

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

*Análise Anatômica e Ultra-Estrutural
em Cyperus s.l. (Cyperaceae) do
Nordeste do Brasil*

SHIRLEY MARTINS

RECIFE-PE
2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**ANÁLISE ANATÔMICA E ULTRA-ESTRUTURAL EM
CYPERUS S.L. (CYPERACEAE) DO NORDESTE DO
BRASIL**

SHIRLEY MARTINS

Orientador: Prof. Dr. Marccus Alves

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

RECIFE-PE

2007

Martins, Shirley

Análise anatômica e ultra-estrutural em *Cyperus* S.L. (*Cyperaceae*) do nordeste do Brasil. – Recife: A Autora, 2007.

112 folhas : il.

Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – UFPE. CCB.

1. Taxonomia 2 Anatomia vegetal 3. Cyperaceae I. Título.

584

582.542.2

CDD (22.ed.)

CDU (2.ed.)

UFPE

CCB - 2007 - 045

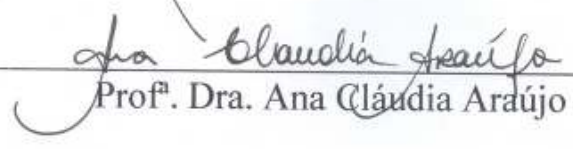
SHIRLEY MARTINS DA SILVA

“ANÁLISE ANATÔMICA E ULTRA-
ESTRUTURAL EM CYPERUS S.L. (CYPERACEAE)
DO NORDESTE DO BRASIL.”

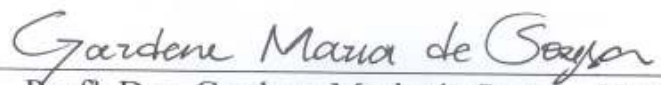
BANCA EXAMINADORA:



Prof.^o. Dr. Marcos Vinícius da Silva Alves (Orientador)-UFPE



Prof.^a. Dra. Ana Cláudia Araújo – UFRS



Prof.^a. Dra. Gardene Maria de Souza - UFPI

À minha mãe (heroína) pelo amor
incondicional e ao meu Chefinho pelo
apoio incondicional.
Dedico.

Aos meus amigos

TU NÃO ME ABANDONARÁS

**Tu não me abandonarás,
Mesmo secando os oceanos,
Mesmo no passar dos anos,
Sempre comigo estarás.**

**Tu não me esquecerás,
Mesmo que a roda gigante
Te leve para bem distante,
Sempre de mim lembrarás.**

**Não haverá qualquer distância
Que apague das lembranças
As doces emoções vividas.**

**E nenhuma amarga ferida
Que tragas no peito, contigo,
Abrirá, se disser: meu amigo.**

(Jefferson Rodrigues)

You live you learn, you love you learn
You cry you learn, you lose you learn
You bleed you learn, you scream you learn

You grieve you learn, you choke you learn
You laugh you learn, you choose you learn
You pray you learn, you ask you learn
You live you learn

(Alanis Morissette)

Você vive você aprende, você ama você aprende
Você chora você aprende, você perde você aprende
Você sangra você aprende, você grita você aprende

Você ofende você aprende, você sufoca você aprende
Você ri você aprende, você escolhe você aprende
Você reza você aprende, você pergunta você aprende
Você vive você aprende

(Alanis Morissette)

Agradecimentos

Ao CNPq, pela bolsa concedida e certamente bem aproveitada para o desenvolvimento da pesquisa. Ao Programa Biota (Fapesp) pelo financiamento das análises ultra-estruturais. Aos técnicos Nivalde Antonio Basso e Maria Helena Morena (Leninha), pelo auxílio nas técnicas de Microscopia Eletrônica realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de São Paulo (Campus Júlio de Mesquita - Botucatu).

À Profa. Dra. Silvia Rodrigues Machado por ter acreditado e confiado em mim e no trabalho, pela sincera parceria desenvolvida e pelo enorme aprendizado adquirido. Aos membros do Laboratório de Morfologia Vegetal da Unesp (Botucatu), em especial à Dra. Shirlayne Silvana (Shi) pelo apoio incondicional e pela verdadeira amizade surgida, à Dra. Camilla Milanez, à Dra. Juliana Alvarez e à Mestranda Clívia.

Aos membros do Departamento de Biologia Vegetal na USP-SP, pelo ajuda oferecida durante a passagem por essa instituição, em especial à Profa. Dra. Gladys Flávia Mello-de-Pinna, à Dra. Vera Alves, à Doutoranda Emília Arruda e à Mestranda Marina Cattai.

Às Dras. Hilda Longhi-Wagner e Ana Cláudia Rodrigues pelas sugestões para o aperfeiçoamento do projeto. À Dra. Sônia Hefler pela valiosas discussões sobre *Cyperus*.

A todos os curadores dos Herbários visitados.

A todos que auxiliaram nas coletas realizadas, o que contribui bastante para o desenvolvimento desta pesquisa, entre eles: Msc. Anderson Alves-Araújo, Dr. Marcondes Oliveira, Dr. Augusto Santiago, Doutoranda Kelly Leite, Mestrando Jefferson Rodrigues Maciel e Doutorando Emerson Rocha.

Ao meu eterno (pois com certeza será) orientador, professor e amigo Dr. Marccus Alves, pelo INTENSO aprendizado, por ter me ensinado muito do que sei hoje, por ter me apresentado a esta família que aprendi a defender com unhas e dentes "Cyperaceae", pelas freqüentes conversas sobre ciência e principalmente sobre vida. Aprendi contigo não apenas a ser a profissional que sou, mas também que "O único clamor da vida é por mais vida bem vivida", e isso foi essencial. Por ter acreditado em mim e me dado força para superação dos desafios encontrados. Tenho certeza que essa parceria que surgiu nesses quatro anos trabalhando juntos tem bases fortes.

Ao meu querido MTV (Laboratório de Morfo-Taxonomia Vegetal). Este que não é o segundo, mas meu primeiro lar, pelo tempo de permanência nesse ambiente. Quantas coisas vividas, quantas mudanças vistas (para melhor claro!), quantas amizades surgidas. Deixo esse lar com a consciência tranqüila de que vivi INTENSAMENTE cada momento desses cinco anos.

Agradeço também aos membros antigos do Laboratório de Anatomia Vegetal, pois tudo que sei hoje corresponde ao processo de aprendizado que começou a cinco anos atrás. E aos atuais membros do MTV. Em especial agradeço ao Anderson Alves-Araújo, meu amigo, companheiro e irmão. Maninho não existem palavras que consigam descrever tudo o que vivemos juntos e o real sentimento surgido durante esse período de convivência, novamente repito "Forever and ever you stay in my heart and I will love you, I just love you". À Yanna Carla, minha eterna caçulinha pela amizade sincera e carinho sempre oferecidos. À Jussara Oliveira

"Almia Gêmia" pelo INTENSO companheirismo, amizade incondicional e pelo exemplo de força e determinação e pelo constante estado de alegria, mostrando que "Ao notar que tu sorrir, todo mundo irar supor que és feliz". À Fátima Lucena (Fatinha) pela aprendizado adquirido e pela luz emanada, essa tão essencial para você e para os que te cercam. Ao Jefferson Maciel (Jeff bio) pela amizade, admiração que é recíproca, pelo exemplo de determinação e pelos poemas. À Elizabeth Córdula (Betty) pelo exemplo de que "querer é poder" e você vai longe. À Polyhanna Gomes (Poly poly), tão pequena e tão grande, agradeço à Deus ter te conhecido e me orgulho da sua amizade, és bela menina por fora e por dentro. À Teresa Vital (Tetê) pela tranquilidade e amizade oferecidas, sucesso garota. Ao Diogo Araújo pela amizade dentro e fora do laboratório, lembre-se Você é o meu garoto. À Katarina Pinherio (Menina Maluquinha) pela amizade surgida durante esse período de convivência e por ter me ensinado junto com Juju (duas coisinhas que amo) a não levar a vida tão sério, o que foi de grande importância para me manter distante da linha da loucura, da qual esse projeto de dissertação me atraía. A Bruno (Bruninho) pela amizade e carinho. Enfim, com certeza levo de todos vocês exemplos e força necessários para vencer qualquer desafio. Amo vocês INTENSAMENTE.

Aos professores do Departamento de Botânica por todo aprendizado adquirido. Aos amigos e colegas do Departamento de Botânica, em especial à Adaíses Maciel (Ises) pela amizade e exemplo de determinação, ao Marcos Meiado (Miguio) pela amizade e consideração, ao Marciel Teixeira pelo carinho e amizade, à Flávia Carolina pela amizade, à Lisi Damaris, amiga e concorrente em alguns momentos (hihihi), à Juliana Rosa pelo convívio durante o curso, ao Augusto Santiago pela prestatividade, à Anna Flora Novaes e ao Eduardo Pinto pela amizade antiga.

À minha família pelo INTENSO apoio para o meu crescimento profissional. À minha mãe Silvia, minha heroína, por fazer o possível e impossível por mim, pelo exemplo de força, superação e dedicação, pelo carinho e amor incondicional, devo tudo a você. Ao meu Pai drasto Otílio pelo apoio, carinho e pela torcida pelo meu sucesso, és muito importante na minha vida. Aos meus irmãos Clayton, Daniel e André (meu eterno bebê) simplesmente por existirem, por serem companheiros e por tudo que aprendemos juntos, amo vocês. Aos meus tios Charles Castro e Geraldina por todo apoio e torcida tão importantes para mim. A minha vovó Dida pela pessoa maravilhosa que és e pelo eterno carinho.

Finalmente agradeço a Deus por ter me proporcionado a oportunidade de viver e conviver durante esses dois anos de INTENSO trabalho, pelos momentos de dúvida, de alegria, de glória, de superação, de tristeza. Pela força propulsora que me conduziu até onde estou e no estado que estou, de consciência tranquila pelo trabalho realizado, sabendo que procurei dar o máximo de mim. Com certeza foram dois anos INTENSOS em todos os sentidos. E chego ao fim com meus sinceros votos de agradecimento a todos que direta e indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, pois sozinhos não somos nada.

Índice

LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ANEXOS	XIV
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
MANUSCRITO 1 - ANÁLISE MULTIVARIADA DE CARACTERES ANATÔMICOS EM <i>CYPERUS</i> S.L. (CYPERACEAE): SUBSÍDIOS À TAXONOMIA E FILOGENIA DO GRUPO	10
ABSTRACT	122
INTRODUÇÃO	12
MATERIAIS E MÉTODOS	14
RESULTADOS	15
DISCUSSÃO	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
MANUSCRITO 2 - ANÁLISE ULTRA-ESTRUTURAL DOS TECIDOS KRAZ EM ESPÉCIES DE <i>CYPERUS</i> S.L. (CYPERACEAE)	56
ABSTRACT	58
RESUMO	58
INTRODUÇÃO	59
MATERIAL E MÉTODOS	60
RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
AGRADECIMENTOS	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
MANUSCRITO 3 - ANATOMIA E ULTRA-ESTRUTURA FOLIAR DE <i>CYPERUS MARITIMUS</i> POIR. (CYPERACEAE): ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS AO AMBIENTE DE DUNAS LITORÂNEAS	78
RESUMO	80
ABSTRACT	80
INTRODUÇÃO	81
MATERIAL E MÉTODOS	82
RESULTADOS	83
DISCUSSÃO	85
AGRADECIMENTOS	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
RESUMO	101
ABSTRACT	102

LISTA DE TABELAS

Manuscrito 1

Tabela 1. Relação dos táxons estudados com respectivos códigos (cód.) utilizados nas análises e populações (p.) examinadas.....	35
--	-----------

Manuscrito 2

Tabela 1. Principais caracteres ultra-estruturais observados em espécies C_4 de <i>Cyperus s.l.</i>	72
--	-----------

LISTA DE FIGURAS

MANUSCRITO 1

Figura 1. Análise 1 de Agrupamento obtida através da matriz de similaridade (72 OTUs e 34 caracteres) usando o coeficiente de Distância e método de UPGMA. As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não especificado.....39

Figura 2. Análise 2 de Agrupamento obtida através da matriz de similaridade (41 OTUs e 49 caracteres) usando o coeficiente de Distância e método de UPGMA. As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não especifica.....40

Figura 3. Análise dos Componentes Principais baseada nos dados da análise 1 (72 OTUs e 34 caracteres). Grupo I (—), Grupo II (-----) e Grupo III (- - -). A. Dados dos componentes 1 e 2. B. Dados dos componentes 1 e 3. Os números correspondem as OTUs utilizadas na análise conforme especificadas na matriz.....41

Figura 4. Análise dos Componentes Principais baseada nos dados da análise 2 (41 OTUs e 49 caracteres). Grupo I (—), Grupo II (-----) e Grupo III (- - -). Os números correspondem as OTUs utilizadas na análise conforme especificadas na matriz.....42

Figura 5. A-M, ST dos órgãos foliáceos e do escapo das espécies de *Cyperus* s.l. pertencentes ao Grupo I. A-E. Subgrupo 1. A-B. Órgãos foliáceos. A. *Cyperus aggregatus* (S. Martins et al. 114) destacando anatomia Kranz do tipo clorociperóide e células epidérmicas com proporções diferentes. B. *Cyperus aggregatus* (S. Martins 228 & M. Alves) evidenciando a lamina foliar em “V”. C-D. Detalhe do escapo. C. *Cyperus odoratus* (S. Martins et al. 119), região medular destacando as cavidades de ar (esquizo-lisígeno). D. *Cyperus sphacelatus* (S. Martins et al. 151) mostrando os feixes vasculares periféricos. E. *Cyperus odoratus* (S. Martins et al. 48), folha mostrando a nervura central com quilha aguda e com três cordões de fibras. F-H. Órgãos foliáceos, subgrupo 2. F. *Cyperus iria* (S. Martins et al. 113), nervura central em domo com três cordões de fibras e hipoderme na face adaxial. G-H. *Cyperus distans* (S. Martins et al. 150) e *P. macrostachyos* (S. Martins et al. 223), respectivamente, destacando a região do limbo com cavidades de ar e com os cordões de fibras alinhados aos feixes vasculares.....43

Figura 6. A-B. Subgrupo 3. A. *Pycneus polystachyos* (S. Martins et al. 109), folha com epiderme multisseriada. B. *Pycneus flavescens* (S. Martins et al. 138), escapo destacando o bordo arredondado e feixes vasculares periféricos. C. Subgrupo 4, *Pycneus lanceotatus* (F. França et al. 2225), folha mostrando feixes vasculares em fileira única e células epidérmicas com proporções diferentes. D-F. Órgãos foliáceos, subgrupo 5. D. *Kyllinga odorata* (S. Martins et al. 137) detalhe dos dois cordões de fibra e feixe secundário. E-F. *Kyllinga squamulata* (S. Martins 230 & M. Alves). E. Nervura central em domo com dois cordões de fibra e feixe secundário. F. Região intercostal destacando feixes vasculares com anatomia Kranz e células proporcionalmente diferentes entre as faces epidérmicas.....45

