula, foi empregado o reagente Sudan IV (Miller, 1968); para a detecção de substâncias pécticas na parede celular, Vermelho de Rutênio (Johansen, 1940); para verificar a lignificação da parede celular, Floroglucinol (Johansen, 1940) e para verificar o tipo de lignina (G ou S), Mäule (Nakano & Meshitsuka, 1992). As análises das secções foram realizadas imediatamente após as reações e comparadas com secções controle tanto de material fresco quanto fixado em procedimento padrão e a documentação das imagens em câmera digital (modelo DP71) acoplada ao fotomicroscópio Olympus BX51.

3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As superfícies das folhas, em ambas as faces da epiderme, na região central e intermediária da porção mediana (Tabela 3) foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e, para isso, amostras de folhas armazenadas foram desidratadas em série etílica (80% - 90% - 96% - 100%) e secadas pelo método do ponto crítico com CO₂ no equipamento Balzers (modelo CPD 030). A seguir, as amostras de folhas tanto da face abaxial quanto adaxial foram montadas em suportes metálicos e recobertas, por 170 segundos, com ouro coloidal, no equipamento Bal-Tec (modelo SCD 050). Os registros das micrografias foram realizados ao microscópio eletrônico de varredura LEO modelo VP 435 operado a 20kV, no Laboratório de Microscopia Eletrônica, no Instituto de Biologia/UNICAMP.

3.4.Análise de Correspondência Múltipla (ACM ou MCA= Multiple Correspondence Analysis)

Para analisar o padrão de relações entre as diversas variáveis morfoanatômicas categóricas nas espécies de Griffinieae, foi realizada a Análise de Correspondência Múltipla (ACM) (Abdi & Valentin, 2007). Para tanto, foram determinadas e escolhidas 28 características qualitativas (ver item 4.8) para os 32 acessos com base nas análises das lâminas histológicas e em diferentes trabalhos morfoanatômicos com Amaryllidaceae (Arroyo, 1982; Arroyo & Cutler, 1984; Mashayekhi *et al.*, Marques, 2015; Koçyigit & Tuna 2016). A seguir, elaborou-se uma matriz de características com seus respectivos códigos de estado de caráter (Tabela 4) e para as análises de agrupamento e ordenação das características foram utilizados os pacotes *FactoMineR* e *Factoextra* implementados no programa R (R Core Team 2018).

4. RESULTADOS

4.1 Anatomia da superfície foliar

As secções longitudinais paradérmicas de ambas as faces foliares revelaram entre quatro a cinco células subsidiárias, geralmente alongadas paralelamente ao eixo estomático. As células subsidiárias não são distinguíveis das demais células epidérmicas, evidenciando o arranjo anomocítico dos estômatos, para todas as espécies de Griffinieae e também para *Eithea*, como observado em *G. hyacinthina* (Fig 5a) e *G. liboniana* (Fig. 5b). Os estômatos comumente apresentam reforço parietal ao redor do ostíolo. Diferentes padrões foram observados para os estômatos na sua distribuição, contorno das células em vista frontal, presença ou ausência de sinuosidade nas paredes anticlinais e no tipo de extremidades das células epidérmicas.

Folhas hipoestomáticas foram observadas em 58% dos acessos analisados e folhas anfiestomáticas em 42% deles. Considerando apenas as espécies de *Griffinia* analisadas, foram observadas 37,5% anfiestomáticas e 62,5% hipoestomáticas. Em *Cearanthes*, foram observadas folhas anfiestomáticas com estômatos adaxialmente restritos à nervura central, como também para uma das espécies do grupo externo, *E. blumenavia*. Para *Worsleya* e *E. lagopaivae* foram observadas folhas anfiestomáticas.

Duas variações foram observadas quanto ao contorno das células epidérmicas em vista frontal. As células epidérmicas mais curtas que alongadas longitudinalmente foram observadas na face adaxial do acesso de *G. intermedia* (Mangaratiba) (Fig. 5c) e em *C. fuscoviolacea* (Fig. 5d). Em adição, na face abaxial das folhas de *G. intermedia* (Mangaratiba), foram observadas células mais alongadas perpendicularmente ao eixo estomático (Fig. 5e).

A parede anticlinal das células epidérmicas foi classificada em três padrões distintos em ambas as faces da epiderme nas folhas de Griffinieae. A maior parte dos acessos populacionais possui células com parede anticlinal sinuosa tanto na face adaxial, como em *G. espiritensis* (Domingos Martins) (Fig. 5f), quanto na face abaxial, observada em *G. paubrasilica* (Fig. 5g). Paredes anticlinais retas, como observado na face adaxial de *G. liboniana* (Salto da Divisa) (Fig. 5h) e na face abaxial de *W. rayneri* (Fig. 5i) também foram observadas. Outros exemplos de paredes anticlinais sinuosas ocorrem tanto na face adaxial, como em *G. ornata* (Fig. 5j) quanto na face abaxial, observadas em *G. liboniana* (Ituberá) (Fig. 5k). O contorno das células epidérmicas, em relação à extremidade do maior eixo da

célula, em vista frontal, pode se apresentar truncado, na maioria das espécies, como em *G*. *liboniana 1480* (Fig. 5k, 5a-b), ou aguda, como em *G. gardneriana* 13250 (Fig 5i, 5l).

Micrografias eletrônicas de varredura revelaram padrões de estrias formadas pela ornamentação da parede periclinal externa junto à cutícula (PPEC). Foram observadas superfícies foliares com aspecto menos estriado, ou seja, menos ornamentada, observado em G. liboniana (Itacaré) (Fig.6a), exceto pela presença de estrias perpendiculares delgadas nas células adjacentes ao estômato (Fig. 6b). Em algumas espécies onde ocorrem estrias perpendiculares ao maior eixo da célula, os limites intercelulares também apresentam estrias demarcadas, padrão que pode ser observado na face adaxial de G. albolineata (Fig. 6c). As células adjacentes ao estômato podem possuir, além de estrias perpendiculares delgadas, finas estrias paralelas ao maior eixo da célula e paralelas entre si. Este padrão de ornamentação, cujo espessamento é relativamente inconspícuo, foi observado em G. liboniana (Lagoa Encantada) (Fig. 6d). Em determinadas regiões observadas, a presença de finas estrias perpendiculares e paralelas não se mostrou tão evidente (Fig. 6e). Em detalhe, foi possível observar a formação de limites celulares entre as células da epiderme e ornamentação com estrias delgadas tanto perpendiculares quanto paralelas em folhas de G. espiritensis (Domingos Martins) (Fig. 6f). A visão geral das folhas com este tipo de ornamentação difere das folhas cujas células epidérmicas possuem maior espessamento péctico do conjunto PPEC (Fig. 5g). No detalhe desse padrão em G. hyacinthina (Ubatuba), estrias perpendiculares espessadas ocorrem nas células adjacentes aos estômatos (Fig. 6h). Em algumas espécies foi observado padrão reticulado nas paredes periclinais externas da epiderme que, em menor aumento, não ficam evidentes, como na face abaxial das folhas de G. intermedia (São José do Barreiro) (Fig. 6i). Neste tipo de ornamentação, estrias espessadas tanto perpendiculares quanto paralelas se entrelaçam formando um padrão reticulado, com o limite entre as células em depressão (Fig. 6j). O espessamento das estrias na parede periclinal externa das células epidérmicas pode se restringir ao contorno da célula, unindo-se ao espessamento de uma célula com a sua adjacente, formando um contorno emoldurado, como em G. hyacinthina (Parati) (Fig. 6k). Na face adaxial das folhas de G. intermedia (São José do Barreiro) (Fig. 6l), além do espessamento emoldurado, foram observadas estrias por toda a parede periclinal externa das células que, em menor aumento, não são muito evidentes. Outro tipo de ornamentação emoldurada foi observado para a face adaxial de G. concinna (Atílio Vivácqua), com estrias perpendiculares entre as molduras de duas células adjacentes, formando um aspecto emoldurado ainda mais pronunciado (Fig. 6m). Em detalhe, foi possível observar o espessamento e a união entre as estrias perpendiculares e paralelas neste tipo de ornamentação (Fig. 6n). Em Worsleya rayneri, observamos estrias alongadas paralelas ao

maior eixo da célula, espessadas e a formação de pequenas projeções papiliformes (Fig. 60). Em algumas regiões da superfície foliar desta espécie, foi possível observar a presença de cera epicuticular próxima às projeções papiliformes (Fig. 6p).



Figura 5: Secções paradérmicas das folhas de espécies da tribo Griffinieae. a. *Griffinia hyacinthina*, face abaxial b. *G. liboniana* (Itapebi), face abaxial c. *G. intermedia* (Mangaratiba), face adaxial d. *Cearanthes fuscoviolacea*, face adaxial e. *G. intermedia* (Mangaratiba), face abaxial f. *G. espiritensis* (Domingos Martins), face abaxial g. *G. paubrasilica* (Cariacica), face abaxial h. *G. liboniana* (Salto da Divisa), face abaxial i. *Worsleya rayneri*, face adaxial j. *G. ornata* (Ubatuba), face adaxial k. *G. liboniana* (Ituberá), face abaxial l. *G. gardneriana* (Jaíba), face adaxial.



Figura 6: Micrografias Eletrônicas de Varredura da superfície foliar de espécies da tribo Griffinieae. a. Griffinia liboniana (Itacaré), face abaxial b. Detalhe do estômato de Griffinia liboniana (Itacaré), face abaxial c. G. albolineata, face adaxial d. Detalhe do estômato de G. liboniana (Lagoa Encantada), face abaxial e. G. espiritensis (Domingos Martins), face abaxial f. Detalhe de G. espiritensis (Domingos Martins), face abaxial g. G. hyacinthina (Ubatuba), face abaxial h. Detalhe de G. hyacinthina (Ubatuba), face abaxial i. G. intermedia (São José do Barreiro), face abaxial j. Detalhe de G. intermedia (São José do Barreiro), face abaxial k. G. hyacinthina (Parati), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial l. G. intermedia (São José do Barreiro), face adaxial m. G. concinna, face adaxial n. Detalhe de G. concinna, face adaxial o. Worsleya rayneri, face adaxial. p. Detalhe de W. rayneri, face adaxial.

4.1.1 Padrões de ornamentação (estrias)

Os padrões de estrias formadas pelo espessamento péctico da parede periclinal externa junto à cutícula (PPEC) evidenciaram similaridades entre as espécies dos complexos morfológicos que auxiliaram no agrupamento e distinção entre as mesmas (Tabela 3).

A epiderme das folhas nas espécies do Complexo "*Hyline*" apresentam apenas estrias transversais delgadas (padrão I) e estrias transversais com limites definidos (II) foram observadas nas faces adaxiais das folhas de *G. alba* e *G. gardneriana* (Jaíba). *Cearanthes fuscoviolacea* apresentou (II) padrão de estrias semelhante ao observado para as espécies de *Hyline*.

Uma maior variação no padrão de estrias epidérmicas foi observada para o Complexo das "Libonianas". Estrias transversais com limites definidos (II) foram comuns a ambas as faces da epiderme das folhas de *G. rochae* e do híbrido de *G. liboniana* (Campos-Rocha, 1382 x 833). Estrias transversais delgadas (I) ocorreram em três acessos de *G. liboniana* (19,20 e 21). O padrão de estrias do tipo III foi observado entre *G. liboniana* (Baixo Cariri) e *G. meerowiana*, com estrias tanto transversais quanto longitudinais delgadas. Apenas um dos acessos de *G. liboniana*, Ituberá, apresentou estrias transversais e longitudinais com limites definidos (IV). Mesmo não sendo incluída neste complexo morfoespecífico, *G. albolineata* apresentou padrão de estrias transversais com limites definidos (II), semelhante à *G. rochae* e um dos acessos cultivares de *G. liboniana* (17).

A face adaxial das folhas dos acessos do Complexo "espiritensis-paubrasilica" apresentou igualmente estrias transversais e longitudinais com limites definidos (IV). Todavia, os três acessos apresentaram diferentes padrões de estrias na face abaxial de suas folhas: estrias transversais com limites definidos em *G. espiritensis* (Domingos Martins) (II) e estrias transversais e longitudinais com limites definidos no acesso de São Fidélis (IV). Já *G. paubrasilica* apresentou estrias transversais e longitudinais definidos (III).

As "*Griffinia* de grande porte" apresentaram tipos diferentes de ornamentação das estrias nas células epidérmicas. *Griffinia ornata* e *G. capixabae* mostraram os tipos menos complexos de ornamentação, com estrias transversais delgadas (I) e, somente na face abaxial de *G. capixabae*, observamos estrias transversais e longitudinais com limites definidos entre as células. As demais espécies deste grupo apresentaram os tipos mais complexos de ornamentação nas estrias epidérmicas. A face adaxial da epiderme de praticamente todos os acessos de *G. concinna*, *G. hyacinthina* e *G. intermedia* apresentaram estrias emolduradas, com arranjo de estrias transversais e longitudinais formando uma moldura no contorno de cada célula epidérmica. Quanto à face abaxial, o padrão reticulado de estrias transversais e

longitudinais ocorreu na maior parte das espécies, exceto em *G. hyacinthina* (Parati) que apresentou apenas estrias transversais espessadas, padrão diferenciado observado somente em ambas as faces de *G. itambensis*. Foi observada a presença de cera epicuticular em apenas uma das espécies de *Griffinia* analisadas. A face adaxial da epiderme de *G. parviflora* apresentou cera epicuticular enquanto que estrias transversais delgadas foram observadas na face abaxial.

Quanto aos demais gêneros da tribo, *E. lagopaivae* mostrou estrias transversais delgadas na face adaxial enquanto *E. blumenavia* apresentou estrias longitudinais com maior espessamento péctico na porção central da parede periclinal externa, ornamentação que, em secção transversal evidencia o padrão coronulado observado nas células epidérmicas desta espécie. A face abaxial de ambas as espécies apresentou estrias transversais com limites definidos. Estrias paralelas espessadas com projeções papiliformes (X) foram observadas em ambas as faces da epiderme nas folhas de *W. rayneri*.

Tabela 3: Padrões de estrias, por ordem de espessamento e tipo de ornamentação, identificados em Microscopia Eletrônica de Varredura na superfície das lâminas foliares na região intermediária (entre nervura central e margem) em espécies da tribo Griffinieae subdivididos em complexos morfológicos. **Legenda:** PRL = paralelas, <u>PPD = perpendiculares</u>.

		Faces das lâminas foliares na região mediana		
Complexos morfológicos	Espécies	Adaxial	Abaxial	
	G. alba	PPD.; limites definidos	PPD, delgadas	
Complexo "Hvline"	G. gardneriana (7)	PPD; limites definidos	PPD, delgadas	
	G. gardneriana (8)	PPD, delgadas	PPD, delgadas	
	G. nocturna	PPD, delgadas	PPD, delgadas	

	G. rochae	PPD; limites definidos	PPD; limites definidos
	G. liboniana (16)	PPD/PRL; limites definidos	PPD/PRL; limites definidos
	G. liboniana (17)	PPD; limites definidos	PPD; limites definidos
Complexo "Liboniana"	G liboniana (19)	PPD, delgadas	PPD, delgadas
	G. liboniana (20)	PPD, delgadas	PPD/PRL delgadas
	G. liboniana (21)	PPD, delgadas	PPD/PRL delgadas
	G. liboniana (22)	PPD/PRL delgadas	PPD/PRL delgadas
	G. meerowiana	PPD/PRL delgadas	PPD/PRL delgadas

Complexo	G. paubrasilica	PPD/PRL; limites definidos	PPD/PRL delgadas
"Espiritensis-paubrasilica"	G. espiritensis (5)	PPD/PRL; limites definidos	PPD; limites definidos
F F	G. espiritensis (6)	PPD/PRL; limites definidos	PPD/PRL; limites definidos

	G. concinna	Emolduradas (dupla)	Reticuladas
	G. hyacinthina (10)	Emolduradas (dupla)	Emolduradas (dupla)
	G. hyacinthina (11)	Emolduradas (dupla)	PPD, espessadas
Complexo "Griffinia de	<i>G. intermedia</i> (12)	Emolduradas (dupla)	Reticuladas
grande porte"	<i>G. intermedia</i> (13)	Reticuladas	Reticuladas
	<i>G. intermedia</i> (14)	Emolduradas (dupla)	Reticuladas
	G. ornata	PPD, delgadas	PPD, delgadas
	G. capixabae	PPD, delgadas	PPD/PRL; limites definidos

G. parviflora	Irregular com presença de cera	PPD, delgadas	
G. albolineata	PPD; limites definidos	PPD; limites definidos	
E. lagopaivae	PPD, delgadas	PPD; limites definidos	
C. fuscoviolacea	PPD/PRL delgadas	PPD; limites definidos	
E. blumenavia	PRL, espessamento central	PPD; limites definidos	
G. itambensis	PPD, espessadas	PPD, espessadas	
W. rayneri	PRL, espessas com projeções	PRL, espessas com projeções	



célula);

VI) Reticuladas

formando uma rede);

(estrias perpendiculares e paralelas

57

4.2 Morfoanatomia do pseudopecíolo ou base

O contorno do pseudopecíolo em secção transversal observado para as espécies de Griffinieae variou entre quatro formas principais: canaliculado, podendo apresentar face adaxial levemente côncava (Fig. 7a) em *G. gardneriana*, ou profundamente côncava (Fig. 7b), como observado para *G. nocturna*; alado (Fig. 7c), como em *G. espiritensis* (Domingos Martins); depresso obovado (Fig. 7d) ou elíptico (Fig. 7e), observados em *G. hyacinthina* e *Cearanthes fuscoviolacea*, respectivamente. *Worsleya rayneri* não possui pseudopecíolo diferenciado, apresentando a base da folha sem estreitamento evidente como em outras espécies da tribo (Fig. 7f). A estrutura anatômica geral dos pseudopecíolos em secção transversal é caracterizada por uma camada de células epidérmicas, diversas camadas de tecido parenquimático onde estão distribuídos ordenadamente os feixes vasculares podendo, eventualmente, ser observada a presença de aerênquima. Não foi registrada a presença de tecido esclerenquimático no pseudopecíolo das espécies analisadas (Fig. 7a-f).

A epiderme é uniestratificada com células geralmente retangulares altas e com paredes celulares espessadas por toda a extensão do tecido. O espessamento parietal péctico das células epidérmicas apresentou-se de três formas distintas quanto ao número de paredes espessadas: apenas a parede periclinal externa (PPE), tanto parede periclinal externa quanto interna espessadas (PPE+PI) ou todas as paredes periclinais e anticlinais espessadas (PPE+PI+PA). A presença de espessamento péctico restrito à parede periclinal externa (PPE) foi observada em diferentes espécies de Griffinieae, como em *G. gardneriana* (Jaíba) (Fig. 8a). Espessamento péctico parietal tanto da parede periclinal externa quanto interna (PPE+PI) ou PPEI) das células epidérmicas do pseudopecíolo foi observado em *G. alba* (Fig. 8b). O espessamento péctico de ambas as paredes periclinais, externa e interna, como também das paredes anticlinais (PPE+PI+PA ou PPEIA), foi observado na epiderme do pseudopecíolo de *C. fuscoviolacea* (Fig. 8c).

A parede periclinal externa das células da epiderme, quando associadas à cutícula, pode ou não formar estrias com um padrão de ornamentação distinguível em vista frontal nos pseudopecíolos. Em secção transversal, este conjunto "parede periclinal externa e cutícula" (PPE+C ou PPEC) evidenciou três tipos diferentes de contorno: eroso (irregular), como observado em *G. hyacinthina* (Parati) (Fig. 8d); denticulado, em *G. intermedia* (Mangaratiba) (Fig. 8e) e coronulado, exclusivamente em *Worsleya* (Fig. 8f).

A presença de uma ou mais camadas de células subepidérmicas com parede celular primária espessada foi identificada em três espécies, *G. hyacinthina*, nos indivíduos de ambas localidades, *C. fuscoviolacea* e *W. rayneri*. Nos dois acessos de *G. hyacinthina* foi observada

apenas uma camada de células subepidérmicas com parede primária espessada (Fig. 9a). Em *C. fuscoviolacea*, foram observadas cerca de quatro a cinco camadas de células subepidérmicas com parede primária espessada (Fig. 9b) as quais, em secção longitudinal (Fig. 9c), são mais alongadas que as demais células parenquimáticas do pseudopecíolo, evidenciando, no caso desta espécie, a presença de colênquima. Para *W. rayneri*, a presença de colênquima é restrita a cerca de quatro a cinco camadas de células da extensão da bainha dos feixes vasculares, próximas às faces da epiderme, alternadas com parênquima clorofiliano, ainda mais observável em luz polarizada (Fig. 9d). As demais espécies da tribo não possuem este tipo de espessamento péctico parietal no pseudopecíolo. O mesofilo nos pseudopecíolos apresentou em todas as espécies analisadas uma grande quantidade de idioblastos com mucilagem no interior do vacúolo, como constatado em *G. liboniana* (Fig. 9e), e cristais de oxalato de cálcio geralmente em forma de ráfides *G. intermedia* (Mangaratiba) (Fig. 9f).

Em relação ao número de feixes vasculares nos pseudopecíolos de Griffinieae em secção transversal, as espécies foram subdivididas em quatro categorias: I. até vinte feixes vasculares; II. entre vinte e trinta feixes vasculares; III. entre trinta e quarenta feixes vasculares e IV: acima de quarenta feixes vasculares. Os valores mínimos para o número de feixes vasculares nas plantas examinadas foram observados em indivíduos de *G. paubrasilica* (15-16) e em *Eithea lagopaivae* (11-14). Valores intermediários e incluídos na categoria II, entre vinte e trinta feixes vasculares, foram observados, por exemplo, em *G. concinna* (29), *G. gardneriana* (17-23) e *G. hyacinthina* (ca. 20). Valores máximos observados e incluídos na categoria III, acima de trinta feixes vasculares, foram observados em *G. albolineata* (31-40), *G. nocturna* (31) e *G. intermedia* (37), por exemplo.



Figura 7: Contorno do pseudopecíolo de espécies de Griffinieae, em secção transversal. a. *Griffinia gardneriana* (Jaíba), notar pseudopecíolo levemente canaliculado. b. *G. nocturna*, notar pseudopecíolo profundamente canaliculado. c. *G. espiritensis* (Domingos Martins), notar pseudopecíolo alado. d. *G. hyacinthina* (Ubatuba), notar pseudopecíolo depresso-obovado, e. *Cearanthes fuscoviolacea*, notar pseudopecíolo elíptico. f. *Worsleya rayneri*. Legendas: aer = aerênquima; fab = face abaxial; fad = face adaxial; fv = feixe vascular. Escala: a,d,e: 1000 µm; b,c: 500 µm; f: 200 µm.





Figura 8: Características epidérmicas do pseudopecíolo de espécies de Griffinieae, em secção transversal. a-c: Espessamento parietal péctico das células epidérmicas em secção transversal. **d-f:** Ornamentação da parede periclinal externa e cutícula (PPEC) nas células epidérmicas em secção transversal. **a.** *Griffinia meerowianna*, notar o espessamento da parede periclinal externa. **b.** *G. alba*, notar o espessamento tanto da parede periclinal externa quanto da parede periclinal intera. **c.** *Cearanthes fuscoviolacea*, notar o espessamento das paredes periclinal externa, interna e das paredes anticlinais. **d.** *G. hyacinthina*, notar o padrão eroso de ornamentação da PPEC. **e.** *G. intermedia*, notar o padrão denticulado de ornamentação da PPEC. **f.** *Worsleya rayneri*, notar o padrão de ornamentação coronulado. **Legendas:** Cut = cutícula; Ep = epiderme; PA = parede anticlinal; PPE = parede periclinal externa; PPI = parede periclinal interna. **Escala:** a-f: 20 µm.



Figura 9: Caracterização do mesofilo de pseudopecíolos de espécies da tribo Griffinieae. a-b, d-e: secções transversais. c,f: secções longitudinais. **a.** *Griffinia hyacinthina*, notar a camadas subepidérmicas com espessamento péctico da parede celular (seta vermelha) **b.** *Cearanthes fuscoviolacea*, notar camadas de células subepidérmicas (seta vermelha), idioblasto com ráfide (cabeça de seta) e idioblastos com compostos fenólicos (estrelas vermelha) e idioblastos com compostos fenólicos (estrelas vermelha), notar a presença de idioblastos com compostos fenólicos (estrelas vermelha), notar a presença de idioblastos com compostos com compostos fenólicos (estrelas vermelha) e idioblastos com compostos fenólicos (estrelas vermelha) d. Worsleya rayneri, notar camadas subepidérmicas de colênquima (seta vermelha). **e.** *G. liboniana* (Ilhéus), notar a presença de idioblastos com conteúdo mucilaginoso (setas pretas) e misto, com ráfides e mucilagem (cabeça de seta preta). **f.** *G. intermedia* (Mangaratiba), notar idioblastos com ráfides alongados longitudinalmente. Legendas: Epi = epiderme. Escala: c: 100 µm; d-f: 50 µm; a-b: 20 µm.

4.3. Morfoanatomia da região intermediária

As lâminas foliares das espécies de Griffinieae são planas, bifaciais e possuem estrutura anatômica padrão, como observado na secção transversal de *G. concinna*, composta por epiderme uniestratificada em ambas as faces, mesofilo podendo ser dorsiventral ou isolateral composto por células de parênquima clorofiliano do tipo braciforme, feixes vasculares colaterais, geralmente elípticos, equidistantes de ambas as faces e alternados, eventualmente, com aerênquima (Fig. 10a, 10e-f). As células epidérmicas na face adaxial das folhas analisadas apresentaram-se ligeiramente mais retangulares na face abaxial, como observado para *G. concinna*, ou de contorno mais uniforme como em *G. nocturna* (Fig. 10b). A presença de cutícula delgada (inferior a 2 μ m) foi observada para a maior parte das espécies, com exceção de ambos os acessos de *G. hyacinthina* (Fig. 10c) e *W. rayneri* (Fig. 10d) que apresentaram cutícula espessa (superior a 2 μ m).

Espessamento péctico de parede periclinal externa (PPE) foi observado para a epiderme de todos os acessos analisados, como em *G. hyacinthina* (Fig. 10c). A única espécie para a qual foi observado espessamento péctico de parede periclinal tanto externa quanto interna (PPEI) foi *W. rayneri* (Fig. 10d).

Quanto à estrutura do mesofilo nas folhas de todas as espécies da tribo Griffinieae, foram identificados dois tipos de organização, podendo o mesmo ser subdividido em duas ou três regiões distintas. Nas folhas cujo mesofilo é dorsiventral, subdividido em duas regiões distintas, as células braciformes próximas à epiderme da face adaxial, apresentam-se mais densamente agrupadas, ou seja, com espaços intercelulares menos conspícuos, como o observado nas folhas de G. meerowiana (Fig. 10e). Em outros acessos, o mesofilo é isolateral e subdividido em três regiões, demarcado pela presença de espaços intercelulares mais conspícuos entre os feixes vasculares, com presença de parênquima aquífero formado por células alongadas sem espessamento parietal péctico como ocorre em G. alba (Fig. 10f), ou com célula alongada com espessamento péctico da parede celular, como em ambos os acessos de G. hyacinthina (Fig. 10c). As células parenquimáticas do tipo braciforme que compõem o mesofilo das folhas possuem diferentes contornos em secção longitudinal, variando desde contorno em cruz (Fig. 10g) a irregular (Fig. 10h). Idioblastos com cristais de oxalato de cálcio em forma de ráfides foram observados para a lâmina foliar de praticamente todas as espécies analisadas. Secções longitudinais revelam que estes idioblastos são mais alongados em relação às demais células parenquimáticas do tipo braciforme, como observado em G. liboniana (Salto da Divisa) (Fig. 10i). Além deste tipo de cristal, foram registrados para G. *hyacinthina* e *G. ornata* idioblastos com cristais de oxalato de cálcio em forma de drusas (Fig. 10j).

Os feixes vasculares colaterais, em secção transversal, são elípticos, como em G. concinna, G. nocturna e G. hyacinthina (Fig. 10a-b). Nestas espécies e nos demais acessos analisados, a bainha do feixe vascular apresenta-se ininterrupta, sem espessamento parietal, com exceção de G. hyacinthina. Extensões da bainha do feixe vascular foram observadas apenas em W. rayneri, com células densamente agrupadas do feixe vascular às faces da epiderme (Fig. 10d). Geralmente, nessa região da folha, além dos demais componentes do tecido, entre 3-8 elementos de vaso compõem cada unidade vascular, sendo que a quantidade de elementos de vaso pode aumentar em direção à nervura central, onde os feixes vasculares são maiores e diminuir em direção às margens foliares, com feixes menores. A presença de células com espessamento péctico de parede celular nos feixes vasculares ocorre em representantes dos gêneros Griffinia e Worsleya. Para o gênero Worsleya, o espessamento péctico se restringe às células do floema (floema nacarado, Fig. 10k, ver seta), subdividindo o tecido em duas regiões, uma com paredes bastante espessadas e outra adjacente ao xilema, todavia foi possível observar células companheiras em ambas as regiões. Nas espécies do gênero Griffinia, esse tipo de espessamento péctico pode estender-se às regiões parenquimáticas do xilema e da bainha, como em G. hyacinthina (Ubatuba) (Fig. 10l, setas).



Figura 10: Caracterização morfoanatômica da região intermediária na região mediana das folhas de espécies da tribo Griffinieae. a-f, j-l: Secções transversais. g-i: Secções longitudinais. a. *Griffinia concinna*, notar a estrutura anatômica geral do mesofilo isolateral, presença de células do parênquima aquífero com espessamento péctico na parede celular (seta). b. *G. nocturna*, notar mesofilo dorsiventral. c. *G. hyacinthina* (Ubatuba), notar mesofilo isolateral, cutícula espessa (cabeça de seta) e presença de células do parênquima aquífero com espessamento péctico na parede celular (setas) d. *Worsleya rayneri*, notar mesofilo isolateral, cutícula espessa (cabeça de seta) e presença de células parenquimata aquífero com espessamento péctico na parede celular (setas) d. *Worsleya rayneri*, notar mesofilo isolateral, cutícula espessa (cabeça de seta) e extensão da bainha do feixe vascular. e. *G. meerowiana*, notar mesofilo dorsiventral. f. *G. alba*, notar mesofilo isolateral. g-h. *G. albolineata*. g. Células parenquimáticas do tipo braciforme com contorno em X. h. Células parenquimáticas do tipo braciforme com contorno irregular. i. *G. espiritensis* (São Fidélis), notar idioblasto alongado com ráfide (seta). j. *G. ornata*, notar idioblasto com drusas. k. *W. rayneri*, notar feixe vascular com floema nacarado (seta), espessamento péctico na porção central do tecido. l. *G. hyacinthina* (Ubatuba), notar espessamento péctico de parênquima do floema, do xilema e de células da bainha do feixe vascular (setas). Legendas: bcf = célula braciforme; fab = face abaxial da epiderme; fad = face adaxial da epiderme; Fl = floema; fv = feixe vascular; Xi = xilema. Escala: a-f:50 μm; k-l: 20 μm; g-j: 10 μm.

4.4 Morfoanatomia da região central

Em secção transversal, a região central das folhas nas espécies de Griffinieae apresentou contorno de três formas distintas: I. Ausência de saliência na região central, com faces paralelas entre si, conforme o observado para *Worsleya rayneri* que exibe folhas planas (Fig. 11a) e para os acessos de *G. nocturna* com folhas levemente canaliculadas (Fig. 11b). II. Saliente abaxialmente, a região central apresenta saliência na face abaxial da epiderme, com contorno arredondado ou levemente agudo, observado em *G intermedia* (Fig. 11c) e *G. albolineata*, respectivamente (Fig. 11d); e III. Saliente em ambas as faces da epiderme, a região da nervura central apresenta saliência tanto na face abaxial quanto na adaxial, observado em *G. hyacinthina* (Fig. 11e).

O número de feixes vasculares presentes na região central da lâmina foliar variou entre as espécies analisadas. A quantidade mínima de três feixes vasculares foi observada para a maioria das espécies, como em *Eithea lagopaivae* (Fig. 11f). Algumas espécies, como *G. concinna* (Fig. 11fg) apresentam cinco feixes vasculares na região central. *Griffinia ornata* e *G. intermedia* possuem as maiores folhas encontradas para o gênero, tendo sido observados sete e oito feixes vasculares, respectivamente, na região central da folha.

A presença de espaços intercelulares formando lacunas de aerênquima na nervura central foi observada para basicamente todas as espécies analisadas, como *G. paubrasilica* (Fig. 11h). Contudo, as lacunas de aerênquima podem ser mais ou menos conspícuas, dependendo da espécie. A ausência de aerênquima na região da nervura central foi registrada apenas para um dos indivíduos de *G. gardneriana* (Jaguaré).



Figura 11: Caracterização morfoanatômica da região central em folhas de espécies da tribo Griffinieae. a. *Worsleya rayneri*, notar faces epidérmicas paralelas (setas) e ausência de saliência na região central. **b.** *G. nocturna*, notar a ausência de saliência na região central com ambas as faces paralelas entre si. **c.** *G. intermedia*, notar saliência arredondada da face abaxial (seta maior) e a presença de sete feixes vasculares na região (setas menores). **d.** *G. albolineata*, notar saliência com contorno levemente agudo (seta maior) e a presença de três feixes vasculares na região (setas menores) **e.** *G. hyacinthina* (Parati), notar saliência tanto da face abaxial quanto abaxial (setas maiores) e a presença de três feixes vasculares na região (setas menores). **f.** *Eithea lagopaivae*, notar a presença de lacunas de aerênquima na região central e a presença de três feixes vasculares (setas). **g.** *G. concinna*, notar cinco feixes vasculares na região central e saliências em ambas as faces da epiderme. **h.** *G. paubrasilica*, notar a presença de três feixes vasculares e a formação de lacunas de aerênquima na região. Legendas: aer = aerênquima; fab = face abaxial da epiderme; fad = face adaxial da epiderme; fv = feixe vascular. **Escala:** e,g: 1000 μm; b-d,f: 500 μm; h: 200 μm; f: 100 μm.

4.5 Morfoanatomia da margem

As margens na região mediana das folhas apresentaram-se planas somente em G. gardneriana (Fig. 12a) e Worsleya rayneri (Fig. 12g), arqueadas em direção à face abaxial na maioria dos acessos, como observado para G. albolineata (Fig. 12b) ou ainda recurvadas, como as folhas de G. espiritensis (Domingos Martins) (Fig. 12c). Cutícula delgada (menor que 2 µm de espessura) foi observada nas margens foliares para a maioria dos acessos, como observado em G. espiritensis (São Fidélis) (Fig. 12d). Cutícula espessa (acima de 2 µm de espessura) em algumas espécies como G. hyacinthina (Parati) (Fig. 12e) ou ainda, além de espessa, formando flanges cuticulares sob as células epidérmicas, como observado em outro acesso de G.hyacinthina (Ubatuba, ver seta) (Fig. 12f) e W. rayneri (Fig. 12k). Quanto ao contorno das células epidérmicas nas margens foliares, foram observadas células quadrangulares na maior parte das espécies analisadas, como em G. paubrasilica (Fig. 12g). Contorno do tipo coronulado (em forma de coroa pequena, em secção transversal) foi constatado para G. liboniana (Salto da Divisa) (Fig. 12h), G. meerowiana, G. rochae e para as duas espécies de Eithea. Na extremidade da margem foliar, foram observadas células papilosas em Cearanthes (Fig. 12i) e superfície levemente papilosa em G. ornata (Fig. 12j). Para W. ravneri, o espessamento cuticular e as flanges cuticulares sobrepõem-se às células com contorno papiloso (Fig. 12k).



Figura 12: Caracterização morfoanatômica das margens foliares na região mediana de espécies da tribo Griffinieae. a-k: Secções transversais. a. *Griffinia gardneriana*, notar margem plana. b. *G. albolineata*, notar margem arqueada em direção à face abaxial. c. *G. espiritensis* (Domingos Martins), notar margem recurvada. d. *G. espiritensis* (São Fidélis), notar contorno quadrangular das células da epiderme e cutícula delgada (cabeça de seta). e. *G. hyacinthina* (Parati), notar cutícula espessa (cabeça de seta). f. *G. hyacinthina* (Ubatuba), notar a presença de flanges cuticulares (seta preta) e cutícula espessa (cabeça de seta). g. *G. paubrasilica*, notar contorno quadrangular das células da eiderme. h. *G. liboniana* (Salto da Divisa), notar contorno coronulado nas células epidérmicas (seta preta). i. *Cearanthes fuscoviolacea*, notar presença de papilas na epiderme (seta vermelha) e contorno coronulado em células epidérmicas. j. *G. ornata*, notar a superfície levemente papilosa na extremidade da margem foliar. k. *Worsleya rayneri*, notar a presença de cutícula espessa (cabeça de seta) e flanges cuticulares (seta preta). Legendas: Epi = epiderme; fab = face abaxial da epiderme; fad = face adaxial da epiderme; fv = feixe vascular. Escala: a-c 100 µm; h-i,k: 50 µm; d-f, j: 20 µm.