Figura 7. A-I, ST dos órgãos foliáceos e de escapo das espécies de *Cyperus* s.l. pertencentes aos Grupos II e III. A-J. Grupo II. A-C. Órgãos foliáceos. A. Subgrupo 6, *Cyperus laxus* (S. Martins et al. 24), detalhe do nervura central em domo, com um cordão de fibra e células buliformes restritas a essa região. B-C. Subgrupo 7. B. *Cyperus eragrostis* (S. Martins et al. 107) destacando a nervura em domo e dois cordões de fibras, células epidérmicas com proporções diferentes entre as faces, cavidades de ar e cordões de fibras adjacentes aos feixes vasculares (seta). C. *Cyperus surinamensis* (S. Martins et al. 83) detalhe do limbo foliar com cavidades de ar e feixes vasculares com e sem contato com os cordões de fibras. D. Escapo, subgrupo 8, *Cyperus uncinulatus* (S. Martins et al. 101), destacando o bordo arredondado sem feixes vasculares periféricos e cavidades de ar. E-H. Subgrupo 9. E. *Cyperus subcastaneus* (S. Martins et al. 128), limbo foliar com parênquima paliádico em ambas as faces, parênquima lacunoso com poucos espaços intercelulares e colunas de fibras. F. *Cyperus schomburgkianus* (S. Martins et al. 129), escapo com parênquima paliádico na periferia do órgão. G-H. *Cyperus* aff. *surinamensis* (S. Martins et al. 131). G. Nervura central ressaltando a nervura central com três cordões de fibras. H. Região intercostal evidenciando as cavidades de ar e a diferença das células epidérmicas entre as faces. I-J. Subgrupo 10. I. *Cyperus* aff. *sublenax* (K.B.R. Leite 434 & E.L. Alves), folha com paliádico em ambas as faces e com poucos espaços no lacunoso. J. *Cyperus involucratus* (S. Martins et al. 149), escapo evidenciando a região medular sem cavidades de ar e com feixes vasculares. L-M. Grupo III, *Cyperus haspan* (S. Martins et al. 120). L. Nervura central proeminente, devido ao formato triangular, e com dois cordões de fibras. M. Região intercostal destacando o parênquima paliádico em ambas as faces e presença de colunas.....47

Figura 8. A-H. Grupo III. A-B. Subgrupo 11. A. *Cyperus maritimus* (S. Martins 226 & M. Alves), folha concentriforme espessa sem quilha e com hipoderme multisseriada e feixes vasculares em duas fileiras. B. *Remirea maritima* (S. Martins et al. 54), folha concentriforme espessa, sem quilha, hipoderme multisseriada, feixes em fileira dupla e com células buliformes restritas à nervura central. C-F. Subgrupo 12. C-D. *Cyperus cuspidatus* (S. Martins et al. 68). C. Detalhe evidenciando a epiderme multisseriada. D. Nervura central descascando feixe secundário. E-F. *Lipocarpa micrantha* (S. Martins et al. 75). E. Escapo com feixes periféricos. F. Folha evidenciando a anatomia Kranz. G-H. *Cyperus ligularis* (S. Martins et al. 18), subgrupo 13. G. Nervura central foliar com dois cordões de fibra e feixe secundário. H. Região intercostal evidenciando o padrão “Kranzkette”49

MANUSCRITO 2

Figura 1-12. Aspectos ultra-estruturais das folhas de *Cyperus* s.l. **1-4.** *Cyperus aggregatus* (Willd.) Endl. **1.** Visão geral da estrutura Kranz com mesofilo (PCA), bainha mestoma e bainha Kranz (PCR). **2.** Detalhe das células do mesofilo com cloroplastos com grana desenvolvido e plasmodesmos. **3.** Célula Kranz com cloroplasto agranal, com grãos de amido e retículo periférico conspicuo. **4.** Detalhe do tecido vascular, mostrando o cloroplasto agranal do parênquima xilemático e os plasmodesmos ramificados entre a célula Kranz e o elemento de tubo de tubo crivado. **5-8.** *Cyperus maritimus* Poir. **5.** Células do mesofilo com cloroplastos granais. **6.** Detalhe da célula mestomática, com parede fortemente espessa, lamela de suberina e com plasmodesmos em constrições. **7.** Célula Kranz com vários cloroplastos e tilacóides convolutos. **8.** Parênquima vascular com cloroplastos mostrando grana pouco desenvolvido. **9-12.** *Cyperus compressus* L. **9.** Visão geral da estrutura Kranz.

10. Célula do mesofilo com grana, grãos de amido e plastoglóbulos. 11. Célula Kranz evidenciando os cloroplastos com tilacóides convolutos, plastoglóbulos e retículo periférico. 12. Detalhe da bainha Kranz, mostrando compostos fenólicos e plasmodesmos entre as células.....74

Figura 13-24. Aspectos ultra-estruturais das folhas e escapo de *Cyperus s.l.* 13-21. Folha. 13-15. *Kyllinga squamulata* Thonn. ex Vahl. 13. Visão geral da estrutura Kranz, destacando os cloroplastos com muitos grãos de amido e célula com idioblasto fenólico. 14. Detalhe da célula do mesofilo mostrando cloroplasto com grana desenvolvido e grão de amido. 15. Célula da bainha mestoma com parede sinuosa, plasmodesmos entre essas e cloroplastos na célula da bainha Kranz com conteúdo denso, agranaís e grãos de amido. 16-18. *Cyperus iria* L. 16. Visão geral da bainha Kranz mostrando os cloroplastos ocupando grande parte da célula. 17. Detalhe da parede da bainha mestoma destacando as microfibrilas com disposição laxa e a lamela de suberina. 18. Célula da bainha Kranz com compostos fenólicos e cloroplastos agranaís com grãos de amido. 19-21. *Remirea maritima* Aubl. 19. Aspecto geral da estrutura Kranz com mesofilo com cloroplastos centrífugos, bainha mestoma com células de parede espessa e bainha Kranz com grandes cloroplastos. 20. Detalhe da célula do mesofilo, mostrando os tilacóides formando grana bem estruturado e plasmodesmos entre essa célula e a do mestoma com lamela de suberina evidenciada. 21. Detalhe da célula Kranz com muitas mitocôndrias e cloroplastos agranaís com plastoglóbulos. 22-24. Escapo de *Cyperus articulatus* L. 22. Visão geral da estrutura Kranz, com grandes cloroplastos circulares. 23. Célula do mesofilo com cloroplastos granais. 24. Célula da bainha Kranz, destacando o retículo periférico penetrando no estroma.....76

MANUSCRITO 3

Figura 1-9. *Cyperus maritimus* Poir. 1. Hábito. 2-9. Folhas. 2-3. Face adaxial em MEV. 2. Epiderme com tricoma unicelular e estrias cuticulares. 3. Células da epiderme com paredes anticlinaís retas e depósitos de cera. 4. Vista frontal em ML da face abaxial com estômatos paracíticos e células com corpos de sílica. 5. Visão geral em ST, destacando o aspecto ondulado da lâmina foliar, o parênquima aquífero e os feixes vasculares dispostos em duas fileiras. 6. Detalhe da face adaxial destacando a parede periclinal externa espessa, os corpos de sílica, os sulcos, o parênquima com aspecto buliforme e o parênquima aquífero. 7. Estômato em MET com parede das células-guarda espessa e cera no ostíolo. 8-9. Folha em ST. 8. Detalhe da face abaxial com epiderme com parede periclinal externa espessa, idioblasto fenólico e feixes de menor calibre com estrutura Kranz. 9. Feixe de maior calibre mostrando parênquima radiado interrompido pela terceira bainha, formada por células com parede delgada e espessa, a bainha mestoma e a bainha Kranz interrompida pelo elementos do metaxilema.....96

Figura 10-18. *Cyperus maritimus* Poir. MET. 10. Células do parênquima radiado com cloroplastos alongados. 11. Detalhe dos cloroplastos com grana estruturado e plastoglóbulos. 12. Detalhe da bainha parequimática, células delgadas com pequenos cloroplastos na próximos a parede. 13. Detalhe da célula da bainha mestoma, mostrando a parede fortemente espessada e polilamelada, além da lamela de suberina e plasmodemos com a bainha Kranz. 14. Visão geral do feixe vascular, destacando o arranjo da bainha Kranz e compostos fenólicos no elemento de vaso. 15. Detalhe da célula Kranz com tilacóides convolutos e

plastoglóbulos presentes nos cloroplastos. 16. Célula Kranz com grãos de amido elipsóides. 17. Destaca-se a presença de cloroplastos no parênquima xilemático, plasmodesmos entre a célula parenquimática e a bainha Kranz e entre as células da bainha Kranz. 18. Detalhe do parênquima vascular mostrando cloroplastos com grana e plasmodesmos.....98

LISTA DE ANEXOS

MANUSCRITO 1

Anexo I. Matriz de dados dos caracteres anatômicos de *Cyperus s.l.* referentes à Análise 1 (folha ou bráctea). As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não especificado.....52

Anexo II. Matriz de dados dos caracteres anatômicos de *Cyperus s.l.* referente à Análise 2 (combinada- folha o bráctea e escapo). As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não especificado.....54

Anexo III. Caracteres anatômicos de folha ou bráctea e escapo utilizados na análise fenética.....55

Anexos da Dissertação

Normas dos periódicos para onde serão enviados os manuscritos.....104

Introdução geral

Cyperaceae é terceira maior família entre as Monocotiledôneas, com 104 gêneros e cerca de 5000 espécies, sendo subdivididas em cinco subfamílias: Mapanioideae, Cyperoideae, Sclerioideae, Rhychosporoideae e Caricoideae (Goetghebeur 1998). Devido as grandes semelhanças morfológicas exibidas por muitos táxons e da extrema redução floral, outras ferramentas, além das tradicionais, vêm sendo empregadas na investigação taxonômica da família.

Entre as diferentes análises, podem ser mencionadas aquelas com abordagens citogenética (Heilborn 1928, Standley 1987, Tejavithi & Nijalingappa 1990), polínica (Standley 1987), micromorfológica do aquênio (López & Matthei 1995, Araújo & Longhi-Wagner 1997, Lye 2000) e atualmente moleculares (Muasya *et al.* 1998, 2001, 2002). Os estudos anatômicos destacam-se nesse contexto pelo grande valor taxonômico, sendo utilizados para interpretações sistemáticas em diferentes níveis hierárquicos na família (Plowman 1906, Koyama 1967, Govindarajalu 1966, 1968, 1974, Metcalfe 1969, 1971, Shepherd 1976, Standley 1990, Bruhl 1995).

Entre as características anatômicas mais utilizadas na família, a análise da estrutura foliar é considerada como parâmetro indispensável na taxonomia (Koyama 1967, Metcalfe 1971, Bruhl 1992, 1995, Araújo 2001, Alves *et al.* 2002). A importância da análise anatômica dos órgãos fotossintéticos é também relacionada às variações que estes apresentam quanto à via de assimilação do carbono (C_3 e C_4).

Cyperaceae é a segunda maior família em número de espécies C_4 , sendo todos os táxons C_4 pertencentes às subfamílias Cyperoideae e Rhynchosporoideae quem apresentam ambas as vias fotossintéticas (Goetghebeur 1998, Soros & Bruhl 2000, Sage 2004). Análises cladísticas sugerem que a síndrome Kranz surgiu diversas vezes na família, pela presença, entre as espécies C_4 , de quatro distintos tipos anatômicos: clorociperóide, eleocaróide, fimbristilóide e rincosporóide (Muasya *et al.* 1998, Soros & Bruhl 2000).

Soros & Dengler (1998) e Soros & Bruhl (2000) enfatizam como principais características anatômicas diagnósticas para espécies com fotossíntese C_4 a presença de dois tipos de tecidos fotossintéticos especializados: o parênquima radiado, conhecido como o tecido de assimilação do carbono primário (“primary carbon assimilation” - PCA) e a bainha do feixe (“photosynthetic carbon reduction” - PCR), onde ocorre a redução do carbono

fotossintético. Nas espécies C_4 há também um maior número de feixes vasculares em comparação às C_3 , que se deve a curta distância entre o “PCA” e o “PCR”. Essa curta distância é considerada uma das principais características utilizadas para identificar anatomicamente espécies C_4 (Brown & Hattersley 1989, Soros & Dengler 1998).

Além das características anatômicas, os aspectos ultra-estruturais são também utilizados no diagnóstico do tipo de via fotossintética, sendo o principal deles, a presença de um grande número de cloroplastos apenas nas células da bainha do feixe nas espécies C_4 (PCR nessas espécies), estando estes ausentes ou em pequena quantidade na bainha do feixe das C_3 (Black & Mollenhauer 1971, Brown & Hattersley 1989, Marinho & Estelita 1996). A análise ultra-estrutural em grupos com fotossíntese C_4 tem sido de grande relevância para discussões taxonômicas e sistemáticas (Brown 1958, 1975, Downton *et al.* 1969, Black & Mollenhauer 1971, Ueno *et al.* 1988). Entretanto, mesmo diante da representatividade de espécies com via C_4 em Cyperaceae, poucos trabalhos foram realizados visando à caracterização ultra-estrutural das espécies com esta via (Carolin *et al.* 1977, Estelita-Teixeira & Handro 1987, Ueno *et al.* 1988, Estelita 1992, Ueno 1996, Rodrigues & Estelita 2003), apesar da extrema importância para o entendimento de aspectos evolutivos na família (Carolin *et al.* 1977, Estelita-Teixeira & Handro 1987).

Entre os táxons de Cyperaceae com grande complexidade taxonômica destaca-se *Cyperus s.l.*, que apresenta cerca de 600 espécies com ampla distribuição e é um dos poucos grupos da família a ter tanto espécies C_3 quanto C_4 (Tucker 1994, Goetghebeur 1998, Muasya *et al.* 2002). Vários autores (Goetghebeur 1998, Bruhl 1995, Tucker 1994, Muasya *et al.* 2001, 2002) concordam que não existe consenso com relação à circunscrição de *Cyperus*. Análises filogenéticas mostram um bom índice de suporte para *Cyperus s.l.*, porém, *Cyperus s.s.* emerge como não monofilético (Muasya *et al.* 2002). Atualmente muitos esforços têm sido realizados no sentido de se obter uma classificação para *Cyperus s.l.* que reflita de maneira mais coerente a evolução do grupo (Bruhl 1995, Goetghebeur 1989, 1998; Muasya *et al.* 2001, 2002). Entretanto, um dos principais obstáculos para a obtenção de uma boa sustentação filogenética em *Cyperus s.l.* é o baixo índice de coletas e estudos nas regiões tropicais, onde o grupo ocorre em sua grande maioria.

Nas espécies C_4 de *Cyperus s.l.* só foi observado, até o momento, o tipo anatômico clorociperóide (Goetghebeur 1998, Muasya *et al.* 2002), que de acordo com estudos filogenéticos teve uma única origem na tribo Cyperae (Muasya *et al.* 2002). Nessa tribo, a maioria dos gêneros é C_4 e *Cyperus s.s.* é um dos poucos a ter espécies C_3 e C_4 , sendo este

caráter utilizado em sua subdivisão genérica (Goetghebeur 1998). No entanto, essa subdivisão não é corroborada por alguns aspectos morfológicos, visto que as espécies de *Cyperus* subg. *Cyperus* com anatomia C₄ possuem, em sua maioria, inflorescência em espiga verdadeira, com poucos representantes com inflorescências congestas, enquanto que em *C.* subg. *Anosporum* (anatomia C₃) as inflorescências são congestas. A presença de algumas espécies com anatomia C₄ e inflorescências congestas tem levado alguns autores a proporem hipóteses alternativas em que a via C₄ surgiu repetidamente sem divergência morfológica ou que as inflorescências congestas em espécies C₄ são produtos de convergência adaptativa (Goetghebeur 1989, 1998, Muasya *et al.* 2002).

Entre os gêneros freqüentemente segregados de *Cyperus* estão *Kyllinga*, *Lipocarpha*, *Pycnus* e *Remirea* (Goetghebeur 1998). Este autor comenta que *Pycnus*, *Kyllinga* e mais alguns táxons menores são altamente especializados, devendo ser excluídos de *Cyperus*, considerando determinadas características em comum como sinapomorfias entre estes gêneros e *Cyperus s.s.* Outros autores discordam quanto a existência de caracteres suficientemente importantes para a separação dos mesmos (Kükenthal 1936, Haines & Lye 1983) e os mantêm ao nível subgenérico.

A segregação de *Kyllinga* e *Pycnus* de *Cyperus* tem sido baseada em caracteres como a orientação do aquênio bicarpelar e lateralmente achatado (Muasya *et al.* 2001). Com relação *Remirea maritima*, incluída anteriormente em *Cyperus s.l.* (Kern 1958) pela presença de inflorescência Cyperoide, essa apresenta caracteres considerados relevantes para a elevação a um gênero distinto (Hooper 1983). Quanto ao gênero *Lipocarpha*, suas espécies foram incluídas em *Cyperus* por Koyama (1961), porém o mesmo posteriormente criou a tribo Lipocarpheae, abrigando espécies de *Lipocarpha*, *Ascolepis* e *Alinula* (Koyama 1982). Atualmente *Lipocarpha* está incluída da tribo Cypereae (Goetghebeur 1998). *Mariscus* é um outro táxon que por vezes é tratado como gênero distinto (Bruhl 1995), porém para muitos autores deve ser mantido em uma categoria infragenérica (Goetghebeur 1989, 1998, Lye 1992, Tucker 1994) em *Cyperus* subg. *Cyperus*.

Muasya *et al.* (2002) sugere, com base em estudos moleculares, que a manutenção de *Cyperus s.l.* como monofilético implica na inclusão em *Cyperus* de alguns táxons considerados como gêneros distintos, entre eles *Kyllinga*, *Pycnus*, *Lipocarpha* e *Remirea*.

No Brasil, de acordo com Luceño & Alves (1997), ocorrem cerca de 40 gêneros e aproximadamente 500 espécies de Cyperaceae. Apesar dessa diversidade e da importância da caracterização da tipologia fotossintética, poucos estudos foram realizados visando à identificação e interpretação da anatomia Kranz nesta família, destacando-se os estudos

realizados por Estelita (1992, 1993) com *Remirea maritima* e *Cyperus esculentus*, Estelita-Teixeira & Handro (1987) com espécies de *Cyperus* e *Fimbristylis*, Rodrigues & Estelita (2003) com *Cyperus giganteus* e Martins & Alves (no prelo) com 42 espécies de diferentes gêneros de Cyperaceae ocorrentes no nordeste.

A maioria dos trabalhos anatômicos em representantes da família no Brasil é de cunho taxonômico e florístico e refere-se a gêneros específicos (Arruda 1994, Araújo & Longhi-Wagner 1997, Mendes 1997, Lucena 1998, Araújo 2001, Alves *et al.* 2002, Prata 2004 e Alves 2005). Entretanto, poucos estudos buscam relacionar os aspectos anatômicos com as condições ambientais a que as espécies estão submetidas (Silva 2000, Rodrigues 2004), especialmente aqueles táxons ocorrentes em dunas litorâneas, como por exemplo, *Cyperus maritimus* Poir (Luceño *et al.* 1997, Matias & Nunes 2001, Cordeiro 2005, Väre & Kukkonen 2005).

As espécies ocorrentes em dunas litorâneas são caracterizadas por tolerarem altos níveis de salinidade, deficiência hídrica e de nutrientes, ampla variação de umidade e temperatura, além de injúrias causadas pelos fortes ventos (Maun 1994). Para a sobrevivência, essas espécies desenvolveram estratégias que compõem os estresses ambientais a que estão submetidas. Entretanto, são raras as abordagens sobre as adaptações morfológicas, especialmente ultra-estruturais, apresentadas pelas plantas ocorrentes nesses ambientes (Yeo 1983, Perazzolo & Pinheiro 1991, Fahn & Cutler 1992, Naidoo *et al.* 1992).

Este estudo tem como objetivo analisar do ponto de vista anatômico e ultra-estrutural espécies de *Cyperus s.l.* ocorrentes no Nordeste do Brasil, buscando minimizar os atuais problemas de circunscrição do grupo e fortalecer as abordagens filogenéticas existentes. Além disso, busca fornecer informações sobre as estruturas anatômicas e ultra-estruturais que possam estar relacionadas às condições ambientais.

Referências Bibliográficas

- ALVES, M.V., ESTELITA, M.E.M., WANDERLEY, M.G. & THOMAS, W.W. 2002. Aplicações taxonômicas da anatomia foliar das espécies brasileiras de *Hypolytrum* Rich. (Cyperaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 25:1-9.
- ALVES, V.F.G. 2005. Morfo-anatomia dos órgãos subterrâneos e aéreos em espécies de *Scleria* Berg. (Cyperaceae) ocorrentes na Serra do Cipó (MG). Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ARAÚJO, A. 2001. Revisão de *Rhynchospora* Vahl. Sect. *Pluriflorae* (Cyperaceae). Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ARAÚJO, A.C. & LONGHI-WAGNER, H. 1997. Anatomia foliar e micromorfologia da superfície do fruto na taxonomia de *Cyperus* L. (Cyperaceae). *Iheringia* 48: 103-120.
- ARRUDA, R. 1994. Anatomia foliar de *Trilepis lhotzkiana* e *T. ciliatifolia*. Cyperaceae. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- BLACK, C.C. & MOLLENHAUER, H.H. 1971. Structure and distribution and other organelles in leaves with various rates of photosynthesis. *Plant Physiology* 47:15-23.
- BROWN, R.H. & HATTERSLEY, P.W. 1989. Leaf anatomy of C₃-C₄ species as related to evolution of C₄ photosynthesis. *Plant Physiology* 91:1543-1550.
- BROWN, W.V. 1958. Leaf anatomy in grass systematics. *Botanical Gazette* 119:170-178.
- BROWN, W.V. 1975. Variations in anatomy, associations, and origin of kranz tissue. *American Journal of botany* 62: 395-402.
- BRUHL, J. 1992. Genera of Cyperaceae: interactive identification and information retrieval. *Taxon* 41: 225-234.
- BRUHL, J. 1995. Sedge genera of the world: relationships and a new classification of the Cyperaceae. *Australian Systematic Botany* 8: 125-305.
- CAROLIN, R. C., JACOBS, W. L. & VESK, M. 1977. The ultrastructure of Kranz cells in the family Cyperaceae. *Botanical Gazette* 138: 413-419.
- CORDEIRO, S.Z. 2005. Composição e distribuição da vegetação herbáceas em três áreas com fisionomias distintas na Praia do Peró, Cabo Frio, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 19: 679-693.
- DOWNTON, W.J.S., BISALPUTRA, T. & TREGUNNA, E.B. 1969. The distribution and ultrastructure chloroplast in leaves differing photosynthetic carbon metabolism. II.

- Atriplex rosea* and *Atriplex hastata* (Chenopodiaceae). Canadian Journal of Botany 47: 915-919.
- ESTELITA, M.E.M. 1992. Origin and structure of the Kranz tissues in Cyperaceae. Boletim de Botânica da USP 13:41-48.
- ESTELITA, M.E.M. 1993. *Remirea* Aubl. (Cyperaceae), a new Kranz genus. Revista Brasileira de Botânica 16:137-141.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E. & HANDRO, W. 1987. Kranz pattern in leaf, scape and bract of *Cyperus* and *Fimbristylis* species. Revista Brasileira de Botânica 10:105-111.
- FAHN, A. & CUTLER, D.F. 1992. Xerophytes. Gebrüder Borntraeger, Berlin. 178p.
- GOETGHEBEUR, P. 1985. Studies in Cyperaceae C. Nomenclature of the suprageneric taxa in the Cyperaceae. Taxon 4: 617-632.
- GOETGHEBEUR, P. 1989. Studies in Cyperaceae 9. Problems in the Lectotypification and infrageneric taxonomy of *Cyperus* L. Bulletin Soc. Roy. Bot. Belg. 122: 103-114.
- GOETGHEBEUR, P. 1998. Cyperaceae. Pp. 141- 190. In: K. Kubistzki *et al.* (eds.). The families and genera of vascular plants. Monocotyledons - Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae).
- GOVINDARAJALU, E. 1966. The systematic anatomy of south Indian Cyperaceae: *Bulbostylis* Kunth. *Botanical Journal of the Linnean Society* 59: 289-304.
- GOVINDARAJALU, E. 1968. The systematic anatomy of south Indian Cyperaceae: *Cyperus* L. subgen. *Kyllinga* (Rottb.) Suringar. *Botanical Journal of the Linnean Society* 62: 41-58.
- GOVINDARAJALU, E. 1974. The systematic anatomy of south Indian Cyperaceae: *Cyperus* L. subgen. *Juncellus*, *Cyperus* subgen. *Mariscus* and *Lipocarpha* R. Br. *Botanical Journal of the Linnean Society* 68: 235-266.
- HAINES, R. & LYE, K. 1983. The sedges and rushes of East Africa. East African Natural History Society, Nairobi.
- HEILBORN, O. 1928. Chromosome studies in Cyperaceae. *Hereditas* 11: 182-192.
- HOOPER, S.S. 1983. *Remirea* or *Mariscus*?- new support for a monotypic genus in Cyperaceae. *Kew Bulletin* 38: 479-480.
- KERN, J.H. 1958. *Remirea* or *Cyperus*? *Acta Botanica Neerlandica* 7: 795-798.
- KOYAMA, T. 1961. Classification of the family Cyperaceae. *Journal of Faculty of Sciences of the University of Tokyo* 8: 37-148.
- KOYAMA, T. 1967. The systematic significance of the leaf structure in the tribe Sclerieae (Cyperaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 16: 46-70.

- KOYAMA, T. 1982. The genus *Lipocarpa* R. Brown, its morphology and systematic position in the family Cyperaceae. *Acta Phytotax. Geobot* 33:218-226.
- KÜKENTHAL, G. 1936. Cyperaceae – Scirpodoideae – Cyperae. Pp. 161-671. In *Das Pflanzenreich*, IV-20, eds. A. Dengler e L. Diels. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann.
- LÓPEZ, P. & MATTHEI, O. 1995. Micromorfología del aquênio en especies del género *Cyperus* L. (Cyperaceae), Chile. *Gayana Botanica* 52: 67-75.
- LUCENA, E.A.R.M. 1998. Estudos taxonômicos da seção *Tenuis* do gênero *Rhynchospora* Vahl (Cyperaceae) no Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- LUCENÓ, M. e ALVES, M. 1997. Clave de los géneros de ciperáceas de Brasil y novedades taxonómicas y corológicas en la familia. *Candollea* 52: 185-191.
- LUCENÓ, M.; ALVES, M. & MENDES, A. 1997. Catálogo florístico y claves de identificación de las Cyperaceae de los estados de Paraíba y Pernambuco (Nordeste de Brasil). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 55: 67-100.
- LYE, K.A. 1992. The history of the genus *Mariscus* (Cyperaceae). *Lidia* 3:37-72.
- LYE. 2000. Achene structure and function of structure in Cyperaceae. Pp. 615-628. In: K.L. Wilson e D.A. Morrison (Eds.). *Monocots: Systematics and Evolution*. CSIRO, Melbourne.
- MARINHO, T.C. & ESTELITA, M.E.M. 1996. Anatomia e ultra-estrutura foliar das Portulacaceae da Serra do Cipó, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Botânica* 19: 61-65.
- MATIAS, L.Q. & NUNES, E.P. 2001. Levantamento florístico da área de proteção ambiental de Jericoacara, Ceará. *Acta Botânica Brasilica* 15: 33-43.
- MAUN, M.A. 1994. Adaptations enhancing survival and establishment of seedlings on coastal dune systems. *Vegetatio* 111: 59-70.
- MENDES, A. 1997. Contribuição ao estudo taxonômico do gênero *Rhynchospora* sect. *Cephalotes* com especial referência aos táxons brasileiros. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- METCALFE, C.R. 1969. Anatomy as an aid to classifying the Cyperaceae. *American Journal of Botany* 56:782-790.
- METCALFE, C.R. 1971. Anatomy of the monocotyledons: Cyperaceae. Clarendon Press, Oxford, v.5.