4.6 Morfoanatomia da região apical

Nas secções transversais da região apical da lâmina foliar foi possível observar um panorama geral similar ao restante das lâminas foliares analisadas. A região apical das folhas de *G. hyacinthina* (Parati) apresentou, na região da nervura central, saliência pronunciada na face adaxial, diferentemente do observado na região central, além de uma maior quantidade de parênquima aquífero interfascicular com espessamento parietal péctico (Fig. 13a). Em algumas espécies foi possível observar um aumento na quantidade de aerênquima comparando com as observações das lâminas foliares na região mediana, como em *G. meerowiana* (Fig. 13b). Representantes de outros complexos morfológicos não apresentaram variação significativa na quantidade de aerênquima observada no ápice foliar, como *G. espiritensis* (Fig. 13c) e *G. nocturna* (Fig. 13d). No ápice das folhas de *Eithea*, foi possível observar a formação de grandes lacunas de aerênquima principalmente na região da nervura central (Fig. 13e).

Os feixes vasculares à medida que se distanciam da região mediana da folha e se aproximam do ápice convergem e se fundem, sofrendo anastomoses. Dessa forma, foi possível observar uma significativa redução no número de feixes do ápice foliar em relação aos do pseudopecíolo para algumas espécies, dividindo-as em dois grupos: I. espécies que tiveram uma redução maior ou igual a 15% no número de feixes e II. espécies que tiveram uma redução menor que 15% no número de feixes vasculares. Um dos exemplos onde houve grande redução do número de feixes vasculares entre a base ou pseudopecíolo e o ápice foliar é *C. fuscoviolacea* com redução de 55% no número de feixes vasculares. *Eithea lagopaivae*, *G. espiritensis* (São Fidélis) e *G. gardneriana* foram espécies cujo número de feixes vasculares entre as duas regiões da folha não tiveram alteração (0% de variação).



Figura 13: Caracterização morfoanatômica da região apical em folhas de espécies de Griffinieae. a. *Griffinia hyacinthina* (Parati), notar parênquima aquífero com células apresentando espessamento péctico da parede celular (seta vermelha) b. *G. meerowiana*, notar lacunas de aerênquima. c. *G. espiritensis* (Domingos Martins), notar lacuna de aerênquima d. *G. nocturna*, notar lacunas de aerênquima. e. *Eithea lagopaivae*, notar lacunas de aerênquima. Legendas: aer = aerênquima; fab = face abaxial da epiderme; fad = face adaxial da epiderme. Escala: a-d: 1000 µm; e: 100 µm.

4.7 Testes histoquímicos

Na região intermediária das folhas analisadas foram observadas diferenças quanto à espessura da cutícula nas células epidérmicas. A maioria dos acessos analisados apresentou cutícula delgada (menor que 2 µm), como observado para *G. alba* (Fig. 14a), enquanto espécies como *G. concinna* e *G. hyacinthina* (Fig. 14b) apresentaram cutícula espessa (maior que 2 µm). A cutícula mais espessa observada entre as espécies de Griffinieae pertence à *Worsleya rayneri*. Nesta espécie, o teste com Sudan IV revelou a cutícula, sua espessura e delimitou mais precisamente a parede periclinal externa das células epidérmicas em diferentes regiões da folha, como na região intermediária (Fig. 14c) e próxima à margem (Fig. 14d).

A composição da cutícula e, particularmente, da parede celular mostrou ausência de lignificação observada pelos testes realizados com reagente de Mäule (Fig. 14e) e Floroglucinol (Fig. 14f). Secções transversais das folhas de *W. rayneri* revelaram a presença de cutícula sobre as células-guarda e subsidiárias no interior da câmara subestomática.

Testes com Vermelho de Rutênio evidenciaram a natureza péctica do espessamento tanto da parede periclinal externa quanto da parede periclinal interna na epiderme e nas camada de célula subepidérmicas em diferentes espécies, como em *W. rayneri* (Fig. 14h) e *G. hyacinthina* (Fig. 14i). O mesmo teste mostrou acúmulo de pectina na parede celular de elementos dos feixes vasculares de *G. hyacinthina* nas regiões opostas ao floema e ao xilema, como também em células da bainha do feixe vascular (Fig. 14j). As células parenquimáticas e dos elementos de tubo crivado do floema nos feixes vasculares de *W. rayneri* não apresentaram coloração positiva para pectina à porção que corresponderia ao floema nacarado (Fig. 14k). A observação de secções longitudinais da região intermediária das folhas de *G. hyacinthina* em luz polarizada revelou um pronunciado espessamento celulósico das células do parênquima aquífero, localizado na região interfascicular (Fig. 14l) e a natureza péctica desse espessamento de parede também foi confirmada pelo teste com Vermelho de Rutênio (Fig. 14m).


Figura 14: Testes histoquímicos realizados na região intermediária e na margem em folhas de espécies da tribo Griffinieae. a-k: Secções transversais. l-m: Secções longitudinais. a. *Griffinia alba*, notar cutícula delgada. b. *G. hyacinthina*, notar cutícula espessa. c-h: *Worsleya rayneri*, notar espessamento da cutícula, limite entre cutícula e parede periclinal externa (seta). c-d,g: Sudan IV, notar espessamento de cutícula e formação de flanges cuticulares. e. Reagente de Mäule, notar a formação de flanges cuticulares. f. Floroglucinol. h. Vermelho de Rutênio. i-j: *G. hyacinthina*, notar espessamento péctico da parede celular de células dos feixes vasculares

(cabeça de seta). **k.** *W. rayneri*, notar as células espessadas no floema (cabeça de seta). **l-m.** *G. hyacinthina*. **l:** luz polarizada, notar o espessamento das células do parênquima aquífero. **m.** Vermelho de Rutênio, notar o espessamento das células alongadas. **Legendas:** bfv = bainha do feixe vascular; cg = célula-guarda; cut = cutícula; fab = face abaxial da epiderme; fad = face adaxial da epiderme; Flo = floema; Xi = xilema; **Escalas:** l: 100 μ m f: 50 μ m; a-b,d-e,i-k,m: 20 μ m; c,g-h: 10 μ m.

4.8 Seleção de caracteres morfoanatômicos

As análises das folhas de Griffinieae revelaram a existência de características morfoanatômicas semelhantes e variáveis entre os táxons da tribo. Foram escolhidas características específicas de cada região delimitada das folhas, sendo, pseudopecíolo (ou base da folha), margem, lâmina e nervura central na região mediana do órgão e ápice foliar. O panorama de variação observado para as espécies foi codificado na forma de 28 características e seus respectivos estados de caráter, listados a seguir. A matriz gerada com as características e os respectivos estados de caráter está sumarizada na Tabela 4.

Quanto ao pseudopecíolo e/ou base da folha:

1. Contorno do pseudopecíolo em secção transversal:

- 0. Canaliculado
- 1. Alado
- 2. Depresso-obovado
- 3. Elíptico

2. Ornamentação da parede periclinal externa e cutícula (PPEC) nas células epidérmicas em secção transversal:

- 0. Ausente
- 1. Eroso
- 2. Denticulado
- 3. Coronulado

3. Espessamento parietal péctico das células epidérmicas em secção transversal:

- 0. PPE (parede periclinal externa)
- 1. PPE + PPI (paredes periclinais externa e interna)
- 2. PPE + PPI + PA (paredes periclinais e anticlinais)

4. Camada(s) de células espessadas subepidérmicas em secção transversal:

- 0. Ausente
- 1. Presente

5. Número de feixes vasculares no pseudopecíolo em secção transversal:

- 0. Até 20 feixes vasculares
- 1. De 21 a 30 feixes vasculares
- 2. De 31 a 40 feixes vasculares
- 3. Acima de 41 feixes vasculares

Quanto à lâmina foliar na região mediana:

6. Espessamento da cutícula em secção transversal:

- 0. Delgada
- 1. Espessa

7. Espessamento parietal péctico das células epidérmicas em secção transversal:

- 0. PPE (parede periclinal externa)
- 1. PPE + PPI (paredes periclinais externa e interna)

8. Tipo de mesofilo em seção transversal

- 0. Dorsiventral
- 1. Isolateral

9. Presença de aerênquima no mesofilo:

0. Ausente

1. Presente em forma de lacunas sem espessamento péctico de parede celular primária

2. Presente em forma de lacunas com espessamento péctico de parede celular primária

10. Espessamento péctico de parede celular em células dos feixes vasculares:

- 0. Ausente
- 1. Presente

11. Extensão de bainha dos feixes vasculares:

- 0. Ausente
- 1. Presente

Quanto à nervura central foliar na região mediana:

12. Contorno da nervura central em secção transversal:

- 0. Ausência de saliência
- 1. Presença de saliência na face abaxial
- 2. Presença de saliência em ambas as faces

13. Número de feixes vasculares na nervura central em secção transversal:

- 0. Zero
- 1. Até 3 feixes vasculares
- 2. Até 5 feixes vasculares
- 3. Acima de 5 feixes vasculares

Quanto à margem foliar na região mediana

14. Contorno da margem foliar em secção transversal:

- 0. Plano
- 1. Arqueado abaxialmente
- 2. Recurvado abaxialmente

15. Cutícula das células epidérmicas na margem foliar em secção transversal:

- 0. Delgada
- 1. Espessa
- 2. Espessa com flange cuticular

16. Contorno das células epidérmicas na extremidade da margem foliar em seção

transversal:

- 0. Quadrangular
- 1. Coronulado
- 2. Papiloso

Quanto ao ápice foliar na região mediana

17. Número de feixes vasculares no ápice foliar em secção transversal em relação ao número de feixes vasculares no pseudopecíolo:

- 0. Proporcionalmente igual ou com pequena redução (até 15% menor)
- 1. Proporcionalmente diferente, com grande redução (acima de 15%

menor)

Quanto aos estômatos:

18. Distribuição dos estômatos na epiderme:

- 0. Anfiestomática (estômatos da face adaxial distribuídos por todo limbo)
- 1. Anfiestomática (estômatos da face adaxial restritos à nervura central)
- 2. Hipoestomática

19. Na face adaxial, contorno das células epidérmicas em vista frontal:

- 0. Alongadas no mesmo sentido do eixo estomático
- 1. Curtas, não alongadas

20. Na face adaxial, aspecto das paredes anticlinais em vista frontal:

- 0. Retas
- 1. Sinuosas

21. Na face adaxial, contorno das células epidérmicas em relação à extremidade do maior eixo:

- 0. Agudo
- 1. Truncado

22. Na face abaxial, contorno das células epidérmicas em vista frontal:

- 0. Alongadas no mesmo sentido do eixo estomático
- 1. Curtas, não alongadas

23. Na face abaxial, aspecto das paredes anticlinais em vista frontal:

- 0. Retas
- 1. Sinuosas

24. Na face abaxial, contorno das células epidérmicas em relação à extremidade do maior eixo:

- 0. Agudo
- 1. Truncado

Quanto às características dos ambientes de ocorrência de cada espécie:

25. Altitude ou faixa de altitude em que a espécie ocorre:

- 0. 0 metros
- 1. 0-50 metros
- 2. 50-400 metros
- 3. 400-900 metros
- 4. Acima de 900 metros

26. Disponibilidade hídrica próxima ao local onde a espécie foi coletada:

- 0. Há disponibilidade hídrica (neblina, córrego ou nascente)
- 1. Não há disponibilidade hídrica

27. Característica geral do ambiente de ocorrência da espécie:

0. Seco (distribuição da pluviosidade durante o ano – estação seca longa: acima de quatro meses)

Úmido (distribuição da pluviosidade durante o ano – estação chuvosa contínua)

28. Fitofisionomia onde a espécie ocorre:

- 0. Floresta Ombrófila Densa (IBGE, 2012)
- 1. Floresta Estacional Semidecidual (IBGE, 2012)
- 2. Cerrado (IBGE, 2012)
- 3. Caatinga (IBGE, 2012)
- 4. Inselberg (Moraes, 2009)

	Espécies														Ca	aract	erísti	cas											
			2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1.	G. alba	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	2	1	0	0	1	2	0	1	1	0	1	1	2	0	1	1
2.	G. albolineata	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	3	0	1	0
З.	G. capixabae	0	2	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	2	1	0	0	1	2	0	1	1	0	1	1	2	1	1	1
4.	G. concinna	2	1	1	0	1	0	0	1	2	1	0	2	2	1	1	0	1	2	0	1	1	0	1	1	2	0	1	1
5.	G. espiritensis	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	2	1	2	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	3	1	1	1
6.	G. espiritensis	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	2	0	1	1
7.	G. gardneriana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	1	3
8.	G. gardneriana	0	2	1	1	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3
9.	G. gardneriana	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	1
10.	G. hyacinthina	2	1	0	1	0	1	0	1	2	1	0	2	1	1	2	0	1	2	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
11.	G. hyacinthina	2	0	1	1	0	1	0	1	2	1	0	2	1	1	1	0	1	2	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
12.	G. intermedia	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	3	0	0	0
13.	G. intermedia	0	0	1	0	2	0	0	1	1	0	0	1	2	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	4	0	0	0
14.	G. intermedia	0	2	1	0	2	0	0	0	1	0	0	1	3	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	3	0	1	0
15.	G. itambensis	2	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	1	1
16.	G. liboniana	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	2	0	1	1	0	1	1	2	0	1	1
17.	G. liboniana	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1				
18.	G. liboniana	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1				
19.	G. liboniana	1	2	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	2	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1
20.	G. liboniana	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
21.	G. liboniana	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	1	2	0	1	1	0	1	1	2	1	1	1
22.	G. liboniana	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1	1
23.	G. meerowiana	1	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	2	1	1	1
24.	G. nocturna	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	2	1	1	2
25.	G. ornata	0	2	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	3	1	0	2	1	2	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
<i>26</i> .	G. parviflora	2	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2	0	0	0	2	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0
27.	G. paubrasilica	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	1	0	0	0	2	0	1	1	0	1	1	2	0	0	1
28.	G. rochae	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	2	0	1	1	0	1	1	2	0	0	0
29.	C. fuscoviolacea	3	2	2	1	0	0	0	0	0	1	0	2	1	1	0	2	1	0	1	0	0	0	1	1	3	1	1	3
30.	W. rayneri	0	3	1	1	3	1	1	1	1	1	1	0	0	0	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4
31.	E. blumenavia	0	2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
32.	E. lagopaivae	1	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	1	1

Tabela 4: Matriz das características selecionadas e respectivos estados de caráter referentes às folhas das espécies da tribo Griffinieae (Amaryllidaceae). Os espaços em branco referem-se às características ambientais dos indivíduos cultivados.

4.9 Análise de Correspondência Múltipla

4.9.1 Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae incluindo variáveis ambientais



Figura 15: Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae incluindo variáveis ambientais. a. Projeções das duas primeiras dimensões (1) e (2). Notar o posicionamento de *Worsleya*. b. Projeções das dimensões (1) e (3), notar as elipses separando os três gêneros da tribo Griffinieae: *Griffinia* (roxo), Cearanthes (rosa) e *Worsleya* (azul). Os nomes em azul representam os acessos analisados e em vermelho as características morfoanatômicas utilizadas na matriz (Tabela 4).

A ACM para os 32 acessos analisados mostrou, num primeiro momento, que as dimensões 1 e 2 explicaram 24% e 13,4% das variáveis, respectivamente (Fig. 15a). A baixa porcentagem de explicação das variáveis (37,4%) sugere que, neste caso, a maioria das

características morfoanatômicas se sobrepõe na maioria das espécies do gênero *Griffinia*. Todavia, foi possível observar que *Worsleya* foi o táxon mais separado do conjunto de espécies. As dimensões 1 e 3 mostraram menor porcentagem de explicação das variáveis, sendo 24% e 9,9%, respectivamente. Nesta análise, houve maior separação entre os gêneros de Griffinieae, já que tanto *Worsleya* quanto *Cearanthes* aparecem separados de *Griffinia*. Além disso, ambos os acessos de *G. hyacinthina*, *G. concinna*, e dois acessos de *G. gardneriana* (71846 e Café) aparecem mais relacionados entre si. Sobretudo, houve sobreposição entre as demais espécies do gênero (Fig. 15b).



Figura 16:Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae incluindo variáveis ambientais. Eixos 1 e 2 com a distribuição das características qualitativas. **a.** Distribuição das variáveis qualitativas (em vermelho) que mais influenciaram a distribuição das espécies. **b.** Agrupamento categórico das variáveis que mais influenciaram a distribuição das espécies.

Ao observar as características pela ACM foi possível identificar quais variáveis mostraram-se mais relacionadas umas com as outras e, dessa forma, contribuíram ou não para a formação de um grupo específico ou separação de determinada espécie (Fig. 16a). As características que mais contribuíram para a separação de *Worsleya* foram: em relação à base da folha: o contorno do conjunto PPEC no pseudopecíolo e a quantidade de feixes vasculares; na lâmina foliar: presença de extensão da bainha do feixe vascular e presença de espessamento péctico da PPI nas células epidérmicas. Características como o contorno do pseudopecíolo, a presença de células espessadas no aerênquima, a presença de saliência na nervura central de ambas as faces das folhas na lâmina foliar e a presença de floema nacarado relacionam duas "*Griffinia* de grande porte", *G. hyacinthina* e *G. concinna*. (Fig. 16a-b)

4.9.2 Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae com exclusão das variáveis ambientais



Figura 17:Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae com exclusão das variáveis ambientais. a. Projeções por indivíduos com as duas primeiras dimensões (1) e (2). Notar a separação do gênero *Worsleya*, *Cearanthes* e os agrupamentos de espécies. b. Projeções das dimensões (1) e (3), notar o posicionamento dos gêneros *Worsleya* e *Cearanthes*. As elipses indicam os agrupamentos dos acessos. Em azul, os acessos analisados e em vermelho as características morfoanatômicas utilizadas na matriz.

A ACM para a tribo Griffinieae com exclusão das variáveis ambientais (caracteres 25, 26, 27 e 28) revelou que as dimensões 1 e 2 explicaram 21,1% e 12,1% da variação, respectivamente (Fig 17a). Quanto às dimensões 1 e 3, foi observado novamente 21,1% para o eixo 1 e 9,8 % para o eixo 3 (Fig. 17b). Os gêneros *Worsleya* e *Cearanthes* permaneceram

como táxons singulares em comparação com o restante da tribo, ou seja, com as espécies de *Griffinia*. Além da separação evidente dos dois gêneros, a distribuição dos indivíduos mostrou o agrupamento de *G. hyacinthina* e *G. concinna* na porção acima do conglomerado de espécies das outras *Griffinia*. Em adição, foi possível observar a separação de outro grupo de espécies formado por *G. itambensis*, *G. gardneriana*, *G. nocturna* e o grupo-externo *Eithea*. Dessa forma, tomamos a decisão de retirar os dois táxons para uma nova análise com o intuito de explorar as variáveis anatômicas apenas no gênero *Griffinia*, novamente excluindo as variáveis ambientais.



4.9.3 Análise de Correspondência Múltipla das espécies do gênero Griffinia

Figura 18: Análise de Correspondência Múltipla para o gênero *Griffinia*. a. Projeções por indivíduos com as duas primeiras dimensões (1) e (2). Notar a separação de dois grupos de espécies. b. Projeções das variáveis morfoanatômicas com as dimensões (1) e (2). Em vermelho, as características morfoanatômicas utilizadas na matriz.

A ACM para todos os acessos de *Griffinia* apresentou 17,6% de explicação no eixo 1 e 15,7% no eixo 2. As separações observadas nesta análise foram semelhantes às relatadas na ACM para a tribo com exclusão dos caracteres ambientais (Tabela 4, características 25-28). Foi possível observar novamente a separação de dois grupos de espécies, um deles formado pelos acessos de *G. hyacinthina* e *G. concinna*, e o outro grupo formado pelos acessos de *G. gardneriana* com ligeira proximidade de *G. itambensis* e *G. nocturna*. Quanto ao conglomerado de espécies no centro da análise, foi possível observar que o grupo das "*Griffinia liboniana*" forma um conjunto central enquanto as demais espécies e acessos

distribuem-se na periferia. Contudo, a maior parte das espécies do gênero *Griffinia* permanece sem maior definição (Fig. 18a).

Ao observarmos a distribuição das variáveis e a relevância dessas características morfoanatômicas no adensamento gráfico das espécies (Fig. 18b), as variáveis epidérmicas da folha foram significativas para a distribuição das espécies do subgênero *Hyline*, especialmente as características das células em vista frontal, como o contorno reto das paredes anticlinais e as extremidades agudas. Quanto ao agrupamento de *G. hyacinthina* e *G. concinna*, uma combinação de características observadas em toda a folha contribuíram para a separação dessas espécies, como o espessamento da cutícula na margem e lâmina foliar, presença de aerênquima com parede primária espessada e floema nacarado na lâmina foliar e a presença de camada de células espessadas subepidérmicas no pseudopecíolo. Tais características agrupam determinadas espécies e as separam, simultaneamente, de outras do mesmo gênero. Dessa forma, foi possível observar nesta análise que as características ou variáveis morfoanatômicas possibilitaram a formação de complexos morfológicos de espécies.



4.9.4 Análise de Correspondência Múltipla dos acessos de Griffinia liboniana

Figura 19: Análise de Correspondência Múltipla para os acessos de *Griffinia liboniana*. a. Projeções por indivíduos com as duas primeiras dimensões (1) e (2). Notar os valores das dimensões e a variação na separação entre os diferentes acessos da espécie. b. Projeções das variáveis morfoanatômicas (em vermelho) com as dimensões (1) e (2).

A ACM para os acessos de *G. liboniana* mostrou que os dois primeiros eixos explicaram a maior parte da variação neste grupo, sendo 29,8% para o eixo 1 e 23,2% para o eixo 2, com um total de 53%. Dentre todas as análises realizadas, foi possível observar que existe ampla variação entre os representantes de *G. liboniana*. Quanto aos indivíduos analisados (Fig. 19a), o acesso de *G. liboniana* de Itapebi (833) e *G. liboniana* de Lagoa Encantada (1494) mostraram maior variação em relação às demais espécies e a menor variação foi observada para *G. liboniana* 1492 e *G. liboniana* 1480. Quanto à distribuição das

variáveis e a sua contribuição para a separação das espécies, foi possível observar uma relativa contribuição de todas as variáveis ambientais. As variáveis morfoanatômicas que mais contribuíram para a separação das espécies deste grupo foram: no pseudopecíolo, o contorno e a quantidade de feixes vasculares; na margem, o contorno das células epidérmicas; na nervura central: a quantidade de feixes vasculares e a distribuição de saliência na região (Fig. 19b).

4.9.5 Análise de Correspondência Múltipla em espécies da tribo Griffinieae, exceto Worsleya, Cearanthes e acessos de Griffinia hyacinthina



Figura 20: Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae com exclusão de *Griffinia* hyacinthina e dos gêneros Worsleya e Cearanthes. a. Projeções por indivíduos com as duas primeiras dimensões (1) e (2). Notar a separação entre alguns acessos. b. Projeções das variáveis morfoanatômicas (em vermelho) com as dimensões (1) e (2).

A realização desta análise teve o objetivo de compreender a distribuição das características selecionadas entre as espécies de *Griffinia*. AMC das espécies da tribo Griffinieae, excluindo *Worsleya*, *Cearanthes* e *G. hyacinthina* revelou 20,7% de explicação no eixo 1 e 11,7% para o eixo 2 para as variáveis morfoanatômicas (Fig. 20a-b). As características que mais corroboram para a separação das espécies do subgênero *Hyline*, além de *G. itambensis* e o grupo externo *Eithea* estão, novamente, relacionadas às características da epiderme em vista frontal, como o contorno das paredes anticlinais e o tipo de terminação. Foi possível observar que existe relação entre as características da nervura central e do pseudopecíolo, particularmente quanto ao número de feixes vasculares. As variáveis que mais contribuíram para a separação de *G. intermedia* (Mangaratiba) das demais espécies foram:

número de feixes vasculares e contorno do pseudopecíolo e o contorno das células epidérmicas em vista frontal (Fig. 20a-b).

4.9.6 Análise de Correspondência Múltipla da tribo Griffinieae (apenas um acesso de cada espécie, incluindo variáveis ambientais)



Figura 21: Análise de Correspondência Múltipla para a tribo Griffinieae com apenas um acesso de cada espécie, incluindo variáveis ambientais. a. Projeções por indivíduos com as duas primeiras dimensões (1) e (2). Notar a separação entre os três gêneros da tribo. b. Projeções das variáveis morfoanatômicas com as dimensões (1) e (2). Em vermelho, as características morfoanatômicas utilizadas na matriz.

De forma arbitrária, selecionamos apenas um acesso de cada espécie da tribo Griffinieae deste estudo e realizamos a ACM. A análise teve uma explicação total de 35,5% sendo 22,5% referente ao eixo 1 e 13% referente ao eixo 2. A distribuição dos indivíduos (Fig. 21a) permaneceu significativa para os gêneros *Worsleya*, *Cearanthes* e *Griffinia*. Quanto às espécies do gênero *Griffinia*, foi possível observar a existência de uma padronização quanto a distribuição das variáveis anatômicas que preconiza evidente relação com a morfologia externa foliar.

A distribuição e o agrupamento de determinadas variáveis foram observados (Fig. 21b) relacionando características ambientais e morfoanatômicas. Nesta análise, a disponibilidade hídrica e a característica geral do ambiente de ocorrência das espécies apresentou relação com características como o espessamento péctico da parede periclinal externa na epiderme e contorno do pseudopecíolo. Além dessas, a distribuição estomática na epiderme e a presença de lacunas de ar nas folhas mostraram-se diretamente relacionadas com

as mesmas variáveis ambientais supracitadas. O gradiente de altitude da distribuição das espécies apresentou relação com o contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas.

A variável ambiental que apresentou maior contribuição para a distribuição das espécies foi o tipo de fitofisionomia, sendo que características como ornamentação da PPEC e número de feixes vasculares no pseudopecíolo aparentam estar diretamente relacionadas.

4.9.7 Análise de Correspondência Múltipla do gênero *Griffinia* (apenas um acesso de cada espécie e exclusão de *Worsleya* e *Cearanthes*)



Figura 22: Análise de Correspondência Múltipla para o gênero *Griffinia* com apenas um acesso de cada espécie e exclusão dos gêneros *Worsleya* e *Cearanthes*. a. Projeções por indivíduos com as duas primeiras dimensões (1) e (2). Notar a separação de três espécies do restante do conglomerado. b. Projeções das variáveis morfoanatômicas com as dimensões 1 e 2. Em vermelho, as características morfoanatômicas utilizadas na matriz.

Ao analisar a ACM de *Griffinia* considerando apenas um acesso de cada espécie, foi possível obter maior explicação nas dimensões 1 e 2, respectivamente com 19,2% e 14,7%. Apesar do valor total de explicação não expressivo, observamos a separação de 3 espécies frente às demais: *G. hyacinthina, G, concinna* e *G. gardneriana* (Fig. 22a). O agrupamento de espécies de *Griffinia* permaneceu com sobreposição entre os táxons. Quanto às variáveis (Fig. 22b), esta análise mostrou que o tipo de fitofisionomia está diretamente relacionado com características epidérmicas como o contorno das paredes anticlinais e contorno das células epidérmicas na extremidade do maior eixo, número de feixes na nervura central e contorno da margem foliar, as mesmas contribuíram para melhor definição na separação de *G. gardneriana* do grupo. Foi possível relacionar a altitude de ocorrência da espécie *G. concinna*

com características como a ornamentação da PPEC na epiderme e contorno do pseudopecíolo, incluindo o tipo de mesofilo na lâmina foliar. Para *G. hyacinthina*, a presença de camada subepidérmica com espessamento péctico no pseudopecíolo, o espessamento péctico das paredes celulares no parênquima interfascicular e nos feixes vasculares e cutícula espessa na lâmina foliar, além de cutícula espessa com flanges foram características relacionadas à separação da espécie do restante do grupo. O contorno da nervura central foi um dos caracteres utilizados na separação destas espécies.

5. DISCUSSÃO

5.1 Morfoanatomia foliar

As espécies da tribo Griffinieae compartilham características morfoanatômicas com variações entre indivíduos da mesma espécie, como também características mais estáveis entre os diferentes táxons sugerindo valor diagnóstico com potencial taxonômico para alguns caracteres. A heterogeneidade morfológica caracteriza as folhas nos representantes da tribo Griffinieae e é evidente nas folhas do gênero mais representativo do grupo, *Griffinia*, embora seja possível estabelecer similaridades mais constantes a ponto de sugerir complexos morfológicos de espécies para o gênero.

A utilização de caracteres como o contorno das células epidérmicas, o padrão das paredes anticlinais, distribuição, densidade e tipo estomático para delimitação taxonômica em Amaryllidaceae, possui registros positivos na literatura em gêneros, como por exemplo, *Allium* (Lin & Tan, 2015; Choi & Oh, 2011; Yousaf *et al.* 2008), *Lycoris* (Arroyo, 1981; Arroyo & Cutler, 1984; Deng & Zhou, 2005), *Crinum, Nerine, Rodophiala* (Arroyo, 1981; Arroyo & Cutler, 1984), *Hippeastrum, Habranthus*, (Arroyo, 1982; Arroyo & Cutler, 1984; Marques, 2015).

Quanto à vista frontal da epiderme na região intermediária das folhas analisadas, a presença de paredes anticlinais retas com terminação aguda foi mais recorrente para as espécies do subgênero Hyline, como G. nocturna e G. gardneriana, e para as demais espécies de Griffinieae que ocorrem igualmente em ambientes com menor disponibilidade hídrica, tais como C. fuscoviolacea. Segundo Cuadra & Cambi (2014), paredes periclinais retas são um caráter xeromórfico, particularmente na face adaxial das folhas e auxiliam na manutenção da turgescência celular, propiciando resistência ás células neste tipo de ambiente (Dickison, 2000). Essa característica também foi observada para as espécies de Eithea, incluindo E. blumenavia presente em ambientes de Floresta Ombrófila Densa (FOD), com maior disponibilidade hídrica. Alves-Araújo (2012) relatou o mesmo padrão para as paredes anticlinais nas folhas de Habranthus e Zephyranthes, entretanto o autor menciona extremidades truncadas para G. gardneriana, o que diverge do encontrado para os três diferentes acessos desta espécie neste trabalho. Em outro estudo, Marques (2015) observou paredes anticlinais retas em folhas de Hippeastrum, porém extremidades truncadas para Habranthus itaobinus, divergindo do observado por Alves-Araújo (2012). Arroyo (1981) relatou que G.

itambensis é similar às espécies de Hippeastrum pela presença de paredes anticlinais retas em vista frontal da epiderme, conforme também observamos para a face adaxial da epiderme. Todavia, observamos também paredes anticlinais com extremidades truncadas na face abaxial da lâmina foliar. Wang et al. (2009) encontraram variação no padrão exibido pelas paredes anticlinais das células epidérmicas entre diferentes espécies de Fritillaria (Liliaceae) e até mesmo entre as faces adaxial e abaxial da mesma espécie, como observamos para os acessos de G. hyacinthina, G. itambensis e G. liboniana. Ao analisar as secções paradérmicas das espécies de Griffinieae, observamos uma possível explicação para esta e outras divergências como entre os trabalhos supracitados de Alves-Araújo (2012) e Marques (2015). Independentemente do padrão em vista frontal observado para as células epidérmicas na região intermediária da lâmina foliar, a epiderme na região central para a maioria das espécies analisadas apresentou contornos mais alongados e, eventualmente alterando o tipo de terminação das paredes anticlinais. Awasthi et al. (1984) relataram variações na epiderme de Haemanthus multiflorus e Eucharis grandiflora cujas células na região da nervura central apresentaram-se alongadas e com paredes onduladas, contrastando com o restante da lâmina foliar constituído por células com paredes sinuosas. A presença de feixes vasculares de maior calibre na região central (região mediana da folha) provavelmente altera o padrão de contorno das paredes anticlinais em vista frontal apresentado pelas células epidérmicas, durante o desenvolvimento da folha. Portanto, este estudo sugere que, ao analisar a superfície epidérmica das espécies deste grupo com propósitos taxonômicos, a variação entre o padrão das células em vista frontal observado especialmente nas regiões intermediária e central da região mediana da lâmina foliar exige maior atenção. Consequentemente, para as análises de agrupamento realizadas neste estudo, optou-se por considerar apenas os contornos parietais nas regiões intermediárias das lâminas foliares e desconsiderar a região da nervura central.

As paredes anticlinais sinuosas observadas em algumas espécies de *Griffinia* também foram registradas em *G. parviflora* (Arroyo & Cutler, 1984) e *G. espiritensis* (Alves-Araújo, 2005). Arroyo & Cutler (1984) comentaram que a presença deste caráter pode ser viável para a delimitação de espécies em um determinado grupo. Ainda, segundo Arroyo & Cutler (1984) o aumento na quantidade de sinuosidades das paredes anticlinais está diretamente relacionado a ambientes mesofíticos, com menor intensidade luminosa, aumento de umidade no microambiente e maior disponibilidade hídrica do solo. Paredes anticlinais sinuosas foram observadas para quase 60% das

espécies analisadas, considerando a amplitude de ambientes onde ocorrem as espécies de Griffinieae e que um menor número de espécies ocorrem em ambientes xéricos, estes mais relacionados com paredes anticlinais retas. As lâminas foliares na maioria dos acessos analisados de *G. liboniana* mostraram paredes anticlinais sinuosas e extremidades truncadas, exceto *G. liboniana* (Baixo Cariri) para a qual as secções paradérmicas da face adaxial revelaram paredes anticlinais retas com extremidades agudas, mostrando presença de variação deste caráter nesta espécie. A presença de paredes anticlinais retas com extremidades agudas na face adaxial é uma característica que autentica o tipo de ambiente em que este acesso de *G. liboniana* ocorre, região com períodos de seca demarcada em Floresta Estacional Semidecidual (FES).

Os estômatos observados nas espécies de Griffinieae são do tipo anomocítico, como reportado para as Amaryllidaceae (Shah & Gopal, 1970, Arroyo 1981; 1984; Awasthi et al., 1984; Meerow, 1987a, 1987b, Alves-Araújo, 2012; Perrone et al., 2015) e outras monocotiledôneas (Stebbins & Kush, 1961; Tomlinson, 1974; Pande 1980). De acordo com Hutchinson (1959), o tipo de padrão estomático possibilitou relacionar grupos dentro das monocotiledôneas, como as antigas Liliales, Iridales e Amaryllidales. Segundo Meerow (1987, 1989), a distribuição dos estômatos nas folhas das Amaryllidaceae pode estar diretamente relacionada ao tipo de ambiente de ocorrência. Em Griffinieae, folhas anfiestomáticas são comuns nas espécies que ocorrem em ambientes xéricos ou naquelas que estão sujeitas a estresse hídrico, como as espécies do subgênero Hyline (G. gardneriana, G. nocturna e G. alba) e em Griffinia s. stricto, G. meerowiana e G. liboniana (Baixo Cariri). A distribuição anfiestomática relatada neste estudo para folhas de G. gardneriana corrobora com os resultados de Alves-Araújo (2007). A morfologia foliar das espécies do subgênero Hyline varia de ensiforme nas espécies da Caatinga, G. gardneriana e G. nocturna, a pecioladas com lâmina elíptica em G. alba comum em FES, todavia a forma da folha e o tipo de ambiente não afetam a distribuição estomática, sugerindo estabilidade desta característica para este grupo de espécies.

Algumas espécies como *G. espiritensis* (13025), *G intermedia* (acessos de São José do Barreiro e Itatiaia) e *G. liboniana* (1494) apresentaram folhas anfiestomáticas, mas com os estômatos da face adaxial, particularmente, restritos à região da nervura central. Esta variação no padrão de distribuição dos estômatos em folhas anfiestomáticas até então não foi relatada para Amaryllidaceae. Awasthi *et al.* (1984) afirmaram não haver variação significativa na frequência estomática em uma mesma

folha, mas que pode variar em diferentes espécies. Para Metcalfe & Chalk (1988), as plantas que apresentam uma diminuição da frequência estomática são geralmente hidrófitas ou adaptadas à estocagem de água, podendo apresentar reforço cuticular na margem das células-guardas para auxiliar no controle da transpiração e respiração, especialmente em ambientes sujeitos a estresse hídrico, como ocorre para muitas espécies da tribo em questão.

Arroyo & Cutler (1984) observaram a presença de cera na epiderme da maioria das espécies de Amaryllidaceae analisadas e mencionaram pequenos grânulos para o gênero *Griffinia*, dados que contrastam com os resultados encontrados para a tribo Griffinieae. Apenas nas folhas de *G. parviflora* e *W. rayneri* foi observada a presença de cera epicuticular, nas demais espécies da tribo a cobertura da epiderme restringe-se à ornamentação da parede periclinal externa com a cutícula (PPEC). No caso de *W. rayneri*, a espécie é isolada geograficamente e suas folhas são constantemente expostas a condições estressantes como variação na disponibilidade hídrica, excesso de radiação solar, elevadas temperaturas e ventos constantes, fatores característicos dos *inselbergs* (de Paula *et al.*, 2018) e que justificam a presença de cera na epiderme de suas folhas, atuando especialmente na reflexão de luz e do calor excessivos (Cutler *et al.*, 1980; Arroyo & Cutler 1984).

Para a tribo Griffinieae, foram estabelecidos sete padrões de ornamentação da PPEC em vista frontal com estrias variando no sentido (transversal e longitudinal), espessamento (delgado e espesso) e contorno (presença de moldura ou papilas), com potencial diagnóstico para delimitação de complexos morfológicos na tribo. Arroyo (1981) mencionou que as folhas de Amaryllidaceae podem, de fato, apresentar diferentes padrões de ornamentação da PPEC e que a sua ocorrência está relacionada à forma da folha, independentemente das relações taxonômicas. As espécies do subgênero *Hyline* apresentaram poucas estrias delgadas transversais mostrando um aspecto liso para a superfície foliar e apenas *G. alba* e *G. gardneriana* (acesso 13250) apresentaram limites evidentes entre as células na face adaxial de suas lâminas. Em folhas ensiformes, mais estreitas como as de *Hyline*, o padrão de ornamentação mais comumente encontrado exibe estrias finas nas células adjacentes ao estômato (Arroyo, 1981).

Dos padrões de ornamentação definidos, o complexo morfológico das "*Griffinia* libonianas" que, além de *G. liboniana*, inclui *G. rochae* e *G. meerowiana*, apresentou quatro deles: com somente estrias transversais, como em *G. liboniana* (1492), transversais com limites definidos em *G. rochae*, transversais e longitudinais em *G.*

meerowiana e tanto estrias transversais quanto longitudinais com limites definidos em *G. liboniana* (1480). Apesar dos diferentes acessos de *G. liboniana* analisados, não houve uma variação de padrões da PPEC quanto à espessura das estrias, o que sugere possível estabilidade para este caráter na espécie. A espécie *G. albolineata* não está incluída no complexo morfoespecífico supracitado, mas apresentou padrão de ornamentação similar ao de *G. rochae* e de um cultivar de *G. liboniana* (1155). A ocorrência em ambientes semelhantes aproxima espécies de gêneros diferentes em Griffinieae quanto às características da superfície foliar, como *C. fuscoviolacea* cuja epiderme foliar na face adaxial mostrou estrias transversais e longitudinais delgadas, comum aos acessos de G. *liboniana* (Baixo Cariri).

As variações nos padrões de estrias observados em MEV para as espécies de Griffinieae, segundo Arroyo (1981) podem estar relacionadas com uma resposta ao aumento da área foliar, como observamos nos padrões emoldurados exibidos, por exemplo, pelas superfície das folhas de G. hyacinthina. Meerow (1987) verificou em espécies do gênero Phaedranassa Herbert que ocorre padrão de estrias perpendiculares e paralelas espessadas em P. brevifolia Meerow, espécie de ambiente xérico com pouca disponibilidade hídrica e sob intensa radiação. Morfologicamente, as folhas de *Phaedranassa* são similares às de *Griffinia s. s.*, pecioladas, geralmente elípticas. O mesmo padrão de estrias observado para P. brevifolia foi registrado para G. concinna, comum em mata seca de FES e G. intermedia presente tanto em FOD quanto em FES. As demais espécies do gênero Griffinia exibem padrões de ornamentação diferentes dos citados como a presença de cera na face adaxial de G. parviflora, apesar de ocorrer em ambiente úmido de FOD. Estrias perpendiculares espessadas ocorrem na epiderme de G. itambensis, espécie com ocorrência registrada em região acima de 900 m de altitude, próxima a rochas à beira de cachoeira em FES. A densidade de estrias transversais espessadas em ambas as faces da epiderme de G. itambensis é característica para a espécie adaptada a regiões de elevada altitude com intensa radiação solar corroborando as observações de Meerow (1987) para P. tunguraguae Ravenna. Arroyo (1981) verificou que existe variação da ornamentação de PPEC para outros gêneros em Amaryllidaceae, como Hippeastrum, no qual a maioria das espécies possui uma estria axial espessada no centro da parede periclinal externa das células da epiderme de onde partem estrias delgadas, menos pronunciadas, como observamos em E. blumenavia, também da tribo Hippeastreae.

A morfologia externa da folha nas espécies de Griffinieae tem relação direta com o ambiente, refletindo tanto nas características da superfície foliar quanto na estrutura interna do órgão. As secções transversais e longitudinais das diferentes regiões da folha nas espécies de Griffinieae revelaram características diagnósticas com relevância taxonômica para o grupo, pois as espécies possuem distribuição restrita a determinados ambientes, o que sugere que a diversificação do grupo tenha sido influenciada pela pressões ambientais específicas para cada táxon atual.

O pseudopecíolo ou base foliar de quase metade dos acessos analisados mostrou contorno do tipo canaliculado em secção transversal, com evidente variação tanto entre os complexos morfológicos quanto para acessos da mesma espécie. As folhas das espécies do subgênero *Hyline* e de *Worsleya* são ensiformes, estreitas, e ocorrem em regiões secas expostas à intensa radiação solar, possuindo dessa forma menor área de superfície proporcionalmente quando comparadas com as demais espécies de Griffinieae, com folhas mais largas. Seguindo os preceitos de Raunkiaer (1934), existe uma correlação entre o tamanho das folhas e o microclima ao redor dos indivíduos na qual quanto mais seco o ambiente, menor a área foliar (Dolph & Dilcher, 1980).

A variação do contorno do pseudopecíolo para os demais complexos morfoespecíficos no gênero *Griffinia* parece estar, como em *Hyline*, diretamente relacionada com a forma da folha e a área de exposição do limbo foliar à luz, com porção laminar bem desenvolvida. Espécies cujas folhas elípticas a lanceoladas se estabelecem no ambiente de forma curvada apresentam pseudopecíolo canaliculado ou alado, projetando a porção laminar do limbo; quanto maior o tamanho das folhas, mais canaliculado o pseudopecíolo, em folhas menores, com menor área de exposição do limbo, foram observados pseudopecíolos predominantemente alados.

Em *W. rayneri*, além da cutícula significativamente espessa, ocorre espessamento péctico tanto da PPE quanto PPI das células epidérmicas. Estrutura semelhante à de *W. rayneri* para o espessamento péctico do complexo PPEC foi observada em uma das amostras de *P. maritimum* no estudo de Perrone e colaboradores (2015), como também para *Sternbergia candida* (Koçyigit & Tuna, 2016). Ambas as espécies ocorrem em ambientes nos quais condições estressantes como intensa radiação solar, elevado gradiente de temperatura e solo fortemente drenado interagem como moduladores abióticos de adaptação para as folhas (Catoni & Gratani, 2013). Para *C. fuscoviolacea*, além de espessamento no conjunto PPEI, foi observado também espessamento péctico das paredes anticlinais nas células epidérmicas. Arroyo (1981)

menciona que o conjunto de espessamento péctico parietal nas células da epiderme pode atuar como suporte mecânico nas folhas.

A ausência de tecido esclerenquimático nas folhas das espécies de Griffinieae corrobora com o que foi observado para as demais espécies americanas de Amaryllidaceae que, segundo Arroyo & Cutler (1984), possuem colênquima exercendo função de sustentação, enquanto as espécies africanas possuem esclerênquima (Arroyo, 1981; Arroyo & Cutler, 1984; Alves-Araújo, 2012, Marques, 2015). Além de espessamento péctico nas paredes periclinais e anticlinais das células da epiderme, foram observadas camadas subepidérmicas de colênquima nas secções transversais do pseudopecíolo de C. fuscoviolacea. Na tribo, as folhas de Cearanthes se destacam por possuir morfologia externa singular; quando completamente expandidas, o pseudopecíolo ereto sustenta as lâminas foliares que permanecem praticamente paralelas ao solo, justificando a presença de colênquima no órgão, fornecendo suporte mecânico e resistência para o estabelecimento da lâmina foliar. Nas células colenquimáticas adjacentes à epiderme do pseudopecíolo de C. fuscoviolacea, foi possível observar a presença de compostos fenólicos os quais, conforme Dickison (2000) atuam prevenindo a destruição de cloroplastos por raios UV. Em pulvinos, estruturas motoras, geralmente na base do pecíolo nas folhas das eudicotiledôneas, a presença de compostos fenólicos está associada à liberação de íons para a manutenção da turgescência celular e mobilidade foliar (Rodrigues & Machado, 2004) e a presenca destes compostos aliada a tecidos mais flexíveis no mesofilo, pode ser análoga nas folhas de *Cearanthes*. O colênquima é um tecido que proporciona, além de sustentação, maior elasticidade para as folhas. A presença de pectina, com função aglutinante e hemicelulose, polissacarídeo hidrossolúvel, na composição da parede das células deste tecido resultam no sua flexibilidade (Evert, 2006). Essa característica das células do colênquima justifica sua presença em folhas sujeitas a intempéries mecânicas como rajadas de vento constantes, condições características das planícies costeiras onde ocorre G. gardneriana (71846) e nos inselbergs de elevada altitude, habitat natural de W. rayneri. Ambas as espécies possuem colênquima na base de suas folhas, porém em W. rayneri o colênquima se estende por todo o limbo em ambas as faces do mesofilo. O pseudopecíolo de C. fuscoviolacea apresentou, junto com W. rayneri, o maior número de camadas subepidérmicas de colênquima e a sua presença está relacionada à sustentação da lâmina foliar, já que de todos as espécies analisadas, esta é a única em

que o pseudopecíolo permanece ereto elevando a lâmina foliar praticamente paralela ao solo.

Em um contexto ambiental diferente das espécies supracitadas, os acessos de *G. hyacinthina*, coletados em FOD, apresentaram ao menos uma camada subepidérmica de colênquima no pseudopecíolo. Dentre as espécies de Griffinieae, *G. gardneriana*, *G. hyacinthina* e *Worsleya* possuem caducifolia menos demarcada, e a presença de colênquima pode estar relacionada também com a durabilidade das folhas nessas espécies. Segundo Pyyko (1966), a presença de uma característica pode exercer diferentes funções em grupos ou espécies distintas, dessa forma, além do papel estrutural do colênquima na sustentação e na manutenção dessas espécies, o caráter hidrofílico da pectina na parede celular torna este tecido uma reserva hídrica alternativa (Jarvis & Apperley, 1990; Evert, 2006).

Quanto ao número de feixes vasculares, o pseudopecíolo mostrou uma variação expressiva entre os complexos morfológicos considerados. As "Griffinia de grande porte", como G. intermedia, G. ornata apresentaram entre trinta a quarenta feixes vasculares, entretanto, espécies de outros complexos morfológicos como G. nocturna, G. liboniana, G. gardneriana e G. albolineata, mostraram similaridade para esta característica. Segundo Roth-Nebelsick et al. (2001), padrões de venação similares aos das eudicotiledôneas, diferentemente do paralelinérveo típico, podem ocorrer em espécies de monocotiledôneas. Em Griffinieae, observamos venação estritamente paralelinérvea no Complexo Hyline e em Worsleya, grupos de espécies com folhas bastante ensiformes. Em outras espécies da tribo, este padrão ocorre de forma menos demarcada, apresentando certo nível de reticulação na venação das folhas havendo, possivelmente, relação com a ocorrência destas espécies em ambientes distintos. A variação no padrão de venação, segundo Cameron & Dickison (1998), é particularmente comum em ambientes sombreados e, parte das espécies da tribo é endêmica de ambientes predominantemente mesófitos. Nestas espécies, observamos a ocorrência de anastomoses, ou seja, fusões dos feixes vasculares das folhas de determinadas espécies, observados também na morfologia externa das espécies de Griffinieae, como por exemplo, nas folhas ensiformes que possuem a menor redução do número de feixes vasculares no ápice foliar se comparadas com as de ambiente mesófito.

As lâminas foliares de praticamente todos os acessos analisados apresentam epiderme com cutícula delgada (menor que 2 μ m), exceto ambos os acessos de *G*. *hyacinthina* e *G*. *ornata*, duas espécies de FOD, eventualmente rupícolas, com folhas

com extensa área de superfície foliar e cutícula espessa (entre 2 e 4 μ m) se comparadas com as demais *Griffinia*. Mesmo em ambientes úmidos como as FOD, o desenvolvimento de cutícula espessa pode estar relacionado às condições de restrição hídrica sobre rochas. A cutícula mais espessa dentre as Griffinieae foi observada em *Worsleya* (acima de 4 μ m) que ocorrem em *inselberg*, além de espessamento péctico de parede periclinal externa e interna.

A ornamentação da PPEC nas células epidérmicas observada para folhas das espécies da tribo Griffinieae apresenta características previamente descritas na literatura para outras Amaryllidaceae (Arroyo, 1981; Arroyo & Cutler, 1984; Alves-Araújo, 2012; Kocyigit & Tuna, 2016). Segundo Arroyo & Cutler (1984), a PPE das células epidérmicas possui função estrutural e fisiológica essenciais e suas principais funções estão relacionadas com a proteção dos tecidos contra excesso de transpiração e propiciar suporte mecânico (Haberlandt, 1884). O espessamento péctico da PPE provê armazenamento de água e maior rigidez à folha, um importante fator de resistência à seca (Ragonese, 1990 Cuadra & Cambi, 2014) e está presente em praticamente todas as espécies de Griffinieae, como também em Eithea, sugerindo ser um caráter plesiomórfico de Griffinieae e Hippeastreae. Outra função seria atuar como um isolante térmico pelo calor específico da água contida na parede celular, especialmente em plantas sujeitas a geadas (Bocher, 1979). Contudo, nas espécies do subgênero Hyline, G. itambensis e no gênero Eithea, por exemplo, a redução da superfície foliar nas folhas mais estreitas e ensiformes pode igualmente ser relacionada com a proteção às condições de clima mais árido, sujeitas a estresse hídrico e, não obstante, as análises qualitativas em MCA revelaram similaridade entre as características morfoanatômicas para essas espécies. Estes dados sugerem o potencial adaptativo deste caráter que em plantas xerófitas, como menciona Bocher (1979), não deve ser sempre relacionado à proteção contra redução da perda de água.

Além de espessamento péctico das PPEI também observamos a presença de cera epicuticular na epiderme de *W. rayneri* que, ocorrendo em *inselberg*, enfrenta constantemente condições de estresse. Segundo Cutler *et al.* (1980), a cera epicuticular reflete luz e calor excessivos, característicos de *inselberg* com exposição à luz e outros intempéries. Outra espécie que habita regiões de *inselberg* com menor altitude é *G. meerowiana*, em pontos com meia sombra e sujeitos à deciduidade das folhas das espécies arbóreas durante a estação seca. Analisando mais de 20 gêneros de Amaryllidaceae nas Américas, Arroyo (1981) encontrou cera epicuticular na epiderme

da maioria delas, mas menciona apenas pequenos grânulos para *Griffinia*. As duas espécies não apresentaram proximidade nas análises de ACM, sugerindo que estas características possuem maior relação com o tipo de fitosionomia que com a proximidade taxonômica.

A estrutura do mesofilo na maior parte das folhas de Griffinieae é demarcada por camadas de parênquima clorofiliano ou clorênquima homogêneo com células braciformes; tanto o contorno das células em secção transversal e sua organização quanto a presença ou ausência de aerênquima subdividem o mesofilo em duas ou três regiões. A anatomia do mesofilo pode controlar o gradiente de luminosidade e a presença de parênquima paliçádico com células alongadas facilita a penetração de luz no interior da folha, onde a mesma será difundida pelo parênquima esponjoso; tal estrutura é comum no mesofilo de plantas que ocupam ambiente com maior índice de radiação e menor ângulo de divergência da luz (Cui *et al*, 1991; Vogelmann, 1993), evitando danos foto-oxidativos à estrutura dos cloroplastos (Taiz & Zeiger, 2004). Mashayekhi & Columbus (2014) relataram que nas folhas do gênero *Allium* o mesofilo não é diferenciado em paliçádico e esponjoso, corroborando com o observado para Griffinieae; os autores mencionaram que as células do parênquima esponjoso apresentam contorno circular a elipsoide ou lobado e aumentam de tamanho da porção central à face abaxial da epiderme.

As análises das secções transversais das folhas de Griffinieae mostraram contorno semelhante nas células parenquimáticas do mesofilo aos resultados de Mashayekhi & Columbus (2014), porém as secções longitudinais possibilitaram identificar que, na realidade, essa variação de contorno se dá pelas diferentes direções dos braços e projeções das células braciformes. Alves-Araújo (2007) observou a mesma composição do mesofilo nas espécies de *Griffinia, Hippeastrum* e *Nothoscordum* analisadas. Ambos os trabalhos supracitados dentre outros estudos anatômicos em Amaryllidaceae (Meerow, 1987; Cortela & Casas, 2003; Sultan *et al*, 2010; Perrone *et al.*, 2015) não fazem menção às células braciformes. Todavia, Campos-Rocha *et al.* (2017) relataram a presença de células braciformes no mesofilo de ambas as espécies do gênero *Eithea*. Quanto aos outros grupos de plantas, Haberlandt (1884) reportou, de forma pioneira, a ocorrência de células braciformes em pteridófitas, também reportada por Ribeiro *et al.* (2007) para duas espécies rupícolas, coníferas e algumas angiospermas. Chatelet *et al.* (2013) estudaram a evolução da anatomia fotossintética e a diversidade de tipos celulares do parênquima paliçádico em *Viburnum* (Adoxaceae),

relatando a presença de células braciformes. Estas células são ditas como um tipo estritamente distinto de parênquima paliçádico com células de formato irregular (Chatelet *et al.*, 2013) e a sua presença no mesofilo está diretamente relacionada com o tipo de ambiente de ocorrência das espécies (Sack & Grubb, 2002; Chatelet *et al.*, 2013). Em ambientes com maior estresse hídrico, as células braciformes parecem ser mais suscetíveis à deformação que as células alongadas do parênquima paliçádico comumente conhecido (Fellows & Boyer, 1977; Colpitts & Coleman, 1997) e isso se deve, segundo Chatelet e colaboradores (2013), provavelmente à proporção maior de espaços intercelulares.

No mesofilo das folhas de Griffinieae frequentemente ocorrem espaços intercelulares que, à medida que se distanciam do pseudopecíolo, podem ou não formar lacunas de ar. Esses espaços tem origem, possivelmente, da lise de células na região interfascicular, corroborando as observações de Alves-Araújo (2007) para *Griffinia*, *Habranthus*, *Hippeastrum*, *Hymenocallis* e *Nothoscordum*. De acordo com Jung *et al.* (2008), estes espaços atuam como mediadores de trocas gasosas internas, reduzindo a resistência de difusão do dióxido de carbono nas células do mesofilo (Parker & Ford, 1982), além de auxiliar na sustentação dos tecidos.

Aparentemente, a organização das células na composição do mesofilo em diferentes regiões nas espécies deste estudo está diretamente relacionada ao ambiente de ocorrência de cada uma delas. Em nosso estudo, espécies de diferentes complexos morfológicos em *Griffinia* e de gêneros diferentes na tribo compartilham a mesma estrutura de subdivisão do mesofilo, como *G. gardneriana* e *G. hyacinthina* com três regiões diferentes ou *C. fuscoviolacea* e *G. liboniana* com duas regiões, sugerindo que esta característica pode não contribuir diretamente na delimitação de espécies, mas sim sugerir relações ecológicas entre elas e o ambiente.

Dentre todas as espécies analisadas, *W. rayneri* endêmica de *inselberg* com elevada altitude, foi a única que apresentou parênquima do tipo paliçádico no mesofilo que, segundo Vogelmann *et al.* (1996) canaliza a radiação luminosa para o restante do mesofilo. Além disso, outra característica diagnóstica para as folhas de *Worsleya* é a presença de extensão da bainha do feixe vascular que, somada à presença de aerênquima interfascicular evidenciam a evolução das estratégias fotossintéticas desta espécie e sua tolerância ao tipo de ambiente onde ocorre. Aparentemente, a seleção das características morfoanatômicas nesta espécie está diretamente relacionada às variáveis ambientais do tipo de fitofisionomia de *inselbergs*. De Paula e colaboradores (2017) alertam que

caracteres compartilhados entre espécies taxonomicamente relacionadas, apesar da influência ambiental, podem estar também relacionados ao efeito filogenético onde há seleção de características específicas dentro de um mesmo grupo.

A presença de grandes espaços de ar entre as células com a formação de lacunas de aerênquima, a ausência ou pequena quantidade de esclerênquima e sistema vascular fracamente desenvolvido são características comuns nas folhas de espécies hidrófitas (Hasman e Inanç, 1957), apesar da presença de aerênquima na maioria das espécies analisadas, incluindo espécies xerófitas. A ocorrência de lacunas de aerênquima é um caráter que Griffinieae compartilha com a tribo Hippeastreae (Arroyo, 1981; Arroyo & Cutler, 1984, Alves-Araújo, 2012; Mashayekhi & Columbus, 2014; Marques, 2015). O desenvolvimento dos bulbos em Amaryllidaceae propiciou a adaptação deste grupo de plantas às condições de estresse hídrico, e a ocorrência de aerênquima nas folhas dessas espécies pode ser homóloga aos catafilos presentes nos órgãos de reserva. A ocorrência de parede celular espessada nas células do aerênquima devido à presença de pectina possibilita também a reserva de água neste tecido, otimizando não somente as trocas gasosas, mas a disponibilidade hídrica, características que conferem resistência durante o ciclo de vida destas plantas.

Alguns dos caracteres morfológicos utilizados por Alves-Araújo (2012) nas folhas de *Habranthus* e *Zephyranthes* foram a forma da folha, em ST, a posição do aerênquima foliar; o espessamento péctico da parede periclinal interna das células e a forma do escapo, em ST, de *Griffinia* e *Hymenocallis*. Em Griffinieae, diferentes características apresentaram relação entre si como, por exemplo, o contorno do pseudopecíolo, contorno da nervura central e o número de feixes vasculares dessas regiões da folha, possibilitando agrupar as espécies da tribo.

A presença de idioblastos com ráfides foi constante em praticamente todas as espécies analisadas desde o pseudopecíolo ao ápice foliar. Secções longitudinais evidenciaram idioblastos bastante alongados, interconectados em série e com as células braciformes no mesofilo. Alves-Araújo (2012) observou igualmente idioblastos com ráfides e menciona que este pode constituir um caráter exclusivo das espécies neotropicais de Amaryllidaceae, com o que corrobora este estudo da tribo Griffinieae. Cristais de oxalato de cálcio estão relacionados com a regulação de cálcio no interior das plantas e proteção contra herbivoria (Franceschi & Nakata, 2005; Khan & Siddiqi, 2014;). Há cerca de 150 anos, Johow apud Prychid & Rudall (1999) reportou a ocorrência de idioblastos com drusas para Amaryllidaceae, registro cada vez mais raro

desde então. Em nossas análises, foram registrados idioblastos com ráfides e drusas distribuídos pelo mesofilo de *G. hyacinthina* e *G. ornata*, duas espécies ocorrentes em FOD e, como mencionado anteriormente, eventualmente rupícolas.

Através deste estudo, foi possível caracterizar a morfoanatomia e a micromorfologia de folhas das espécies da tribo Griffinieae e com os resultados observados, estabelecemos relações entre as características morfoanatômicas, o ambiente de ocorrência e a taxonomia do grupo.

5.2 Correlações ambientais e de correspondência

A caracterização morfoanatômica realizada para as espécies de Griffinia possibilitou identificar a existência de diferentes padrões entre os complexos morfológicos de espécies, correlacionando-os com o ambiente. Para as espécies do Complexo "Hyline", especialmente G. gardneriana e G. nocturna observamos a presença de características como folhas anfiestomáticas, estrias de parede periclinal externa com cutícula (PPEC) menos espessadas na epiderme foliar, paredes anticlinais retas na epiderme, extremidades, contorno plano da margem foliar e o número de feixes no ápice foliar proporcionalmente igual ao observado no pseudopecíolo. Tais características podem ser relacionadas diretamente com o ambiente xerófito sob estresse hídrico onde as espécies ocorrem e as folhas apresentam menor área de superfície foliar. As disposições gráficas das variáveis morfoanatômicas e ambientais nas ACM mostraram a associação das características supracitadas com a fitofisionomia e a disponibilidade hídrica. Quanto às demais espécies de Griffinia, foi possível observar a associação de características como o contorno do pseudopecíolo, a presença de camadas de células espessadas subepidérmicas, cutícula espessa na lâmina foliar e presenca de aerênquima com paredes espessadas às espécies de G. hyacinthina e G. concinna, ambas presentes em ambiente de FOD, com eventual ocorrência sob rochas e que apresentam folhas com maior durabilidade e persistência no grupo. Nas análises de similaridade observadas pela ACM, as variáveis morfoanatômicas mencionadas apresentaram correlação com a altitude e separaram as espécies do grande grupo das demais Griffinia.

Características como o contorno das paredes anticlinais e tanto o número de feixes vasculares no pseudopecíolo quanto a ornamentação da PPEC na epiderme apresentaram-se fortemente relacionadas com a fitofisionomia e altitude. Para *W*.

rayneri, espécie de *inselberg* que enfrenta o maior gradiente de intempéries entre as espécies da tribo, características como extremidades agudas nas células epidérmicas, presença de camadas de células espessadas subepidérmicas, a presença de extensão da bainha do feixe vascular, ausência de saliência na nervura central apresentaram-se associadas e exercendo papel diagnóstico tanto para a espécie quanto para o tipo de ambiente em que ocorre.

Nossos resultados mostraram que os 32 acessos das 18 espécies da tribo Griffinieae analisados possuem características morfoanatômicas que diferem entre as espécies, mas também apresentam similaridades sugerindo alguns padrões comuns a determinados grupos ou complexos morfoespecíficos. Utilizando características qualitativas, encontramos evidências de que espécies com morfologia externa foliar semelhante podem ser diretamente relacionadas com determinadas condições ambientais, por exemplo, as folhas ensiformes do subgênero *Hyline* presentes em ambientes predominantemente xerófitos. Ademais, espécies mais estresse-tolerantes apresentam características bastante específicas, como a estrutura do mesofilo de *W. rayneri*, presente em *inselberg*. O panorama das características avaliadas e selecionadas revelou diferentes estratégias anatômicas para o grupo estudado, incluindo caracteres adquiridos em resposta às condições ambientais como também características

As Análises de Correspondência Múltipla testadas em Griffinieae basearam-se nas características morfoanatômicas selecionadas entre as espécies da tribo e mostraram a separação de alguns grupos distintos e, no caso dos gêneros monotípicos, delimitou espécies, sendo: a separação entre os três gêneros da tribo, *Cearanthes, Griffinia* e *Worsleya*, o grupo formado pelas duas espécies representantes do subgênero *Hyline, G. gardneriana* e *G. nocturna*, e ainda a separação de duas espécies do complexo morfológico das "*Griffinia* de grande porte": *G. hyacinthina* e *G. concinna*.

A baixa porcentagem de explicação das variáveis (Figs. 1 e 2) (dim 1-2 ou dim 1-3), 24% e 13,4% sugere que, neste caso, a MCA não consegue explicar boa parte dessas variações. Todavia, foi possível observar que *Worsleya* foi o táxon mais separado do grande grupo (*Griffinia*) em relação aos demais. A análise para toda a tribo Griffinieae mostrou tanto *Worsleya* quanto *Cearanthes* aparecendo bastante separados do grande grupo, corroborando com o esperado, já que ambos são gêneros diferentes dentro da tribo.

Dilcher (1974) afirmou que as plantas não respondem morfologicamente a apenas uma única variável ambiental, mas à combinação de todas as variáveis possíveis. A ACM para o gênero *Griffinia* mostrou-se satisfatória como uma das respostas mais esperadas acerca da morfologia das folhas e das características anatômicas das espécies. Um novo grupo, mais individualizado se formou, sendo composto pelas espécies do subgênero *Hyline*, exceto *G. nocturna*, apesar de a mesma estar relativamente mais próxima que as demais e o grupo-externo *Eithea*. A morfologia externa deste grupo é bastante peculiar já que as espécies possuem folhas em sua maioria ensiformes. Além deles, manteve-se o grupo das *G. hyacinthina* e *G. concinna*, enquanto o restante de *Griffinia* permanece sem maior definição.

As características que aproximam mais as espécies do subgênero *Hyline* estão relacionadas com a epiderme, especialmente as características das células em vista frontal, como o contorno das paredes anticlinais (reto) e as extremidades agudas. Para as *G. hyacinthina e G. concinna*, um conjunto de características presentes na margem foliar, região intermediária e no pseudopecíolo determinou a formação deste complexo. A presença de células com parede primária espessada no aerênquima de *G. hyacinthina* e *G. concinna* é uma característica que aproxima as duas espécies e, simultaneamente, as separa das demais espécies de Griffinieae.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os caracteres morfoanatômicos que apresentaram potencial diagnóstico para a tribo Griffinieae foram: em microscopia eletrônica de varredura, os padrões de estrias (PPEC); em secções paradérmicas: contorno das células epidérmicas em vista frontal para ambas as faces da epiderme, aspecto das paredes anticlinais em vista frontal para ambas as faces da epiderme, tipo de terminação das paredes anticlinais das células epidérmicas em ambas as faces. Nas secções transversais dos pseudopecíolos: contorno do pseudopecíolo, espessamento péctico parietal das células epidérmicas; camadas de células espessadas subepidérmicas (colênquima). Nas secções transversais das lâminas foliares: espessamento da cutícula, espessamento péctico parietal das células epidérmicas, tipo de aerênquima no mesofilo, espessamento péctico de parede celular primária em células dos feixes vasculares, extensão de bainha dos feixes vasculares. Nas secções transversais das margem foliar e contorno das células epidérmicas na extremidade da margem. No ápice foliar: número de feixes vasculares em relação ao pseudopecíolo.

Nosso estudo possibilitou verificar a variação morfoanatômica nas folhas em indivíduos de uma mesma população e as características que apresentaram maior variação nesse sentido foram: em relação aos padrões de estrias da superfície epidérmica e quanto ao aspecto das paredes anticlinais em vista frontal, especialmente no padrão de sinuosidade das células epidérmicas, foi possível observar variação nos indivíduos de *G. liboniana*. Em relação ao pseudopecíolo, o contorno do pseudopecíolo, especialmente nas populações de *G. liboniana*, *G. paubrasilica* e *G. espiritensis*, com variação entre contorno canaliculado, alado e depresso-obovado. Em relação à lâmina foliar: a presença de espessamento péctico parietal nas células dos feixes vasculares, com indivíduos de *G. gardneriana* que eventualmente apresentavam floema nacarado e o número de feixes vasculares na nervura central em *G. paubrasilica*. Após a observação destas variações, preconizamos a necessidade de analisar um maior número de indivíduos de cada espécie para comparar os resultados.

Das espécies cuja análise envolveu acessos de diferentes localidades, *G. hyacinthina* apresentou homogeneidade quanto às características morfoanatômicas em ambos os acessos. Quanto à *G. intermedia*, o acesso de Mangaratiba apresentou variações significativas ao compararmos com os outros dois acessos, evidentes nas características das células epidérmicas em vista frontal, como o contorno isodiamétrico

das células epidérmicas e o número de feixes vasculares na nervura central. Para os dois acessos de *G. espiritensis*, observamos variação morfoanatômica significativa quanto as seguintes características: contorno do pseudopecíolo, tipo de ornamentação da PPEC, número de feixes vasculares no pseudopecíolo e sua proporção com o ápice foliar, tipo de curvatura da margem foliar, todavia, as características epidérmicas foram constantes em ambos os acessos. A espécie que contou com a análise do maior número de acessos, *G. liboniana*, apresentou a maior variação morfoanatômica intraespecífica observada principalmente nas características epidérmicas como a distribuição dos estômatos, o contorno do pseudopecíolo em ST e o padrão de ornamentação da PPEC na epiderme do pseudopecíolo.

Neste capítulo de tese, selecionamos 24 características morfoanatômicas de folhas e combinamos com quatro características ambientais para 30 acessos de praticamente todas as espécies reconhecidas até o momento para a tribo Griffinieae e duas espécies da tribo Hippeastreae. Além da caracterização morfoanatômica de cinco regiões diferentes das folhas, este estudo avaliou a micromorfologia da superfície foliar através da Microscopia Eletrônica de Varredura e de secções paradérmicas, apresentando um panorama geral dessas características tanto intra quanto interespecíficas na tribo.

A subdivisão da folha em cinco regiões diferentes, pseudopecíolo, margem, lâmina, nervura central, e ápice foliares, possibilitou uma análise minuciosa acerca das características compartilhadas e exclusivas para cada indivíduo, espécie ou grupo.

Ao realizarmos as Análises de Correspondência Múltipla, transformamos os 32 acessos de Griffinieae em grupos (ou clusters) pelas similaridades das variáveis morfoanatômicas. Caracteres específicos em nível de gênero, subgênero e interespecíficos foram sugeridos pelas secções transversais, longitudinais e análises de superfície foliares, nunca antes realizadas para o grupo. Dessa forma, foi possível concluir que a maior parte dos caracteres selecionados apresenta potencial diagnóstico e pode ser utilizada em investigações taxonômicas de espécies no gênero Griffinia e nas espécies da tribo Griffinieae. Consequentemente, para compreender a taxonomia e as relações filogenéticas entre as espécies da tribo, tais características micromorfológicas e anatômicas precisam ser consideradas. Todavia, da caracterização apesar morfoanatômica de indivíduos em diferentes populações das espécies de Griffinieae, preconiza-se a necessidade de estudos morfoanatômicos comparativos envolvendo um maior número de populações e indivíduos para averiguar os possíveis padrões de plasticidade fenotípica no grupo em decorrência dos diferentes ambientes em que as espécies da tribo ocorrem.

Sobretudo, o presente estudo contribuiu com avanços no conhecimento da morfoanatomia de espécies ameaçadas de extinção da família Amaryllidaceae e, portanto, das Monocotiledôneas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdi, H., Valentin D. 2007. Multiple Correspondence Analysis. In Salkind, N.J., Ed., Enclyclopedia of Measurement and Statistics, SAGE publications, Thousand Oaks, CA, 1-13.

Alves-Araújo, A. 2007. Morfologia de Amaryllidaceae s.s. nativas do nordeste brasileiro. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

Alves-Araújo, A.; Pessoa, E. & Alves, M. Caracterização morfoanatômica de espécies de Amaryllidaceae *s.s.* e Alliaceae *s.s.* do Nordeste brasileiro. Mossoró: Revista Caatinga (25), n.4, p.68-81. 2012.

Alves-Araújo, A.; Alves, M. Anatomical features of three species of Amaryllidaceae from northeastern Brazil. Herbertia (59), p.94-106. 2005.

Arroyo, S. C. 1981. Systematic Anatomical Studies on Amaryllidaceae including morphological cytological and phytogeographical considerations. PhD Thesis. University of Reading. 238 pp.

Arroyo, S.C. & Cutler, D.F. 1984. Evolutionary and taxonomic aspects of the internal morphology in Amaryllidaceae from South America and southern Africa. Kew Bulletin (39), n.3, p.467-498.

Awasthi, D. K., Kumar, V., Rawat, R. 1984. Stomatal studies in Amaryllidaceae with special reference to stomatal abnormalities. Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.), 93(3): 629-633.

Böcher, T. W. 1979. Xeromorphic leaf types: Evolutionary strategies and tentative semiphyletic sequences. Biologiske Skrifter Danske Videnskabernes Selskab, 22: 1-71.

Campos-Rocha, A., Dutilh, J. H. A. *Griffinia* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4337 Acessado em 23 de março de 2019.

Campos-Rocha, A. 2015. Estudos Taxonômicos e Morfológicos do Gênero *Griffinia* Ker Gawl. (Amaryllidaceae). M.S. thesis. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.

Campos-Rocha, A., Dutilh, J.H.A. & Semir, J. (2017) *Griffinia angustifolia* (Amaryllidaceae), a new endangered species endemic to the Brazilian Caatinga biome. *CienciAmérica* 6: 40–45.
Campos-Rocha A., A. W. Meerow, E. F. M. Lopes, J. Semir, J. L. S. Mayer, and J. H. A. Dutilh. 2017. *Eithea lagopaivae*, a new critically endangered species in the previously monotypic genus *Eithea* Ravenna (Amaryllidaceae). *PhytoKeys* 85: 45–58.

Catoni, R., Gratani, L. 2013. Morphological and physiological adaptive traits of Mediterranean narrow endemic plants: The case of *Centaurea gymnocarpa* (Capraia Island, Italy). Flora 208,174–183.