- MUASYA, A., SIMPSON, D. & CHASE, M. 2001. Generic relationships and character evolution in *Cyperus s.l.* (Cyperaceae). *Systematic and Geography of Plants* 71: 539-544.
- MUASYA, A., SIMPSON, D. & CHASE, M. 2002. Phylogenetic relationships in *Cyperus* L. *s.l.* (Cyperaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 145-153.
- MUASYA, A., SIMPSON, D., CHASE, M. & CULHAM, A. 1998. An assessment of suprageneric phylogeny in Cyperaceae using *rbcL* DNA sequences. *Plant Systematic and Evolution* 211: 257-271.
- NAIDOO, G., MCKEE, K.L. & MENDELSSOHN, I.A. 1992. Anatomical and metabolic responses to waterlogging and salinity in *Spartina alterniflora* and *S. patens* (Poaceae). *American Journal of Botany* 79: 765-770.
- PERAZZOLO, M. & PINHEIRO, F. 1991. Aspectos anatômicos e adaptativos das partes vegetativas de *Spartina densiflora* Brong. (Gramineae) da Marisma do estuário da Lagoa dos Patos-RS. *Acta Botanica Brasilica* 5:3-16.
- PLOWMAN, A. 1906. The comparative anatomy and phylogeny of the Cyperaceae. *Annals of Botany* 20:1-33.
- PRATA, A.P.N. 2004. O gênero *Bulbostylis* Kunth (Cyperaceae) no Brasil. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo. 199 p.
- RODRIGUES, A.C. & ESTELITA, M.E.M. 2003. Origin and structure of the Kranz tissue in bracts of *Cyperus giganteus* Vahl (Cyperaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 445-452.
- RODRIGUES, A.C. 2004. Propagação vegetativa e anatomia do sistema subterrâneo em desenvolvimento de algumas Cyperaceae. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SAGE, R. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* 161: 341-370.
- SHEPHERD, G. 1976. The use of anatomical caracteres in the infrageneric classification of *Carex* (Cyperaceae). *Hoehnea* 6:33-54.
- SILVA, D. 2000. Anatomia de órgãos vegetativos em espécies de *Lagenocarpus* Nees (Cyperaceae) de campo rupestre. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo Botânica, São Paulo.
- SOROS, C.L. & BRUHL, J.J. 2000. Multiple evolutionary origins of C₄ photosynthesis in the Cyperaceae. Pp. 629-636. In: K.L. Wilson e D.A. Morrison (Eds.). *Monocots: Systematics and Evolution*. CSIRO, Melbourne.

- SOROS, C.L. & DENGLE, N.G. 1998. Quantitative leaf anatomy of C₃ and C₄ Cyperaceae and comparisons with the Poaceae. *International Journal of Plant Science* 159: 480-491.
- STANDLEY L. A. 1987. Anatomical and chromosomal studies of *Carex* section *Phacocystis* in eastern North America. *Botanical Gazette* 148: 507–518.
- STANDLEY, L.A. 1990. Anatomical aspects of the taxonomy of sedges (*Carex*, Cyperaceae). *Canadian Journal of Botany* 68: 1449-1456.
- TEJAVITHI, D.H. & NIJALINGAPPA, B.H.M. 1990. Cytological studies in some members of Cyperaceae. *Cytologia* 55: 363-372.
- TUCKER, G. 1994. Revision of the mexican species of *Cyperus* (Cyperaceae). *Systematic Botany Monographs* 43: 1-213.
- UENO, O. 1996. Structural characterization of photosynthetic cells in an amphibious sedge, *Eleocharis vivipara*, in relation to C₃ and C₄ metabolism. *Planta* 199: 382-393.
- UENO, O., TAKEDA, T. & MAEDA, E. 1988. Leaf ultrastructure of C₄ species possessing different Kranz anatomical types in the Cyperaceae. *The Botanical Magazine of Tokyo* 101: 141-152.
- VÄRE, H. & KUKKONEN, I. 2005. Seven new species of *Cyperus* (Cyperaceae) section *Arenarii* and one new combination and typification. *Annales Botanici Fennici* 42: 473-483.
- YEO, A.R. 1983. Salinity resistance: physiology and prices. *Physiologia Plantarum* 58:214-222.

ANÁLISE MULTIVARIADA DE CARACTERES ANATÔMICOS EM *CYPERUS* S.L.
(CYPERACEAE): SUBSÍDIOS À TAXONOMIA E FILOGENIA DO GRUPO

Manuscrito 1

(Manuscrito a ser submetido ao periódico Systematic Botany)

**ANÁLISE MULTIVARIADA DE CARACTERES ANATÔMICOS EM *CYPERUS* S.L.
(CYPERACEAE): SUBSÍDIOS À TAXONOMIA E FILOGENIA DO GRUPO**

SHIRLEY MARTINS^{1,2} e MARCCUS ALVES¹

¹Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, CEP
50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

²Autor para correspondência (shirley_botany@yahoo.com.br)

Abstract. *Cyperus* s.l. has about 600 species with a worldwide distribution, with majority in tropical region. This group is one of the few taxa in Cyperaceae with C₃ and C₄ species. There is not consensus about the circumscription of *Cyperus*, some authors considerate *Cyperus* restrict sense and others broad sense. This article has as objective to give subsidies to taxonomy and phylogeny of the *Cyperus* s.l. faced with the complexity of the group. A total of 148 specimens of 42 taxa were sample anatomically and submitted to multivariate analyze. The Cluster and the Principal Component analyzes showed the formation of three principal groups: Group I (species with Kranz anatomy), Group II (species without Kranz anatomy) and Group III (mainly of the species with Kranz anatomy). With the realized analyzes was possible to identify anatomical characters with taxonomical potential to delimitate some genera and species. Besides support some taxonomical arrangement. In species with anatomical particularity, we suggest cytogenetic and molecular studies to the better determination of the relationships among them and other *Cyperus* s.l. species.

Introdução

Cyperaceae é a terceira maior família entre as Monocotiledôneas, com 104 gêneros e cerca de 5000 espécies, sendo subdivididas em cinco subfamílias: Mapanioideae, Cyperoideae, Sclerioideae, Rhynchosporoideae e Caricoideae (Goetghebeur 1998). Dentre essas subfamílias, a ocorrência da anatomia Kranz está registrada para as subfamílias Cyperoideae e Rhynchosporoideae que apresentam as duas vias fotossintéticas (C₃ e C₄) (Takeda et al. 1985; Goetghebeur 1998).

As principais características anatômicas utilizadas na identificação de espécies com fotossíntese C₄ são: presença de dois tipos de tecidos fotossintéticos especializados, o parênquima radiado e bainha Kranz, além de um maior número de feixes vasculares em comparação às C₃, que se deve a curta distância entre esses dois tecidos fotossintéticos, esses aspectos em conjunto constituem a chamada síndrome Kranz (Soros & Dengler 1998; Sage 2004). Esses aspectos estão presentes em todos os feixes vasculares dos órgãos foliares e nos feixes periféricos do escapo (Estelita 1992; Bruhl 1995).

A síndrome Kranz surgiu, possivelmente, diversas vezes em Cyperaceae (Muasya et al. 1998, Soros e Bruhl 2000), devido à existência, nas espécies C₄, de quatro distintos tipos anatômicos: clorociperóide, eleocaróide, fimbristilóide e rincosporóide (Brown 1975; Takeda et al. 1980; Bruhl et al. 1987; Soros e Dengler 1998).

Incluído na subfamília Cyperoideae, tribo Cypereae, *Cyperus* s.l. possui cerca de 600 espécies com ampla distribuição, porém majoritariamente tropical, sendo um dos poucos grupos de Cyperaceae a ter tanto espécies C_3 quanto C_4 (Tucker 1983, 1994; Goetghebeur 1998; Muasya et al. 2002).

Nas espécies C_4 de *Cyperus* s.l. só foi observado, até o momento, o tipo anatômico clorociperóide, que se caracteriza pela presença de duas bainhas em torno dos feixes vasculares, a mestoma externamente e a Kranz internamente, esta última descontínua nos feixes de maior calibre, sendo interrompida por elementos do metaxilema (Brown 1975; Soros e Dengler 2001).

Vários autores (Tucker 1994; Bruhl 1995; Goetghebeur 1998; Muasya et al. 2001, 2002) concordam que não existe consenso com relação à circunscrição de *Cyperus*. A mais atual abordagem filogenética realizada para o grupo (Muasya et al. 2002) mostra um bom índice de suporte para *Cyperus* s.l., porém, *Cyperus* s.s. emerge como não monofilético. Esses autores destacam a necessidade de mais estudos com o grupo e Bruhl (1995) enfatiza a importância do melhor entendimento dos limites genéricos na tribo Cypereae.

Entre os gêneros frequentemente separados de *Cyperus* estão *Kyllinga*, *Lipocarpha*, *Pycneus* e *Remirea*. Goetghebeur (1998) considera *Cyperus* no sentido restrito e propõe sua subdivisão em dois subgêneros, onde o principal caráter utilizado é o tipo de via fotossintética. *Cyperus* subg. *Cyperus* apresenta tipo anatômico “Clorociperóide”, relacionado à presença da anatomia Kranz (via C_4), e *Cyperus* subg. *Anosporum* possui o tipo anatômico “Euciperóide” (via C_3). Análises filogenéticas utilizando dados moleculares (Muasya et al. 2001, 2002) reforçam a separação destes dois subgêneros em *Cyperus* s.s.

Além da importância dos dados anatômicos para identificação da via fotossintética, esses têm sido largamente utilizados para fins taxonômicos em Cyperaceae, sendo considerados de forte relevância nas interpretações taxonômicas da família (Plowman 1906; Govindarajalu 1966, 1968; Metcalfe 1971; Denton 1983; Standley 1990; Bruhl 1995; Alves et al. 2002).

Em *Cyperus* s.l., vários estudos anatômicos com enfoque taxonômico foram realizados, destacando-se os Govindarajalu (1966, 1968, 1974) que trata de *Cyperus* no sentido amplo, sendo descritos anatomicamente pelo autor espécies de *Cyperus* subg. *Juncellus*, *C.* subg. *Kyllinga*, *C.* subg. *Mariscus* e *C.* subg. *Pycneus*. Entretanto *Lipocarpha* é referido como um gênero distinto pelo autor (Govindarajalu 1981). Dentre os estudos anatômicos, temos como importante obra o trabalho de Metcalfe (1971) que traz descrições anatômica de várias espécies de Cyperaceae, sendo também indicados pelo autor, caracteres

anatômicos com potencial taxonômico. Bruhl (1995) em sua proposta de classificação e interpretação filogenética de Cyperaceae também emprega muitos caracteres anatômicos.

Pela complexidade taxonômica, com ausência de consenso sobre a circunscrição de *Cyperus* s.l. pela importância já destacada dos dados anatômicos, visamos com este trabalho, analisar anatomicamente os órgãos fotossintetizantes de algumas espécies de *Cyperus* s.l. ocorrentes na região Nordeste do Brasil, buscando avaliar a relevância das evidências anatômicas na discussão sistemática do grupo e fornecer subsídios para a filogenia do mesmo.

Materiais e Métodos

Conforme levantamento bibliográfico (Luceño e Alves 1997; Luceño et al. 1997) e consultas aos Herbários de Pernambuco (UFP – Universidade Federal de Pernambuco, PEUFR – Universidade Federal Rural de Pernambuco) e a banco de dados virtuais (APNE - Programa de plantas do Nordeste e NWBG – Herbário Virtual), existem cerca de 60 espécies de *Cyperus* s.l. no Nordeste do Brasil. Se considerado no sentido restrito, conforme sugerido por Goetghebeur (1998), *Cyperus*, *Kyllinga*, *Lipocarpha*, *Pycnus* e *Remirea* estão representados nessa região.

Foram estudadas 148 populações (p.) de 42 espécies de *Cyperus* s.l.: *Cyperus* s.s. (28), *Pycnus* (6), *Kyllinga* (5), *Lipocarpha* (2) e *Remirea* (1) oriundas de diferentes ambientes (Tab. 1). As amostras analisadas foram coletadas em diferentes estados da região Nordeste do Brasil, sendo parte herborizada, com exsicatas depositadas no Herbário UFP (UFPE) e o restante conservado em álcool 70% para os estudos anatômicos.

Para análise anatômica foram realizadas seções transversais (ST) à mão livre da região mediana das folhas ou brácteas e dos escapos em estado totalmente desenvolvido. A utilização de brácteas no lugar de folhas foi realizada apenas nas espécies em que as folhas estão ausentes ou pouco desenvolvidas. Porém, tal uso para fins comparativos é sustentado pela semelhança anatômica apresentada pelas brácteas e folhas na região utilizada, característica essa já relatada por outros autores com relação as brácteas e folhas de Cyperaceae (Araújo & Longhi-Wagner 1997; Bruhl 1995). Para uniformização da linguagem, iremos utilizar o termo órgãos foliáceos na representação de folhas e brácteas.

As ST foram clarificadas com hipoclorito de sódio 50%, lavadas com água destilada e submetidas à dupla coloração com safranina e azul de Astra (Kraus e Arduim 1997) e montados em gelatina glicerinada. No estudo, em decorrência da disponibilidade do material, foram utilizadas, em geral, quatro espécimes de cada espécie, provindos de populações

diferentes. Para as espécies com maior plasticidade anatômica foram estudadas até dez espécimes.

Com os dados anatômicos obtidos foram construídas duas matrizes de dados distintas, cuja seleção dos caracteres utilizados foi baseada em indicativos bibliográficos (Metcalf 1971; Bruhl 1995) e na variabilidade observada entre os táxons estudados. Para a Análise 1 foi construída uma matriz de dados com 34 caracteres de folhas ou brácteas (26 duplo-estados e 8 multiestados) e 72 Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs) representadas por populações de 42 espécies (Anexo 1). Para a Análise 2 foram acrescentados à matriz original 15 caracteres do escapo (14 duplo-estados e 1 multiestado), totalizando 49 caracteres. Para essa análise, foram utilizadas 41 OTUs representando 39 espécies em decorrência da disponibilidade de material para estudo (Anexo 2). Todos os caracteres analisados são qualitativos e com pesos iguais e os caracteres ausentes ou não aplicáveis (dados não comparáveis) sendo representados por “-” na matriz e são descartados durante o processamento dos dados (Crisci e Lopez 1983).

Com relação à delimitação das OTUs, as espécies não polimórficas para os caracteres analisados, foram representadas por uma única OTU, enquanto que, as polimórficas tiveram suas populações tratadas como OTUs distintas, visando um melhor entendimento do comportamento desses espécimes nas análises numéricas realizadas.

As matrizes básicas de dados foram submetidas às análises de Agrupamento e dos Componentes Principais. Na análise de Agrupamento foi aplicado o coeficiente de distância (Sokal e Sneath 1963) para a construção da matriz de similaridade e submetida ao algoritmo de agrupamento “Unweighted Pair-Group Method of Averages” (UPGMA) para a elaboração dos fenogramas. A medida de distorção entre o fenograma e a matriz de similaridade da qual ele derivou foi calculada através do coeficiente de correlação cofenética (r), sendo os valores superiores a 0,8 considerados indicadores de baixa distorção segundo Crisci e Lopez (1983). A Análise dos Componentes Principais (ACP) foi baseada na matriz de correlação. Os dados numéricos foram processados utilizando o programa NTSYS-pc 2.1 (Rohlf 2000).