Cameron K. M., Dickison W. C. 1998. Foliar architecture of vanilloid orchids: insights into the evolution of reticulate leaf venation in monocotyledons. Botanical Journal of the Linnean Society 128: 45±70.

Chatelet, D. S., Clement, W. L., Sack, L. Donoghue, M. T., Edwards, E. T. 2013. The evolution of photosynthetic anatomy in *Viburnum* (Adoxaceae). International Journal of Plant Sciences, Vol. 174, (9) 1277-1291.

Choi, H. J. and B.U. Oh. 2011. A partial revision of *Allium* (Amaryllidaceae) in Korea and North-Eastern China. *Bot. J. Linn. Soc.*, 167: 153-211.

Cortela, A. R., Casas, F. J. F. 2003. Estudios en el gênero Narcissus (Amaryllidaceae) Anatomía de los catafilos. (Anatomia de Amaryllidaceae). Universidad de La Plata. Argentina.

Colpitts B. G., W. K. Coleman. 1997. Complex permittivity of the potato leaf during imposed drought stress. IEEE Trans Geosci Remote Sens 35:1059–1064.

Cuadra, P. V. & Cambi, V. 2014. Morphoanatomical functional traits in xerophytic species of a saline environment. International Journal of Experimental Botany. 83: 389-396.

Cui, M., Vogelmann, T. C., Smith, W. K. 1991. Chlorophyll and light gradients in sun and shade leaves of *Spinacia oleracea*. Plant Cell Environ. 14: 493-500.

Cutler, D. F., Brandham, P. E., Carter, S. Harris, S. J. 1980. Morphological, anatomical, cytological and biochemical aspects of evolution in East African shrubby species of *Aloë* L. (Liliaceae). Bot. J. Linn. Soc. 80:293-317.

De Paula, L. F. A., Kolb, R. M., Porembski, S., Silveira, F. A. O., Rossatto, D. R. 2019. Rocks and leaves: Can anatomical leaf traits reflect environmental heterogeneity in *inselberg* vegetation? Flora. 250 91-98.

Dickison, W., 2000. Integrative Plant Anatomy. Harcourt Academic Press, San Diego.

Dilcher, D. L. 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. The Botanical Review. 40 (1) 160pp.

Dutilh, J. H. A., Oliveira, R. S. 2015. Amaryllidaceae. In: Lista de Espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB43 (acessado em 28 de agosto de 2018).

Evert, R. 2006. Esau's Plant Anatomy. Wiley. Third Edition. University of Wisconsin, Madison.

Fellows R. J., Boyer, J. S. 1977. Altered ultrastructure of cells of sunflower leaves having low water potentials. Protoplasma 93:381–395.

Franceschi, V. R., P. A. Nakata. 2005. Calcium oxalate in plants: formation and function. *Ann. Rev Plant Biol.*, 56: 41-71.

García N., Folk R. A., Meerow A. W., Chamala S., Gitzendanner M. A., Oliveira R. S., Soltis D. E., Soltis P. S. 2017. Deep reticulation and incomplete lineage sorting obscure the diploid phylogeny of rain lilies and allies (Amaryllidaceae tribe Hippeastreae). Molecular Phylogenetics and Evolution 111: 231–247. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.04.003

Haberlandt, G. 1884. Vergleichende Anatomie des assimilatorischen Gewebesystems der Pflanzen. Jahrb. Wiss. Bot. 13: 74-188.

Hasman, M.; Inanç, N. 1957. Investigations on the anatomical structure of certain submerged, floating and amphibious hydrophytes. Istanbbul Univiversitesi Tip Fakultesi Mecmuasi 22: 137-53.

Hutchinson, J. 1959 The familes of flowering plants (Oxford: Clarr Press) Vol. II

IBGE, 2012. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE. Rio de Janeiro.

Jarvis, M. C.; Apperley. D. C. 1990. Direct observation of cell wall structure in living plant tissues by solid-state 13C NMR spectroscopy. *Plant Physiol.* 92, 61–65.

Johow F. R. 1880. Untersuchungen über die zellkerne in den secretbehältern und Parenchymzellen der höheren Monocotylen. Bonn: Diss., apud Prychid & Rudall 1999. Calcium Oxalate Crystals in Monocotyledons: A Review of their Structure and Systematics.

Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Jung J., Lee S. C., Choi H. 2008. Anatomical patterns of aerenchyma in aquatic and wetland plants. Journal of Plant Biology, 51(6): 428-439.

Lin, C., Tan D. 2015. The taxonomic significance of leaf epidermal micromorphological characters in distinguishing 43 species of *Allium* L. (Amaryllidaceae) from Central Asia. Pak. J. Bot., 47(5): 1979-1988.

Khan, A. S.; Siddiqi, R. 2014. Environmental factors affect calcium oxalate crystals formation in *Tradescantia pallida* (Commelinaceae) *Pak. J. Bot.*, 46(2): 477-482.

Koçyigit, M., Tuna, M. 2016. Taxonomic remarks on the genus *Sternbergia* L. (Amaryllidaceae) in Turkey based on leaf anatomy, karyosystematic analysis and nuclear DNA content. Phytotaxa 265 (3): 238-250.

Marques, G. G. L. 2015. Anatomia do escape floral e da folha de espécies de *Hippeastrum* Herb. e *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae J. St.-Hil.) ocorrentes no Distrito Federal, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. 68pp.

Mashayekhi, S., Columbus, T. 2014. Evolution of leaf blade anatomy in *Allium* (Amaryllidaceae) subgenus *Amerallium* with a focus on the North American species. American Journal of Botany 101(1): 63-85.

Meerow, A. W. 1987a. New species of *Phaedranassa* and *Eucharis* (Amaryllidaceae). SIDA 12(1): 29-49. 1987.

Meerow, A. W. 1987b. A monograph of *Eucrosia* (Amaryllidaceae). Systematic Botany (1987), 12 (4): pp. 460-492.

Meerow, A. W. 1989. Systematics of the Amazon lilies, *Eucharis* and *Cliphrunria* (Amaryllidaceae), Annals of the Missouri Botanical Garden (76), n.1, p.136-220.

Meerow, A. W. & Snijman, D. A. 1998. Amaryllidaceae. *In*: Kubitzki, K. (ed.). The families and genera of vascular plants. Monocotyledons - Lilianae (except Orchidaceae). Hamburg. Pp. 83-110.

Meerow, A. W., Guy, C. L., Li, Q. B., Yang, S. L. 2000. Phylogeny of the American Amaryllidaceae based on nrDNA ITS sequences. Systematic Botany 25(4): 708–726.

Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1988. Anatomy of the Dicotyledons. 2 ed. Clarendon, Oxford.

Miller, L. 1968. Apostila do curso de microtécnica e fotomicrografia. São Paulo. Escola Superior de agricultura "Luiz de Queiroz", USP. MMA, 2014. Ministério do Meio Ambiente. Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014. Reconhece como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de espécies da flora ameaçada de Extinção".

Moraes, M. A. 2009. Conservação e manejo de *Worsleya rayneri* (Amaryllidaceae) – uma espécie de campos de altitude ameaçada de extinção. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Nakano, J.; Meshitsuka, G. 1992. The detection of lignin. In: Lin, SY.; DENCE, C. W. (Eds.). Methods in lignin chemistry. Springer Verlag, Berlin. P.23-32.

Nascimento, A. A., Menezes, L. F. T., Nascimento, M. T. 2017. Water content, fibres, and herbivory in leaves of two distinct and adjacent tree communities of the Brazilian Atlantic Forest. Hoehnea 44(1): 103-110

Oliveira, R. S. 2012. O gênero *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae) no Brasil: evidências de evolução reticulada e análise de caracteres florais. PhD Thesis, Universidade Estadual de Campinas, Brazil.

Parker, M. L., Ford, M. A. 1982. The structure of the mesophyll of flag leaves in three *Triticum* species. Annals of Botany. 49 (2) 165-176.

Perrone, R., Salmeri, C. Brullo, S. Colombo, P., De Castro, O. 2015. What do leaf anatomy and micromorphology tell us about psammophilous *Pancratium maritimum* L. (Amaryllidaceae) in response to sand dune conditions? 213 20-31.

Pande P C 1980 Foliar epidermis and development of stomata in *Iridar Acta Bot*. *Indica* 81 256—259

Preuss, K. D. 1999. The genus *Griffinia* Ker Gawler (Amaryllidaceae), revisited. Herbetia 54: 51-66.

Pyykko, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. *Annales Botanici Fennici* 3: 453-622.

R. Core Team. 2018. R: A Language and Environmental for Statistical Comput. Disponível em : https://www.r-project.org/>.

Ragonese, A. M. 1990. Caracteres xeromorfos foliares de *Nassauvia lagascae* (Compositae). *Darwiniana* 30: 1-10.

Raunkiaer, C. 1934. The life-forms of plants and statistical plant geography. Oxford University Press, Oxford. 632 pp.

Ribeiro, M. L. R. C., Santos, M. G., Moraes, M. G. 2007. Leaf anatomy of two *Anemia* Sw. Species (Schizaeaceae-Pteridophyte) from a rocky outcrop in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. Revista Brasil. Bot., V.30, n.4, p.695-702.

Roth-Nebelsick, A., Uhl, D., Mosbrugger, V., Hans Kerp, H. 2001. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. Annals of Botany. 87: 553-566.

Sack, L., Grubb, P. J. 2002. The combined impacts of deep shade and drought on the growth and biomass allocation of shade-tolerant wood seedlings. Oecologia 131:175–185.

Shah, G. L.; Gopai, B. V. 1970. Structure and development of stomata in the vegetative and floral organs of some Amaryllidaceae; *Ann. Bot.* 34 737-750

Stebbins, G. L.; Khush, G. S. 1961. Variation in the orgamzation of the stomatal complex in the leal epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. *Ara. 1. Bot.* 48 51-59

Stearn, W. T. 1992. Botanical Latin. Fourth Edition.

Sultan, H. A. S., Abu Elreish, B. I., Yagi, S. M. 2010. Anatomical and phytochemical studies of the leaves and roots of *Urginea grandiflora* Bak. and *Pancratium tortuosum* Herbert. Ethnobotanical Leaflets 14: 826-35.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2004. Fisiologia vegetal. 3ed. Porto Alegre: Artmed.

Tomlinson, P. B. 1974. Development of stomatal complex as a taxonomic character in the monocotyledons; *Taxon 23* 109–128.

Vogelmann, T. C., Martin, G. 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. Plant Cell Environ 16:65–72.

Vogelman, T. C., Nishio, J. N., Smith, W. K. 1996. Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. Trends Plant Sci 1:65–70.

Wang, Q., Zhou, S. D., Deng, X. Y., Zheng, Q. I., He, X. J. 2009. Comparative morphology of the leaf epidermis in *Fritillaria* (Liliaceae) from China. Botanical Journal of the Linnean Society. 160, 93-109.

Yousaf, Z., Z. K. Shinwari, R. Asghar; A. Parveen. 2008. Leaf epidermal anatomy of selected *Allium* species, family Alliaceae from Pakistan. *Pakistan J. Bot.*, 40: 77-90.

Considerações taxonômicas para as Hypoxidaceae do Brasil à luz da morfoanatomia foliar e micromorfologia

Taxonomic considerations on the Brazilian Hypoxidaceae from the perspective of leaf anatomy and micromorphology

RESUMO

Hypoxidaceae possui um histórico taxonômico bastante conturbado e, apesar de ser uma família bem estabelecida e caracterizada, divergências em nível de gênero e espécie ainda persistem e tornam necessária a busca por caracteres diagnósticos que auxiliem na delimitação dos táxons. As três espécies reconhecidas para o território brasileiro: Hypoxis atlantica, H. decumbens e Curculigo scorzonerifolia tiveram a morfoanatomia e micromorfologia de suas folhas comparadas. Além disso, a micromorfologia do revestimento de sementes do gênero Hypoxis foi comparada entre si e com H. wrightii, espécie descrita para a América do Norte e Central e H. angustifolia, espécie africana. Folhas completamente expandidas foram examinadas com microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Características morfoanatômicas e de micromorfologia foram evidenciadas, como: folhas anfiestomáticas, estômatos paracíticos, epiderme com células buliformes, presença de idioblastos com ráfides, feixes vasculares colaterais e a presença de esclerênquima associado aos feixes vasculares. As espécies brasileiras apresentaram características com potencial diagnóstico, como o tipo de contorno da folha em secção transversal, a presença ou ausência de saliência na face adaxial das folhas, a distribuição tanto dos feixes vasculares quanto do esclerênquima, o número de células na base dos tricomas tectores e tamanho, forma e superfície das sementes. As análises morfoanatômicas comparativas entre os diferentes acessos sugeriram a ocorrência de hibridização entre as espécies e o número de características qualitativas e quantitativas compartilhadas apontou que H. atlantica e H. wrightii parecem ser a mesma espécie.

Palavras-chave: anatomia; Asparagales; *Curculigo*; folhas; *Hypoxis*; morfologia; taxonomia.

ABSTRACT

Hypoxidaceae has a controversial taxonomic history and, despite being a phylogenetically well established and characterized family, divergences at genus and species level persist and suggest the necessity of distinguished diagnostic characters to help in taxa delimitation. The three species recognized in the Brazilian area: *Hypoxis* atlantica, H. decumbens and Curculigo scorzonerifolia had their leaf anatomy and leaves micromorphology compared. In addition, the micromorphology of Hypoxis seeds was compared with each other and with the North and Central American H. wrightii and African H. angustifolia. Completely expanded leaves were examined under light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM). Morphoanatomical and micromorphological traits were reported, such as amphistomatic leaves, paracytic stomata, bulliform cells present on one or both surfaces, crystals present as raphides, collateral vascular bundles and the presence of sclerenchyma girders associated with the vascular bundles. The Brazilian species presented anatomical characters of taxonomic value such as the leaf contour type in cross section, the presence of absence of protrusion on the adaxial side of the lamina, the distribution of both vascular bundles and sclerenchyma and the number of cells in the base bifurcate ascending hairs. The morphoanatomical comparison between the different accesses suggested the occurrence of hybridization among the species and the number of shared qualitative and quantitative characters pointed out that H. atlantica and H. wrightii seem to be the same species.

Key-words: anatomy; Asparagales; *Curculigo*; *Hypoxis*; leaves; morphology; taxonomy.

1. INTRODUÇÃO

O histórico taxonômico de Hypoxidaceae R. Brown, incluída na ordem Asparagales, maior entre as monocotiledôneas, é demarcado por diversos rearranjos taxonômicos, apresentando-se um táxon bem estabelecido, amplamente discutido e caracterizado (Brackett, 1923, Nordal, 1998, Wiland-Szymanska, 2001, 2006, 2009, Rudall *et al.*, 1998, Judd 2000, Singh 2009, Kocyan *et al.*, 2011). A família é cosmopolita, ocorrendo nas regiões tropicais e subtropicais, predominantemente no hemisfério Sul (Nordal, 1998, Kocyan *et al.*, 2011). Para o continente americano, são registrados dois gêneros, *Curculigo* Gaertn. e *Hypoxis* L. (Dutilh, 2009), ambos ocorrentes no Brasil (Dutilh, 2017). Apesar de uma circunscrição bem aceita para Hypoxidaceae, divergências em níveis infrafamiliares ainda persistem (Sanchez-Ken, 2010, Kocyan *et al.*, 2011), sendo necessária a investigação de novos caracteres diagnósticos para auxiliar na delimitação dos táxons (Rudall *et al.*, 1998; Sing, 2009, Sánchez-Ken, 2010; Funez *et al.*, 2017).

O posicionamento de Hypoxidaceae teve início como subfamília ou tribo de Amaryllidaceae (Brown, 1810), sendo os gêneros Hypoxis e Curculigo incluídos em Amaryllideae, por conta do ovário ínfero. Entretanto, segundo Brackett (1923), quatro anos mais tarde, o próprio criador do táxon considerou separar estes gêneros de Amaryllidaceae, propondo o nome Hypoxideae, base do primeiro nome da família (Brown, 1814). Baker (1878) realizou a primeira sinopse para o táxon, detalhando diferenças entre Hypoxidaceae e Amaryllidaceae. Nos anos seguintes, diferentes autores consideraram válida a delimitação de Hypoxideae como tribo da família Amaryllidaceae, proposta por Bentham & Mueller (1873) (Bentham & Hooker, 1883; Baillon, 1895; Baker, 1896, 1898, Nel, 1914, Phillips, 1926 e Hilliard & Burtt, 1978). Após ser incluído como tribo, o grupo foi classificado como subfamília em Amaryllidaceae, Hypoxidoideae, por Pax (1889). Em uma abordagem mais ampla para as Monocotiledôneas, proposta por Hutchinson (1934), 14 ordens foram estabelecidas, tais como Liliales, Amaryllidales, Orchidales e Haemodorales, na qual ele incluiu a família Hypoxidaceae e, pela primeira vez, foi apresentada a proposta de que a família Orchidaceae teria derivado de Hypoxidaceae, sendo o gênero *Curculigo* um possível elo evolutivo entre elas.

As Hypoxidaceae são plantas de hábito herbáceo, perenes, com rizoma cormoso ou tuberoso; suas folhas apresentam-se radicais, trísticas ou em roseta, sésseis ou formando pseudopecíolo; com indumento denso a subglabrescente. Inflorescências terminais racemosas a umbeliformes, com indumento, 1-várias flores trímeras e actinomorfas, 6 tépalas amarelas a laranja, alvas, raramente vermelhas; ovário ínfero, tricarpelar, trilocular ou raramente unilocular com numerosos óvulos anátropos e placentação axilar; nectários ausentes. Frutos do tipo cápsula, com indumento, e as sementes globosas a elipsoides recobertas por uma camada externa de fitomelanina frequentemente enegrecida, raramente acinzentada ou acastanhada (Pena *et al.*, 2008; Dutilh *et al.*, 2017).

Diversos remanejamentos taxonômicos, considerando caracteres de morfologia foliar, floral e anatomia de sementes, foram realizados em Hypoxidaceae (Geerinck, 1968; Huber, 1969; Takhtajan 1969; Dahlgren 1975; 1983; Cronquist, 1981; Thorne, 1983; Heywood, 1993), até que Chase e colaboradores (2006) incluíram a família no clado "asteloide" com Asteliaceae, Blandfordiaceae e Lanariaceae. Segundo Rudall *et al.* (1998), o grupo asteloide seria a ramificação mais basal da ordem Asparagales. Outras oito famílias, sendo Boryaceae, Doryanthaceae, Iridaceae, Ixioliriaceae, Orchidaceae, Tecophilaeaceae, Xanthorrhoeaceae e Xeronemataceae, constituem as "asparagoides basais" da ordem Asparagales.

Em 1998, Rudall e colaboradores confirmaram o monofiletismo do grupo através de análises cladísticas com sequências de *rbcL* do DNA plastidial associadas a caracteres morfológicos e anatômicos, o que foi posteriormente corroborado por Kocyan *et al.* (2011). Esses autores reportaram caracteres micromorfológicos como a presença de células buliformes associadas às nervuras nas folhas, ausência de nectários, microsporogênese sucessiva, óvulos tenuinucelados e sementes mais ou menos globosas com rafe proeminente, como sinapomorfias para a família. A presença de canais mucilaginosos e tricomas ramificados são caracteres compartilhados com Asteliaceae. Os mesmos tipos de análises realizadas para as Lilianae (Chase *et al.*,1995a) e Orchidaceae (Cameron *et al.*, 1999) corroboraram a associação proposta por Huber (1969) entre Hypoxidaceae e Asteliaceae.

Em 2003, Ravenna criou o gênero *Heliacme* Ravenna, baseando-se em uma possível variação de *Curculigo scorzonerifolia*. O autor equivocou-se ao descrever os frutos de *Heliacme scorzonerifolia* Lam. (=*H. scorzonerifolia* (Lam.) Ravenna) como secos, não correspondendo com a realidade (Kocyan, 2011). Os estudos filogenéticos mais recentes para a família, ao combinar dados morfológicos, biogeográficos e de DNA plastidial (Kocyan *et al.*, 2011), propuseram Hypoxidaceae constituída por nove

gêneros – *Curculigo, Empodium* Salisb., *Hypoxidia* F. Friedmann, *Hypoxis, Molineria* Colla, *Pauridia* Harvey., *Rhodohypoxis* Nel, *Saniella* Hilliard & B.L.Burtt e *Spiloxene* Salisb. – e cerca de duzentas espécies (Kocyan *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012; Govaerts, 2017; Dutilh *et al.*, 2017). Um ano após a publicação da filogenia supracitada, Liu e colaboradores (2012) descreveram o novo gênero *Sinocurculigo* Z. J. Liu, L. J. Chen & Ke Wei Liu, para a China. Para Kocyan & Wiland-Szymanska (2016), o clado filogenético *Curculigo* apresenta problemas para a caracterização morfológica do grupo e distinção de grupos próximos. Os autores propuseram então o gênero *Friedmannia*, posteriormente renomeado como *Neofriedmannia* (Kocyan & Wiland-Szymanska, 2017).

Shiba & van der Bank (2017) apresentaram a reconstrução filogenética de um grande número de espécies de Hypoxidaceae de diferentes gêneros, que identificou quatro grandes clados bem sustentados na família. Nesta análise *H. decumbens* se localiza mais próximo de espécies americanas e *H. angustifolia* parece ser polifilética sendo que uma de suas variedades parece ter uma proximidade filogenética com *H. decumbens*. Shiba & van der Bank (2017) também mostraram a afinidade filogenética de *C. scorzonerifolia* com as outras espécies de *Curculigo*.

Cerca de 50 anos antes do estabelecimento de Hypoxidaceae como família (Brown, 1814), Linnaeus descreveu o gênero mais representativo de todo o táxon, *Hypoxis* (Linnaeus, 1759), que é compreendido por aproximadamente 90 espécies, quase 50% de toda a família, distribuídas pela Austrália, Ásia, África e Américas (Nordal, 1998, Wiland-Szymanska, 2001, 2006, 2009, Rudall *et al.*, 1998, Judd 2000, Zona *et al.*, 2009). A maioria massiva de espécies do gênero *Hypoxis* ocorre no continente africano. Baker (1896) elaborou uma chave de identificação para todas as espécies conhecidas do gênero na África do Sul, na qual reconheceu 41 espécies das quais, atualmente, nove pertencem a *Spiloxene* e duas a *Rhodohypoxis*. Após aproximadamente cem anos, Singh (2006) publicou uma lista com 69 espécies e 21 táxons infraespecíficos para o gênero *Hypoxis* de toda África.

Zimudzi (1993) desenvolveu sua tese de doutorado com a família Hypoxidaceae na região Centro-Sul africana, especialmente com *Hypoxis* e *Curculigo*, enfatizando as variações morfológicas nestes gêneros. Wiland (1997a e 1997b) realizou estudos com o gênero *Hypoxis* na África Central e, além de descrições de novas espécies, a autora verificou que eletromicrografias de varredura da superfície das sementes forneciam informações taxonômicas para o grupo. Diferentes trabalhos utilizaram caracteres macromorfológicos de folhas, inflorescências e sementes na delimitação específica dos *Hypoxis* africanos (Zimudzi, 1996; Nordal & Zimudzi, 2001; Wiland, 1997a, 1997b; Wiland-Szymanska, 2001 e Wiland-Szymanska & Adamski, 2002), os quais contribuíram principalmente com dados para a revisão do grupo sendo, portanto, baseados em conceitos morfológicos de espécie, de acordo com Singh (2009).

As espécies de *Hypoxis* podem ser encontradas nos mais distintos habitats, variando de áreas encharcadas com alagamentos temporários até áreas de solo rochoso com pouca disponibilidade hídrica (Nordal, 1998). Ervas de pequeno a médio porte com raízes fasciculadas contráteis, caule do tipo rizoma tuberoso globoso ou cormo, folhas sésseis, lineares a graminoides, canaliculadas a carinadas, glabrescentes ou com indumento mais denso, flores amarelas trímeras, 3 sépalas e 3 pétalas livres entre si ou unidas brevemente na base; o escapo floral é desenvolvido e o ovário sem rostro (Dutilh, 2017). Segundo Judd (2000), existe uma variação significativa na ornamentação da testa das sementes em Hypoxidaceae, especialmente para o gênero *Hypoxis*.

Para a América do Norte, inicialmente, Brackett (1923) considerou quinze espécies de *Hypoxis* e foi a primeira pesquisadora a enfatizar a importância da morfologia das sementes, especialmente a ornamentação da testa, para a identificação das espécies, seguida por Wiland (1997a e 1997b) e Judd (2000) para as espécies africanas. Britt (1967) reduziu o número das espécies americanas para apenas uma espécie polimórfica, *H. hirsuta* (L.) Coville, com quatro variedades, levando em consideração comparações morfológicas de folhas, flores, frutos, sementes, pólen e, ainda, dados de hibridização, citogenética e distribuição geográfica.

Em 1992, Herndon considerou cinco espécies em seu tratamento de *Hypoxis* para a Flórida (=*H. juncea* Sm., *H. leptocarpa* (Engelmann& Gray) Small, *H. rigida* Chapman, *H. sessilis* L. e *H. wrightii* (Baker) Brackett) comparando principalmente densidade de tricomas, forma e comprimento da folha em secção transversal, comprimento da flor e ornamentação das sementes. No levantamento e estudo mais recente realizado para o gênero, Judd (2000) reconheceu sete espécies de *Hypoxis* para a América do Norte (=*H. curtissii* Rose, *H. juncea*, *H. hirsuta*, *H. mexicana* Schultes & Schultes f., *H. rigida*, *H. sessilis* e *H. wrightii*) tendo como suporte os caracteres diagnósticos supracitados, anatomia e sequências de *rbcL*. Em 2002, Herndon considerou sete espécies para a Flora da América do Norte. Esta variação e baixa definição no número de espécies reconhecidas refletem as contínuas incertezas quanto à

caracterização e delimitação das espécies, uma problemática geralmente atribuída à ocorrência de hibridações e/ou apomixia em grande parte das representantes do grupo (Sklenar, 2005).

Os estudos com *Hypoxis* para a América do Sul são bastante escassos (Seubert, 1847; Brackett 1923; Dutilh, 2005, 2017; Pena 2008) e, num primeiro momento, foram reconhecidas apenas três espécies para o continente (Brackett, 1923): *H. decumbens* Linnaeus (1759), *H. breviscapa* Kunth e *H. humilis* Kunth (Humboldt *et al.*, 1816). Segundo Funez *et al.* (2016), *H. breviscapa* foi, posteriormente, sinonimizada em *H. decumbens*, entretanto os autores não mencionam a autoria da sinonimização. A propósito, o material tipo de *H. breviscapa*, utilizado para descrição por Kunth (1815), na realidade são exsicatas de *C. scorzonerifolia* (Bonpland & Humboldt 1073 em P! e B!).

Para a flora brasileira, desde a criação do gênero, apenas *H. decumbens* era considerada como representante do táxon no país (Seubert, 1847; Dutilh, 2005). Os indivíduos de *H. decumbens* são caracterizados por folhas planas, membranáceas, geralmente patentes a declinadas ou com ápice acuminado decumbente, pilosas a glabrescentes, tricomas pedunculados, nervura central conspícua convexa abaxialmente, geralmente duas nervuras laterais maiores e convexas adaxialmente resultando em folha de forma plicada em corte transversal; inflorescência com par de brácteas espatais, pedicelo menor que bráctea, 1-6 flores com tépalas amarelas e antese diurna; sementes pretas, lustrosas, com ornamentação arredondada (Dutilh *et al.*, 2017). A espécie é considerada, dentre as Hypoxidaceae, a de maior distribuição geográfica no continente americano, encontrada com frequência em áreas mais abertas, mas relativamente sombreadas, úmidas, próximas a matas, ou antropizadas. Comparando com os *Hypoxis* do continente africano, centro de diversidade e origem do gênero, essa espécie possui uma amplitude de distribuição equivalente a *H. angustifolia* Lam.

Após cerca de duzentos e cinquenta anos da descrição de *H. decumbens* por Linnaeus, *H. atlantica* Funez, Hassemer & J.P.R. Ferreira foi descrita para áreas alagadiças de restinga no Brasil, ocorrendo desde o litoral de Santa Catarina até o norte da Bahia (Funez *et al.*, 2016; Dutilh, 2017). Esta espécie é caracterizada por túnica fibrosa, folhas eretas, estreitas, canaliculadas a carinadas e carnosas, com pouco indumento; inflorescência com 1-2 flores, única bráctea espatal, pedicelo igual ou maior que o ovário e sementes acastanhadas e muricadas, com ornamentação piramidal (Dutilh *et al.*, 2017). Na descrição da espécie, Funez *et al.* (2016) apresentaram uma

comparação de caracteres morfológicos entre *H. atlantica*, *H. decumbens* e *H. humilis*, além de uma chave de identificação para as três espécies. *H. humilis* é uma espécie da região andina da América do Sul, com túnica fibrosa, folhas com largura intermediária entre *H. atlantica* e *H. decumbens*, indumento amarelado e sementes muricadas com ornamentação piramidal (Funez *et al.*, 2016).

Na Flora do Espírito Santo para a família Hypoxidaceae, Dutilh e colaboradores (2017) mencionaram a semelhança entre *H. atlantica* e *H. wrightii* (Baker) Brackett. Esta espécie foi descrita a partir de materiais de Cuba e apresenta o mesmo tipo de folhas, inflorescências e sementes que aquela (Herndon, 1988, 1992), tendo distribuição em ambientes semelhantes aos de *H. atlantica*, em planícies costeiras do Atlântico na América do Norte e Central.

Kocyan *et al.* (2011) sugeriram proximidade filogenética entre *H. decumbens* e *H. angustifolia* no clado *Hypoxis*. A relação filogenética entre as duas espécies é evidenciada pela morfologia externa, especialmente das folhas e pela distribuição geográfica de ambas. A variação morfológica de *H. angustifolia* foi abordada por Wiland-Szymańska & Adamski (2002).

As flores, tanto de *H. atlantica* quanto de *H. decumbens*, podem ser anômalas, ou seja, podem apresentar variação no número dos verticilos, segundo Ludwig (1889) e Dutilh *et al.* (2017), com número distinto de sépalas, pétalas e/ou estames nos indivíduos, atributos igualmente observados para a africana *H. angustifolia* (Wiland-Szymanska, 2002).

Para o gênero *Curculigo* Gaertn., a lista do *World Checklist of Selected Plant Families* apresenta 26 espécies válidas para o gênero, com a grande maioria distribuída pela África e Ásia e apenas uma espécie para o continente americano (WCSP, 2019). Os representantes do gênero são reconhecidos por folhas pseudopecioladas, flores aparentemente de tubo longo, formado por prolongamento do ovário, que é subterrâneo, frutos carnosos indeiscentes e sementes com estrofíolo ou carúncula carnosa (Zimudzi, 1994).

De acordo com Shiba & van der Bank (2017), a união de *Molineria* com *Curculigo* tornaria o clado monofilético. A espécie *Curculigo scorzonerifolia* representa o gênero para as Américas e sua distribuição abrange as porções tropical e subtropical, sendo relatada para o México, toda América Central e América do Sul, exceto Chile, Argentina, Paraguai e Uruguai (Baker, 1880; Brackett, 1923, WCSP, 2019). As folhas são eretas, plicadas e a inflorescência com único escapo unifloral, muito reduzida e base

da flor envolvida por bráctea espatal incluída entre as bainhas das folhas. A flor apresenta um prolongamento do ovário, ou rostro, semelhante a um tubo floral, com indumento e verticilos do perianto inseridos no ápice e expostos. Quando da frutificação, como o ovário permanece inserido entre a bainha das folhas, os frutos carnosos não são visíveis e a planta parece estéril. Brackett (1923) mencionou que muitos dos registros de *C. scorzonerifolia* foram comumente identificados como *Hypoxis scorzonerifolia* Lam., primeiro nome da espécie, e como *H. decumbens*. A autora relatou que as folhas de *C. scorzonerifolia* são mais estreitas e graminiformes que as dos demais *Curculigo*, e semelhantes às folhas dos gêneros basais da subfamília Apostasioideae, *Apostasia* e *Newedia*, em Orchidaceae (Brackett, 1923), o que segundo Kocyan *et al.* (2011) e Liu *et al.* (2012), pode ser mais uma evidência da proximidade filogenética entre as duas famílias.

O nível de variação morfológica observada para as folhas em *Curculigo* é semelhante à encontrada no gênero *Hypoxis* e pode estar associada à ampla distribuição dos táxons. Singh (2009) observou que a espécie africana com maior distribuição é *H. angustifolia*, morfologicamente similar à *H. decumbens*. Nas áreas de sobreposição de distribuição das duas espécies do gênero *Hypoxis* podem ser encontrados indivíduos com características morfológicas intermediárias entre elas, considerados possíveis híbridos (com. pess. Campos-Rocha & Dutilh). Indivíduos das três espécies da família Hypoxidaceae que ocorrem no Brasil, incluindo dois acessos diferentes de *H. decumbens* podem ser observados na Figura 1.

Os estudos anatômicos na família Hypoxidaceae iniciaram no final do século XIX com Schnarf (1892) e Schulze (1893). Ambos proveram descrições anatômicas comparativas de raízes, rizomas, folhas e pedúnculos em espécies dos gêneros *Hypoxis*, *Curculigo* e *Pauridia*; o gênero *Spiloxene* foi abordado apenas por Scharf (1892). Schulze (1893) mencionou que o gênero *Pauridia* não poderia ser separado anatomicamente de *Hypoxis*.

Para Nel (1914) a anatomia foliar do gênero *Spiloxene* forneceu informações de baixo valor diagnóstico para a delimitação das espécies, entretanto ele obteve o resultado oposto utilizando a anatomia das folhas do gênero *Hypoxis*, que forneceram dados taxonomicamente relevantes em nível infragenérico. Caracteres como o número, distribuição e tamanho dos feixes vasculares foram de reconhecida importância. O autor apresentou, ainda, esquemas ilustrando a organização interna das folhas e propôs que as seções de *Hypoxis* poderiam ser divididas a partir dessas observações.

Em 1939, Selma Cohen realizou uma investigação em 25 espécies de *Hypoxis*, várias das quais são atualmente distribuídas em gêneros diferentes. A autora discute o trabalho de Nel (1914) e utiliza diversas características morfológicas para separar os grupos, de folhas a inflorescências, descartando a utilidade da morfologia do cormo por este ser muito variável. As características enfatizadas como de utilidade taxonômica são as anteras e estiletes, sua relação de tamanho e forma das partes (Cohen, 1939). Em 1983, Heideman publicou um estudo com enfoque taxonômico para onze espécies e sete variedades do gênero *Hypoxis*, analisando vários aspectos vegetativos e florais, sem mencionar as sementes, através da morfoanatomia e microscopia eletrônica de varredura.

Em 1998, Rudall *et al.* publicaram um estudo bastante completo sobre anatomia foliar para Hypoxidaceae, fornecendo descrições anatômicas das folhas de todos os gêneros, exceto *Saniella*. Oito espécies de *Hypoxis* fizeram parte do estudo, incluindo a espécie africana *H. angustifolia*, a sul-americana *H. decumbens* e seis espécies do gênero *Curculigo*, não incluindo *C. scorzonerifolia*.

Ao estudar as espécies africanas do gênero *Hypoxis*, em sua tese de doutorado Singh (2009) contribuiu com informações acerca da morfologia, anatomia dos órgãos vegetativos, fitoquímica e ecologia, além de correlacionar estes dados com a filogenia das espécies. Em adição, a autora elaborou um histórico detalhado dos estudos anatômicos mais importantes realizados em Hypoxidaceae, designando quais espécies foram estudadas e quais órgãos das plantas foram utilizados. De acordo com o levantamento, órgãos como raízes, rizomas e pedúnculos tiveram sua estrutura anatômica evidenciada e comparada, mas as folhas foram os órgãos mais utilizados na maioria dos trabalhos publicados (Schnarf, 1892; Schulze, 1893; Nel 1914; Arber, 1925; Thompson, 1976; Heideman, 1983, Rudall *et al.*, 1998).

Um número significativo de trabalhos publicados evidencia que, nas investigações acerca do grupo, as análises de caracteres de morfologia externa e interna possuem elevado potencial diagnóstico para a delimitação de espécies (Heideman, 1983; Singh, 2009, Wiland-Szymanska, 2001, 2009). O histórico taxonômico movimentado e as semelhanças e diferenças morfológicas vegetativas entre algumas espécies americanas do gênero *Hypoxis* (*H. atlantica*, *H. decumbens*, *H. humilis* e *H. wrightii*), a espécie africana *H. angustifolia* e toda a família Hypoxidaceae no Brasil indicam que estudos anatômicos podem trazer informações relevantes para a caracterização e delimitação das mesmas.