Resultados

Análise de Agrupamento – Para ambas as análises efetuadas os coeficientes de correlação cofenética encontrados são considerados altos, ou seja, indicadores de baixa distorção: Análise 1 ($r = 0,9151$) e Análise 2 ($r = 0,9130$).

Na Análise 1 (dados dos órgãos foliáceos) observa-se a formação de três grupos principais, que apresentam como principal caráter diferenciador a tipologia fotossintética: Grupo I (espécies com anatomia Kranz – C₄); Grupo II (espécies com anatomia C₃) e Grupo III (espécies com anatomia C₃ e C₄) (Fig. 1).

A Análise 2 (dados combinados) difere da Análise 1 com relação ao posicionamento do Grupo III. Nesta análise o Grupo III encontra-se mais relacionado ao Grupo I (Fig. 2). Entretanto, no arranjo das OTUs foram detectadas poucas diferenças com relação as duas análises efetuadas (Figs. 1 e 2).

Todas as espécies com anatomia Kranz ou C₄ aqui estudadas apresentam o tipo clorociperóide. Esse caracterizando-se pela presença de duas bainhas envolvendo os tecidos vasculares, a mestoma externamente e a Kranz internamente, esta interrompida nos feixes de maior calibre pelos elementos do metaxilema (Figs. 5A, 6F e 8F).

O Grupo I é formado por espécies com anatomia C₄ nos órgãos foliáceos e nos feixes periféricos do escapo (Figs. 5A,D e 6B). No escapo dos representantes desse grupo, observa-se ainda que, as cavidades de ar, quando presentes, são restritas à região medular (Fig. 5C) e apresentam o padrão “favo-de-mel” (“honey-comb”). Esse padrão foi descrito por Seago *et al.* (2005) como cavidades de origem expansígena observadas em raízes. Tal denominação foi empregada neste estudo devido a grande semelhança morfológica das cavidades de ar observadas e as descritas pelos autores para raízes.

Ainda no Grupo I foram destacados, baseado na Análise 1, cinco subgrupos principais (Fig. 1). Apenas *Cyperus* sp.3 não foi incluído, pela baixa similaridade com as outras OTUs desse grupo (Figs. 1,2). Os subgrupos 1 e 2 apresentam padrões anatômicos foliares considerados comuns às espécies *Cyperus* s.s. com anatomia Kranz, sendo estes: epiderme unisseriada com células da face adaxial maiores que às da abaxial (Fig. 5A,B,E,F), exceto em *P. macrostachyos* (p.2) (Fig. 5H); células buliformes restritas à nervura central (Fig. 5E,F); hipoderme na face adaxial (Fig. 5F) e feixes vasculares arranjados em fileira única (Figs. 5A,B,G,H e 6C).

SUBGRUPO 1 - É formado pelas populações das espécies *C. aggregatus*, *C. odoratus*, *C. rotundus*, *C. sphacelatus*, *Cyperus* sp.1 e *Cyperus* sp.2 A folha, em ST neste subgrupo, é geralmente em “M” com apenas algumas populações de *C. aggregatus* (p.2,4 e p.5) em “V” (Fig. 5B). Entre os caracteres que diferem os táxons dentro do subgrupo está a forma da nervura central. O número de cordões de fibras na nervura central é geralmente mantido no

subgrupo, com três cordões, exceto por *Cyperus* sp.2 que apresenta quatro cordões. *Cyperus sphacelatus* difere dos demais táxons desse subgrupo por apresentar a hipoderme na face adaxial presente na região da nervura central e nas nervuras secundárias, enquanto nas demais, essa é restrita à nervura central. Em alguns táxons deste grupo, a presença de cavidades de ar bem desenvolvidas, localizadas abaixo da face epidérmica abaxial (Fig. 5G,H), está possivelmente relacionada a ocorrências desses indivíduos em ambientes alagados, sendo portanto um caráter plástico e por tal motivo, não incluído na análise. Em ambas as análises as populações de *C. aggregatus* e *C. odoratus* encontram-se dispersas entre populações de outras espécies, devido ao polimorfismo apresentado pelas mesmas (Figs. 1,2).

SUBGRUPO 2 – Formado por *C. distans*, *C. iria* (p.2,3) e *P. macrostachyos* (p.1,2) na Análise 1. Neste subgrupo apenas *C. distans* apresenta a lâmina foliar em “M” e as demais em “V”. Entre os caracteres comuns aos membros do subgrupo, temos a presença de três cordões de fibras na nervura central (Fig. 5F). A presença de cordões de fibras, na face abaxial, sempre pareados aos feixes secundários no limbo foliar apresenta variação dentro do subgrupo (Fig. 5G,H). *Pycnus macrostachyos* (p.1) difere dos demais táxons deste agrupamento por possuir uma hipoderme completa na face adaxial e não apresentar células buliformes e nem sulco na nervura central. Por esta razão, se mantém distante das demais táxons do subgrupo, inclusive da outra população da mesma espécie. Na Análise 2, não foram utilizadas as populações 2 e 3 de *C. iria* e nessa análise este subgrupo muda de posição, se distanciando dos membros do subgrupo 1 (Fig. 2).

SUBGRUPO 3 – Constituído por espécies do gênero *Pycnus* que se destacam dos demais subgrupos do Grupo I, pela presença de epiderme multisseriada (Fig. 6A). Este trabalho é a primeira indicação de epiderme multisseriada para espécies de Cyperaceae. O principal caráter que difere as espécies dentro do subgrupo é a presença de cordões de fibras na face adaxial de *P. flavescens* e *P. piceus*, ausentes em *P. polystachyos*. Não foram evidenciadas diferenças com relação à anatomia foliar entre *P. flavescens* e *P. piceus*. Na análise 2, as espécies desse subgrupo se mantêm juntas.

SUBGRUPO 4 – *Cyperus compressus*, *C. iria* (p.1), *C. meyenianus* (p.1,3-5 e p.2), *P. capillifolius* e *P. lanceolatus* compõem este agrupamento. Os espécimes estudados de *C. meyenianus* destacam-se pela presença de papilas na epiderme. A população de *C. iria* que ocorre neste agrupamento difere daquela que emerge no subgrupo 2 pela ausência de hipoderme na face abaxial, por apresentar dois cordões de fibras na nervura central em vez de três e pela distribuição dos feixes vasculares, sendo abaxialmente na p.2 e na região mediana

da p.1. *Cyperus compressus* e *P. capillifolius* destacam-se neste subgrupo pela ausência de hipoderme na face adaxial, estando esses mais relacionados na Análise 2 (Fig. 2). Nesta última análise observa-se ainda a subdivisão desse subgrupo, com *C. meyenianus*, *C. iria* (p.1) e *P. lanceolatus* formando um agrupamento distinto e mais similar ao subgrupo 1.

SUBGRUPO 5 - Formado apenas por espécies do gênero *Kyllinga*, tendo como principais caracteres comuns aos membros do subgrupo a lâmina foliar em “V”, a presença de papilas na epiderme e de dois cordões de fibras na nervura central (Fig. 6D,E), além de hipoderme ausente. *Kyllinga odorata*, *K. brevifolia* e *K. squamulata* são as únicas a apresentarem um feixe vascular secundário abaixo do feixe principal na nervura central (Fig. 6D,E), podendo este, estar ausente em algumas populações de *K. brevifolia* e *K. squamulata*. A ocorrência de polimorfismo leva ao distanciamento nas análises efetuadas de algumas populações da mesma espécie, como observado em *K. brevifolia*, *K. squamulata* e *K. vaginata* (Fig. 1).

O Grupo II é formado por espécies que possuem caracteres comuns a anatomia típica de plantas C₃ de Cyperaceae, ou seja, não apresentam estruturas relacionadas a síndrome Kranz (Fig. 7A,B,E,H,I,M). Outros caracteres comuns aos membros desse grupo são: a presença de feixes vasculares em fileira única (Fig. 7E,H,I,M) e de parênquima paliçádico e lacunoso (Fig. 7B,E,H,I,M), além de cavidade de ar, quando presentes, localizadas na região mediana da lâmina, adjacentes aos feixes vasculares e circundadas pelo parênquima clorofiliano (Fig. 7B,C,H). Na periferia do escapo desses espécies temos o parênquima paliçádico multisseriado e não ocorrem feixes periféricos (Fig. 7D,F). Ainda no escapo, as cavidades de ar, quando presentes, estão restritas a periferia do órgão, internamente ao parênquima paliçádico (Fig. 7D,J).

SUBGRUPO 6 – *Cyperus entrerianus*, *C. laxus* e *C. simplex* compõem este subgrupo tendo como caracteres comuns relevantes: presença de hipoderme unisseriada na face adaxial e essa junto com as células buliformes são restrita à região da nervura central; os cordões de fibras ocorrem em ambas as faces, com apenas um único cordão na nervura central (Fig. 7A). As OTUs desse agrupamento diferem entre si quanto a distribuição do parênquima paliçádico, à forma da nervura central e a presença de papilas na epiderme (Anexo 1). Na Análise 2, este subgrupo encontra-se subdividido (Fig. 2) com *C. laxus* mostrando-se mais relacionado à *C. uncinulatus* (subgrupo 8) e *C. entrerianus* à *C. involucratus* (subgrupo 10).

SUBGRUPO 7 – Este agrupamento é formado exclusivamente por espécies de *Cyperus* seção *Luzuloidei* senso Kükenthal (1936): *C. eragrostis*, *C. luzulae*, *C. surinamensis*. Como caracteres comuns ao grupo destacam-se a presença de cavidades de ar na região mediana da

lâmina foliar (Fig. 7B,C), fibras (cordões ou colunas) em ambas as faces da epiderme (Fig. 6B), dois cordões de fibras na região da nervura central (Fig. 7B) e lâmina foliar em “V”. *Cyperus eragrostis* é o único do subgrupo a apresentar pequenos grupos de fibras adjacentes aos feixes vasculares na face adaxial (Fig. 7B).

SUBGRUPO 8 – Formado por populações de *C. uncinulatus*, diferindo da maioria dos representantes do Grupo II pela ausência de cavidades de ar e sulco na nervura central, além de células epidérmicas com parede periclinal externa delgada. É também uma das poucas espécies do Grupo II a não apresentar cavidades de ar no escapo (Fig. 7D).

SUBGRUPO 9 – Possui como representantes *C. schomburgkianus* (p.1 e p.2-5), *C. aff. surinamensis* e *C. subcastaneus* (p.1-4 e p.5). Entre os caracteres comuns ao grupo ressalta-se a presença de cordões de fibras restritos à face abaxial (Fig. 7E), presença de colunas na região intercostal (Fig. 7E) e de dois cordões de fibras na nervura central. As populações de *C. schomburgkianus* diferem entre si quanto à localização das células hipodérmicas e as de *C. subcastaneus* na proporção das células epidérmicas nas diferentes faces, na forma da nervura central e na localização das colunas de fibras (Anexo 1). *Cyperus aff. surinamensis*, assim como *C. eragrostis* (subgrupo 7), apresenta pequenos grupos de fibras adjacentes aos feixes vasculares na face adaxial (Fig. 7H). Na análise 2, as espécies desse grupo se mantêm juntas.

SUBGRUPO 10 – Formado apenas por *C. involucratus* e *C. aff. sublenax* que se destacam no Grupo II pela presença de vários sulcos ao longo da face adaxial, além células buliformes restritas à nervura central. Diferem entre si, quanto à forma da lâmina foliar, a presença de hipoderme e de colunas de fibras.

Com base na Análise 1, o Grupo III possui espécies cuja morfologia dos órgãos foliáceos e a do escapo diferem em muitos aspectos dos padrões gerais apresentados pelas espécies dos representantes dos Grupos I e II. *Cyperus haspan* é o único táxon neste agrupamento a apresentar anatomia C₃ (Fig. 7L,M), diferindo das demais espécies do Grupo II (espécies C₃), principalmente pela forma triangular da bráctea em ST entre outros aspectos.

O restante do Grupo III é formado por alguns gêneros considerados especializados dentro de *Cyperus* s.l., como *Remirea* e *Lipocarpha* e por representantes de *Cyperus* s.s. que apresentam certas particularidades anatômicas. Essas particularidades contribuíram para a baixa similaridade destes táxons com aqueles que consideramos apresentar o padrão de anatomia foliar mais freqüente ou comum às espécies de *Cyperus* s.s. com anatomia C₄, como observado nos membros do Grupo I. Entre os caracteres anatômicos compartilhados por todos

os membros com anatomia C₄ do Grupo III, destacam-se: a forma da lâmina foliar, em geral concentriforme, exceto em *C. ligularis* e *C. pohlii*; a ausência de hipoderme na face abaxial e feixes vasculares localizados abaxialmente. Entre os subgrupos destacados temos:

SUBGRUPO 11 – Representado por *C. maritimus* e *R. maritima*, ambas espécies restritas às dunas litorâneas. Esses táxons apresentam em comum a lâmina foliar concentriforme espessa, células epidérmicas com proporções semelhantes e com parede periclinal externa espessa, feixes vasculares em duas fileiras e hipoderme multisseriada (Fig. 8A,B). Diferem entre si pelos vários sulcos observados em *C. maritimus* (Fig. 8A) e pelas células buliformes observadas apenas em *R. maritima* (Fig. 8B).

SUBGRUPO 12 – Tem-se *C. cuspidatus*, *L. micrantha* e *L. salzmanniana* formando este subgrupo, que apresenta a lâmina foliar concentriforme espessa; nervura central plana, ou seja, sem quilha; feixes vasculares arranjados em fileira única e abaxialmente e escapo com formato circular. *Cyperus cuspidatus* difere das espécies de *Lipocarpa*, por apresentar epiderme multisseriada (Fig. 8C), feixe secundário sob o feixe principal na nervura central (Fig. 8D) e ausência de hipoderme, sendo esta multisseriada nas espécies de *Lipocarpa*.

SUBGRUPO 13 – Formado por *C. ligularis* e *C. pohlii*. Esse agrupamento se caracteriza pela disposição dos feixes vasculares em anéis, formando corrente, reconhecido como padrão “Kranzkette” (Fig. 8G,H), descrito por Li & Jones (1996) para *Cyperus japonicus*, além de hipoderme multisseriada (Fig. 8G,H). Assim como *C. cuspidatus*, as espécies desse agrupamento apresentam um feixe secundário sob o feixe principal na nervura central (Fig. 8G) que, entretanto, pode estar ausente em algumas populações. Não foi possível, com as análises efetuadas, individualizar *C. ligularis* de *C. pohlii* devido à amplitude de variação de alguns dos caracteres observados nas populações estudadas. Na Análise 2, com a inclusão dos caracteres do escapo, observa-se a mudança de posicionamento dos membros do Grupo III, ficando esses mais próximos do Grupo I. Há também uma subdivisão do grupo, onde os representantes do subgrupo 13, *C. ligularis* e *C. pohlii*, mostram-se mais similares aos membros do Grupo I que ao restante do Grupo III. Esta topologia deve-se à semelhança da morfologia do escapo entre esses táxons e os do Grupo I, apesar da presença do padrão “Kranzkette” também no escapo. Os demais subgrupos pertencentes ao Grupo III mantêm a mesma formação observada na Análise 1.

Análise dos Componentes Principais – Diante do fato de explicarem a maior parte da variação acumulada, a discussão dos dados obtidos na análise dos Componentes Principais

será baseada nos dois primeiros componentes (eixos 1 e 2) em ambas as análises (Figs. 3A e 4A).

De maneira geral esta análise corrobora o arranjo apresentado pela análise de agrupamento com relação à formação dos grupos e subgrupos em ambas as análises (1 e 2) (Figs. 3,4). Porém, reforça principalmente os resultados observados na análise 2, onde se observa uma maior similaridade entre os Grupos I e III. Esta análise também destaca o posicionamento de *C. haspan* distante de todos os outros táxons analisados (representada pelos números 11 e 5, correspondentes as análises 1 e 2, respectivamente), inclusive dos pertencentes ao Grupo III, diferente do apresentado nas análises de Agrupamento. Tal situação retrata de maneira mais coerente o posicionamento taxonômico desta espécie, sendo a única a apresentar anatomia C₃ no Grupo III da análise de Agrupamento. Além disso, nesta análise, *C. ligularis* e *C. pohlii* mostram-se mais relacionados aos táxons do Grupo III em ambas as Análises (1 e 2), diferente do observado na Análise 2 de Agrupamento, destacando as particularidades anatômicas existentes nessas espécies.

Análise dos caracteres – Dos 49 caracteres anatômicos utilizados para as diferentes análises foi observado que alguns se mostram fixos em alguns táxons, podendo atuar como bons caracteres taxonômicos. Entretanto, outros mostram-se variantes, entre esses, os que não apresentam uma relação evidente de respostas à pressões ambientais, não sendo considerados plásticos foram mantidos nas análises. A manutenção desses caracteres variantes foi realizada porque, apesar dos mesmos não serem taxonomicamente informativos ao nível estudado (genérico e específico), os mesmos se mostram fixos em outros táxons e com potencial informativo do ponto de vista taxonômico. Diante desse contexto, selecionamos alguns caracteres que se apresentaram importantes na formação dos grupos e subgrupos para uma abordagem mais detalhada de sua distribuição e relevância entre os táxons estudados.

Epiderme multisseriada (caráter 2) – Caráter importante na distinção do subgrupo 3, sendo também útil na identificação das espécies com esta característica como *C. cuspidatus* (Fig. 8C, *P. flavescens*, *P. piceus* e *P. polystachyos* (Fig. 6A).

Proporção das células epidérmicas adaxiais e abaxiais (caráter 4) – Nas espécies de *Kyllinga* (Fig. 6F) e maioria de *Cyperus* s.s. (Fig. 5A) e *Pycreus* (Fig. 6C), as células de ambas as faces são proporcionalmente diferentes. Já em *Lipocarpha*, *Remirea* e poucas espécies de *Cyperus* s.s., principalmente as do Grupo III, as proporções são semelhantes. De maneira geral, as espécies de *Cyperus* s.l. apresentam células epidérmicas com proporções diferentes, diferindo desse padrão alguns táxons considerados especializados como, *Lipocarpha* e *Remirea* (Fig.

8B), alguns representantes do antigo gênero *Mariscus*, como *C. ligularis* (Fig. 8H) e *C. pohlii* e poucas de *Cyperus*, tanto com anatomia C₃ quanto C₄, entre eles *C. entrerianus*, *C. haspan* (Fig. 7M), *C. maritimus* e *C. simplex*.

Forma da lâmina foliar (caráter 6) – Representa, de modo geral, um importante caráter taxonômico entre os táxons estudados, devido à uniformidade dos estados em alguns grupos e subgrupos. Para os gêneros *Kyllinga*, *Lipocarpha*, *Pycneus* e *Remirea* e também a maioria das espécies de *Cyperus* s.s. com anatomia C₃ esse caráter é fixo. Para os táxons de *Cyperus* s.s. com anatomia C₄, os estados podem variar entre forma de “V”(Fig. 5B) e “M”, sendo este último maioria. Nos táxons do Grupo III as formas concêntricas são predominantes.

Forma da quilha abaxial ou nervura central (caráter 8) – Em geral, mostra-se um caráter variante dentro dos grupos e subgrupos destacados ou até mesmo dentro de algumas espécies. Apresenta-se uniforme apenas nos membros dos subgrupos 2, 4 e 8. Essa variação demonstra a baixa utilidade taxonômica do mesmo para fins diagnósticos.

Hipoderme na face adaxial, se mais de duas camadas (caráter 12) *e se apresenta células maiores que as epidérmicas* (caráter 14) – Constituem caracteres marcantes entre os representantes do Grupo III com anatomia C₄, exceto em *C. cuspidatus*, sendo importante para caracterização anatômicas dos mesmos (Fig. 8A,B,H).

Localização das células buliformes (caráter 16) – De maneira geral esse caráter é fixo entre os táxons estudados. Em *Kyllinga*, *Pycneus* e os táxons de *Cyperus* s.s. do Grupo I, as células buliformes estão restritas a região da nervura central (Fig. 5E,F). Nas espécies com anatomia C₃, elas podem ocorrer também nas nervuras secundárias, como observado, principalmente nos representantes do subgrupo 7.

Cavidades de ar nos órgãos foliáceos (caracteres 17 e 34) – Foram observados dois tipos de cavidades de ar. Uma refere-se às cavidades localizadas na região mediana da lâmina, adjacente aos feixes vasculares e delimitadas pelo parênquima clorofiliano (Fig. 7B,C,H). Esse tipo é marcante em algumas espécies com anatomia C₃, principalmente nas de *Cyperus* sec. *Luzoloidei*. O segundo tipo foi observado apenas *C. ligularis* e *C. pohlii*, em que as cavidades de ar são circundadas pelos feixes vasculares com anatomia C₄ (Fig. 8H).

Arranjo dos feixes vasculares nas folhas ou brácteas (caráter 19) – Constitui um caráter taxonomicamente informativo. A maioria das espécies possuem feixes vasculares em fileira única (Figs. 5A e 6M), com poucas espécies diferindo desse padrão geral, como visto em *C. maritimus* e *R. maritima*, que apresentam feixes em fileira dupla (Fig. 8A,B) e também *C.*

ligularis e *C. pohlii* com feixes vasculares em anéis, formando correntes, chamado padrão “Kranzkette” (Fig. 8H).

Feixe vascular secundário na nervura central (caráter 21) – Essa característica é pouco comum em representantes de *Cyperus* s.s., ocorrendo apenas em *C. cuspidatus* (Fig. 8D), *C. ligularis* (Fig. 8G) e *C. pohlii*, todas espécies com anatomia C₄. Os outros táxons com tal caráter pertencem ao gênero *Kyllinga* (Fig. 6D,E). Entretanto, esse a presença do mesmo só foi constante em *C. cuspidatus* e *K. odorata*, sendo variável nas outras espécies.

Anatomia Kranz (caráter 22) – Esse caráter mostrou-se de grande relevância no destaque dos agrupamentos. Isso se deve ao fato da presença ou não da síndrome Kranz estar relacionada à determinadas características da morfologia foliar, que se revela na formação de alguns padrões gerais para espécies de *Cyperus* s.l. Entretanto, com base na Análise 1, foi possível observar que para alguns táxons, como os representantes do Grupo III, a presença de vários outros caracteres diferenciais nos órgãos foliáceos, ofuscou a relevância desse caráter. Porém, na análise combinada (Análise 2) a similaridade entre espécies com anatomia Kranz ou C₄ foi destacada.

Colunas de fibras nos órgãos foliáceos (caráter 24) – Só foi observado em espécies com anatomia C₃, exceto em uma população de *C. maritimus*, que possui anatomia C₄. Nas espécies em que mais de uma população foi analisada observa-se que este caráter mostra-se fixo em *C. eragrostis* (Fig. 7B), *C. involucratus*, *C. luzulae*, *C. schomburgkianus* e *C. subcastaneus* (Fig. 7E) e variável nas demais espécies que o apresentam.

Número de cordões ou colunas de fibras na nervura central (caráter 27) – De modo geral, esse caráter é considerado informativo tanto a nível genérico quanto específico, sendo útil, por exemplo, na delimitação de espécies de *Kyllinga* (Fig. 6D,E). Nas espécies de *Cyperus* s.s. com anatomia C₄, pertencentes ao Grupo I, temos a dominância de espécies com três cordões de fibras (Fig. 5E,F), sendo poucos os espécimes com dois cordões (Fig. 5B) e apenas *C. distans* apresenta quatro cordões. Na maioria das espécies pertencentes ao Grupo III ocorrem geralmente dois cordões de fibras (Fig. 8B,D,G), sendo observado um em espécies de *Lipocarpha* e trata-se de um caráter variante em *C. maritimus* e *R. maritima*. Nas espécies com anatomia C₃ é temos a predominância de táxons com dois cordões de fibras, podendo ocorrer um ou três, como visto em *C. luzulae* (p.3), *C. involucratus* e *C. aff. surinamensis* (Fig. 7G).

Parênquima paliçádico e lacunoso (caracteres 31 e 32) – Caracteres presentes apenas nas espécies com anatomia C₃ (Fig. 6E,H,I,M). O paliçádico pode variar com a relação a localização, mas ocorrendo predominantemente em ambas as faces.

Cavidades de ar no escapo (caracteres 37, 38 e 49) – Esse aspecto mostra-se relevante na delimitação dos grupos, principalmente com relação ao tipo fotossintético. Nas espécies com anatomia C₄, as cavidades de ar quando presentes, estão restritas a região medular e sendo de origem esquizo-lisígena (Fig. 5C). Apenas em *C. ligularis* e *C. pohlii*, que apresentam anatomia C₄, são observadas cavidades de ar também na periferia do órgão, além das medulares. Entretanto, essas cavidades periféricas nestas últimas espécies, mostram o mesmo padrão “Kranzkette” observado nas folhas, sendo circundadas pelos feixes vasculares. Nas espécies com anatomia C₃ as cavidades de ar, quando presentes, só ocorrem na região periférica e localizam-se entre o parênquima clorofiliano e os feixes vasculares.

Feixes vasculares na periferia do escapo (caráter 38) – Esse caráter está diretamente relacionado com espécies que possuem anatomia C₄, sendo constante em todas elas.

Discussão

Os caracteres anatômicos relacionados à síndrome Kranz foram de forte relevância, confirmando a utilidade desses dados para a classificação taxonômica de representantes de *Cyperus* s.l. A presença da anatomia Kranz é utilizada na classificação infragenérica de *Cyperus* s.s. (Goetghebeur 1998). De modo geral, essa subdivisão foi reforçada, sendo demonstrada, principalmente com a formação dos Grupos I e II. Entretanto a presença de espécies de *Cyperus* s.s. no Grupo III mostra que do ponto de vista anatômico existem vários caracteres diferenciais que distanciam esses táxons daqueles presentes nos outros grupos. Contudo, essa baixa similaridade reflete a amplitude de caracteres analisados, sendo a anatomia Kranz apenas um deles.

Metcalfé (1971) em sua abordagem anatômica trata *Cyperus* no sentido restrito, considerando, entre os táxons estudados, *Kyllinga*, *Pycneus*, *Lipocarpha* e *Remirea* como gêneros distintos. Entretanto outros gêneros também considerados pelo autor como distintos estão atualmente incluídos na circunscrição de *Cyperus*, segundo Goetghebeur (1998), entre eles *Mariscus* (representando pelas espécies *C. aggregatus*, *C. ligularis*, *C. meyenianus* e *C. polhii*) e *Torulinium* (representado por *C. odoratus*). As espécies que apresentam anatomia Kranz, são tratadas pelo autor como apresentando clorênquima radiado. Nesse contexto, tal característica é indicada pelo autor para todos os representantes dos gêneros aqui estudados, exceto, algumas espécies de *Cyperus*, tratadas de *Cyperus* Grupo B e aqui considerada como

apresentando anatomia C₃. Nesse contexto, *C. articulatus* é tratada pelo autor como pertencente a esse Grupo B, entretanto foi observado a presença de anatomia Kranz nessa espécie.

A anatomia Kranz é também utilizada na caracterização dos gêneros *Kyllinga*, *Lipocarpa*, *Pycneus* e *Remirea* por vários autores (Goetghebeur 1998; Soros e Bruhl 2000; Muasya et al. 2002; Bruhl e Wilson, in press), dados esses corroborados no presente trabalho.

Kyllinga e *Pycneus* são separados de *Cyperus* s.s. pela orientação do aquênio, sendo bicarpelar nesses e tricarpetal em *Cyperus* s.s. Essa orientação bicarpelar é considerada uma sinapomorfia para ambos por Goetghebeur (1998), porém, este caráter teve seu valor questionado anteriormente por Haines & Lye (1983) que sugerem a classificação desses táxons em categorias infragênicas de *Cyperus* s.l. e atualmente, análises filogenéticas (Muasya et al. 2001) têm mostrado que o mesmo apresenta alta homoplasia, sendo duvidosos o seu emprego como caracteres diagnósticos de *Pycneus* e *Kyllinga* e a sua importância na separação desses gêneros de *Cyperus* s.s.

Tucker (1983,1994) defende o conceito mais amplo de *Cyperus* e considera *Pycneus* subgênero deste, porém defende *Kyllinga* como gênero distinto. Com relação ao posicionamento de *Pycneus*, esse conceito é fortalecido com análises filogenéticas (Muasya et al. 2002), onde as espécies de *Pycneus* aparecem dispersas no cladograma apresentado, não formando um agrupamento individualizado e incluídas em *Cyperus* s.l. Os dados aqui observados reforçam essas indicações, uma vez que as espécies estudadas de *Pycneus* não formam como um todo um agrupamento independente de *Cyperus*, não sendo possível, com base nos dados anatômicos analisados, separá-las de maneira consistente das espécies de *Cyperus*. Nossos dados corroboram ainda a proposição de Tucker (1994), que considera *P. piceus* como uma variedade taxonômica de *P. flavescens* devido a ausência de diferenças anatômicas entre os mesmos.