Figura 1: Indivíduos das três espécies de Hypoxidaceae do Brasil. a. *Hypoxis atlantica* (Guarapari, ES). **b.** *H. decumbens* (Campinas, SP). **c.** *H. decumbens x atlantica* (ACR1637, Ilha do Cardoso, SP). **d.** *H. decumbens* (ACR1630, Ilha do Cardoso, SP). **e.** *Curculigo scorzonerifolia* (Jaíba, MG).

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como principais objetivos:

- g) Investigar e caracterizar a morfoanatomia foliar da família Hypoxidaceae no Brasil e a superfície das sementes das espécies brasileiras do gênero *Hypoxis*;
- h) Identificar os caracteres morfoanatômicos com valor diagnóstico para os representantes brasileiros dos gêneros *Hypoxis* e *Curculigo*;
- i) Comparar a morfologia e estrutura anatômica de folhas e de sementes das espécies supracitadas com a literatura sobre alguns gêneros e espécies de Hypoxidaceae não nativas do Brasil;
- j) Aprofundar o conhecimento sobre a identidade morfológica entre as espécies brasileiras e espécies exóticas semelhantes, como Hypoxis angustifolia, H. atlantica, H. decumbens e H. wrightii.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O material de estudo foi obtido em campo ou retirado de material complementar herborizado coletado em diferentes localidades, amostrando folhas das três espécies que representam a família Hypoxidaceae no Brasil, *Hypoxis decumbens, H. atlantica* e *Curculigo scorzonerifolia*. Embora não tenham registros para o país, o material de duas espécies do gênero *Hypoxis* morfologicamente semelhantes às do material de estudo também foi coletado: *H. wrightii* (FTG74413, NY73169) e *H. angustifolia* (MO6038748), espécie morfológica e filogeneticamente mais próxima à *H. decumbens* (Kocyan *et al.* 2011). A lista completa do material de estudo e seus respectivos vouchers está apresentada na tabela 1.

Para o estudo anatômico, foram coletadas folhas frescas ou de espécimes herborizados, completamente expandidas, de indivíduos adultos de todas as espécies. A seguir, as folhas frescas foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético glacial e etanol 50%) (Johansen, 1940) por um período mínimo de 24 horas, submetidas a vácuo para auxiliar na penetração do fixador. Posteriormente, o material foi desidratado com álcool etílico 50% e armazenado em álcool etílico 70%. As amostras de folhas herborizadas foram submetidas ao procedimento de reversão de herborização segundo Smith & Smith (1942) sendo, inicialmente, reidratadas em água destilada aquecida (80 °C) até submersão. As amostras foram inseridas em solução de hidróxido de potássio 2% em temperatura ambiente por 2 h, para distensão dos tecidos e, em seguida, lavadas em água destilada (2-3 vezes por 30 min). Foi realizada a desidratação deste material em série etílica crescente (10%, 30%, 50%) e armazenado em álcool 70%. A porção mediana das folhas foi selecionada e incluída em resina plástica hidroxi-etil-metacrilato (Historesin Leica[®], Heraeus-Kulzer, Hanau, Germany), seguindo as normas do fabricante. Secções transversais e longitudinais foram realizadas com espessura de 5-7 µm em micrótomo rotativo manual com navalha descartável de aço, as lâminas coradas com azul de toluidina 0,05% (em tampão citrato, pH 4,5) (Sakai, 1973) por 10 min e, posteriormente, montadas em resina sintética Entellan® (Merck®, Darmstadt, Germany). Secções longitudinais paradérmicas de ambas as faces das folhas foram obtidas com lâmina de barbear virgem e coradas com azul de toluidina e com a combinação de azul de astra com safranina. A documentação das imagens foi realizada por captura em câmera digital (modelo DP71) acoplada ao fotomicroscópio Olympus BX51.

A análise por Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada na região mediana de folhas expandidas das três espécies de Hypoxidaceae brasileiras e, em virtude da importância taxonômica relatada para a superfície das sementes de espécies africanas do gênero *Hypoxis* (Singh, 2009), foram igualmente selecionadas sementes de *H. atlantica* e *H. decumbens*. As amostras foram fixadas em FAA 50% por 24 h, desidratadas em gradiente de série etílica e secas pelo ponto crítico de CO₂ em equipamento Balzers (modelo CPD 030). O material foi montado em suportes metálicos e recoberto com ouro coloidal, por 170 segundos, em equipamento Bal-Tec (modelo SCD 050). As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura LEO modelo VP 435 a 20 kV, no Laboratório de Microscopia Eletrônica, Instituto de Biologia/UNICAMP.

Espécies	Localidade	Voucher	Herbário
<i>Hypoxis atlantica</i> Funez, Hassemer & J.P.R. Ferreira	Brasil, Espírito Santo, Guarapari	A. Campos-Rocha 1632	UEC
Hypoxis decumbens L.	Brasil, São Paulo, Ilha do Cardoso	A. Campos-Rocha 1630	UEC
Hypoxis decumbens L.	Brasil, São Paulo, Ilha do Cardoso	A. Campos-Rocha 1637	UEC
Hypoxis decumbens L.	Brasil, São Paulo, Campinas	A. Campos-Rocha 1854	UEC
<i>Curculigo scorzonerifolia</i> (Lam.) Baker	Brasil, Minas Gerais, Jaíba	M. Peixoto 9003	UEC
<i>Curculigo scorzonerifolia</i> (Lam.) Baker*	Brasil, Pará	P. Cavalcante 2408	NY
<i>Curculigo scorzonerifolia</i> (Lam.) Baker*	Jamaica	G.R. Procter 3183	FTG38740
Hypoxis angustifolia Lam.*	Madagascar	R. Razakamalala 1556	MO6038748
Hypoxis wrightii (Baker) Brackett*	Estados Unidos	Bradley 58	FTG74413
Hypoxis wrightii (Baker) Brackett*	Cuba	C. Wright 3745	NY73169

Tabela 1. Lista de espécies e respectivos vouchers utilizados no estudo.

A presença de (*) indica o uso de material herborizado.

4.1 Morfoanatomia foliar de *Hypoxis atlantica* Funez, Hassemer & J.P.R. Ferreira

Em vista geral da secção transversal, as folhas de H. atlantica são estreitas e possuem forma de "V", constituídas por epiderme uniestratificada em ambas as faces, mesofilo parenquimático e presença de esclerênquima restrito às margens e aos feixes vasculares de maior calibre (Fig. 2a) na nervura central e um entre a nervura central e a margem. As folhas mostraram ser anfiestomáticas, com cutícula inconspícua e células epidérmicas arredondadas em secção transversal, maiores na face adaxial (Fig. 2b, c e e). As maiores células epidérmicas ocorrem na face adaxial oposta ao feixe vascular da nervura central (Fig. 2e). O mesofilo é homogêneo, composto por cerca de seis a sete camadas de células de parênquima clorofiliano esponjoso (Fig. 2b), eventualmente com uma camada de células parenquimáticas clorofilianas paliçádicas adjacente à face abaxial (Fig. 2c). Idioblastos com ráfides ocorrem no mesofilo e, geralmente, apresentam substância mucilaginosa no interior da célula (Fig. 2d). A nervura central é composta por um feixe vascular colateral único, geralmente com diversas camadas de esclerênquima opostas ao floema (Fig. 2a, e) podendo, igualmente, ocorrer opostas ao xilema. Camadas de células esclerenquimáticas foram observadas em ambas as margens foliares (Fig. 2a,f).



Figura 2: Anatomia foliar de *Hypoxis atlantica*. a-b, e-f: Secções transversais. c-d: Secções longitudinais. a. Vista geral da folha, notar a organização dos tecidos e a presença de esclerênquima nas margens foliares nas nervuras laterais e, no feixe vascular principal, oposto ao floema e em menor quantidade ao xilema. b. Lâmina foliar, notar a composição do mesofilo e os feixes vasculares de menor calibre e uma das nervuras laterais, com extensão da bainha esclerenquimática oposta tanto ao xilema quanto ao floema. c. Lâmina foliar, notar a camada de parênquima paliçádico adjacente à face abaxial. d. Idioblasto com ráfide, notar a presença de células epidérmicas maiores, na face adaxial, opostas ao feixe vascular principal. f. Margem foliar, notar a presença de esclerênquima na porção terminal do mesofilo, a variação de tamanho entre os feixes vasculares e a base de um tricoma não glandular. Legenda: epi = epiderme; fab = face abaxial; fad = face adaxial; fv = feixe vascular; id = idioblasto; mes = mesofilo; pal = parênquima paliçádico; scl= esclerênquima; sto = estômato; trc = tricoma. Escala: a: 100 µm. b-c, e-f: 50 µm. d: 20 µm.

4.2 Morfoanatomia foliar de Hypoxis decumbens L.

Em secção transversal, as folhas de H. decumbens apresentam-se planas e plicadas ou levemente plicadas (Fig. 3a) em vista geral, em decorrência da presença de duas nervuras laterais em cada lado da nervura central e proeminentes na face adaxial. As folhas são anfiestomáticas (Fig. 3d) com cutícula inconspícua e células epidérmicas com contorno arredondado foram evidenciadas em secção transversal por toda a epiderme. A presença de tricomas não glandulares distribuídos pela epiderme foi observada para todos os indivíduos analisados. Os tricomas possuem base multicelular constituída por duas células (Fig. 3b), são bifurcados e a coloração com azul de Astra e safranina evidenciou o espessamento e a presença de lignina (Fig. 3c). O mesofilo é homogêneo, estreito, composto por clorênquima com cerca de três camadas de células parenquimáticas do tipo esponjoso (Fig. 3d). Idioblastos com ráfides foram observados tanto em secção transversal (Fig. 3d) quanto longitudinal e os cristais de oxalato de cálcio geralmente acompanhados de mucilagem no interior da célula (Fig. 3e). Os feixes vasculares são distribuídos de forma equidistante de ambas as faces. O tamanho dos feixes vasculares apresenta três variações: grandes, sendo representados pelo feixe vascular da nervura central (Fig. 3g) e pelas nervuras laterais salientes, com fibras esclerenquimáticas opostas tanto ao floema quanto ao xilema (Fig. 3h); médios, feixes vasculares intermediários com presença de fibras esclerenquimáticas opostas apenas ao floema (Fig. 3i) e pequenos, feixes vasculares de menor calibre entre os demais feixes, caracterizados pela ausência de fibras do esclerênquima (Fig. 3i). Nervura central conspícua e convexa abaxialmente, caracterizada por um feixe vascular colateral com fibras de esclerênquima opostas ao floema; presença de células buliformes na face adaxial da epiderme, oposta ao feixe vascular (Fig. 3f). Na região das nervuras laterais, as células da epiderme apresentam-se menores que as adjacentes e, as saliências em ambas as faces formam o plicado das lâminas foliares, devido à presença de esclerênquima oposto tanto ao xilema quanto ao floema (Fig. 3g). O esclerênquima está ausente nas margens foliares (Fig. 3h).



Figura 3: Anatomia foliar de *Hypoxis decumbens.* a-b, d, g-i: Secções transversais. c, e-f: Secções longitudinais. a. Vista geral da folha, notar a morfologia plicada. b. Detalhe evidenciando epiderme uniestratificada e tricoma, notar a base multicelular. c. Tricoma tector bifurcado e lignificado. d. Lâmina foliar, notar epiderme uniestratificada, clorênquima, feixe vascular colateral e idioblastos com ráfide. e. Lâmina foliar, notar o contorno das células epidérmicas, número de camadas do mesofilo e idioblasto com ráfide. f. Secção paradérmica evidenciando idioblasto com ráfide, notar a presença de substância mucilaginosa ao redor do cristal de oxalato de cálcio. g. Nervura central, notar as células buliformes e o feixe vascular grande com fibras opostas ao floema. h. Nervura lateral, notar o feixe vascular grande, a variação no tamanho das células epidérmicas opostas ao feixe vascular e a presença de fibras opostas tanto ao xilema quanto ao floema. i. Margem foliar, notar a ausência de esclerênquima na porção terminal do mesofilo e os feixes vasculares, intermediário com esclerênquima oposto ao floema e menor, sem esclerênquima. Legenda: epi = epiderme; fab = face abaxial; fad = face adaxial; fv = feixe vascular; id = idioblasto; mes = mesofilo; muc: mucilagem; scl= esclerênquima; sto = estômato; trc = tricoma. Escala: a: 200 μ m. g: 50 μ m. b-f, h-i: 20 μ m.

4.3 Variações morfoanatômicas das folhas de *Hypoxis decumbens* (acessos 1630 e 1637)

A análise morfoanatômica comparativa de diferentes acessos de H. decumbens foi realizada e mostrou as variações que podem ocorrer tanto na morfologia externa quanto interna da espécie. As secções transversais das folhas de H. decumbens (acesso 1630) revelaram folhas dorsiventralmente planas com saliência abaxial na nervura central e quatro saliências adaxiais, duas maiores, centrais, e duas menores, próximas à margem (Fig. 4a). As folhas do acesso 1637, encontrado em meio a uma população de H. atlantica, e que foi considerado possível híbrido entre H. atlantica e H. decumbens, mostraram base em forma de "V" e uma grande quantidade de tricomas na região (Fig. 4b). As secções transversais das folhas em vista geral revelaram contorno levemente plicado, com uma nervura lateral adaxialmente saliente em cada lado da lâmina (Fig. 4c). As lâminas foliares do acesso 1630 revelaram a presença de células buliformes por praticamente toda a extensão da face adaxial da epiderme (Figs. 4d-e), com células menores nas regiões opostas aos feixes vasculares (Fig. 4d); mesofilo homogêneo com parênquima clorofiliano e feixes vasculares do tipo colateral; fibras esclerenquimáticas opostas ao floema ocorrem nos feixes vasculares de maior calibre (Fig. 4d). Além da diferença no tamanho das células epidérmicas entre a face adaxial e abaxial, foi possível observar mesofilo composto por cerca de 4-7 camadas de células de parênquima clorofiliano com contorno elíptico a arredondado e a presença de idioblastos com ráfides (Fig. 4e). As margens foliares do acesso 1630 não apresentaram esclerênquima no mesofilo. O acesso 1637 apresentou lâminas foliares com epiderme uniestratificada e células de contorno mais homogêneo (Fig. 4g); idioblastos com ráfides distribuídos pelo mesofilo foram observados tanto em secção transversal (Fig. 4g) quanto longitudinal (Fig. 4h), evidenciando a presença de substância mucilaginosa ao redor do cristal de oxalato de cálcio. As margens foliares do acesso 1630 mostraram presença de esclerênquima na porção terminal do mesofilo (Fig. 4i). Quanto às nervuras central e lateral, os acessos mostraram mais semelhanças entre si que diferenças. A nervura central do acesso 1630 apresentou feixe vascular central com fibras esclerenquimáticas opostas ao floema e grandes células buliformes na face adaxial da epiderme (Fig. 4j), enquanto que no acesso 1637 (Fig. 4k) as células buliformes são menores, com tamanho mais homogêneo e o feixe vascular central semelhante ao acesso 1630. As nervuras laterais de ambos os acessos apresentaram fibras de esclerênquima tanto opostas ao



xilema quanto ao floema (Fig. 41-m) e as células buliformes, como observado na nervura central, são maiores no acesso 1630 (Fig. 41) que no acesso 1637 (Fig. 4m).

Figura 4: Variações morfoanatômicas em dois acessos de *Hypoxis decumbens*, **ACR1630 e ACR 1637. a, d-f, j, l:** Acesso 1630, Ilha do Cardoso, São Paulo. **b-c, g-i, k, m:** Acesso híbrido 1637, Ilha do Cardoso, São Paulo. **a-g, i-m:** secções transversais. **h:** secção longitudinal paradérmica. **a:** Vista geral da folha, notar a morfologia plicada, com nervuras laterais adaxialmente salientes. **b.** Base da folha, notar a morfologia em forma de "V". **c.** Vista geral da folha, notar a morfologia levemente plicada e as nervuras laterais com saliência adaxial. **d.** Lâmina foliar, notar a presença de células buliformes na face adaxial, os feixes vasculares e o mesofilo parenquimático estreito. **e.** Detalhe da lâmina foliar, notar as células buliformes na face adaxial, mesofilo com espaços intercelulares e presença de idioblasto com ráfide. **f.** Margem foliar, notar a ausência de esclerênquima na porção terminal do mesofilo e o feixe vascular com fibras opostas ao floema. **g.** Detalhe da lâmina foliar, notar epiderme uniestratificada, mesofilo parenquimático e feixes vasculares. **h.** Detalhe do mesofilo, evidenciando idioblasto com ráfide, notar substância mucilaginosa. **i.** Margem foliar, notar a presença de esclerênquima na porção terminal do mesofilo. **j.** Nervura central, notar a presença de células buliformes na face adaxial e o feixe vascular com fibras esclerenquimáticas junto ao floema. **k.** Nervura central, notar a presença de células buliformes na face adaxial e o feixe vascular com fibras de esclerênquima opostas ao floema. **l.** Nervura lateral do acesso ACR1630. **m.** nervura lateral do acesso 1637. Legenda:

epi = epiderme; fab = face abaxial; fad = face adaxial; fv = feixe vascular; id = idioblasto; mes = mesofilo; scl= esclerênquima; sto = estômato; trc = tricoma. **Escala:** a: 1000 μ m. b-c: 200 μ m. d, j: 100 μ m. k-m: 50 μ m e-i: 20 μ m.

4.4 Morfoanatomia foliar de Curculigo scorzonerifolia (Lam.) Baker

As folhas dos diferentes acessos de C. scorzonerifolia mostraram variação tanto na morfologia externa quanto interna entre os acessos, principalmente na comparação entre os acessos de Minas Gerais e Pará (Fig. 5a-b). Já o material obtido do acesso da Jamaica mostrou-se semelhante a um dos acessos brasileiros (Jaíba/MG). As folhas dos acessos de Jaíba apresentaram-se amplamente largas em relação às folhas do acesso do Pará, menores (Fig. 5a-b). Em média, o número de feixes vasculares observados nas secções transversais das folhas analisadas variou entre ca. 45 feixes vasculares no acesso de Jaíba e ca. 15 feixes vasculares no acesso do Pará. Em ambos os acessos, foi observada nervura central proeminente na face abaxial e saliências adaxiais nas nervuras laterais de maior calibre, conferindo o aspecto plicado para as folhas dorsiventralmente planas (Fig. 5a-b). Em pontos específicos da epiderme, agrupamentos de células buliformes foram observados nas folhas do acesso de Jaíba, alternados em ziguezague com as nervuras de maior calibre, refletindo na morfologia externa plicada da folha (Fig. 5a). As folhas do acesso do Pará apresentam células epidérmicas distribuídas de forma mais homogênea que o observado no acesso de Jaíba, com células maiores na face adaxial e menores na face abaxial. A presença de células buliformes, neste acesso, estende-se por praticamente toda a face adaxial da epiderme foliar (Fig. 5b). Epiderme uniestratificada com contorno celular variável, mas geralmente elíptico e arredondado, foi observada para ambos os acessos (Fig. 5c), exceto a face adaxial do acesso do Pará com células buliformes. Tricomas não-glandulares com base multicelular foram observados em todos os acessos da espécie; diferentes planos das secções transversais mostraram ca de seis células circundando uma célula central, na base do tricoma (Fig. 5d-e). O mesofilo é composto por ca. 7-10 camadas de células de parênquima esponjoso com poucos espaços intercelulares, feixes vasculares colaterais com fibras de esclerênquima opostas tanto ao xilema quanto ao floema (Fig. 5f); feixes vasculares de menor calibre e sem fibras podem ocorrer alternados aos maiores. A nervura central de ambos os acessos é abaxialmente saliente, possui um feixe vascular colateral, geralmente, com menor quantidade de fibras esclerenquimáticas na região oposta ao xilema (Fig. 5g). A face adaxial da epiderme, nesta região, apresenta células buliformes maiores que nas demais regiões da epiderme. Diferentemente da nervura

central, as nervuras laterais apresentam saliência na face adaxial; a quantidade de fibras esclerenquimáticas é similar, tanto na região oposta ao xilema quanto ao floema (Fig. 5h). As margens foliares possuem contorno arredondado, podendo apresentar fibras de esclerênquima na porção terminal do mesofilo, como no acesso de Jaíba (Fig. 5i), ou não, como no acesso do Pará (Fig. 5j). Foi possível observar que, no acesso de Jaíba, as margens são adaxialmente ascendentes, enquanto que no acesso do Pará, as margens foliares apresentam-se planas.



Figura 5: Anatomia foliar de *Curculigo scorzonerifolia*. a-j: Secções transversais. a, c-i: Acesso de Jaíba, estado de Minas Gerais. b, j: Acesso do estado do Pará. a. Vista geral da folha, notar a morfologia plicada. b. Vista geral da folha, notar a morfologia plicada, o número de feixes vasculares, a distribuição das nervuras laterais com saliência adaxial e a distribuição das células buliformes na face adaxial da epiderme. c. Lâmina foliar, notar o contorno das células epidérmicas, as células buliformes e a presença de idioblasto com ráfide no mesofilo. d. Detalhe da epiderme na face abaxial, evidenciando o tricoma não-glandular, notar as seis células constituintes da base do tricoma e a espessura do mesmo. e. Detalhe da epiderme na face abaxial, evidenciando a base do tricoma tector com uma célula central. f. Lâmina foliar,

notar o feixe vascular colateral com fibras opostas ao xilema e ao floema e o parênquima clorofiliano. **g.** Nervura central, notar as células buliformes e o feixe vascular principal com poucas fibras opostas ao xilema e muitas fibras opostas ao floema. **h.** Nervura lateral, notar o feixe vascular e a saliência adaxial da lâmina foliar. **i.** Margem foliar adaxialmente ascendente, notar a presença de esclerênquima na porção terminal do mesofilo e os feixes vasculares de diferentes tamanho. **j.** Margem foliar plana, notar a ausência de esclerênquima na porção terminal do mesofilo. **Legenda:** epi = epiderme; fab = face abaxial; fad = face adaxial; fv = feixe vascular; id = idioblasto; mes = mesofilo; scl= esclerênquima; sto = estômato; trc = tricoma. **Escala:** a: 1000 µm. b: 500 µm. g-h: 50 µm. b-e, i-j: 20 µm.

4.5 Superfície foliar de Hypoxis atlantica, H. decumbens e Curculigo scorzonerifolia

As seccões paradérmicas mostraram folhas anfiestomáticas e estômatos paracíticos para as três espécies analisadas, incluindo todos os diferentes acessos (Fig 6a-f). As células epidérmicas de *H. atlantica*, dentre as espécies do gênero, mostraram contorno menos homogêneo em vista frontal, apresentando células quadrangulares, com extremidades angulares a arredondadas; as células comuns da epiderme, geralmente alongadas transversalmente em relação ao eixo estomático (Fig. 6a). Os acessos de H. decumbens mostraram contorno mais homogêneo das células epidérmicas em vista frontal; as células comuns da epiderme apresentaram-se alongadas paralelamente em relação ao eixo estomático (Fig. 6b-c). As secções paradérmicas do indivíduo considerado híbrido entre H. atlantica e H. decumbens, 1637, mostraram-se semelhantes ao observado para H. decumbens (Campinas, SP). Para C. scorzonerifolia, foi observada uma pequena variação entre o contorno das células da face adaxial (Fig. 6d), longitudinalmente alongadas e da face abaxial (Fig. 6e), menos alongadas. As micrografias eletrônicas de varredura mostraram superfície livre de ornamentações epicuticulares e cera para todas as espécies, como observado na superfície de C. scorzonerifolia (Fig. 6f). A presença de tricomas não-glandulares foi comum para todas as espécies de Hypoxis e Curculigo analisadas e, geralmente, a base é multicelular, como observado em H. atlantica (Fig. 6g) e as células apicais bastante alongadas. Tricomas bifurcados, como observado em H. decumbens (Fig. 6h), foram comuns em ambos os gêneros analisados. Conforme revelado pelas secções transversais, as bases dos tricomas são multicelulares, formadas por no mínimo quatro células, como em H. decumbens (Campinas, Fig. 6i) e H. decumbens (1637, Fig. 6j). Tanto os tricomas unisseriados quanto os bifurcados podem apresentar torção ascendente, como observado em C. scorzonerifolia (Fig. 6j).



Figura 6: Superfície foliar das espécies de Hypoxidaceae do Brasil. a-e. Secções paradérmicas. f-k. Micrografias Eletrônicas de Varredura. a. Hypoxis atlantica, face abaxial. b. H. decumbens (Campinas, SP), face abaxial. c. H. decumbens (ACR1637, Ilha do Cardoso, SP), face adaxial. d. Curculigo scorzonerifolia (Jaíba, MG), face adaxial. e. C. scorzonerifolia, face abaxial. f. C. scorzonerifolia, face abaxial, notar os estômatos paracíticos e a ausência de cera nas células epidérmicas. g. H. atlantica, tricoma tector. h. H. decumbens, tricomas bifurcados. i. H. decumbens, células da base de tricoma rompidas. j. H. decumbens (ACR1637, Ilha do Cardoso, SP), células da base de tricoma rompidas. e. tricoma bifurcado. k. C. scorzonerifolia, tipos de tricomas, unisseriado e bifurcado. Escala: h: 100 µm. a-f, j-k: 20 µm. g, i: 10 µm.

4.6 Sementes de Hypoxis decumbens e H. atlantica

A cobertura das sementes de H. decumbens e H. atlantica é bastante distinta entre as duas espécies. Foi possível observar a presença de uma película revestindo as sementes de H. atlantica, no interior do fruto (Fig. 7a). Nesta espécie as sementes são ligeiramente maiores que em H. decumbens, apresentando contorno elíptico, coloração acastanhada e superfície muricada (Fig. 7b). Em vista frontal, foram observadas células poligonais com 6-7 lados recobertas por aparente película ornamentada (Fig. 7c). Em detalhe, as micrografias eletrônicas revelaram superfície com cutícula evidente, cristas cuticulares com aspecto membranáceo maiores com padrões variando entre "X" e "Y" e estrias menores promovendo um aspecto rugoso para toda a superfície das sementes de H. atlantica (Fig. 7d). As sementes de H. decumbens são menores que as de H. atlantica, apresentando-se lustrosas e com padrão de ornamentação distinto do observado para a cobertura das sementes de H. atlantica (Fig. 7e). Contorno subgloboso, coloração enegrecida e ornamentações obtusas mais ou menos densamente agrupadas (Fig. 7f). Em Microscopia Eletrônica de Varredura, a superfície das sementes de H. decumbens revelou um padrão poligonal das células com 4-7 lados delimitando as projeções obtusas (Fig. 7g). Em detalhe, as células da cobertura da semente apresentaram grânulos possivelmente de cera epicuticular, exceto nos limites entre as células; as projeções obtusas, eventualmente, apresentam contorno papiloso em vista frontal.



Figura 7: Sementes das espécies brasileiras do gênero *Hypoxis.* **a-d**: *Hypoxis atlantica.* **e-h:** *H. decumbens.* **a-b, e-f:** Imagens obtidas em Estereomicroscópio. **c-d, g-h:** Microscopia Eletrônica de Varredura. **a.** Sementes no interior do fruto. **b.** Vista geral da semente, note a coloração acastanhada e a presença de película na superfície muricada. **c.** Vista geral da semente, note o agrupamento adensado das ornamentações. **d.** Detalhe da superfície da semente, note as estrias maiores (seta branca) e as menores; observe também o contorno poligonal das células. **e.** Sementes no interior do fruto. **f.** Vista geral da semente, note o espaçamento entre as ornamentações da cobertura da semente. **g.** Vista geral da semente, notar os limites poligonais entre as células e as projeções obtusas. **h.** Detalhe da superfície da semente evidenciando os limites poligonais entre as células e a presença de grânulos epicuticulares na superfície de cada célula. **Legenda:** fun = funículo; mic = micrópila. **Escala:** a, e: 500 µm; b, c, f: 200 µm; g: 100 µm; d, h: 20 µm.

4.7 Morfoanatomia foliar comparativa entre espécies do gênero *Hypoxis* relacionadas morfológica e filogeneticamente

As secções transversais das folhas de *H. atlantica* e dos dois diferentes acessos de *H. wrightii* (FTG74413, NY73169) possibilitaram a indicação de características semelhantes entre as duas espécies. Tanto a espécie brasileira quanto os acessos da norte-americana possuem folhas canaliculadas que, em secção transversal, mostram contorno em forma de V (Fig. 8 a-c). A presença de células buliformes na face adaxial da epiderme, na região oposta à nervura central foi igualmente observada. O mesofilo apresentou cerca de seis camadas de células de parênquima clorofiliano e idioblastos com ráfides também foram observados em todos os acessos. A presença de esclerênquima nas margens foliares mostrou ser um caráter comum a todas as introduções como também a presença deste tecido nas nervuras laterais, oposta tanto ao xilema quanto ao floema e, na nervura central, oposta ao floema (Fig. 8a-c).

Quanto às espécies H. angustifolia e H. decumbens, foi possível observar morfologia plicada para as folhas de ambas as espécies, característica distinguível na morfologia externa e interna. Tal característica ocorre em virtude das nervuras laterais adaxialmente salientes, também compartilhadas pelas duas espécies (Fig. 8d-e). A presença de células epidérmicas maiores na face adaxial que na face abaxial e as células buliformes, principalmente, na porção adaxialmente oposta à nervura central e nas adjacências das nervuras laterais foram características observadas tanto na espécie brasileira quanto na africana. O número de feixes vasculares é distinto entre H. angustifolia (ca. 25) e H. decumbens (ca. 15). Todavia, a organização das nervuras laterais e a distribuição de tecido esclerenquimático são evidentemente características comuns a ambas as espécies. Feixes de esclerênquima opostos tanto ao xilema quanto ao floema foram observados nas nervuras laterais proeminentes na face adaxial, e também no último maior feixe vascular adjacente à margem. As duas espécies apresentaram esclerênquima bem desenvolvido na nervura central, oposto ao floema. A ausência de fibras esclerenquimáticas nas margens foliares também foi uma característica comum à *H. angustifolia* e *H. decumbens* (Fig. 8 d-e).



Figura 8: Secções transversais de folhas de espécies do gênero *Hypoxis* relacionadas morfológica e/ou filogeneticamente. a. *Hypoxis atlantica* (Guarapari, ES). b. *H. wrightii* (FTG74413). c. *H. wrightii* (NY73169). d. *H. decumbens* (Campinas, SP). e. *H. angustifolia* (MO6038748). Escala: b-e: 200 µm. a: 100 µm.

5. DISCUSSÃO

Os resultados mostraram algumas características anatômicas comuns a todas as espécies analisadas, como: folhas anfiestomáticas, estômatos paracíticos, epiderme com células buliformes, idioblastos com ráfides, feixes vasculares colaterais e a presença de esclerênquima associado aos feixes vasculares, sendo do mesmo modo encontradas nas demais Hypoxidaceae, de uma forma geral (Rudall *et al.*, 1998, Singh, 2009). Todavia, certas características mostram potencial diagnóstico para os gêneros *Hypoxis* e *Curculigo* no Brasil, como: o tipo de contorno da folha em secção transversal, a presença ou ausência de saliência adaxial nas folhas, a distribuição tanto dos feixes vasculares quanto do esclerênquima e o número de células na base dos tricomas tectores.

Para o gênero *Hypoxis*, o contorno da folha em secção transversal apresentou-se de dois tipos, plicado em *H. decumbens*, como também foi observado por Nel (1914) para as espécies africanas das seções *Angustifoliae* e *Argenteae* e *H. argentea* por Heideman (1983) e canaliculado, em forma de V, em *H. atlantica*, com nervuras laterais não proeminentes, semelhante ao descrito para *H. recurvata* por Nel (1914) e similar a *H. filiformis* (Heideman, 1983).

A presença de tricomas tectores unisseriados e bifurcados foi comum a todas as espécies analisadas, especialmente em *H. decumbens* e *C. scorzonerifolia*. Para Rudall *et al.* (1998), a ocorrência de tricomas ramificados em Hypoxidaceae é uma rara exceção dentro das Asparagales e pode ser considerada uma das sinapomorfias para o clado astelioide, no qual a família está inserida. Neste estudo, as duas espécies de *Hypoxis* analisadas mostraram a base dos tricomas com até quatro células enquanto *C. scorzonerifolia* apresentou seis ou mais células. Singh (2009) observou tricomas com 1-6 células na base em *Hypoxis*, porém a autora não inclui essa característica com possível valor diagnóstico para o grupo africano. As análises das secções paradérmicas, apesar de apresentarem ligeira variação no contorno das células epidérmicas, não forneceram informações assertivas para a distinção entre as espécies, corroborando as observações de Rudall *et al.* (1998) e Singh (2009).

Outra característica que apresentou variação interespecífica em *Hypoxis* trata-se da espessura do mesofilo, que aparenta estar associada à textura foliar, já que o número de camadas de células em *H. decumbens*, com folhas membranáceas, é menor que em *H. atlantica*, com folhas carnosas. Nossos resultados concordam com as observações de

Singh (2009) para os *Hypoxis* africanos e a autora sugere ainda que a espessura do mesofilo pode ser utilizada como caráter diagnóstico para tais espécies. A utilização desta característica foi efetiva para separar as duas espécies de *Hypoxis*, contudo, a espessura do mesofilo não apresenta relevância taxonômica entre *H. decumbens* e *C. scorzonerifolia*, duas espécies com folhas morfologicamente semelhantes, membranáceas, e mesofilo pouco espesso.

A variação observada na bainha dos feixes vasculares e na distribuição de esclerênquima pelas folhas contribuiu na distinção entre *Hypoxis* e *Curculigo*, como também para as duas espécies de *Hypoxis* analisadas. Em *C. scorzonerifolia*, a proporção de esclerênquima na bainha dos feixes vasculares é maior que em *H. decumbens*, característica evidente na comparação do tamanho das proeminências das nervuras laterais, até mesmo a olho nu. Na região intermediária entre a nervura central e as nervuras laterais, a presença de feixes vasculares com fibras de esclerênquima opostas ao floema foi observada apenas nos acessos do gênero *Curculigo* corroborando as observações de Rudall *et al.* (1998) para espécies pertencentes tanto ao gênero *Curculigo* quanto para *Hypoxis*, neste último gênero as nervuras intermediárias não são esclerificadas.

Os acessos examinados de *C. scorzonerifolia* apresentaram variação quanto ao número de feixes vasculares, ao esclerênquima distribuído nos feixes vasculares e às margens das folhas. Esta variação do número de feixes vasculares é comum nos indivíduos coletados em diferentes regiões do Brasil e da América, como pode ser observado nas exsicatas examinadas de vários herbários e parece ser uma variação da espécie ou do desenvolvimento da planta. O acesso de *C. scorzonerifolia* de Jaíba apresentou estrutura anatômica semelhante ao observado por Rudall *et al.* (1998) para *C. orchioides*, com variação assinalada para as margens foliares, ascendentes adaxialmente na espécie brasileira. Na hipótese filogenética de Shiba e van der Bank (2017), as duas espécies aparecem filogeneticamente próximas.

A ausência de esclerênquima nas margens das folhas de *H. decumbens* apresenta-se como uma característica distintiva para a espécie em relação a *H. atlantica* que possui diversas camadas de fibras esclerenquimáticas em ambas as margens foliares, característica não observada para as *Hypoxis* no Velho Mundo (Singh, 2009). A análise comparativa das margens foliares nestas espécies mostrou que não apenas *H. atlantica* apresenta este tipo de tecido nas margens das folhas, como essa característica é igualmente observada nas folhas da espécie norte-americana *H. wrightii*. Apesar de
nossos resultados sugerirem semelhança entre *Hypoxis wrightii* e *H*. atlantica, as espécies não foram amostradas na reconstrução filogenética de Shiba & van der Bank (2017) e, portanto, não temos informações sobre sua possível proximidade com a abordagem utilizada por estes autores.

Segundo Kocyan *et al.* (2011) e Shiba & van der Bank (2017) na filogenia de Hypoxidaceae parece haver uma maior proximidade de *H. decumbens* com *H. angustifolia.* Examinando a literatura e material de herbário, observamos que as duas espécies apresentam uma aparente semelhança nas folhas e flores. No entanto, em *H. angustifolia* os pedicelos são mais longos, com 0,5 a 3,5 cm de comprimento e os frutos ovalados tem 0,3 a 1,4 cm de comprimento, igual ao tamanho do perigônio persistente. Em *H. decumbens* há sempre flores com pedicelos curtos, subsésseis, na inflorescência (pedicelos variam de 0,05-1 cm na floração) e os frutos são alongados, com mais do que o dobro do comprimento do perigônio remanescente. As sementes mostram uma testa diferente entre as espécies, com uma maior variação morfológica encontrada nas diferentes variedades de *H. angustifolia*, porém nunca semelhante a *H. decumbens* (Wiland, 2002; Dutilh *et al.* 2018). As sementes de *H. angustifolia* var. *luzuloides* possuem bastante semelhança com *H. atlantica* (Wiland, 2002).