Diferente das espécies de *Pycneus*, as de *Kyllinga* formaram um grupo distinto (subgrupo 5) nas duas análises realizadas (1 e 2) e relacionado à *Cyperus* p.p., confirmando a sugestão de Plowman (1906) de que *Kyllinga* é anatomicamente mais similar à *Cyperus* do que a outros gêneros. Alguns autores reconhecem *Kyllinga* como um gênero distinto de *Cyperus* (Makde e Bhuskute 1987; Goetghebeur 1989, 1998; Tucker 1994). Entretanto outros autores, como Kükenthal (1936) defendem que as espécies de *Kyllinga* podem ser facilmente separadas de cada subgênero de *Cyperus*, mas não do gênero como um todo. No estudo filogenético apresentado por Muasya et al. (2002), as espécies de *Kyllinga* não emergem em um grupo isolado, estando incluídas em *Cyperus* s.l. (Muasya et al. 2002). Este fato é em

parte confirmado, pois apesar de formarem um grupo distinto, as espécies de *Kyllinga* encontram-se inseridas em um agrupamento mais abrangente incluindo espécies de *Cyperus* e *Pycreus*.

Os caracteres anatômicos citados por Govindarajalu (1968) e Metcalfe (1971) como comuns às espécies de *Kyllinga* (tratadas como subgênero de *Cyperus* por Govindarajalu) são confirmados no presente trabalho. No entanto, a presença de um feixe secundário sob o feixe principal da nervura central e a forma da nervura central, utilizados como caráter diagnóstico, mostram-se variantes na maioria das espécies aqui estudadas.

Nas espécies de *Cyperus* tratadas como *Mariscus* por Metcalfe (1971), o autor propõem a divisão das mesmas em dois grupos, *Mariscus* tipo A e *Mariscus* tipo B. *Mariscus* tipo A que apresenta células epidérmicas de proporções semelhantes, feixes dispostos em anéis e cavidades de ar bem desenvolvidas, como observado em *C. ligularis* e *C. pohlii*. *Mariscus* tipo B caracteriza-se pelas células epidérmicas com proporções diferentes, feixes vasculares em fileira única e cavidades de ar ausentes ou pouco conspícuas, vistos em *C. aggregatus* e *C. meyenianus*. Esse mesmo autor comenta que a anatomia das espécies de *Mariscus* é mais similar à observada para *Cyperus*. Koyama (1985) e Bruhl (1995) aceitam *Mariscus* como um gênero distinto, delimitando-o pela base do colmo suculenta e a desarticulação total das espículas no eixo da inflorescência. Entretanto, Lye (1992) demonstrou que de forma geral não é possível separar as espécies de *Cyperus* e *Mariscus*. Atualmente muitos autores aceitam *Mariscus* como parte de *Cyperus* subg. *Cyperus* (Lye 1992; Goetghebeur 1998). Nossa análise combinada (Análise 2) corrobora o posicionamento dessas espécies junto a *Cyperus* s.s., com a mudança de posição das espécies com o tipo “Kranzkette” para o Grupo I e também de *C. meyenianus* inserido entre as espécies C₄ típicas de *Cyperus* s.s. Porém, sugerimos estudos mais detalhados com os táxons que apresentam o tipo anatômico “Kranzkette”, tratado como *Mariscus* tipo A por Metcalfe (1971), pois do ponto de vista anatômico existem vários caracteres diferenciais entre esses táxons e os demais de *Cyperus* s.s.

Com relação as espécies de *Cyperus* com anatomia C₃, a análise filogenética mais recente apresenta um baixo suporte para o clado formado por elas (Muasya et al. 2002). Na análise aqui apresentada, essas espécies formam um grupo distinto (Grupo II) com caracteres anatômicos bem definidos. Apenas *C. haspan* surgiu em um agrupamento distinto (Grupo III), devido, especialmente, às peculiaridades apresentadas pela bráctea. Esse cenário de particularidades para essa espécie foi relatado por outros autores, que sugerem inclusive estudos biossistemáticos (Metcalfe 1971; Araújo e Longhi-Wagner 1996, 1997; Luceño et al.

1997). Do ponto de vista anatômico, as populações de *C. haspan* estudadas apresentam, em geral, padrões semelhantes.

Para alguns dos subgrupos do Grupo II selecionados nas análises apresentadas, uma forte relação com a posição taxonômica formal foi evidenciada, como por exemplo, o subgrupo 7 composto pelas espécies de *Cyperus* sec. *Luzuloidei* (Kükenthal 1936). Denton (1983) comenta que do ponto de vista anatômico, as espécies dessa seção apresentam pouca variações. Os dados aqui encontrados corroboram as observações do autor, com poucos caracteres diferenciais nesse subgrupo. Cordões de fibras adjacentes aos feixes vasculares são relatados pela primeira vez em *C. eragostis*, apesar de não terem sido observados em *C. luzulae* conforme indicam Araújo e Longhi-Wagner (1997).

Alguns subgrupos também refletem alguns aspectos ambientais como os de espécies que ocorrem em áreas secas como Caatinga (*C. schomburgkianus*, *C. subcastaneus* e *C. aff. eragostis* - subgrupo 9) e em bordas de Mata Atlântica (*C. laxis*, *C. entrerianus* e *C. simplex* - subgrupo 6).

Com relação ao gênero monoespecífico *Remirea*, Kükenthal (1935, 1936) o incluiu na tribo Rhynchosporae, porém diversos autores defendem sua afinidade com *Cyperus* baseada em aspectos morfológicos, anatômicos e embriológicos (Metcalf 1971; Oteng-Yeboah 1975; Goetghebeur 1998). Os dados anatômicos aqui observados, mostram que *R. maritima* apresenta anatomia Kranz do tipo clorociperóide, assim como as espécies *C₄* de *Cyperus* s.l., porém em vários caracteres existem divergências que levam à baixa similaridade entre essa espécie e a maioria das de *Cyperus* s.s. que possuem anatomia Kranz, exceto por *C. maritimus* que também ocorre em dunas litorâneas. Esses dados reforçam o posicionamento de *R. maritima* como um táxon distinto de *Cyperus*, sendo as semelhanças anatômicas observadas entre ela e *C. maritimus*, possivelmente relacionadas à convergência adaptativa. Diante deste fato, sugere-se para *C. maritimus* estudos citogenéticos e moleculares, visando o melhor conhecimento de sua relação de parentesco com representantes de *Cyperus* e *R. maritima*.

Os caracteres anatômicos observados nas espécies estudadas de *Lipocarpha* confirmam observações realizadas com espécies deste gênero (Govindarajulu 1974, 1981). Apesar da controvérsia no posicionamento sistemático, vários trabalhos evidenciaram a presença da anatomia do tipo clorociperóide e de inflorescência do tipo ciperóide nesse gênero (Holm 1899; Metcalf 1971; Raynal 1973; Bruhl e Wilson, in press), sustentando sua inclusão na tribo Cyperae e relacionada à *Cyperus*. Na análise filogenética, o gênero emerge em *Cyperus* s.l., porém menos relacionado com as espécies de *Cyperus* com anatomia Kranz

do que com as de *Ascolepis* (Muasya et al. 2002). Os dados anatômicos aqui observados reforçam a delimitação de *Lipocarpha* como um gênero distinto, além de corroborar as análises filogenéticas (Muasya et al. 2002) com relação ao distanciamento dos táxons C₄ típicos de *Cyperus* s.s.

O posicionamento de *C. cuspidatus* como distinto da maioria das espécies de *Cyperus* com anatomia Kranz confirma o observado por Muasya et al. (2002), sendo o primeiro táxon dentro do clado com anatomia Kranz a se individualizar na análise filogenética. Essa espécie é a única entre as de *Cyperus* s.s. estudadas que apresenta indicativo de epiderme multisseriada e compartilha com *C. ligularis* e *C. pohlii* a presença de um feixe secundário sob o principal na nervura central.

Entre os caracteres anatômicos foliares considerados importantes taxonomicamente por Metcalfe (1971) destacam-se: a proporção das células epidérmicas nas duas faces, a presença de hipoderme, o padrão de distribuição do esclerênquima, as características das células buliformes, o parênquima clorofiliano, as cavidades de aênquima clorofiliano, as cavidades de ar e os diferentes arranjos dos feixes vasculares. Alguns desses foram confirmados como de potencial taxonômico, entretanto, outros foram considerados plásticos, como certos tipos de cavidades de ar, sendo esse caráter abordado de maneira abrangente, sem suas particularidades.

De forma geral, foi visto que utilizar apenas cavidades de ar, como empregado por Metcalfe (1971) e Bruhl (1995), não é suficiente, devido a presença de diferentes tipos de cavidades. No presente trabalho foi observado que os caracteres relacionados às cavidades de ar que estão presentes na região mediana da lâmina foliar, embebidas no parênquima clorofiliano são relevantes para as espécies com anatomia C₃, bem como as que apresentam o padrão “Kranzkette”.

Alguns caracteres que se mostraram variantes em alguns táxons foram considerados importantes para outros, sendo mantidos na análise. De acordo, com Standley (1990) as variações intra-específicas na anatomia foliar são consideradas úteis no exame de padrões de hibridização. Entre as espécies com variabilidade populacional ou polimórficas no presente estudo, existe indicações da ocorrência de hibridação para táxons simpátridos que apresentam espículas articuladas, entre eles, *C. aggregatus*, *C. odoratus*, *C. meyenianus*, *C. ligularis* e *C. pohlii* (Luceño et al. 1997). Para *C. aggregatus* e *C. odoratus* essa variação foi fortemente evidenciada nas análises aqui realizadas. Com isso, os caracteres variantes observados nesses táxons podem refletir a presença de híbridos naturais, podendo ser úteis do ponto de vista taxonômico em uma análise infraespecífica desses táxons.

Entre as espécies de difícil reconhecimento com base exclusivamente na morfologia externa, estão *C. meyenianus* e *C. pohlii* (Luceño et al. 1997). Estas podem ser diferenciadas pela presença do tipo “Kranzkette” em *C. pohlii*. Outras espécies que são também confundidas, ocorrendo em ambientes similares (mata seca e afloramentos rochosos), são *C. uncinulatus* e *C. cuspidatus*, podendo ser diagnosticadas, do ponto de vista anatômico, pela presença da anatomia Kranz apenas em *C. cuspidatus*.

A indicação de epiderme multisseriada em *P. polystachyos*, *P. flavescentis*, *P. piceus* e *C. cuspidatus* corresponde à primeira citação para Cyperaceae. Apesar de não terem sido realizados estudos ontogenéticos, a presença de tal característica foi destacada pela semelhança estrutural das diferentes camadas de células epidérmicas e subepidérmicas, além da visualização em folhas jovens de tais espécies de divisões periclinais da camada mais externa, o que confere a denominação de epiderme multisseriada (Dickison 2000, Evert 2006). Entretanto, para esses táxons sugerem-se estudos ontogenéticos visando à confirmação desta indicação.

Na Análise 1, com base nos dados dos órgãos foliáceos é possível verificar, de maneira geral, os principais arranjos dos grupos e subgrupos, além de alguns táxons polimórficos. Entretanto, quando incluídos os dados do escapo (Análise 2), alguns arranjos taxonômicos ficam mais claros, como, por exemplo, a aproximação de determinadas espécies do subgrupo 4 (*C. iria*, *C. meyenianus* e *P. lanceolatus*) com as do subgrupo 1, ficando mais distantes do subgrupo 5 (*Kyllinga*). A aproximação dos representantes do Grupo III com o Grupo I nessa análise também está mais condizente com a realidade, sendo o Grupo III formado principalmente por espécies com anatomia C₄, como o observado em todos os membros do Grupo I. Entretanto, mesmo com essa aproximação na Análise 2, os representantes do Grupo III ainda apresentam uma baixa similaridade com os representantes do Grupo I, o que reflete as particularidades anatômicas apresentadas por estas espécies que as distinguem, em termos anatômicos, das demais espécies Kranz de *Cyperus* s.l. Na análise dos Componentes Principais, o arranjo obtido como a separação dos três grupos principais, a aproximação dos Grupos I e III e o destaque de *C. haspan* como distinta das demais espécies, principalmente das do Grupo III, otimizou o entendimento das relações entre os táxons estudados.

Com as análises realizadas foi possível identificar caracteres anatômicos com potencial taxonômico para delimitação genérica, como os citados para *Kyllinga*, e específica no grupo, além de fortalecer propostas taxonômicas anteriores, como a manutenção de *Remirea* e *Lipocarpha* como gêneros distintos. Reforçam-se ainda a importância da anatomia

Kranz na delimitação taxonômica, estando sempre presentes nos gêneros *Kyllinga*, *Lipocarpha*, *Pycneus* e *Remirea*. No caso de *Cyperus* s.s., de maneira geral, houve a separação entre as espécies com e sem anatomia Kranz, entretanto, do ponto de vista anatômico existem outras particularidades em algumas espécies que as distanciam das espécies típicas C₃ e C₄ do gênero. Para essas espécies particulares sugerem-se abordagens citogenéticas e moleculares para a melhor determinação da relação de parentesco entre elas e as demais espécies de *Cyperus* s.l. O presente estudo também evidenciou a falta de indícios que reforcem a manutenção de *Pycneus* individualizado de *Cyperus*. Algumas espécies consideradas com alta variação na morfologia externa mostram tendência similar com a relação à anatomia, podendo indicar a ocorrência de híbridos naturais. Os dados fornecidos podem ainda, com base na avaliação dos caracteres fornecerem informações para análises filogenéticas em *Cyperus* s.l.