A morfoanatomia foliar comparativa entre *H. decumbens* e a africana *H. angustifolia* apresentou grande similaridade corroborando os estudos filogenéticos mais recentes (Kocyan *et al.*, 2011). Variações no número de feixes vasculares intermediários entre a nervura central e as nervuras laterais e também entre as nervuras laterais e a margem foliar foram as únicas características consideradas distintas entre as duas espécies, seguindo o mesmo nível de variação encontrado para outras espécies da família (Nel, 1914, Heideman, 1983, Singh, 2009). De acordo com Hilliart & Burtt (1979), *H. decumbens* foi introduzida na África do Sul e a espécie pode ser confundida com *H. angustifolia* nos seus aspectos vegetativos, mas se diferencia pelos ovários longos e finos quase indeiscentes, tépalas persistentes com 1/3 a 1/2 do comprimento das cápsulas. Em *H. angustifolia* as cápsulas são largamente ovadas, deiscentes e as tépalas persistentes são iguais ou mais longas que a cápsula (Hilliart & Burtt, 1979).

Já para *H. atlantica*, na publicação original da espécie, os autores compararamna com *H. humilis* Kunth ressaltando as principais diferenças tanto nas características do ambiente de ocorrência quanto morfológicas, como: o tamanho das folhas e a coloração dos tricomas nas flores e frutos. Os autores porém, não mencionaram *H. wrightii*, espécie descrita para Cuba e encontrada em várias ilhas do Mar do Caribe, além da costa da Carolina do Norte até a Florida e seguindo pelo Golfo do México até Texas, e que apresenta muita semelhança com *H. atlantica* em todos os aspectos vegetativos e reprodutivos. O compartilhamento de características observadas na morfoanatomia foliar entre *H. atlantica* e a norte-americana *H. wrightii*, tais como: o contorno das folhas em secção transversal, a ausência de proeminência em ambas as faces da folha, a distribuição dos feixes vasculares e, especialmente, do esclerênquima, aliados à distribuição de ambas as espécies em ambientes costeiros sugerem uma similaridade entre as duas espécies que, segundo Dutilh *et al.* (2017) abrange, além da morfologia foliar, o mesmo tipo de inflorescência e sementes (Herndon, 1988, 1992). As análises de microscopia eletrônica de varredura revelaram superfície muricada e coberta por cutícula ornamentada para *H. atlantica* corroborando os dados apresentados por Zona *et al.* (2009) para dois diferentes acessos de *H. wrightii*. Assim sendo, o presente trabalho sugere que, mediante os resultados apresentados, *H. atlantica* e *H. wrightii* poderiam ser a mesma espécie.

A morfologia das sementes tem sido utilizada em diversos estudos comparativos entre as Hypoxidaceae, com destaque para os gêneros *Hypoxis* e *Curculigo* (Wiland-Szymanska & Adamski, 2002; Snijman, 2014). Nossas análises mostraram que as sementes das duas espécies brasileiras do gênero *Hypoxis* são muito diferentes entre si morfologicamente, até mesmo sob estereomicroscópio (Funez *et al.*, 2016). As micrografias eletrônicas detalharam a morfologia da testa das sementes, abrindo caminho para estudos da biologia de reprodução de ambas as espécies. A variação dos aspectos morfológicos pode estar relacionada a processos e dispersores distintos, considerando também as diferenças entre os ambientes em que as duas espécies ocorrem (Dutilh *et al.*, 2017).

O conjunto de informações e variações morfológicas observados sugere certo grau de hibridação entre as espécies representantes de Hypoxidaceae no Brasil, especialmente para o gênero *Hypoxis*. A caracterização morfoanatômica das folhas e a micromorfologia das espécies estudadas mostraram papel importante no fornecimento de informações que auxiliam na delimitação taxonômica dos representantes da família, baseada em diversos trabalhos precedentes (Nel, 1914; Thompson 1976; Heideman, 1983; Nordal *et al.*, 1985; Wiland-Szymanska & Adamski, 2002; Singh, 2009; Zona *et al.*, 2009; Snijman, 2014). Portanto, as análises futuras de material tanto, coletado quanto herborizado, na ausência de caracteres reprodutivos, passaram a ter ferramentas que tornam mais acessíveis e exequíveis a sua identificação e delimitação taxonômicas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi realizado o registro, até então inédito, da caracterização morfoanatômica foliar das espécies de Hypoxidaceae no Brasil: *C. scorzonerifolia, H. atlantica* e *H. decumbens*, incluindo informações acerca da micromorfologia foliar das três espécies e das sementes do gênero *Hypoxis*, fornecendo caracteres para fins de delimitação taxonômica no grupo. Em adição, este trabalho proveu o conhecimento da morfoanatomia foliar de *H. wrightii*, espécie descrita para a América do Norte e, mediante os resultados e informações da literatura, sugere a sinonimização entre esta espécie e *H. atlantica*. Além disso, o estudo possibilitou a análise comparativa entre *H. decumbens* e a espécie africana *H. angustifolia*, próximas filogeneticamente segundo os estudos moleculares mais recentes.

O caráter descritivo e comparativo do presente trabalho apresentou características que aparentam sobreposição entre as espécies. As variações morfoanatômicas interespecíficas evidenciadas nas folhas de diferentes acessos de *H. decumbens*, observações sobre a morfologia externa e informações de coleta em campo sugerem possível ocorrência de hibridação para a espécie, havendo a necessidade de estudos populacionais futuros.

As três espécies são as únicas reconhecidas para a família Hypoxidaceae no país e permanecem subamostradas nos herbários indicando certo tipo de negligência quanto aos estudos para o grupo. Espera-se que, a partir dos dados de variabilidade morfoanatômica aqui apresentados, novos estudos sejam realizados, envolvendo um maior número de populações e indivíduos. Que este trabalho possa, dessa forma, ampliar o conhecimento taxonômico e nas mais diversas áreas da biologia para a família.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arber, A. 1925. Monocotyledons a morhophological study. Cambridge University Press. London.

Baillon, H. 1895. Familles des Plantes. Vol. 13. Paris.

Baker, J.G. 1878b. A synopsis of Hypoxidaceae. *Journal of the Linnean Society* (*Botany*) 17: 93–126.

Baker, J.G. 1880. A Synopsis of Hypoxidaceae. Journ. Linn. Soc. 17 (c.1): 93: 126.

Baker, J.G. 1896. Amaryllidaceae. In W.T. THISELTON-DYER, *Flora capensis* 6: 171–189. Reeve, London.

Baker, J.G. 1898. Amaryllideae. In W.T. THISELTON-DYER, *Flora of tropical Africa* 7: 377–383, 577. Reeve, Ashford.

Bentham, G. & Hooker, J.D. 1883. Genera Plantarum. Vol III, part 2. Reeve, London.

Bentham, G. & Mueller, F. 1873. Amaryllidaceae. Flora Australia 6: 322.

Britt, R.F. 1967. A revision of the genus *Hypoxis* in the United States and Canada. PhD Thesis. 121 pp. Unpublished.

Brown, R. 1810. Genera inter Asphodeleas *et* Amaryllideas media. Prodromus Florae Novae Hollandiae (1960 facsmile) Engelman & Wheedon & Wesley LTD, New York.

Brown, R. 1814. General remarks, geographical and systematical, on the Botany of *Terra australis*. In M. FLINDERS. *A Voyage to Terra Austruslais*.: 2: 576.

Brackett, A. 1923. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University. Revision of the American species of *Hypoxis*. *Rhodora* 25: 120–147.

Cameron, K.M., Chase, M.W., W.M.Whitten, Kores, P.J., Jarrell, D.C., Albert, V.A., Yukawa, t., Hills, H.G. & Goldman, D.H. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from RBCL nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 86: 208–224.

Chase, M.W., Duvall, M.R., Hills, H.G., Conran, J.C., Cox, A.V., Qguiarte, L.E., Hartwell, J., Fay, M.F., Caddick, L.R., Cameron, K.M., & Hoot, S. 1995. Molecular phylogenetics of Lilianae. In P.J. Rudall, P.J. Cribb, D.F. Cutler & C.J. Humphries. *Monocotyledons: systematics and evolution* 1: 109–137. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK. Chase, M.W., Fay, M.F., Devey, D.S., Maurin, O., Rønsted, N., Davies, T.J., Pillon, Y., Petersen, G., Seberg, O., Tamura, M.N., Asmussen, C.B., Hilu, K., Borsch, T., Davis, J.I., Stevenson, D.W., Pires, J.C., Givnish, T.J., Sytsma, K.J., McPherson, M.M., Graham, S.W., Rai, H.S., 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. Aliso 22, 63–75.

Carvalho, L. d'A. Freire de. 1976. Considerações sobre a vascularização de *Hypoxis decumbens* L. HYPOXIDACEAE. Rodriguésia. Ano XXVIII. Nº 40. 274-281.

Cohen, S. 1939. A survey of the genus *Hypoxis* Linn. in the Transvaal. MSc Dissertation, University of Witwatersrand, South Africa.

Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York and Surrey.

Dahlgren, R. 1975. A system of classification of the Angiosperms to be used to demonstrate the distribution of characters. *Botaniska Notiser* 128: 119–147.

Dahlgren, R. M. T. 1983. General aspects of angiosperm evolution and macrosystematics. *Nordic Journal of Botany* 3: 119–149.

Dutilh, J.H.A. 2005. Hypoxidaceae. In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S.; Giulietti, A.M. & Kirizawa, M. (eds.) *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. RiMa, FAPESP. São Paulo, vol. 4, p. 258.

Dutilh J.H.A. 2009. Neotropical Hypoxidaceae. In: Milliken W, Klitgard & Baracat A. (2009 onwards). Neotropikey – interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics. Disponível em <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Hypoxidaceae.htm>. Acesso em 28 agosto 2018.

Dutilh, J.H.A., Lopes, E. F. M., Campos-Rocha, A. 2017. Flora do Espírito Santo: Hypoxidaceae. Rodriguésia 68(5): 1607-1612.

Dutilh, J.H.A. 2019. Hypoxidaceae. *In:* Flora do Brasil 2020 (em construção) Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB134>. Acesso em 10 dez 2018.

Funez LA, Hassemer G. & Ferreira J. P. R. 2016. *Hypoxis atlantica* (Hypoxidaceae): a rare new species endemic to coastal eastern Brazil. Phytotaxa 282:129-138.

Geerinck, D. 1968. Considérations taxonomiques au sujet des Haemodoraceae et des Hypoxidaceae (Monocotyledones). *Bulletin de la Societe Royale de Botanique de Belgique* 101:265–278.

Geerinck, D.J.L., 1993. Amaryllidaceae (including Hypoxidaceae). Flora Malesiana ser. I 11, 353–373.

Govaerts, R. 2017. World checklist of Hypoxidaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em http://apps.kew.org/wcsp/. Acesso em 10 dezembro 2018.

Graham, S.W., Zgurski, J.M., McPherson, M.A., Cherniawsky, D.M., Saarela, J.M., Horne, E.F.C., Smith, S.Y., Wong, W.A., O'Brien, H., Biron, V.L., Pires, J.C., Olmstead, R.G., Chase, M.W., Rai, H.S., 2006. Robust inference of monocot deep phylogeny using and expanded multigene plastid data set. Aliso 2006, 3–21.

Heideman, M.E. 1983. Studies of diagnostic features in the genus *Hypoxis* L. (Hypoxidaceae R.Br.) on the Witwatersrand. *Bothalia* 14: 889–893.

Heywood, V.H. 1993. Flowering plants of the world. B.T. Batsford Ltd, London.
Herndon, A. 1988. Ecology and systematics of *Hypoxis sessilis* and *H. wrightii*(Hypoxidaceae) in Southern Florida. *American Journal of Botany*. 75: 1803–1812.

Herndon, A. 1992. The genus *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in Florida. *Florida Scientist* 55: 44–55.

Hilliard, O.M. & Burtt, B.L. 1978. Notes on some plants of southern Africa chiefly from Natal: 7: 233–244. *Rhodohypoxis*. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* 36: 43–76.

Huber, H. 1969. Die Samenmerkmale und Verwandtschaftsverhältnisse der Lilifloren. *Mitt. Bot. Staatssam. Munchen* 8: 219–538.

Humboldt, F.W.H.A. Von, Bonpland, A.J.A. & Kunth, K.S. 1815. *Nova Genera et Species Plantarum* 1. Librairie Grecque-Latine-Allemande, Paris, 377 pp., 96 tt.

Hutchinson, J. 1934. The families of Flowering Plants 11. Mononcotyledons. MacMillan & Co. Ltd., London.

Judd, W.S. 2000. The Hypoxidaceae in the southeastern United States. Harvard papers in Botany 5: 79–98.

Kocyan, A., Snijman, D.A., Forest, F., Devey, D.S., Freudenstein, J.V., Wiland-Szymańska, J., Chase, M.W. & Rudall, P.J. 2011. Molecular phylogenetics of Hypoxidaceae – evidence from plastid DNA data and inferences on morphology and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution 60:122-136*.

Kocyan, A.; Wiland-Szymanska, J. 2016 *Friedmannia*: a new genus from the Seychelles and the beginning of a generic realignment of *Curculigo* (Hypoxidaceae). Phytotaxa 283 (1): 54–64.

Kocyan, A.; Wiland-Szymanska, J. 2016. A new name and a new combination for *Friedmannia* nom. illeg. (Hypoxidaceae). Phytotaxa 291 (3): 239–239.

Linnaeus, C. 1759. Systema Naturae. 10th Edition. Holmiae. Salvii.

Liu K-W, Xie G-C, Chen L-J, Xiao X-J, Zheng Y-Y, *et al.* 2012 *Sinocurculigo*, a New Genus of Hypoxidaceae from China Based on Molecular and Morphological Evidence. *PLoS ONE* 7(6): e38880.

Ludwig, F. 1889. Beobachtungen von Fritz Müller an *Hypoxis decumbens*. Flora oder Botanische Zeitung 72: 55-56.

Nel, G.C. 1914. Die afrikanischen Arten der Amaryllidaceae-Hypoxideae. In A. ENGLER. Beiträge zur Flora von Afrika: 43. *Botanische Jahrbücher* 51: 287–340.

Nordal, I. 1998. Hypoxidaceae in K. Kubitzki. The families and genera of Vascular Plants. Springer-Verlag, Hamburg, Germany. pp. 286–295.

Nordal, I. & Zimudzi, C. 2001. Hypoxidaceae. In G. POPE. *Flora zambesiaca* 12: 1–18. Royal Botanic Gardens, Kew.

Pax, F. 1889. Amaryllidaceae. In A. ENGLER & K. PRANTL. Die Natürlichen Pflanzenfamilien 2: 79–124. Engelmann, Leipzig.

Pena, M. A., Watanabe, M. T. C., Sano, P. T. 2008. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: HYPOXIDACEAE. Bol. Bot. Univ. São Paulo 26(2): 161-164.

Pires, J.C., Maureira, J.C., Givish, T.J., Sytsma, K.J., Petersen, G., Seberg, O., Asmussen, C., Davis, J.I., Stevenson, D.W., Rudall, P.J., Fay, M.F., Chase, M.W., 2006. Phylogeny, genome size, and chromosome evolution of the Asparagales. Aliso 22, 287–304.

Phillips, E.P. 1926. The genera of flowering plants. Government Printers, Cape Town.

Ravenna, P., 2003. *Heliacme*, a new genus of New World Hypoxidaceae. Onira 8, 5–9.

Rudall, P.J., Chase, M.W., Cutler, D.F., Rusby, J. & de Bruijn, A.Y. 1998. Anatomical and molecular systematics of Asteliaceae and Hypoxidaceae.*Botanical Journal of the Linnean Society* 127: 1–42.

Sanchez-Ken, J. G. 2010. *Hypoxis colliculata* (HYPOXIDACEAE), a new species from Mexico and a key to the American species with black seeds. Acta Botanica Mexicana 92: 1-9.

Scharf, W. 1892. Beiträge zur Anatomie der Hypoxideen und einiger verwanter Pflanzen. *Botanische Zantralblatt* 52: 152–327.

Schulze, R. 1893. Beiträge zur vergleichenden Anatomie der Liliaceen, Haemodoraceen, Hypoxidioideen und Velloziaceen. *Botanische Jahrbücher* 17: 295– 394.

Shiba, S.; van der Bank, M. 2017. Generic circumscription and relationships of southern African representatives of *Hypoxis* and allies (Hypoxidaceae, Asparagales). 7th International Barcode of Life Conference (abstract publicado em *Genome* 60 (11): 996.

Smith, F. M.; Smith, E. C. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbia*. American Journal of Botany. 29: 464-471.

Singh, Y. 2006. Hypoxis (Hypoxidaceae) in Africa: list of species and infraspecific names. *Bothalia* 36: 13–23.

Singh, Y. 2009. Systematics of *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in southern Africa. PhD Thesis in Universidade de Pretoria, Dpto. Ciencia Vegetal, Pretoria. 360p. Não publicado.

Sklenar, P. 2005. Hypoxidaceae. *In* P. Sklenar, J.L. Luteyn, C.U. Ulloa, P.M. Jorgensen & M.O. Dillon (eds.) *Flora genérica de los Páramos. Guía ilustrada de las plantas vasculares*. The New York Botanical Garden. New York, p. 288 – 289.

Seubert, M.A. 1847. Hypoxideae. *In:* von Martius, C.F.P. & Eichler, A.W. (Eds.) *Flora Brasiliensis* 3 (1). F. Fleischer, Munich and Leipzig, pp. 49–52, t. 7 (I).

Takhtajan, A. 1969. Flowering plants: origin and dispersal. Oliver & Boyd. Edinburgh.

Thompson, M.F. 1976. Studies in the Hypoxidaceae. 1. Vegetative morphology and anatomy. *Bothalia* 12: 111–117.

Thorne, R.F. 1983. Proposed new realignments in the Angiosperms. *Nordic Journal of Botany* 3: 85–117.

Wiland, J. 1997a. New species of the genus *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in Central Africa (Zaire, Rwanda, Burundi). *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 42: 411–422.

Wiland, J. 1997b. *Hypoxis bampsiana* (Hypoxidaceae), a new species from Central Africa. *Bulletin du Jardin botanique de L'Etat, à Bruxelles* 66: 207–211.

Wiland-Szymańska, J. 2001. The genus *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in Central Africa. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88: 302–350.

Wiland-Szymańska, J. & Adamski, Z. 2002. Taxonomic and morphological notes on *Hypoxis angustifolia* (Hypoxidaceae) from Africa, Madagascar, and Mauritius. *Novon* 12: 142–151.

Wiland-Szymańska, J. & Nordal, I. 2006. Hypoxidaceae. Flora of Tropical East Africa: 1–25.

Wiland-Szymańska, J. 2009. The genus *Hypoxis* L. (Hypoxidaceae) in the East Tropical Africa: Variability, distribution and conservation status. Biodiv. Res. Conserv. 14, 1–129.

Zona, S., Prince, J., Halder, G., Schwartz, R. & Vargas, R. 2009. A seed atlas of *Hypoxis* from eastern North America. *Journal of the Torrey Botanical Society* 136: 26–32.

Zimudzi, C. 1993. Studies on the family Hypoxidaceae in South Central Africa with emphasis on variation patterns in the genus *Hypoxis*. Unpublished PhD thesis, Department of Botany, University of Zimbabwe.

Zimudzi, C. 1994. The cytology and reproduction of the genus *Hypoxis* L. In J.H. SEYANI & A.C. CHIKUNI. Proceedings of the XIIIth Plenary Meeting, AETFAT, Malawi, 1: 535–543.

Zimudzi, C. 1996. A synopsis of the Hypoxidaceae in the *Flora zambesiaca* area. *Kirkia* 16: 11– 19.

154

Implicações taxonômicas da anatomia foliar e micromorfologia nas espécies brasileiras de *Hagenbachia* Nees & Mart. (Asparagaceae): Um enigmático gênero da América Latina

Taxonomic implications of micromorphology and leaf anatomy in Brazilian species of *Hagenbachia* Nees & Mart. (ASPARAGACEAE): An enigmatic genus from Latin America

RESUMO

Hagenbachia é um gênero latino-americano descrito no início do século XIX com histórico taxonômico bastante conturbado, tendo sido incluído em pelo menos outras quatro famílias diferentes e que, atualmente, está inserido em Asparagaceae. No Brasil, além da espécie tipo reconhecemos duas outras espécies com distribuição aparentemente sobreposta e que prosseguem com problemas nomenclaturais e de identificação. A fim de fornecer informações diagnósticas entre as espécies foram analisadas a morfologia geral, a morfoanatomia foliar e a micromorfologia de estruturas florais e de sementes utilizando microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. As características foliares que mostraram valor taxonômico restringem-se às margens foliares e a presença de fibras esclerenquimáticas nos polos dos feixes vasculares. A micromorfologia apresentou diferenças estruturais interespecíficas na forma, inserção e superfície dos filetes, como também na forma e superfície das sementes.

Palavras-chave: Asparagales, *Chlorophytum*, geófitas, micromorfologia floral, folhas; sementes.

ABSTRACT

Hagenbachia is a Latin American genus described in the early nineteenth century with a rather troubled taxonomic history. The genus has been included in at least four other different families and it is currently set in Asparagaceae. In Brazil, besides the type species there are two other apparently overlapping species in their distribution that continue with nomenclatural and characterization problems. In order to provide diagnostic information about the species, general morphology, leaf morphoanatomy and micromorphology of flower and seed were analyzed using light microscopy and scanning electron microscopy. The leaf characteristics that showed taxonomic value are restricted to the leaf margins and the presence of sclerenchymatic fibers in the poles of the vascular bundles. Micromorphology showed interspecific structural differences in the shape, insertion and surface of the filaments, as well as the in the shape and surface of the seeds.

Key-words: Asparagales, *Chlorophytum*, flower micromorphology, geophytes, leaves; seeds.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Hagenbachia* Nees & Martius foi incluído, nos últimos quarenta anos, em pelo menos cinco famílias diferentes (Cronquist 1988; Cruden *et al.* 1991), e desde 2009 pertence à Asparagaceae Juss. (APG III, 2009). Desde a criação do gênero, taxonomistas divergiram principalmente quanto às características morfológicas do grupo, gerando, dessa forma, impasses na correta identificação das espécies. As variações presentes no sistema subterrâneo, nas flores e nas sementes de *Hagenbachia* e de outros gêneros a ele relacionados, tanto do Novo quanto do Velho Mundo, foram determinantes para o desenvolvimento deste histórico taxonômico conturbado (Marais & Reilly, 1978; Cruden, 1987, 1991, 1999; 2009; Nordal & Tulin, 1993; Bjora *et al.*, 2017). O conhecimento sobre as morfologias foliar e floral ainda não possui elementos suficientemente explorados que auxiliem na identificação destas espécies em campo ou em herbários, tornando-se necessária a investigação de novos caracteres em níveis macro e micromorfológicos, auxiliando na correta delimitação dos grupos.

O gênero *Hagenbachia* foi descrito em 1823 por Nees & Martius (Wied-Neuwied, 1823) na família Haemodoraceae Rob. Brown, com a espécie *Hagenbachia brasiliensis* Nees & Mart. equivocadamente com três estames. Em 1827, Sprengel combinou *H. brasiliensis* para *Haemodorum*. Quase um século e meio depois, em suas considerações taxonômicas sobre Haemodoraceae e Hypoxidaceae, Geerinck (1968) mencionou que Endlicher (1836) reafirmava *Hagenbachia* em Haemodoraceae. Hutchinson (1973) não corrigiu o número de estames, mas notou a presença de dois óvulos por lóculo, relatando o gênero para a mesma família.

À época (1823), Nees & Martius descreveram e ilustraram as anteras como subsésseis nas tépalas internas, equívoco este seguido por autores subsequentes (Lawrence 1951; Hutchinson, 1959). Diversas características conflitantes entre os representantes de Haemodoraceae e as espécies de *Hagenbachia* podem ser listadas: as espécies desta família possuem flores pubescentes, tépalas fundidas frequentemente formando um tubo, perianto geralmente persistente e óvulos ortótropos (Hutchinson, 1959; Dahlgren *et al.* 1985). Já as flores dos indivíduos de *Hagenbachia* são glabras, tépalas livres entre si, geralmente não persistentes e óvulos anátropos. As folhas em *Hagenbachia* e nos gêneros relacionados, são bifaciais, o que difere do padrão observado para a família Haemodoraceae, com folhas unifaciais (Dahlgren *et al.*, 1985; Geerinck, 1968).

Durante aproximadamente 150 anos, *Hagenbachia* permaneceu em Haemodoraceae até que Ravenna (1977) propõe a sua combinação em Chlorophytum Ker Gawler. Na revisão realizada por Cruden (1987), características como inflorescências e tépalas glabras, flores em fascículos e com pedicelos divididos em segmentos relacionaram Hagenbachia com gêneros como Anthericum e Chlorophytum, nativos do continente africano, e o americano Echeandia, suportando a sua transferência para Liliaceae s.l. ou Anthericaceae s.s. Este mesmo autor mencionou ter observado grandes embriões alongados nas sementes de Hagenbachia, sem fornecer imagens (Cruden et al., 1991). A morfologia foliar, pequenas flores com tépalas brancas e a presença de duas sementes por lóculo foram características adicionais utilizadas para associarem o lectótipo de H. brasiliensis à ilustração-tipo de Nees & Martius (Cruden, 1987). Esse conjunto de caracteres morfológicos intrigou Cruden et al. (1991) por estes dois autores terem optado pela inserção do gênero em Haemodoraceae. Ademais, Cruden (1987) não menciona os três estames e os filetes subsésseis fixados nas pétalas que constam na descrição. Simpson (1990), com a combinação de dados morfológicos de pólen e química reafirmou Hagenbachia em Liliaceae. Segundo Cruden (1987), a formação de regiões tuberosas nas raízes de todas as espécies de Echeandia e em praticamente todas as espécies de Chlorophytum e Anthericum é uma característica que possibilita distingui-los de Hagenbachia. Os gêneros africanos não possuem anteras dorsifixas, como ocorre nos americanos e Hagenbachia diferencia-se de Echeandia pela presença de rizoma, ausência de raízes tuberosas e menor número de óvulos (2-6) por carpelos (Cruden 1987).

Posteriormente, em 2003, *Hagenbachia* foi transferido para Agavaceae (APGII, 2003) e, em 2009, a proposta do Angiosperm Phylogeny Group incluiu as famílias Anthericaceae, Agavaceae e Herreriaceae em Asparagaceae, elevando para 25 o número de gêneros considerados para a família na América do Sul, sendo este o remanejamento taxonômico mais recente para *Hagenbachia* (APGIII, 2009). Outro gênero herbáceo de Asparagaceae morfologicamente muito semelhante à *Hagenbachia* é *Clara* Kunth, com distribuição relatada para o estado do Rio Grande do Sul, no Brasil, até a Argentina, Paraguai e Uruguai (Lopes & Andreata, 2003). Atualmente, *Clara* está incluído em Asparagaceae, inicialmente descrito em Smilacaceae quando o autor levanta sua semelhança com *Ophiopogon, Herreria* e Asparagaceae (Kunth 1850). Posteriormente, *Clara* foi incluído em Herreriaceae (Lopes 2003).

As plantas do gênero *Hagenbachia* são herbáceas perenes, em geral com rizoma muito curto e raízes fasciculadas, com folhas lineares, estreitamente elípticas a oblongas, ápice acuminado e base quase horizontal, ascendentes, eretas, escapo glabro, inflorescência pouco a muito ramificadas, entrenós com até oito flores pequenas agrupadas, brancas a creme esverdeado, anteras amarelas, geralmente, dorsifixas, filetes lineares a estreitamente fusiformes, raramente clavados, papilosos ou não; 2-6 óvulos por lóculo, pequenos frutos capsulares trilobados, geralmente mais largos que compridos, sementes irregularmente achatadas, com dobras e curvas, testa coliculada e preta, e endosperma contendo lipídeos (Cruden, 1987; Dutilh & Campos-Rocha, 2019).

Gênero endêmico das regiões tropicais e subtropicais da América do Sul e Central, Hagenbachia é composto por seis espécies (Cruden et al., 1991), sendo elas: H. brasiliensis Nees & Martius, H. panamensis (Standley) Cruden, H. angusta Ravenna, H. columbiana Cruden, H. hassleriana (Baker) Cruden e H. ecuadoriensis Cruden (Cruden, 2011). Destas, duas ocorrem na flora brasileira, H. brasiliensis e H. angusta, conforme a Flora do Brasil (Dutilh & Campos-Rocha, 2019). Segundo Cruden (1987), H. brasiliensis tem sua distribuição geográfica registrada para matas de galeria da Caatinga, regiões de Mata Atlântica e áreas antropizadas do Nordeste brasileiro (BA, MA e GO). A espécie Hagenbachia angusta, descrita por Ravenna em 1985, possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o Planalto Central Brasileiro às adjacências com Bolívia e Paraguai. Posteriormente, Cruden (1987) incorporou duas espécies com ocorrência sobreposta à supracitada, H. boliviensis (Poelln.) Ravenna e H. matogrossensis (Poelln.) Ravenna, ambas sinonimizadas em H. angusta, espécie que permanece sem caracterização bem definida. O autor utilizou algumas características de morfologia externa foliar, tamanho de tépalas, anteras e presença ou ausência de papilas nos filetes para separar as espécies entre si e não apresentou informações acerca da morfologia das sementes (Cruden, 1987).

Existem trabalhos comparando tanto a morfologia vegetativa quanto reprodutiva entre os diferentes gêneros africanos da família Asparagaceae (Obermeyer, 1962; Marais & Reilly, 1978; Nordal & Tulin, 1993; Klimko *et al.*, 2018). Meerts & Bjora (2012) publicaram uma sinopse com as espécies da África Central do gênero *Chlorophytum* na qual, dentre outros dados, exploram o valor diagnóstico da morfologia das sementes, especialmente da testa, através da microscopia eletrônica. Na América Central, Solano *et al.* (2013) compararam a anatomia de caules, folhas eixo da inflorescência em *Polianthes* L. investigando um possível valor das características na sistemática do gênero. Ao investigarem as implicações taxonômicas da micromorfologia e anatomia foliar no gênero *Dracaena* Vand. ex L., Klimko *et al.* (2018) relacionaram as características estruturais com o hábito e o ambiente de ocorrência das espécies.

Quantos aos grupos de maior afinidade com *Hagenbachia*, Marais & Reilly (1978) observaram que as anteras conadas das flores do gênero *Echeandia*, o separam de *Anthericum* e as características das sementes deste gênero o separam de *Chlorophytum*. Bjora *et al.* (2017) apresentaram uma abordagem filogenética entre *Chlorophytum* e *Anthericum*, para tanto os autores apresentaram além de análises moleculares e dados de morfometria, imagens de microscopia eletrônica de superfície das sementes destes grupos, úteis para a distinção entre as espécies. Bercu (2007) descreveu características anatômicas de órgãos vegetativos em *Chlorophytum comosum*, espécie nativa do Velho Mundo relacionando seus resultados com o hábito da espécie. Mandal & Nandi (2012) relataram a efetividade do uso de características morfoanatômicas na correta identificação de espécies indianas do gênero *Chlorophytum* com fins medicinais como, por exemplo, a margem das folhas em secção transversal, a quantidade de feixes vasculares como também o número de elementos do xilema, a presença ou ausência de cristais de oxalato de cálcio no mesofilo e camadas de células epidérmicas.

Além de órgãos vegetativos, órgãos reprodutivos como flores e sementes apresentaram papel importante na delimitação de espécies de gêneros morfologicamente semelhantes à *Hagenbachia*. Por exemplo, para *Anthericum*, *Chlorophytum* (Marais & Reilly, 1978; Nordal & Tulin, 1993, Meerts & Bjora, 2012; Bjora *et al.*, 2017), *Clara* e *Herreria* (Lopes, 2003), tanto a forma quanto a cobertura das sementes são características com elevado potencial diagnóstico.

Para as espécies brasileiras de *Hagenbachia* (Fig. 1), além das questões taxonômicas e nomenclaturais, são escassas investigações mais detalhadas acerca da morfoanatomia do grupo, tendo sido reportado apenas o estudo de Cornehl (2009) com a análise de algumas características morfoanatômicas da espécie tipo, *H. brasiliensis*. As semelhanças morfológicas tanto das folhas quanto das flores entre as espécies, a distribuição geográfica sobreposta destas e a escassez de informações em relação à identidade específica das *Hagenbachia* brasileiras evidenciam a necessidade de explorar novos caracteres que auxiliem na caracterização do grupo.



Figura 1: As três espécies brasileiras do gênero Hagenbachia. a. Hagenbachia brasiliensis, indivíduo adulto em cultivo. b. Hagenbachia sp. 1, hábito do indivíduo adulto em Jaíba, Minas Gerais. Note o ambiente de ocorrência em pleno sol. c. Hagenbachia sp. 2, hábito de indivíduo adulto em Verdelândia, Minas Gerais. Note o ambiente de ocorrência em meia sombra. d. H. brasiliensis, inflorescência e folhas. e. Hagenbachia sp. 1, flor em antese. f. Hagenbachia sp. 2 (acesso de Verdelândia, Minas Gerais), inflorescência com botões e flores em antese. g. Hagenbachia sp. 2 (acesso de Januária, Minas Gerais), inflorescência com flores em antese e frutos jovens.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como principais objetivos:

- a) Descrever e documentar a morfoanatomia das folhas das espécies brasileiras do gênero *Hagenbachia*;
- b) Descrever e documentar a micromorfologia de estruturas reprodutivas como botões florais, flores em antese e sementes das espécies brasileiras do gênero *Hagenbachia*;
- c) Identificar possíveis caracteres diagnósticos, tanto foliares quanto reprodutivos, com valor na taxonomia do gênero *Hagenbachia*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Devido aos problemas taxonômicos e nomenclaturais encontrados para várias espécies de *Hagenbachia* descritas (Fig. 1), o presente trabalho utilizará a denominação sp. 1 (acesso Jaíba) e sp. 2 (acessos Januária e Verdelândia) para duas das espécies analisadas. A lista com os vouchers utilizados no estudo está apresentada na Tabela 1.

Espécies	Localidade	Voucher	Herbário
Hagenbachia brasiliensis	Brasil, Ilhéus, Bahia	Campos-Rocha s/n	UEC
Hagenbachia sp. 1	Brasil, Jaíba, Minas Gerais	ACR 1037	UEC
Hagenbachia sp. 2	Brasil, Januária,	ACR 848	UEC
Ugaanhaahia an 2	Minas Gerais	ACD 1070	UEC
Hagenbacnia sp. 2	Minas Gerais	ACR 10/0	UEC

Tabela 1. Lista de espécies e respectivos vouchers utilizados no estudo.

Amostras de folhas maduras de indivíduos adultos, botões florais, flores em antese e sementes das três espécies de *Hagenbachia* consideradas pelo estudo foram coletadas e fixadas em Karnovsky (Karnovsky, 1965, modificada pelo uso de tampão fosfato pH 7,2) por um período mínimo de 24 horas. A retirada de ar contido nos tecidos foi possível pela passagem das amostras em bomba de vácuo e, a seguir, o material foi desidratado em série etílica crescente de concentração, álcool 10%, 30 % e 50 %, e armazenado em álcool 70%. As amostras foliares foram infiltradas em resina plástica hidroxi-etil-metacrilato (Leica Historesin® Heraeus-Kulzer, Hanau, Germany) segundo as instruções do fabricante, seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo (Leica®) com espessura de 5-7 µm. As lâminas foram coradas com azul de toluidina 0,05% (em tampão citrato pH 4,5) Sakai, 1973) e montadas em resina sintética Entellan® (Merck®, Darmstadt, Germany).

Para a Microscopia Eletrônica de Varredura, foram selecionadas botões e flores em antese, e sementes a partir das amostras armazenadas em álcool 70%. Dos botões florais foram retirados os verticilos estéreis para observação das estruturas reprodutivas. Todo o material selecionado foi desidratado em gradiente de série etílica, por 1 hora em cada álcool, e seco por ponto crítico de CO_2 em equipamento Balzers (modelo CPD 030). O material vegetal foi montado em suportes metálicos e recoberto com ouro coloidal por 170 segundos no equipamento Bal-Tec (modelo SCD 050). As micrografias foram registradas a partir de microscópio eletrônico de varredura LEO modelo VP 435 a 20 kV, no Laboratório de Microscopia Eletrônica, Instituto de Biologia/Unicamp.

4. RESULTADOS

4.1 Anatomia foliar

Quanto ao contorno das folhas de *Hagenbachia* em secção transversal foram observadas folhas planas e mais largas em *H. brasiliensis* e *H.* sp. 2 (Verdelândia e Januária) e folhas mais canaliculadas e mais estreitas em *H.* sp. 1. As secções transversais das folhas dos três táxons analisados mostraram folhas anfiestomáticas (Fig. 2a) e uma estrutura anatômica semelhante, com variações estruturais em determinadas características. As folhas apresentam epiderme uniestratificada em ambas as faces, com células retangulares seguidas por mesofilo homogêneo, clorenquimático e feixes colaterais elípticos (Fig. 2a). Em secção longitudinal paradérmica, foi possível observar estômatos do tipo paracítico (Fig. 2b) que, geralmente, encontram-se posicionados abaixo do nível das demais células epidérmicas (Fig. 2a,c), comum a todas as espécies analisadas. As células epidérmicas das folhas de *Hagenbachia* apresentam espessamento péctico da parede periclinal externa (Fig. 2a,c).

O mesofilo apresentou variação no número de camadas de células do parênquima clorofiliano: 6-10 camadas em *H*. sp. 1, 7-9 camadas em *H*. *brasiliensis* e 4-7 camadas de células em *H*. sp. 2 (Verdelândia) e, além disso, a nervura central e as margens foliares apresentaram estrutura variável entre as espécies. Idioblastos com ráfides foram comuns aos mesofilos das espécies analisadas apresentando-se em séries de duas células ou mais, podendo ocorrer por todo o mesofilo (Fig. 2a, d-e).

Os feixes vasculares em *H. brasiliensis* apresentaram fibras esclerenquimáticas opostas ao xilema e ao floema sendo que, na nervura central, foram observadas ca. 15 fibras esclerenquimáticas em ambos os polos (Fig. 2f), enquanto que *H.* sp. 1(Fig. 2g) e *H.* sp. 2 (Januária) apresentaram 2-4 fibras e *H.* sp. 2 (Verdelândia) não apresentou fibras nos feixes vasculares (Fig. 2h).

Em *H. brasiliensis*, o número de camadas de células do mesofilo diminui gradativamente à medida que se aproxima da extremidade da margem, formando um contorno contínuo (Fig. 2i). Em *H.* sp. 1, a margem foliar apresentou-se plana em

relação ao restante da lâmina, ocorrendo uma terminação abrupta na qual o número de camadas de células do parênquima clorofiliano diminui consideravelmente em relação ao restante do mesofilo e as duas faces da epiderme se tocam em um prolongamento (Fig. 2j). Como observado em *H. brasiliensis*, ambos os acessos de *H.* sp. 2 apresentaram margens mais contínuas em relação à diminuição do número de camadas de células no mesofilo em direção à extremidade foliar (Fig. 2k); a margem é arqueada em direção a face abaxial.



Figura 2: Caracterização morfoanatômica foliar e comparação entre as espécies de Hagenbachia. a, c, f-k: Secções transversais. b, d-e: Secções longitudinais. a. Aspecto geral da lâmina foliar, H. brasiliensis, notar epiderme uniestratificada, mesofilo clorenquimático e feixe vascular colateral. b. Estômatos paracíticos (seta preta), H. sp. 1. c. Estômatos localizados abaixo do nível das demais células epidérmicas (setas pretas), H. brasiliensis. d. Idioblastos com ráfides em microscopia de luz com lente polarizada (seta branca), H. sp. 2, em detalhe. e. Idioblastos com ráfides distribuídos pelo mesofilo (seta preta). f. Nervura central, H. brasiliensis, notar a quantidade de fibras de esclerênquima em ambos os polos do feixe vascular. g. Nervura central, H. sp. 1, notar a presença de pequena quantidade de fibras de esclerênquima em ambos os polos do feixe vascular. h. Nervura central, H. sp. 2, notar a ausência de fibras. i. Margem foliar, H. brasiliensis, notar a folha arqueada em direção à face abaxial e a diminuição gradativa no número de camadas de células do mesofilo até a extremidade da margem. j. Margem foliar, H. sp. 1, notar a diminuição abrupta no número de camadas de células do mesofilo e a extremidade da margem foliar formada apenas pelo encontro das duas faces da epiderme, contorno plano da margem. k. Margem foliar, H. sp. 2, notar a diminuição gradativa no número de camadas de células do mesofilo até a extremidade da margem, levemente arqueada em direção à face abaxial. Legenda: epi = epiderme, fab = face abaxial, fad = face adaxial, fv = feixe vascular, id = idioblasto, mês = mesofilo, raf = ráfide. Escala: d: 100 μ m; a,i-k: 50 μ m; b-c, e-h: 20 μm.

4.2 Micromorfologia de estruturas reprodutivas

Em estereomicroscópio, a análise de amostras herborizadas possibilitou registrar que as **margens** foliares em *H. brasiliensis* apresentam-se glabras, em vista frontal, sem apículos (projeções), observações confirmadas em maior aumento (Fig. 3a). Quanto às demais espécies, *H.* sp. 1 apresentou margens discretamente escabrosas, com pequenos apículos esparsos (Fig. 3b) e *H.* sp. 2 (Verdelândia) margem escabrosa com apículos mais proeminentes (Fig. 3c).

As nervuras das folhas, em material herborizado, apresentaram-se mais evidentes que em material fresco, tornando possível a sua contagem que revelou uma variação entre 15 - 23 unidades para *H*. sp. 1 e ca. de 28 feixes vasculares para *H*. *brasiliensis* e *H*. sp 2. (Verdelândia).

A análise das flores em antese mostrou diferenças nos verticilos reprodutivos e, no androceu das espécies analisadas. Os **filetes** quanto à sua forma em *H. brasiliensis* apresentaram-se espatulados, achatados dorsiventralmente com alargamento lateral elíptico um pouco acima da região mediana (Fig. 3d, setas pretas curtas), enquanto que em *H.* sp. 1 e *H.* sp. 2 os filetes são filiformes e cilíndricos (Fig. 3e-f). **A inserção dos filetes** nas anteras apresentou diferença entre os acessos, sendo dorsifixa em *H. brasiliensis* e *H.* sp. 1 (Fig. 3d-e) e centrifixa em *H.* sp. 2 (Fig. 3f), na qual os filetes se inserem por um poro no centro da base de cada antera (cabeças de seta pretas). Quanto à **forma das anteras**, *H. brasiliensis* apresentou anteras sagitadas (Fig. 3d), *H.* sp. 1 apresentou anteras lineares que, quando maduras, dispõem-se em forma de ferradura e, para *H.* sp. 2, foram observadas anteras oblongas. As **sementes** das três espécies variam entre acastanhadas a enegrecidas e lustrosas (Fig. 3g-i) e, quanto à forma, *H. brasilienses* é achatada dorsiventralmente e, em vista lateral apresenta contorno reniforme a irregular; geralmente, uma das faces laterais, mais cônica, possui dobras arredondadas demarcadas com sulcos irregulares na testa (Fig. 3g, à esquerda) e a face oposta com uma leve depressão, mais côncava (Fig. 3g, à direita). Em *H.* sp. 1, as sementes são globosas a quase deltoides, aparentemente lisas, sem ornamentações tanto nas faces látero-dorsal (Fig. 3h, à esquerda) quanto na face ventral (Fig. 3h, à direita). Em *H.* sp. 2, as sementes são arredondadas a triangulares, ou até mesmo piramidais, com as faces dorsal e ventral bem diferentes entre si, ocorrendo uma depressão bem marcada e profunda na face dorsal (Fig. 3i, à esquerda) diferentemente da face ventral, sem ornamentações (Fig. 3i, à direita).



Figura 3: Micromorfologia em estereomicroscópio de estruturas vegetativas e reprodutivas de material herborizado das espécies brasileiras de *Hagenbachia*. a-c: Folhas; d-f: Flores; g-h: Sementes. a. Margem foliar de *H. brasiliensis*, notar margem glabra. b. Margem foliar de *Hagenbachia* sp. 1 (Jaíba), notar margem levemente escabra com poucos apículos esparsos. c. Margem foliar de *Hagenbachia* sp. 2 (Verdelândia), notar margem escabra com apículos bem definidos. d. Flor de *H. brasiliensis*, notar os filetes espatulados (seta preta) e antera sagitada. e. Estames de *Hagenbachia* sp. 1, notar filetes filiformes e antera madura em forma de ferradura. f. Estames de *Hagenbachia* sp. 2, notar filetes filiformes, inserção centrifixa do filete e antera oblonga. g. Sementes de *H. brasiliensis*, notar contorno reniforme; à esquerda: face lateral com dobramentos da testa; à direita, face lateral com depressão central. h. Sementes de *Hagenbachia* sp. 1, notar contorno reniforme; à esquerda, face látero-dorsal e, à direita, face ventral. i. Sementes de *Hagenbachia* sp. 2, notar contorno triangular a levemente arredondado; à esquerda, face dorsal com depressão central demarcada e profunda; à direita, face ventral. Legenda: ant = antera, fil = filete, stl = estilete. Escala: a-c: 1 mm; d-i: 500 μm.

Com relação à forma do filete, a microscopia eletrônica de varredura revelou que, em vista frontal, o botão floral de *H. brasiliensis* apresenta um filete espatulado, com terminação arredondada em ângulo maior que 90°, elíptico na porção mediana e oblongo no ápice (Fig. 4a), H. sp. 1 (Fig. 4b) e H. sp. 2 (Verdelândia) (Fig. 4c) possuem filetes lineares com base obtusa. A base das anteras nos botões florais de H. brasiliensis é levemente auriculada e as anteras sagitadas, enquanto H. sp. 1 mostrou base auriculada e antera linear (Fig. 4b) e H. sp. 2 mostrou anteras oblongas a lineares, além de inserção dos filetes centrifixa nas anteras, com o filete aparentemente se inserindo na antera por um poro localizado no centro da base da estrutura (Fig. 4c). Em H. brasiliensis a inserção dos filetes nas anteras é dorsifixa (Fig. 4a), como em H. sp. 1 (Fig. 4b) com contorno sagitado das anteras. Tais características são ainda mais evidentes nas flores em antese como observado em estereomicroscópio para as três espécies (Fig. 3d-f). A superfície dos filetes, em visão geral, é papilosa (Fig. 4d) nas espécies analisadas, especialmente H. sp. 1 e H. sp. 2 com papilas individualizadas (Fig. 4e). A superfície papilosa pode variar conforme a fusão entre as células e o tamanho das papilas já que, em H. brasiliensis, as papilas têm as paredes anticlinais praticamente fusionadas, tornando a superfície levemente coliculada (Fig. 4f). A superfície das papilas apresentou, em todas as espécies, ornamentação epicuticular com estrias transversais e longitudinais (Fig. 4e-f). Os grãos de pólen das três espécies apresentaram superfície reticulada, como H. sp. 2 (Verdelândia) (Fig. 4g) e são monossulcados, como H. brasiliensis (Fig. 4h). Quanto ao estigma, todas as espécies apresentaram superfície papilosa secretora (Fig. 4i) e a superfície do estilete, em vista apresenta células alongadas longitudinalmente, aparentemente geral. sem ornamentações (Fig. 4j), mas que, em detalhe, apresentam estrias epicuticulares longitudinais (Fig. 4k).



Figura 4: Caracterização micromorfológica de verticilos reprodutivos das espécies brasileiras de *Hagenbachia*. a-b: Botões florais; c-k: Flores em antese. a. *H. brasiliensis*, notar o filete espatulado (seta preta), contorno da base da antera, inserção do filete (cabeça de seta) e forma sagitada da antera. b. *Hagenbachia* sp. 1, notar o filete filiforme (seta preta), contorno da base da antera, inserção do filete (cabeça de seta) e forma dos filetes, inserção do filete (cabeça de seta) e forma linear da antera. c. *Hagenbachia* sp. 2, notar a forma dos filetes, inserção centrifixa do filete na antera (cabeça de seta) e forma oblonga a levemente linear da antera. d. Filete de *Hagenbachia* sp. 2 (Verdelândia), notar as papilas. e. Detalhe da superfície do filete de *Hagenbachia* sp. 2 (Verdelândia), notar estrias epicuticulares (seta). f. Detalhe da superfície do filete de *H. brasiliensis*, notar a superfície coliculada, com células mais justapostas. g. Grão de pólen de *Hagenbachia* sp. 2 (Verdelândia), notar superfície reticulada da exina. h. Grão de pólen monocolpado de *H. brasiliensis*, notar abertura (seta). i. Estigma de *Hagenbachia* sp. 2 (Verdelândia), notar as papilas secretoras. j.

Estilete e filetes de *Hagenbachia* sp. 1, notar superfície com aspecto liso no estilete e papiloso nos filetes. **k.** Detalhe da superfície do filete de *Hagenbachia* sp. 1, notar estrias epicuticulares. Legenda: ant = antera, fil = filete, pap = papila, ovr = ovário, stl = estilete, stg = estigma. Legenda: a-c: 200 μ m; d: 50 μ m; j: 20 μ m; e-h,k: 5 μ m.

Sementes – A microscopia eletrônica de varredura revelou que a cobertura das sementes apresenta características distintas nas espécies de *Hagenbachia*, além das variações observadas quanto à forma (Fig. 3g-i). Em *H. brasiliensis*, as sementes são levemente achatadas dorsiventralmente, apresentando contorno reniforme ou irregular, em vista lateral, com grandes dobras arredondadas em uma das faces laterais e uma leve depressão na face oposta (Fig. 5a); Em maior aumento, células poligonais com 4-7 lados delimitadas por sulcos intercelulares, pouco profundos e protuberâncias no centro da parede periclinal externa de cada célula da cobertura da semente (Fig. 5b). Em detalhe, a protuberância apresenta aspecto mamiloide e foi possível observar a altura dos sulcos intercelulares (Fig. 5c).

Em *H*. sp. 1, as sementes são globosas a quase deltoides, eventualmente com leve depressão contínua (Fig. 5d). A superfície é composta por células poligonais com 4-7 lados, sem ornamentações, conferindo aspecto liso para as sementes (Fig. 5e). Em detalhe, as células são justapostas e não apresentam sulcos intercelulares (Fig. 5f).

Em *H.* sp. 2, a face dorsal das sementes, em vista frontal, é arredondada a levemente triangular e apresenta uma depressão profunda bem demarcada (Fig. 5g). A superfície da área externa à depressão apresenta células poligonais com 4-7 lados e sulcos relativamente profundos delimitando as células (Fig. 5h). A superfície interna da depressão central exibe células maiores que as da superfície externa, observável em vista geral (Fig. 5g) e, em detalhe, apresentam elevação pouco saliente da parede periclinal externa acompanhando o contorno angular das células, formando uma moldura com pequenos grânulos arredondados na porção central de cada célula (Fig. 5i). A face ventral das sementes exibe contorno triangular, arredondado em dois dos vértices, e outro mais angular que os demais (Fig. 5j). As células da superfície na face ventral são igualmente poligonais com 4-7 lados e podem ter sulcos intercelulares profundos em determinada áreas (Fig. 5k). Em detalhe, as células poligonais possuem parede periclinal externa com saliência achatada que se estende por quase toda a superfície da célula acompanhado o contorno poligonal e formando uma pequena moldura (Fig. 51).



Figura 5: Caracterização micromorfológica comparativa de sementes das espécies brasileiras de Hagenbachia. a-c: H. brasiliensis; d-f: Hagenbachia sp. 1; g-l: Hagenbachia sp. 2. a. Vista geral de face lateral da semente, notar as dobras arredondadas na testa e aspecto áspero da superfície. b. Superfície com células poligonais (4-7 lados), limites celulares bem definidos e projeções no centro da parede periclinal externa de cada célula. c. Detalhe da superfície da semente evidenciando os sulcos intercelulares e as projeções mamiloides no centro da parede periclinal externa (cabeça de seta). d. Vista geral da face ventral da semente e face lateral, notar o aspecto liso da superfície. e. Superfície com células poligonais (4-7 lados) justapostas. f. Detalhe da superfície da semente evidenciando células poligonais justapostas. g. Vista geral da face dorsal da semente, notar depressão central demarcada. h. Superfície da região externa à depressão, na face dorsal, com células poligonais (4-7 lados) apresentando sulcos intercelulares. i. Superfície do interior da depressão com limites celulares bem definidos e presença de saliência achatada na parede periclinal externa (cabeça de seta) formando uma moldura que acompanha o contorno poligonal de cada célula. j. Face ventral da semente, com contorno levemente triangular a piramidal. k. Superfície da face ventral da semente com células poligonais (4-7 lados) apresentando sulcos intercelulares em determinada áreas. I. Detalhe da superfície da semente na face ventral evidenciando parede periclinal externa com saliência achatada ampla e sulcos intercelulares profundos. Escala: a,d,g,j: 200 µm; b,e,h,k: 50 µm; c,f,i,l: 10 µm.

As características que possibilitaram a distinção entre as espécies de *Hagenbachia* analisadas neste estudo referem-se, quanto às folhas, à margem foliar e ao número de fibras de esclerênquima nos feixes vasculares, especialmente na nervura central; quanto ao androceu, à forma, inserção e superfície do filete e à forma da antera; quanto às sementes, à forma e à superfície tanto em vista geral quanto em detalhe. A lista das principais características e seus estados entre as espécies está sumarizada na Tabela 2, a seguir.

C	Características / Espécies	Hagenbachia brasiliensis	<i>Hagenbachia</i> sp. 1 Jaíba	<i>Hagenbachia</i> sp. 2 Januária	<i>Hagenbachia</i> sp. 2 Verdelândia
FOLHAS	Margem foliar	Glabra	Escabra, áspera		Escabra, áspera
	Fibras nos feixes vasculares	Muitas (ca. 15 células)	Poucas (ca. 3 células)	Poucas (ca. 3 células)	Ausente
ANDROCEU	Forma do filete	Espatulado	Filiforme	Filiforme	Filiforme
	Inserção do filete	Dorsifixa	Dorsifixa	Centrifixa	Centrifixa
	Superfície do filete	Coliculada	Papilas definidas	Papilas definidas	Papilas definidas
	Forma da antera	Sagitadas	Linear	Oblonga a linear	Oblonga
SEMENTES	Forma	Levemente achatada dorsiventralmen te, contorno reniforme ou irregular, em vista lateral	Globosa quase deltoide	Arredondada a triangular ou piramidal	Arredondada a triangular ou piramidal
	Superfície, em vista geral	Presença de dobras arredondadas nas faces laterais e aspecto áspero	Eventualmente leve depressão contínua em alguma face	Depressão demarcada na face dorsal, com células maiores no interior	Depressão demarcada na face dorsal, com células maiores no interior
	Superfície, em detalhe	Protuberâncias mamiloides	Lisa sem sulcos intercelulares	Lisa com sulcos intercelulares	Lisa com sulcos intercelulares

Tabela 2: Principais características diagnósticas entre as diferentes espécies brasileiras de Hagenbachia.

5. DISCUSSÃO

A morfologia das espécies de *Hagenbachia* revista e descrita por Cruden (1987) em sua chave de identificação, frente aos materiais dos herbários examinados, mostrouse incapaz de prover uma identificação confiável, o que dificultou a descrição do gênero e das espécies para a Flora do Brasil 2020. A investigação mais detalhada foi iniciada devido a essa dificuldade que também foi sentida quando do exame das descrições originais das espécies.

A morfoanatomia foliar proveu características comuns aos acessos de *Hagenbachia* analisados, como: epiderme uniestratificada com espessamento péctico da parede periclinal externa, estômatos abaixo da linha da epiderme, mesofilo clorenquimático, presença de idioblastos com ráfides e feixes vasculares colaterais. As diferenças morfoanatômicas observadas nas folhas entre as espécies analisadas restringem-se ao contorno da folha em secção transversal, ao número de camadas de célula do mesofilo, à variação no número de fibras nos feixes vasculares e ao contorno das margens foliares em secção transversal. Características micromorfológicas observadas para os botões florais, flores e sementes de *Hagenbachia*, especialmente a superfície e forma dos filetes, inserção dos filetes nas anteras, forma das anteras, forma, superfície e presença de depressão nas sementes mostraram-se úteis na caracterização comparativa entre as espécies.

A presença de idioblastos com ráfides e feixes colaterais com fibras esclerenquimáticas em ambos os polos no mesofilo das espécies analisadas, observadas também para Hypoxidaceae, como visto no capítulo 2, são características compartilhadas com diferentes grupos nas monocotiledôneas (Metcalfe & Chalk, 1950; Al-Rais *et al.*, 1971; Prychid & Rudall, 1999) e sua ocorrência e distribuição podem ser utilizadas como importante característica taxonômica (Prichid & Rudall, 1999). A variação no número de fibras dos feixes vasculares das espécies analisadas sugeriu maior proximidade entre *H.* sp. 1 e *H.* sp. 2 e mostrou diferenças com *H. brasiliensis*, já que esta última apresentou maior número de fibras que as demais espécies. Nossos resultados corroboram as observações de Cornehl (2009) que, mesmo não mencionando o voucher utilizado em seu estudo, reportou folhas com fibras esclerenquimáticas para uma espécie de *Hagenbachia*, confirmado por nós, pelas imagens das secções das sementes, tratar-se de *H. brasiliensis*. Gonçalves (2004) relatou igualmente a presença

de fibras nos polos dos feixes vasculares para folhas de *Herreria salsaparilha* Mart., atualmente inserida também em Asparagaceae.

As variações micromorfológicas observadas para a superfície das sementes entre *H. brasiliensis*, *H.* sp. 1 e *H.* sp. 2 possibilitaram diferenciar as três espécies entre si, mostrando características compartilhadas com outras espécies da família, especialmente as do Velho Mundo. A espécie *H.* sp. 1 possui sementes morfologicamente semelhantes às de *Anthericum galpini* reportadas por Obermeyer (1962) enquanto que as de *H. brasiliensis* são similares às de *Chlorophytum comosum*, *C. filipendulum* e *C. petrophilum* (Poulsen & Nordal, 2005) apresentando contorno reniforme em vista lateral e dobras por toda cobertura, além de serem do mesmo modo dorsiventralmente achatadas. Estas similaridades morfológicas entre as sementes de *Hagenbachia*, especialmente *H. brasiliensis*, e as de *Chlorophytum*, gênero com histórico também relacionado a *Anthericum* (Obermeyer, 1962), correspondem com ligeiras variações às caracterizações realizadas por Poulsen & Nordal (2005) e Meerts & Bjorå (2012). As ornamentações da superfície das sementes e variação interespecífica encontrada em *Hagenbachia* neste trabalho também foram similares aos registros para *Herreria* (Lopes, 2003) em microscopia eletrônica.

Características compartilhadas em diferentes fases de desenvolvimento das estruturas reprodutivas, como nos botões florais e em flores em antese das espécies analisadas (Fig 3d-f, 4a-c) forneceram informações substanciais para a distinção entre as espécies brasileiras de *Hagenbachia*. A superfície do filete formada por papilas individualizadas é uma característica compartilhada entre *H*. sp. 1 e *H*. sp. 2, diferentemente de *H. brasiliensis* com superfície levemente coliculada, corroborando as imagens apresentadas para a mesma espécie, por Cornehl (2009). Esta variação na superfície do filete, assim como a forma da antera e outras características florais, entre as espécies também foi claramente mostrada em espécies de *Chlorophytum* da ÍIndia, por Lekak *et al.* (2012).

O tipo de inserção centrifixa entre os filetes e as anteras observadas para *H*. sp. 2 (Verdelândia) (Fig. 3f e 4c) podem ser considerados caracteres diagnósticos para esta espécie. Tais características assemelham-se às observações de Rudall (2001) em seu trabalho sobre caracterização de anteras pseudobasifixas para *Chlorophytum* aff. *nyassae* (Rendle) S. Kativu e *Echeandia*, com anteras morfologicamente iguais às de *H*. sp. 2, com um poro central na base onde se insere o filete. A parede reticulada dos grãos

de pólen monossulcados observados para *Hagenbachia* são similares aos relatados para outras Asparagaceae, como em *Clara* (Lopes *et al.*, 2013).

A relação entre os gêneros *Echeandia*, *Hagenbachia*, *Anthericum* e *Chlorophytum*, segundo Cruden (2009) deve ser melhor investigada do ponto de vista morfológico e filogenético, principalmente as espécies americanas. Anteriormente o mesmo autor (Cruden, 1987) relacionou algumas características que poderiam separar *Hagenbachia* e *Echeandia* de *Anthericum* e *Chlorophytum*, como anteras dorsifixas só nas espécies do Novo Mundo, até 6 óvulos por lóculo em *Hagenbachia*, oposto a anteras não dorsifixas e mais de seis óvulos por lóculo nos outros gêneros. Anteras centrifixas e dorsifixas são mostradas em espécies de *Chlorophytum* da Índia por Lekak *et al.* (2012). Antera cenrifixa foi mostrada em *Echeandia echeandioides* por Rudall (2001). Outras características morfológicas igualmente instáveis e pouco esclarecedoras foram apontadas por Cruden (1987).

A proximidade morfológica existente entre *Hagenbachia* e outros gêneros de Asparagaceae, ficam evidentes em trabalhos que mostram registros da morfologia externa de plantas, flores e sementes (p. ex. Nordal & Thulin 1993) ou incluindo varredura de sementes (Meerts & Bjora, 2012). Lopes & Andreata (2003) analisando filogenetica e morfologicamente *Chlorophytum*, *Clara* e *Herreria* apresentaram uma espécie de *Hagenbachia* a qual foi considerada como *Clara* e no cladograma posicionou-se mais próxima de *C. ophiopogonoides*, espécie tipo de *Clara*.

Pires *et al.* (2001) mostraram a proximidade filogenética de *Echeandia leucocrinum* e *Anthericum*, o que pode ser relacionado com as observações de Kim *et al.* (2010) ao reportarem a proximidade filogenética entre Herreria, Echeandia, *Chlorophytum* e *Anthericum*.

Estudos recentes de posicionamento filogenético entre os gêneros *Anthericum* e *Chlorophytum* não suportaram a monofiletismo entre os táxons, Kativu & Bjora (2016) realizaram a análise filogenética com cerca de 37 acessos de 35 espécies e Bjora *et al.* (2017) com 69 acessos de 43 espécies de *Chlorophytum* e *Anthericum* e propuseram o rearranjo de algumas espécies entre estes dois gêneros, apresentando também imagens de varredura de sementes.

As variações observadas nas características morfoanatômicas das folhas em *Hagenbachia* são bastante contínuas entre as três espécies analisadas, não propiciando auxílio na identificação específica destas. Já as estruturas reprodutivas, principalmente de androceu e sementes, mostraram uma variação ainda não descrita entre as espécies

que pode auxiliar nas identificações. As características morfoanatômicas e micromorfológicas evidenciadas neste estudo comparadas com os materiais herborizados, as chaves e descrições existentes para o gênero, como a revisão de Cruden (1987), sugerem a necessidade da ampliação da amostra dos materiais analisados, bem como da ampliação da distribuição geográfica amostrada e de uma revisão taxonômica para o gênero *Hagenbachia*.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresentou além da caracterização morfoanatômica das folhas, uma descrição micromorfológica de diferentes estruturas florais e de sementes para espécies brasileiras do gênero *Hagenbachia*. As diferentes abordagens com estereomicroscópio e microscopia eletrônica de varredura revelaram características com grande potencial diagnóstico entre as três espécies consideradas no estudo e, em adição, demonstraram o nível de relevância de cada técnica utilizada para o estudo deste gênero.

A morfoanatomia foliar apresentada neste trabalho conferiu um número menor de características (2) que a micromorfologia de estruturas florais e das sementes (7), diferentemente do observado no capítulo 2 da presente tese para as folhas das Hypoxidaceae brasileiras. Todavia, as características observadas para as margens foliares e a presença de esclerênquima nos feixes vasculares constituem caracteres constantes quanto a sua importância taxonômica dentre as monocotiledôneas, especialmente nas Asparagales. Estudos subsequentes envolvendo uma amostragem significativa de indivíduos e, se possível, com diferentes populações, poderão integrar os resultados aqui obtidos com o propósito de estabelecer possíveis relações ecológicas entre a distribuição das espécies e as características descritas.

Quanto às características micromorfológicas do androceu e das sementes nas espécies analisadas, observamos um padrão exibido entre os acessos de *H*. sp. 2 (Verdelândia e Januária), sugerindo tratar-se da mesma espécie, estabelecendo um padrão de distribuição geográfica para a mesma. As outras duas espécies, *H. brasiliensis* e *H.* sp. 1, apresentaram características importantes distintivas entre si e com *H.* sp. 2, especialmente em relação à forma, superfície e inserção dos filetes, além da forma e superfície das sementes. Considero importante ressaltar que observações quanto à morfologia dos frutos das *Hagenbachia* mostraram ser, da mesma forma, informativas em nível interespecífico para o gênero.

As informações apresentadas neste trabalho podem ser utilizadas como ferramentas que auxiliarão na resolução das diferentes questões taxonômicas e nomenclaturais ainda não resolvidas para *Hagenbachia*. Os resultados obtidos neste estudo serão de grande auxílio no melhor conhecimento do gênero, possibilitando uma melhor identificação e caracterização das espécies na Flora do Brasil 2020 (in prep.).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APGII. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 399–436.

APGIII. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society 161: 105-121.

Baker, J. G. 1876. Revision of the genera and species of Anthericeae and Eriospermeae. J. Linn. Soc., Bot. 15: 253-363.

Bercu, R. 2007. Anatomical Aspects of *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Jacques "*variegatum*" (Anthericaceae). Research Journal Agricultural Science. 39(2): 463-468.

Bjora, C. S., Elden, M., Nordal, I., Brysting, A. K., Awas, T., Demissew, S., Bendiksby, M. 2017. Speciation in the genera *Anthericum* and *Chlorophytum* (Asparagaceae) in Ethiopia – a molecular phylogenetic approach. Phytotaxa 297 (2): 139-156.

Cornehl, C. L. 2009. Posicionamento sistemático de *Hagenbachia* Nees & Mart. através de caracteres morfológicos e anatômicos. Monografia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 22p.

Cronquist, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. New York Botanical Garden, New York.

Cruden, R. W. 1987. *Hagenbachia*, a misplaced genus of New World Liliacea. Nord. J. Bot. 7: 255 - 260.

Cruden, R. W., Maas, P. J. M. & Kamer, H. M.-van de. 1991. *Hagenbachia* (Liliaceae): Reexamination of Its Familial Placement, Its Authors, the Lectotype, and Other Collections. Taxon 40: 445-452.

Cruden, R. W. 1999. A New Subgenus and Fifteen New Species of *Echeandia* (Anthericaceae) from Mexico and United States. Novon, Vol. 9, N° 3. pp. 325-338.

Dahlgren, R. M. T., Clifford, H. T. & Yeo, P. F. 1985. The families of the Monocotyledons. - Springer-Verlag, Berlin.

Dutilh, J.H.A., Campos-Rocha, A. *Hagenbachia. In:* Flora do Brasil 2020 (em construção). Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15521 Acesso em: 23 Mar. 2019.

Endlicher. 1836-40. Genera Plantarum secundum ordines naturales disposita.

Geerinck, D. 1968. Considerations taxonomiques au sujet des Haemodoraceae et des Hypoxidaceae (Monocotyledones). Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique 101: 265-278.

Hutchinson, J. 1959. The families of flowering plants. 11. Monocotyledons. -Clarendon Press, Oxford.

Hutchinson, J. 1973. The families of flowering plants. Monocotyledons. Clarendon Press, Oxford.

Kativu, S. & Bjora, C.S. 2016. A new species of *Chlorophytum* (Asparagaceae) from the succulent Karoo biome, Namibia – with an updated key for Chlorophytum of Namibia. Annals of Botany 106: 775–790.

Kim, J.-H.; Kim, D-K.; Forest, F.; Fay, M.F. and Chase, M.W. 2010. Molecular phylogenetics of Ruscaceae *sensu lato* and related families (Asparagales) based on plastid and nuclear DNA sequences. Annals of Botany 106: 775–790.

Klimko, M., Nowińska, R., Wilkin, P., Wiland-Szymańska, J. 2018. Comparative leaf micromorphology and anatomy of the dragon tree group of *Dracaena* (Asparagaceae) and their taxonomic implications. Plant Systematics and Evolution. 304 (8), 1041-1055.

Kunth H 1848. Nachtra[°]gliche Bemerkunge u[°]ber die familie der *Smilacium*. Physikalische Abhandlungen der Königlichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin pp. 43–44

Lawrence, G. H. M. 1951. Taxonomy of vascular plants. -The Macmillan Company, New York.

Lekak, M.M.; Adsul, A.A. & Yadav, S.R. 2012. Cytotaxonomical investigations into the genus *Chlorophytum* from India. Kew Bulletin v. 67: 285 - 292

Lopes, R.C.; Andreata, R.H.P. 2003. *Clara* Kunth (Herreriaceae): Novo posicionamento para o gênero. Bradea 9(4): 17-20.

Mandal, G. D., Nandi, A. K. 2012. Morphological and anatomical circumscription for the identification of two source plants of aphrodisiac medicine – *Chlorophytum borivilianum* Santapau & Fernandes and *Chlorophytum tuberosum* (Roxb.) Baker. Int. J. Med. Arom. Plants. Vol. (2) N° 3. pp. 406-410.

Marais, W., Reilly, J. (1978) *Chlorophytum* and Its Related Genera (Liliaceae). Kew Bulletin, Vol. 32, n° 3. pp. 653-663.
Meerts, P.; Bjora, C. S. 2012. Synopsis of the genus *Chlorophytum* (Asparagaceae) in Central Africa (Democratic Republic of the Congo, Rwanda, Burundi).

Nordal, I., Eriksen, T.E. & Fosby, M. 1990. Studies on the generic delimitation of Anthericaceae. *Mitteilungen aus dem Institut für Allgemeine Botanik Hamburg* 23b: 535–559.

Nordal, I. & Thulin, M. 1993. Synopsis of *Anthericum* and *Chlorophytum* in the Horn of Africa, including the description of nine new species. *Nordic Journal of Botany* 13: 257–280.

Obermeyer, A. A. 1962. A revision of the South African species of *Anthericum*, *Chlorophytum*, and *Trachyandra*. - Bothalia 7: 669-767.

Prychid, C. J., Rudall, P. J. 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. Annals of Botany, 84: 725-739.

Ravenna, P. 1977. Neotropical species threatened and endangered by human activity in the Iridaceae, Amaryllidaceae and allied bulbous families. Pp. 257-266 in: Prance, G. T. & Elias, T. S. (ed.), Extinction is forever. New York Botanical Garden, Bronx.

Ravenna, P. 1985. New or critical Liliaceae. Phytologia 57: 327-328.

Rudall, P. J., Chase, M. W., Cutler, D. F., Rusby, J., De Bruijin, A. Y. 1998. Anatomical and molecular systematics of Asteliaceae and Hypoxidaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 127: 1-42.

Simpson, M. G. (1990) Phylogeny and classification of the Haemodoraceae Ann. Missouri Bot. Gard.7 7: 722-784.

Wied-Neuwied. 1823. Beitrag zur *Flora brasiliens*. - Nova Acta Acad. Caes. Leop.-Carol. German. Nat. Cur. 11: 1-88.

CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

A presente tese investigou características morfoanatômicas de folhas em espécies de três famílias de Asparagales: Amaryllidaceae, Hypoxidaceae e Asparagaceae, provendo novas informações para a tribo Griffinieae, endêmica do Brasil e os gêneros *Hypoxis*, *Curculigo* e *Hagenbachia*, grupos importantes e ainda inexplorados das Monocotiledôneas da flora brasileira.

Os resultados apresentados no Capítulo 1 constituíram um estudo de anatomia clássica para um grupo nunca antes investigado com estes parâmetros. Os três gêneros de Griffinieae, *Cearanthes*, *Griffinia* e *Worsleya*, tiveram a estrutura morfoanatômica das folhas caracterizada e comparada entre as espécies, contribuindo com novas características micromorfológicas e morfoanatômicas para a delimitação das mesmas, especialmente em *Griffinia*. A subdivisão das folhas em diferentes regiões possibilitou uma análise mais minuciosa de um órgão que possui características compartilhadas entre as diferentes espécies, mas que mostrou particularidades entre os acessos analisados.

A metodologia utilizada para Griffinieae e as Hypoxidaceae brasileiras forneceu dados satisfatórios quanto às questões taxonômicas destes grupos, diferentemente do observado para *Hagenbachia*, considerando que os caracteres micromorfológicos de estruturas reprodutivas foram evidentemente mais informativos neste táxon quanto às diferenças entre as espécies consideradas no estudo.

As informações adquiridas neste estudo, especialmente em Griffinieae, serão adicionadas a estudos filogenéticos (in prep.) possibilitando melhor entendimento evolutivo das espécies de *Griffinia*, já que durante a realização da presente tese firmamos uma parceria promissora com o doutorando Antônio Campos Rocha e a prof. Dra. Julie Dutilh, co-orientadora deste estudo.

O autor desta tese foi co-autor de três artigos em parceria com o grupo de pesquisa supracitado. No primeiro, foi descrita uma nova espécie do gênero *Eithea (E. lagopaivae)*, até então monotípico que, além das informações taxonômicas, apresentou uma comparação morfoanatômica entre as duas espécies. No segundo, duas espécies do gênero *Hypoxis* foram relatadas para a flora do Estado do Espírito Santo. No terceiro, foi descrita uma nova espécie do gênero *Griffinia (G. albolineata)* apresentando informações morfoanatômicas e de micromorfologia foliar.

Os próximos passos a serem desenvolvidos com Griffinieae, Hypoxidaceae e *Hagenbachia* possuem, a partir desta tese, ferramentas que possibilitarão explorar novas abordagens como estudos comparativos entre diferentes populações, envolvendo citogenética, biogeografia e filogenia. Em Griffinieae, maiores esclarecimentos acerca da evolução da tribo enfocando a diversidade de ambientes de ocorrência das espécies. Em Hypoxidaceae e *Hagenbachia*, fazem-se necessárias revisões taxonômicas em ambos os grupos no Brasil, correlacionando as espécies com as demais latinoamericanas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

Abdi, H., Valentin D. 2007. Multiple Correspondence Analysis. In Salkind, N.J., Ed., Enclyclopedia of Measurement and Statistics, SAGE publications, Thousand Oaks, CA, 1-13.

Alves-Araújo, A. 2007. Morfologia de Amaryllidaceae *s.s.* nativas do Nordeste Brasileiro. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

Alves-Araújo, A.; Pessoa, E. & Alves, M. 2012. Caracterização morfoanatômica de espécies de Amaryllidaceae *s.s.* e Alliaceae *s.s.* do Nordeste brasileiro. Mossoró: Revista Caatinga (25), n.4, p.68-81.

Alves-Araújo, A.; Alves, M. Anatomical features of three species of Amaryllidaceae from northeastern Brazil. Herbertia (59), p.94-106. 2005.

Amaral-Lopes, A. C.; Cavalcanti, T. B. 2015. *Habranthus* (Amaryllidaceae) of Brasil. Rodriguésia. 66: 1, 203-220.

APGII. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 399–436.

APGIII. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society 161: 105-121.

APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification of the orders and families of flowering plants: APG IV. Bot. J. Lin. Soc. 181: 1-20.

Arber, A. 1925. Monocotyledons a morhophological study. Cambridge University Press. London.

Arroyo, S. C. 1981. Systematic Anatomical Studies on Amaryllidaceae including morphological cytological and phytogeographical considerations. PhD Thesis. University of Reading. 238 pp.

Arroyo, S.C. & Cutler, D.F. 1984. Evolutionary and taxonomic aspects of the internal morphology in Amaryllidaceae from South America and southern Africa. Kew Bulletin (39), n.3, p.467-498.

Awasthi, D. K., Kumar, V., Rawat, R. 1984. Stomatal studies in Amaryllidaceae with special reference to stomatal abnormalities. Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.), 93(3): 629-633.

Baillon, H. 1895. Familles des Plantes. Vol. 13. Paris.

Baker, J. G. 1876. Revision of the genera and species of Anthericeae and Eriospermeae. J. Linn. Soc., Bot. 15: 253-363.

Baker, J.G. 1878. A synopsis of Hypoxidaceae. *Journal of the Linnean Society* (*Botany*) 17: 93–126.

Baker, J.G. 1880. A Synopsis of Hypoxidaceae. Journ. Linn. Soc. 17 (c.1): 93: 126.

Baker, J.G. 1896. Amaryllidaceae. In W.T. THISELTON-DYER, *Flora capensis* 6: 171–189. Reeve, London.

Baker, J.G. 1898. Amaryllideae. In W.T. THISELTON-DYER, *Flora of tropical Africa* 7: 377–383, 577. Reeve, Ashford.

Bentham, G. & Hooker, J.D. 1883. Genera Plantarum. Vol III, part 2. Reeve, London.

Bentham, G. & Mueller, F. 1873. Amaryllidaceae. Flora Australia 6: 322.

Bercu, R. 2007. Anatomical Aspects of *Chlorophytum comosum* (Thunb.) Jacques "*variegatum*" (Anthericaceae). Research Journal Agricultural Science. 39(2): 463-468.

Böcher, T. W. 1979. Xeromorphic leaf types: Evolutionary strategies and tentative semiphyletic sequences. Biologiske Skrifter Danske Videnskabernes Selskab, 22: 1-71.

Bjora, C. S., Elden, M., Nordal, I., Brysting, A. K., Awas, T., Demissew, S., Bendiksby, M. 2017. Speciation in the genera *Anthericum* and *Chlorophytum* (Asparagaceae) in Ethiopia – a molecular phylogenetic approach. Phytotaxa 297 (2): 139-156.

Brackett, A. 1923. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University. Revision of the American species of *Hypoxis*. *Rhodora* 25: 120–147.

Britt, R.F. 1967. A revision of the genus *Hypoxis* in the United States and Canada. PhD Thesis. 121 pp. Unpublished.

Brown, R. 1810. Genera inter Asphodeleas *et* Amaryllideas media. Prodromus Florae Novae Hollandiae (1960 facsmile) Engelman & Wheedon & Wesley LTD, New York.

Brown, R. 1814. General remarks, geographical and systematical, on the Botany of *Terra australis*. In M. FLINDERS. *A Voyage to Terra Austruslais*: 2: 576.

Cameron, K.M., Chase, M.W., W.M.Whitten, Kores, P.J., Jarrell, D.C., Albert, V.A., Yukawa, t., Hills, H.G. & Goldman, D.H. 1999. A phylogenetic analysis of the

Orchidaceae: evidence from RBCL nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 86: 208–224.

Campos-Rocha, A., Dutilh, J. H. A. *Griffinia* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4337. Acessado em 23 de março de 2019.

Campos-Rocha, A. 2015. Estudos Taxonômicos e Morfológicos do Gênero *Griffinia* Ker Gawl. (Amaryllidaceae). M.S. thesis. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.

Campos-Rocha, A., Dutilh, J.H.A. & Semir, J. (2017) *Griffinia angustifolia* (Amaryllidaceae), a new endangered species endemic to the Brazilian Caatinga biome. *CienciAmérica* 6: 40–45.

Campos-Rocha A., A. W. Meerow, E. F. M. Lopes, J. Semir, J. L. S. Mayer, and J. H. A. Dutilh. 2017. *Eithea lagopaivae*, a new critically endangered species in the previously monotypic genus *Eithea* Ravenna (Amaryllidaceae). *PhytoKeys* 85: 45–58.

Cameron K. M., Dickison W. C. 1998. Foliar architecture of vanilloid orchids: insights into the evolution of reticulate leaf venation in monocotyledons. Botanical Journal of the Linnean Society 128: 45±70.

Carvalho, L. d'A. Freire de. 1976. Considerações sobre a vascularização de *Hypoxis decumbens* L. HYPOXIDACEAE. Rodriguésia. Ano XXVIII. Nº 40. 274-281.

Catoni, R., Gratani, L. 2013. Morphological and physiological adaptive traits of Mediterranean narrow endemic plants: The case of *Centaurea gymnocarpa* (Capraia Island, Italy). Flora 208,174–183.

Chase, M. W.; Duvall, M. R.; Hills, H. G.; Hartwell, J. G.; Fay, M. F.; Caddick, L. R.; Cameron, K. M.; Hoot, S. 1995. Molecular systematics of Lilianae. *In Monocotyledons: Systematics and evolution*, Rudall, P. J.; Cribb, P. J.; Cutler, D. F.; Humphries, C. J. (eds.), 109-137. Royal Botanic Gardens, Kew.

Chase, M.W., Fay, M.F., Devey, D.S., Maurin, O., Rønsted, N., Davies, T.J., Pillon, Y., Petersen, G., Seberg, O., Tamura, M.N., Asmussen, C.B., Hilu, K., Borsch, T., Davis, J.I., Stevenson, D.W., Pires, J.C., Givnish, T.J., Sytsma, K.J., McPherson, M.M., Graham, S.W., Rai, H.S., 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. Aliso 22, 63–75. Chatelet, D. S., Clement, W. L., Sack, L. Donoghue, M. T., Edwards, E. T. 2013. The evolution of photosynthetic anatomy in *Viburnum* (Adoxaceae). International Journal of Plant Sciences, Vol. 174, (9) 1277-1291.

Choi, H. J. and B.U. Oh. 2011. A partial revision of *Allium* (Amaryllidaceae) in Korea and North-Eastern China. *Bot. J. Linn. Soc.*, 167: 153-211.

Cohen, S. 1939. A survey of the genus *Hypoxis* Linn. in the Transvaal. MSc Dissertation, University of Witwatersrand, South Africa.

Cornehl, C. L. 2009. Posicionamento sistemático de *Hagenbachia* Nees & Mart. através de caracteres morfológicos e anatômicos. Monografia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 22p.

Cortela, A. R., Casas, F. J. F. 2003. Estudios en el gênero Narcissus (Amaryllidaceae) Anatomía de los catafilos. (Anatomia de Amaryllidaceae). Universidad de La Plata. Argentina.

Colpitts B. G., W. K. Coleman. 1997. Complex permittivity of the potato leaf during imposed drought stress. IEEE Trans Geosci Remote Sens 35:1059–1064.

Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York and Surrey.

Cronquist, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. New York Botanical Garden, New York.

Cruden, R. W. 1987. *Hagenbachia*, a misplaced genus of New World Liliacea. Nord. J. Bot. 7: 255 - 260.

Cruden, R. W., Maas, P. J. M. & Kamer, H. M.-van de. 1991. *Hagenbachia* (Liliaceae): Reexamination of Its Familial Placement, Its Authors, the Lectotype, and Other Collections. Taxon 40: 445-452.

Cruden, R. W. 1999. A New Subgenus and Fifteen New Species of *Echeandia* (Anthericaceae) from Mexico and United States. Novon, Vol. 9, N° 3. pp. 325-338.

Cuadra, P. V. & Cambi, V. 2014. Morphoanatomical functional traits in xerophytic species of a saline environment. International Journal of Experimental Botany. 83: 389-396.

Cui, M., Vogelmann, T. C., Smith, W. K. 1991. Chlorophyll and light gradients in sun and shade leaves of *Spinacia oleracea*. Plant Cell Environ. 14: 493-500.

Cutler, D. F., Brandham, P. E., Carter, S. Harris, S. J. 1980. Morphological, anatomical, cytological and biochemical aspects of evolution in East African shrubby species of *Aloë* L. (Liliaceae). Bot. J. Linn. Soc. 80:293-317.

Dahlgren, R. 1975. A system of classification of the Angiosperms to be used to demonstrate the distribution of characters. *Botaniska Notiser* 128: 119–147.

Dahlgren, R. M. T. 1983. General aspects of angiosperm evolution and macrosystematics. *Nordic Journal of Botany* 3: 119–149.

Dahlgren, R. M. T., Clifford, H. T. & Yeo, P. F. 1985. The families of the Monocotyledons. - Springer-Verlag, Berlin.

De Paula, L. F. A., Kolb, R. M., Porembski, S., Silveira, F. A. O., Rossatto, D. R. 2019. Rocks and leaves: Can anatomical leaf traits reflect environmental heterogeneity in *inselberg* vegetation? Flora. 250 91-98.

Dickison, W., 2000. Integrative Plant Anatomy. Harcourt Academic Press, San Diego.

Dilcher, D. L. 1974. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains. The Botanical Review. 40 (1) 160pp.

Dutilh, J.H.A. 1989. Morphological variation in a population of Hippeastrum Herb. Herbertia 45:152-155.

Dutilh, J.H.A. 2005. Amaryllidaceae. In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S.; Martins, S.E.; Kirizawa, M. & Giulietti, A.M. (eds.). Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo. São Paulo. p.244-256.

Dutilh, J.H.A. 2005. Hypoxidaceae. In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S.; Giulietti, A.M. & Kirizawa, M. (eds.) *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. RiMa, FAPESP. São Paulo, vol. 4, p. 258.

Dutilh J.H.A. 2009. Neotropical Hypoxidaceae. In: Milliken W, Klitgard & Baracat A. (2009 onwards). Neotropikey – interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics. Disponível em <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Hypoxidaceae.htm>. Acesso em 28 agosto 2018.

Dutilh, J.H.A., Oliveira, R. S. 2015. Amaryllidaceae. In: Lista de Espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB43 (acessado em 28 de agosto de 2018).

Dutilh, J.H.A., Lopes, E. F. M., Campos-Rocha, A. 2017. Flora do Espírito Santo: Hypoxidaceae. Rodriguésia 68(5): 1607-1612.

Dutilh, J.H.A. 2019. Hypoxidaceae. *In:* Flora do Brasil 2020 (em construção) Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB134>. Acesso em 10 dez 2018.

Dutilh, J.H.A., Campos-Rocha, A. *Hagenbachia*. *In*: Flora do Brasil 2020 (em construção). Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15521 Acesso em: 23 Mar. 2019.

Endlicher. 1836-40. Genera Plantarum secundum ordines naturales disposita.

Evert, R. 2006. Esau's Plant Anatomy. Wiley. Third Edition. University of Wisconsin, Madison.

Fellows R. J., Boyer, J. S. 1977. Altered ultrastructure of cells of sunflower leaves having low water potentials. Protoplasma 93:381–395.

Franceschi, V. R., P. A. Nakata. 2005. Calcium oxalate in plants: formation and function. *Ann. Rev Plant Biol.*, 56: 41-71.

Funez LA, Hassemer G. & Ferreira J. P. R. 2016. *Hypoxis atlantica* (Hypoxidaceae): a rare new species endemic to coastal eastern Brazil. Phytotaxa 282:129-138.

García N., Folk R. A., Meerow A. W., Chamala S., Gitzendanner M. A., Oliveira R. S., Soltis D. E., Soltis P. S. 2017. Deep reticulation and incomplete lineage sorting obscure the diploid phylogeny of rain lilies and allies (Amaryllidaceae tribe Hippeastreae). Molecular Phylogenetics and Evolution 111: 231–247. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.04.003.

Geerinck, D. 1968. Considérations taxonomiques au sujet des Haemodoraceae et des Hypoxidaceae (Monocotyledones). *Bulletin de la Societe Royale de Botanique de Belgique* 101:265–278.

Geerinck, D.J.L., 1993. Amaryllidaceae (including Hypoxidaceae). Flora Malesiana ser. I 11, 353–373.

Govaerts, R. 2017. World checklist of Hypoxidaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em http://apps.kew.org/wcsp/. Acesso em 10 dezembro 2018.

Graham, S.W., Zgurski, J.M., McPherson, M.A., Cherniawsky, D.M., Saarela, J.M., Horne, E.F.C., Smith, S.Y., Wong, W.A., O'Brien, H., Biron, V.L., Pires, J.C., Olmstead, R.G., Chase, M.W., Rai, H.S., 2006. Robust inference of monocot deep phylogeny using and expanded multigene plastid data set. Aliso 2006, 3–21.

Haberlandt, G. 1884. Vergleichende Anatomie des assimilatorischen Gewebesystems der Pflanzen. Jahrb. Wiss. Bot. 13: 74-188.

Hasman, M.; Inanç, N. 1957. Investigations on the anatomical structure of certain submerged, floating and amphibious hydrophytes. Istanbbul Univiversitesi Tip Fakultesi Mecmuasi 22: 137-53.

Heideman, M.E. 1983. Studies of diagnostic features in the genus *Hypoxis* L. (Hypoxidaceae R.Br.) on the Witwatersrand. *Bothalia* 14: 889–893.

Heywood, V.H. 1993. Flowering plants of the world. B.T. Batsford Ltd, London.
Herndon, A. 1988. Ecology and systematics of *Hypoxis sessilis* and *H. wrightii*(Hypoxidaceae) in Southern Florida. *American Journal of Botany*. 75: 1803–1812.

Herndon, A. 1992. The genus *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in Florida. *Florida Scientist* 55: 44–55.

Hilliard, O.M. & Burtt, B.L. 1978. Notes on some plants of southern Africa chiefly from Natal: 7: 233–244. *Rhodohypoxis*. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* 36: 43–76.

Huber, H. 1969. Die Samenmerkmale und Verwandtschaftsverhältnisse der Lilifloren. *Mitt. Bot. Staatssam. Munchen* 8: 219–538.

Humboldt, F.W.H.A. Von, Bonpland, A.J.A. & Kunth, K.S. 1815. *Nova Genera et Species Plantarum* 1. Librairie Grecque-Latine-Allemande, Paris, 377 pp., 96 tt.

Hutchinson, J. 1934. The families of Flowering Plants 11. Mononcotyledons. MacMillan & Co. Ltd., London.

Hutchinson, J. 1959. *The familes of flowering plants* (Oxford: Clarr Press) Vol. II.

Hutchinson, J. 1973. The families of flowering plants. Monocotyledons. Clarendon Press, Oxford.

IBGE, 2012. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE. Rio de Janeiro.

Jarvis, M. C.; Apperley. D. C. 1990. Direct observation of cell wall structure in living plant tissues by solid-state 13C NMR spectroscopy. *Plant Physiol.* 92, 61–65.

Johow F. R. 1880. Untersuchungen über die zellkerne in den secretbehältern und Parenchymzellen der höheren Monocotylen. Bonn: Diss., apud Prychid & Rudall 1999. Calcium Oxalate Crystals in Monocotyledons: A Review of their Structure and Systematics. Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York.

Judd, W.S. 2000. The Hypoxidaceae in the southeastern United States. Harvard papers in Botany 5: 79–98.

Judd, W.S., Campbell, C.; Kellogg, E. Stevens, P. 2001. Amaryllidaceae J. St. Hilaire. Plant Systematics – A phylogenetic approach. Sinnauer Associates, Sunderland.

Jung J., Lee S. C., Choi H. 2008. Anatomical patterns of aerenchyma in aquatic and wetland plants. Journal of Plant Biology, 51(6): 428-439.

Lin, C., Tan D. 2015. The taxonomic significance of leaf epidermal micromorphological characters in distinguishing 43 species of *Allium* L. (Amaryllidaceae) from Central Asia. Pak. J. Bot., 47(5): 1979-1988.

Kativu, S. & Bjora, C.S. 2016. A new species of *Chlorophytum* (Asparagaceae) from the succulent Karoo biome, Namibia – with an updated key for Chlorophytum of Namibia. Annals of Botany 106: 775–790.

Khan, A. S.; Siddiqi, R. 2014. Environmental factors affect calcium oxalate crystals formation in *Tradescantia pallida* (Commelinaceae) *Pak. J. Bot.*, 46(2): 477-482.

Kim, J.-H.; Kim, D-K.; Forest, F.; Fay, M.F. and Chase, M.W. 2010. Molecular phylogenetics of Ruscaceae *sensu lato* and related families (Asparagales) based on plastid and nuclear DNA sequences. Annals of Botany 106: 775–790.

Klimko, M., Nowińska, R., Wilkin, P., Wiland-Szymańska, J. 2018. Comparative leaf micromorphology and anatomy of the dragon tree group of *Dracaena* (Asparagaceae) and their taxonomic implications. Plant Systematics and Evolution. 304 (8), 1041-1055.

Kocyan, A., Snijman, D.A., Forest, F., Devey, D.S., Freudenstein, J.V., Wiland-Szymańska, J., Chase, M.W. & Rudall, P.J. 2011. Molecular phylogenetics of Hypoxidaceae – evidence from plastid DNA data and inferences on morphology and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution 60:122-136*.

Kocyan, A.; Wiland-Szymanska, J. 2016 *Friedmannia*: a new genus from the Seychelles and the beginning of a generic realignment of *Curculigo* (Hypoxidaceae). Phytotaxa 283 (1): 54–64.

Kocyan, A.; Wiland-Szymanska, J. 2016. A new name and a new combination for *Friedmannia* nom. illeg. (Hypoxidaceae). Phytotaxa 291 (3): 239–239.

Koçyigit, M., Tuna, M. 2016. Taxonomic remarks on the genus *Sternbergia* L. (Amaryllidaceae) in Turkey based on leaf anatomy, karyosystematic analysis and nuclear DNA content. Phytotaxa 265 (3): 238-250.

Kunth H 1848. Nachtra[•]gliche Bemerkunge u[•]ber die familie der *Smilacium*. Physikalische Abhandlungen der Königlichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin pp. 43–44.

Lawrence, G. H. M. 1951. Taxonomy of vascular plants. -The Macmillan Company, New York.

Lekak, M.M.; Adsul, A.A. & Yadav, S.R. 2012. Cytotaxonomical investigations into the genus *Chlorophytum* from India. Kew Bulletin v. 67: 285 - 292

Linnaeus, C. 1759. Systema Naturae. 10th Edition. Holmiae. Salvii.

Liu K-W, Xie G-C, Chen L-J, Xiao X-J, Zheng Y-Y, *et al.* 2012 *Sinocurculigo*, a New Genus of Hypoxidaceae from China Based on Molecular and Morphological Evidence. *PLoS ONE* 7(6): e38880.

Lopes, R.C.; Andreata, R.H.P. 2003. *Clara* Kunth (Herreriaceae): Novo posicionamento para o gênero. Bradea 9(4): 17-20.

Ludwig, F. 1889. Beobachtungen von Fritz Müller an *Hypoxis decumbens*. Flora oder Botanische Zeitung 72: 55-56.

Magallón, S., & Castillo, A. 2009. Angiosperm diversification through time. American Journal of Botany, 96(1), 349–365.

Mandal, G. D., Nandi, A. K. 2012. Morphological and anatomical circumscription for the identification of two source plants of aphrodisiac medicine – *Chlorophytum borivilianum* Santapau & Fernandes and *Chlorophytum tuberosum* (Roxb.) Baker. Int. J. Med. Arom. Plants. Vol. (2) N° 3. pp. 406-410.

Marais, W., Reilly, J. (1978) *Chlorophytum* and Its Related Genera (Liliaceae). Kew Bulletin, Vol. 32, n° 3. pp. 653-663.

Marques, G. G. L. 2015. Anatomia do escape floral e da folha de espécies de *Hippeastrum* Herb. e *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae J. St.-Hil.) ocorrentes no Distrito Federal, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. 68pp.

Mashayekhi, S., Columbus, T. 2014. Evolution of leaf blade anatomy in *Allium* (Amaryllidaceae) subgenus *Amerallium* with a focus on the North American species. American Journal of Botany 101(1): 63-85.

Meerow, A. W. 1987a. New species of *Phaedranassa* and *Eucharis* (Amaryllidaceae). SIDA 12(1): 29-49. 1987.

Meerow, A. W. 1987b. A monograph of *Eucrosia* (Amaryllidaceae). Systematic Botany (1987), 12 (4): pp. 460-492.

Meerow, A. W. 1989. Systematics of the Amazon lilies, *Eucharis* and *Cliphrunria* (Amaryllidaceae), Annals of the Missouri Botanical Garden (76), n.1, p.136-220.

Meerow, A. W. & Snijman, D. A. 1998. Amaryllidaceae. *In*: Kubitzki, K. (ed.). The families and genera of vascular plants. Monocotyledons - Lilianae (except Orchidaceae). Hamburg. Pp. 83-110.

Meerow, A. W., Guy, C. L., Li, Q. B., Yang, S. L. 2000. Phylogeny of the American Amaryllidaceae based on nrDNA ITS sequences. Systematic Botany 25(4): 708–726.

Meerts, P.; Bjora, C. S. 2012. Synopsis of the genus *Chlorophytum* (Asparagaceae) in Central Africa (Democratic Republic of the Congo, Rwanda, Burundi).

Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1988. Anatomy of the Dicotyledons. 2 ed. Clarendon, Oxford.

Miller, L. 1968. Apostila do curso de microtécnica e fotomicrografia. São Paulo. Escola Superior de agricultura "Luiz de Queiroz", USP.

MMA, 2014. Ministério do Meio Ambiente. Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014. Reconhece como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes da "Lista Nacional Oficial de espécies da flora ameaçada de Extinção".

Moraes, M. A. 2009. Conservação e manejo de *Worsleya rayneri* (Amaryllidaceae) – uma espécie de campos de altitude ameaçada de extinção. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Nakano, J.; Meshitsuka, G. 1992. The detection of lignin. In: Lin, SY.; DENCE, C. W. (Eds.). Methods in lignin chemistry. Springer Verlag, Berlin. P.23-32.

Nascimento, A. A., Menezes, L. F. T., Nascimento, M. T. 2017. Water content, fibres, and herbivory in leaves of two distinct and adjacent tree communities of the Brazilian Atlantic Forest. Hoehnea 44(1): 103-110.

Nel, G.C. 1914. Die afrikanischen Arten der Amaryllidaceae-Hypoxideae. In A. ENGLER. Beiträge zur Flora von Afrika: 43. *Botanische Jahrbücher* 51: 287–340.

Nordal, I., Eriksen, T.E. & Fosby, M. 1990. Studies on the generic delimitation of Anthericaceae. *Mitteilungen aus dem Institut für Allgemeine Botanik Hamburg* 23b: 535–559.

Nordal, I. & Thulin, M. 1993. Synopsis of *Anthericum* and *Chlorophytum* in the Horn of Africa, including the description of nine new species. *Nordic Journal of Botany* 13: 257–280.

Nordal, I. 1998. Hypoxidaceae in K. Kubitzki. The families and genera of Vascular Plants. Springer-Verlag, Hamburg, Germany. pp. 286–295.

Nordal, I. & Zimudzi, C. 2001. Hypoxidaceae. In G. POPE. *Flora zambesiaca* 12: 1–18. Royal Botanic Gardens, Kew.

Obermeyer, A. A. 1962. A revision of the South African species of *Anthericum, Chlorophytum,* and *Trachyandra.* - Bothalia 7: 669-767.

Oliveira, R. S., Dutilh, J.H.A., Sano, P.T. 2008. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Amaryllidaceae. Bol. Bot. Univ. São Paulo 26: 35-39.

Oliveira, R.S., Dutilh, J.H.A., Sano, P. T. 2010. *Habranthus* (Amaryllidaceae) da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil. Rodriguésia 61: 491-513.

Oliveira, R. S. 2012. O gênero *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae) no Brasil: evidências de evolução reticulada e análise de caracteres florais. PhD Thesis, Universidade Estadual de Campinas, Brazil.

Parker, M. L., Ford, M. A. 1982. The strutcture of the mesophyll of flag leaves in three *Triticum* species. Annals of Botany. 49 (2) 165-176.

Pax, F. 1889. Amaryllidaceae. In A. ENGLER & K. PRANTL. Die Natürlichen Pflanzenfamilien 2: 79–124. Engelmann, Leipzig.

Pena, M. A., Watanabe, M. T. C., Sano, P. T. 2008. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: HYPOXIDACEAE. Bol. Bot. Univ. São Paulo 26(2): 161-164.

Perrone, R., Salmeri, C. Brullo, S. Colombo, P., De Castro, O. 2015. What do leaf anatomy and micromorphology tell us about psammophilous *Pancratium maritimum* L. (Amaryllidaceae) in response to sand dune conditions? 213 20-31.

Pande P C 1980 Foliar epidermis and development of stomata in *Iridar Acta Bot*. *Indica* 81 256—259.

Phillips, E.P. 1926. The genera of flowering plants. Government Printers, Cape Town.

Pires, J.C., Maureira, I.J., Givnish T.J., Sytsma, K. J. 2006. Phylogeny, genome size, and chromosome evolution of Asparagales. *In:* Columbus, J.T., Friar, E.A., Hamilton, C.W., Porter, J.M, Prince, L.M, Simpson, M.G. eds. Monocots: Botanic Garden. Aliso 22: 287–304.

Preuss, K. D. 1999. The genus *Griffinia* Ker Gawler (Amaryllidaceae), revisited. Herbetia 54, 51-66.

Prychid, C. J., Rudall, P. J. 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. Annals of Botany, 84: 725-739.

Pyykko, M. 1966. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. Annales Botanici Fennici 3: 453-622.

Ravenna, P. 1977. Neotropical species threatened and endangered by human activity in the Iridaceae, Amaryllidaceae and allied bulbous families. Pp. 257-266 in: Prance, G. T. & Elias, T. S. (ed.), Extinction is forever. New York Botanical Garden, Bronx.

Ravenna, P. 1985. New or critical Liliaceae. Phytologia 57: 327-328.

Ravenna, P., 2003. *Heliacme*, a new genus of New World Hypoxidaceae. Onira 8, 5–9.

R. Core Team. 2018. R: A Language and Environmental for Statistical Comput. Disponível em : https://www.r-project.org/>.

Ragonese, A. M. 1990. Caracteres xeromorfos foliares de *Nassauvia lagascae* (Compositae). *Darwiniana* 30: 1-10.

Raunkiaer, C. 1934. The life-forms of plants and statistical plant geography. Oxford University Press, Oxford. 632 pp.

Ribeiro, M. L. R. C., Santos, M. G., Moraes, M. G. 2007. Leaf anatomy of two *Anemia* Sw. Species (Schizaeaceae-Pteridophyte) from a rocky outcrop in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. Revista Brasil. Bot., V.30, n.4, p.695-702.

Roth-Nebelsick, A., Uhl, D., Mosbrugger, V., Hans Kerp, H. 2001. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. Annals of Botany. 87: 553-566.

Rudall, P.J., Chase, M.W., Cutler, D.F., Rusby, J. & de Bruijn, A.Y. 1998. Anatomical and molecular systematics of Asteliaceae and Hypoxidaceae.*Botanical Journal of the Linnean Society* 127: 1–42.

Sack, L., Grubb, P. J. 2002. The combined impacts of deep shade and drought on the growth and biomass allocation of shade-tolerant wood seedlings. Oecologia 131:175–185.

Sanchez-Ken, J. G. 2010. *Hypoxis colliculata* (HYPOXIDACEAE), a new species from Mexico and a key to the American species with black seeds. Acta Botanica Mexicana 92: 1-9.

Scharf, W. 1892. Beiträge zur Anatomie der Hypoxideen und einiger verwanter Pflanzen. *Botanische Zantralblatt* 52: 152–327.

Schulze, R. 1893. Beiträge zur vergleichenden Anatomie der Liliaceen, Haemodoraceen, Hypoxidioideen und Velloziaceen. *Botanische Jahrbücher* 17: 295– 394.

Seubert, M.A. 1847. Hypoxideae. *In:* von Martius, C.F.P. & Eichler, A.W. (Eds.) *Flora Brasiliensis* 3 (1). F. Fleischer, Munich and Leipzig, pp. 49–52, t. 7 (I).

Shah, G. L.; Gopai, B. V. 1970. Structure and development of stomata in the vegetative and floral organs of some Amaryllidaceae; *Ann. Bot.* 34 737-750.

Shiba, S.; van der Bank, M. 2017. Generic circumscription and relationships of southern African representatives of *Hypoxis* and allies (Hypoxidaceae, Asparagales). 7th International Barcode of Life Conference (abstract publicado em *Genome* 60 (11): 996.

Simpson, M. G. (1990) Phylogeny and classification of the Haemodoraceae Ann. Missouri Bot. Gard.7 7: 722-784.

Singh, Y. 2006. Hypoxis (Hypoxidaceae) in Africa: list of species and infraspecific names. *Bothalia* 36: 13–23.

Singh, Y. 2009. Systematics of *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in southern Africa. PhD Thesis in Universidade de Pretoria, Dpto. Ciencia Vegetal, Pretoria. 360p. Não publicado.

Sklenar, P. 2005. Hypoxidaceae. *In* P. Sklenar, J.L. Luteyn, C.U. Ulloa, P.M. Jorgensen & M.O. Dillon (eds.) *Flora genérica de los Páramos. Guía ilustrada de las plantas vasculares*. The New York Botanical Garden. New York, p. 288 – 289.

Smith, F. M.; Smith, E. C. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbia*. American Journal of Botany. 29: 464-471.

Soltis, D., Soltis, P. Endress, P., Chase, M. W., Manchester, S. Judd, W. Majure, L. Mavrodiev, E. 2018. Phylogeny and evolution of the angiosperms: revised and updated edition. University of Chicago Press. Chicago and London.

Stebbins, G. L.; Khush, G. S. 1961. Variation in the orgamzation of the stomatal complex in the leal epidermis of monocotyledons and its bearing on their phylogeny. *Ara.1. Bot.* 48 51-59.

Stearn, W. T. 1992. Botanical Latin. Fourth Edition.

Sultan, H. A. S., Abu Elreish, B. I., Yagi, S. M. 2010. Anatomical and phytochemical studies of the leaves and roots of *Urginea grandiflora* Bak. and *Pancratium tortuosum* Herbert. Ethnobotanical Leaflets 14: 826-35.

Takhtajan, A. 1969. Flowering plants: origin and dispersal. Oliver & Boyd. Edinburgh.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2004. Fisiologia vegetal. 3ed. Porto Alegre: Artmed.

Thompson, M.F. 1976. Studies in the Hypoxidaceae. 1. Vegetative morphology and anatomy. *Bothalia* 12: 111–117.

Thorne, R.F. 1983. Proposed new realignments in the Angiosperms. *Nordic Journal of Botany* 3: 85–117.

Tomlinson, P. B. 1974. Development of stomatal complex as a taxonomic character in the monocotyledons; *Taxon 23* 109–128.

Vogelmann, T. C., Martin, G. 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. Plant Cell Environ 16:65–72.

Vogelman, T. C., Nishio, J. N., Smith, W. K. 1996. Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. Trends Plant Sci 1:65– 70.

Wang, Q., Zhou, S. D., Deng, X. Y., Zheng, Q. I., He, X. J. 2009. Comparative morphology of the leaf epidermis in *Fritillaria* (Liliaceae) from China. Botanical Journal of the Linnean Society. 160, 93-109.

Wied-Neuwied. 1823. Beitrag zur *Flora brasiliens*. - Nova Acta Acad. Caes. Leop.-Carol. German. Nat. Cur. 11: 1-88.

Wiland, J. 1997a. New species of the genus *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in Central Africa (Zaire, Rwanda, Burundi). *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 42: 411–422.

Wiland, J. 1997b. *Hypoxis bampsiana* (Hypoxidaceae), a new species from Central Africa. *Bulletin du Jardin botanique de L'Etat, à Bruxelles* 66: 207–211.

Wiland-Szymańska, J. 2001. The genus *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in Central Africa. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88: 302–350.

Wiland-Szymańska, J. & Adamski, Z. 2002. Taxonomic and morphological notes on *Hypoxis angustifolia* (Hypoxidaceae) from Africa, Madagascar, and Mauritius. *Novon* 12: 142–151.

Wiland-Szymańska, J. & Nordal, I. 2006. Hypoxidaceae. Flora of Tropical East Africa: 1–25.

Wiland-Szymańska, J. 2009. The genus *Hypoxis* L. (Hypoxidaceae) in the East Tropical Africa: Variability, distribution and conservation status. Biodiv. Res. Conserv. 14, 1–129.

Yousaf, Z., Z. K. Shinwari, R. Asghar; A. Parveen. 2008. Leaf epidermal anatomy of selected *Allium* species, family Alliaceae from Pakistan. *Pakistan J. Bot.*, 40: 77-90.

Zona, S., Prince, J., Halder, G., Schwartz, R. & Vargas, R. 2009. A seed atlas of *Hypoxis* from eastern North America. *Journal of the Torrey Botanical Society* 136: 26–32.

Zimudzi, C. 1993. Studies on the family Hypoxidaceae in South Central Africa with emphasis on variation patterns in the genus *Hypoxis*. Unpublished PhD thesis, Department of Botany, University of Zimbabwe.

Zimudzi, C. 1994. The cytology and reproduction of the genus *Hypoxis* L. In J.H. SEYANI & A.C. CHIKUNI. Proceedings of the XIIIth Plenary Meeting, AETFAT, Malawi, 1: 535–543.

Zimudzi, C. 1996. A synopsis of the Hypoxidaceae in the *Flora zambesiaca* area. *Kirkia* 16: 11– 19.

ANEXO 1

Declaração referente à bioética e/ou biossegurança



COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO INSTITUTO DE BIOLOGIA Universidade Estadual de Campinas Caixa Postal 6109. 13083-970, Campinas, SP, Brasil Fone (19) 3521-6378. email: cpgib@unicamp.br



DECLARAÇÃO

Em observância ao §5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Tese de Doutorado, intitulada "*Morfoanatomia foliar e micromorfologia de Asparagales: Griffinieae (AMARYLLIDACEAE), HYPOXIDACEAE e Hagenbachia (ASPARAGACEAE)*", desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: ______ Nome do(a) aluno(a): Edimar Faria Menezes Lopes

Assinatura: <u>Mana</u> Nome do(a) orientador(a): Juliana Lischka Sampaio Mayer

Data: 30 de agosto de 2019.

ANEXO 2

Declaração referente a direitos autorais

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada Morfoanatomia foliar e micromorfologia de Asparagales: Griffinieae (AMARYLLIDACEAE), HYPOXIDACEAE e Hagenbachia (ASPARAGACEAE), não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 30 de Agosto de 2019.

Assinatura :

Nome do(a) autor(a): Edimar Faria Menezes Lopes RG n.° 34374080-1

whene Ma Assinatura :

Nome do(a) orientador(a): Juliana Lischka Sampaio Mayer RG n.° 6597161-5