Referências bibliográficas

- ALVES, M.V., ESTELITA, M.E.M., WANDERLEY, M.G. e THOMAS, W.W. 2002. Aplicações taxonômicas da anatomia foliar das espécies brasileiras de *Hypolytrum* Rich. (Cyperaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 25:1-9.
- ARAÚJO, A.C. e LONGHI-WAGNER, H.M. 1996. Levantamento taxonômico de *Cyperus* L. subg. *Anosporum* (Ness) Clarke (Cyperaceae-Cypereae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 10:153-192.
- . 1997. Anatomia foliar e micromorfologia da superfície do fruto na taxonomia de *Cyperus* L. (Cyperaceae). *Iheringia* 48: 103-120.
- BROWN, W.V. 1975. Variations in anatomy, associations and origins of Kranz tissue. *American Journal of Botany* 62: 395-402.
- BRUHL, J.J. 1995. Sedge genera of the world: relationships and new classification of the Cyperaceae. *Australian Systematic Botany* 8: 125-305.
- , STONE, N. e HATTERSLEY, P. 1987. C₄ acid decarboxylation enzymes and anatomy in sedges (Cyperaceae): first record of NAD-Malic enzyme species. *Australian Journal of Botany* 14: 719-728.
- e WILSON, K.L. In press. Towards a comprehensive survey of C₃ and C₄ photosynthetic pathways in Cyperaceae. In *Monocots: comparative biology and*

- evolution*, eds. J.T. Columbus, E.A. Friar, C.W. Hamilton, J.M. Porter, L.M. Prince e M.G. Simpson. Rancho Santa Ana Botanic Garden: Claremont.
- CRISCI, J.V. e M.F. LOPEZ-ARMENGOL. 1983. *Introducción a la Teoría y Práctica de la Taxonomía Numérica*. Organización de los Estados Americanos: Washington D.C.
- DENTON, M.F. 1983. Anatomical studies of the Luzulae Group of *Cyperus* (Cyperaceae). *Systematic Botany* 8: 250-262.
- DICKISON, W.C. 2000. *Integrative plant anatomy*. Hartcourt: Academy Press.
- ESTELITA, M.E.M. 1992. Origin and structure of the Kranz tissues in Cyperaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 13: 41-48.
- EVERT, R. 2006. *Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the plant body - Their structure, function and development*. Hoboken: Wiley-Interscience.
- GOETGHEBEUR, P. 1989. Studies in Cyperaceae 9. Problems in the Lectotypification and infrageneric taxonomy of *Cyperus* L. *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique* 122: 103-114.
- . 1998. Cyperaceae. Pp. 141-190. In *The families and genera of vascular plants*, eds. K. Kubitzki, H. Huber, P.J. Rudall, P.S. Stevens e T. Stützel. Berlin: Springer-Verlag.
- GOVINDARAJALU, E. 1966. The systematic anatomy of south Indian Cyperaceae: *Bulbostylis* Kunth. *Botanical Journal of the Linnean Society* 59: 289-304.
- . 1968. The systematic anatomy of south Indian Cyperaceae: *Cyperus* L. subgen. *Kyllinga* (Rottb.) Suringar. *Botanical Journal of the Linnean Society* 62: 41-58.
- . 1974. The systematic anatomy of south Indian Cyperaceae: *Cyperus* L. subgen. *Juncellus*, *Cyperus* subgen. *Mariscus* and *Lipocarpha* R. Br. *Botanical Journal of the Linnean Society* 68: 235-266.
- . 1981. Studies in Cyperaceae – XIX Novelty in *Lipocarpha*: *L. raynleana* and its vegetative anatomy. *Adansonia* 20: 369-375.
- HAINES, R.W. e LYE, K.A. 1983. *The sedges of the rushes of East Africa*. East African Natural History Society, Nairobi.
- HOLM, T. 1899. Studies in the Cyperaceae; The genus *Lipocarpha* R. Br. *American Journal of Science* 7:171-183.
- KOYAMA, T. 1985. Cyperaceae. Pp. 125-405. In *A revised handbook to the flora of Ceylon*, eds M.D. Dassanayake, F.R. Fosberg. Nova Delhi: Amerind Publishing.
- KRAUS, J. e ARDUIN, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR.

- KÜKENTHAL, G. 1935. Cyperaceae – Scirpodoideae – Cypereae. Pp. 1-160. In *Das Pflanzenreich* IV-20, eds. A. Dengler e L. Diels. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann.
- . 1936. Cyperaceae – Scirpodoideae – Cypereae. Pp. 161-671. In *Das Pflanzenreich*, IV-20, eds. A. Dengler e L. Diels. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann.
- LI, M. & JONES, M. 1994. Kranzkette, a unique C₄ anatomy occurring in *Cyperus japonicus* leaves. *Photosynthetica* 30: 117-131.
- LUCENÓ, M. e ALVES, M. 1997. Clave de los géneros de ciperáceas de Brasil y novedades taxonómicas y corológicas en la familia. *Candollea* 52: 185-191.
- , ——— e MENDES, A.P. 1997. Catálogo florístico y claves de identificación de las ciperáceas de los Estados de Paraíba y Pernambuco (Nordeste de Brasil). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 55: 67-100.
- LYE, K.A. 1992. The history of the genus *Mariscus* (Cyperaceae). *Lidia* 3:37-72.
- MAKDE, K.H. e BHUSKUTE, S.M. 1987. Embryology of *Kyllinga monocephala* (Cyperaceae) and its systematic position. *Plant Systematic and Evolution* 156: 143-150.
- METCALFE, C.R. 1971. *Anatomy of the monocotyledons: Cyperaceae*. Oxford: Clarendon Press.
- MUASYA, A.M., SIMPSON, D.A., CHASE, M.W e CULHAM, A. 1998. An assessment of suprageneric phylogeny in Cyperaceae using *rbcL* DNA sequences. *Plant Systematic and Evolution* 211: 257-271.
- , ——— e ———. 2001. Generic relationships and character evolution in *Cyperus* s.l. (Cyperaceae). *Systematics and Geography of Plants* 71: 539-544.
- , ——— e ———. 2002. Phylogenetic relationships in *Cyperus* s.l. (Cyperaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 145-153.
- OTENG-YEBOAH. 1975. Morphology, anatomy and taxonomy of the genus *Remirea* Aublet (Cyperaceae). *Boissiera* 24: 197-205.
- PLOWMAN, A. 1906. The comparative anatomy and phylogeny of the Cyperaceae. *Annals of Botany* 20: 1-33.
- RAYNAL, J. 1973. Notes cyperologiques: 19. Contribution a la classification de las sous-famille des Cyperoideae. *Adansonia* 13: 145-171.

- ROLHF, F. 2000. NTSYS. *Numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Version 2.1. New York: Exeter Software.
- SAGE, R. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* 161: 341-370.
- SEAGO, J.L., MARSH, L.C., STEVENS, K.J., SOUKUP, A., VOTRUBOVÁ, O. e ENSTONE, D.E. 2005. A re-examination of the root cortex in wetland flooring plants with respect to aerenchyma. *Annals of Botany* 96: 565-579.
- SOKAL, R.R. e SNEATH, P.H. 1963. *Principles of Numerical Taxonomy*. San Francisco e London: Freeman e Cia.
- SOROS, C.L. e BRUHL, J.J. 2000. Multiple evolucionary origins of C₄ photosynthesis in the Cyperaceae. Pp. 629-636. In *Monocots: Systematics and Evolution*, eds. K.L. WILSON e D.A. MORRISON. Melbourne: CSIRO.
- e DENGLER, N.G. 1998. Quantitative leaf anatomy of C₃ and C₄ Cyperaceae and comparisons with the Poaceae. *International Journal of Plant Science* 159: 480-491.
- e ———. 2001. Ontogenetic derivation and cell differentiation in photosynthetic tissue of C₃ and C₄ Cyperaceae. *American Journal of Botany* 88: 992-1005.
- STANDLEY, L.A. 1990. Anatomical aspects of the taxonomy of sedges (*Carex*, Cyperaceae). *Canadian Journal of Botany* 68: 1449-1456.
- TAKEDA, T., UENO, O. e AGATA W. 1980. The occurrence of C₄ species in the genus *Rhynchospora* and its significance in Kranz anatomy of the Cyperaceae. *The Botanical Magazine of Tokyo* 93: 55-65.
- , ———, SAMEJIMA, M. e OHTANI, T. 1985. An investigation for the occurrence of C₄ photosynthesis in the Cyperaceae from Australia. *Botanical Magazine of Tokyo* 98: 393-411.
- TUCKER, G. 1983. The taxonomy of *Cyperus* (Cyperaceae) in Costa Rica and Panama. *Systematic Botany Monographs* 2: 1-85.
- . 1994. Revision of the mexican species of *Cyperus* (Cyperaceae). *Systematic Botany Monographs* 43: 1-213.

TABELA

Tabela 1. Relação dos táxons estudados com respectivos códigos (cód.) utilizados nas análises e populações (p.) examinadas.

Cód.	Espécie	p.	Coleção	Local de Coleta
Cagg	<i>Cyperus aggregatus</i> (Willd.) Endl.	p1	S. Martins et al. 102	Venturosa - PE
		p2	S. Martins 228 & M. Alves	Tibau do Sul - RN
		p3	S. Martins et al. 103	Caruaru - PE
		p4	S. Martins et al. 124	Agrestina - PE
		p5	S. Martins et al. 114	Serrambi - PE
		p6	S. Martins et al. 99	São Espedito Lopez - PI
		p7	S. Martins et al. 192	Ipojuca - PE
		p8	S. Martins et al. 209	Itabaiana - SE
		p9	S. Martins et al. 195	Itabaiana - SE
Ccom	<i>C. compressus</i> L.	p1	S. Martins et al. 117	Recife - PE
		p2	A. Alves-Araújo 103	Maranguape - CE
		p3	S. Martins 229 & M. Alves	Tibau do Sul - RN
Ccus	<i>C. cuspidatus</i> H.B.K.	p1	S. Martins et al. 68	Bezerros - PE
Cdis	<i>C. distans</i> L.	p1	S. Martins et al. 150	Recife - PE
		p2	M. Oliveira 699 & A.A. Grillo	Ibateguara - AL
Cent	<i>C. enterianus</i> Boeck.	p1	A. Santiago & M. Pietrobom 725	Jaqueira - PE
Cera	<i>C. eragrostis</i> L.	p1	S. Martins et al. 107	Caruaru - PE
		p2	S. Martins et al. 133	Bezerros - PE
		p3	S. Martins et al. 176	São Lourenço da Mata - PE
		p4	S. Martins et al. 156	Pombos - PE
		p5	S. Martins et al. 160	Pombos - PE
		p6	S. Martins et al. 225	Porto da Folha - SE
Chas	<i>C. haspan</i> L.	p1	S. Martins et al. 85	Agrestina - PE
		p2	S. Martins et al. 21	Igarassu - PE
		p3	S. Martins et al. 120	Caruaru - PE
		p4	S. Martins et al. 61	Juazeiro - BA
		p5	S. Martins et al. 166	São Lourenço da Mata - PE
Cinv	<i>C. involucratus</i> Rottb.	p1	S. Martins et al. 149	Recife - PE
		p2	S. Martins et al. 162	Bezerros - PE
Ciri	<i>C. iria</i> L.	p1	S. Martins et al. 113	Serrambi - PE
		p2	J.R. Maciel et al. 378	Mirandiba - PE
		p3	A. Alves-Araújo 94	Caucaia - CE
Clax	<i>C. laxus</i> Lam.	p1	S. Martins et al. 104	Caruaru - PE
		p2	S. Martins et al. 126	Agrestina - PE
		p3	S. Martins et al. 123	Caruaru - PE
		p4	S. Martins et al. 24	Igarassu - PE
		p5	S. Martins et al. 152	Recife - PE
		p6	S. Martins et al. 175	São Lourenço da Mata - PE
		p7	A. Alves-Araújo 105	Maranguape - CE
		p8	A. Alves-Araújo 92	Caucaia - CE
Clig	<i>C. ligularis</i> L.	p1	S. Martins et al. 154	Recife - PE
		p2	S. Martins et al. 18	Jaboatão dos Guararapes - PE
		p3	R.M. Harley 53933	Irecê - BA
		p4	S. Martins et al. 171	Cabo de Santo Agostinho - PE
		p5	S. Martins et al. 170	Maragogi - AL
		p6	S. Martins et al. 219	Itabaiana - SE
		p7	S. Martins et al. 222	Porto da Folha - SE
Cluz	<i>C. luzulae</i> (L.) Retz.	p1	S. Martins et al. 146	Recife - PE
		p2	S. Martins et al. 148	Recife - PE
		p3	M. Oliveira 698 & A.A. Grillo	Ibateguara - AL
		p4	S. Martins et al. 191	Mirandiba - PE

Tabela 1. Continuada.

Cód.	Espécie	p.	Coleção	Local de Coleta
Cmar	<i>C. maritimus</i> Poir.	p1	S. Martins et al. 49	Tibau do Sul - RN
		p2	S. Martins 226 & M. Alves	Tibau do Sul - RN
Cmey	<i>C. meyenianus</i> Kunth	p1	S. Martins et al. 72	Buíque - PE
		p2	S. Martins et al. 125	Bezerros - PE
		p3	S. Martins et al. 127	Buíque - PE
		p4	S. Martins et al. 178	Buíque - PE
		p5	M. Oliveira 698 & A.A. Grillo	Ibateguara - AL
		p6	E.A. Rocha 1494	Buíque - PE
Codo	<i>C. odoratus</i> L.	p1	S. Martins et al. 89	São Lourenço da Mata - PE
		p2	S. Martins et al. 48	Pombos - PE
		p3	S. Martins et al. 119	Caruaru - PE
		p4	S. Martins et al. 130	Bezerros - PE
		p5	S. Martins et al. 197	Itabaiana - SE
		p6	S. Martins et al. 157	Pombos - PE
		p7	S. Martins et al. 164	São Lourenço da Mata - PE
		p8	A. Alves-Araújo 93	Caucaia - CE
		p9	S. Martins et al. 121	Caruaru - PE
		p10	K.R.B. Leite 486	Angüera - BA
Cpoh	<i>C. pohlii</i> (Nees) Steud.	p1	S. Martins et al. 163	Bezerros - PE
		p2	S. Martins et al. 165	São Lourenço da Mata - PE
Crot	<i>C. rotundus</i> L.	p1	S. Martins et al. 82	Agrestina - PE
		p2	S. Martins et al. 105	Caruaru - PE
		p3	S. Martins et al. 193	São Lourenço da Mata - PE
		p4	S. Martins et al. 96	Bezerros - PE
		p5	S. Martins et al. 96	Agrestina - PE
Csch	<i>C. schomburgkianus</i> Nees	p1	S. Martins et al. 79	Buíque - PE
		p2	S. Martins et al. 129	Buíque - PE
		p3	E.A. Rocha 1473	Buíque - PE
		p4	A. Alves-Araújo 100	Caucaia - CE
		p5	S. Martins et al. 115	Buíque - PE
Csim	<i>C. simplex</i> H.B.K.	p1	M. Oliveira 756 & A.A. Grillo	São José da Laje - AL
		p2	A. Alves-Araújo 85	Caucaia - CE
Csph	<i>C. sphacelatus</i> Rottb.	p1	S. Martins et al. 23	Igarassu - PE
		p2	S. Martins et al. 151	Recife - PE
		p3	S. Martins et al. 173	Cabo de Santo Agostinho - PE
Csub	<i>C. subcastaneus</i> D.A. Simpson	p1	S. Martins et al. 128	Buíque - PE
		p2	W. Ganey 609 & D.A. Simpson	Rio de Contas - BA
Csur	<i>C. surinamensis</i> Rottb.	p1	S. Martins et al. 83	Agrestina - PE
		p2	S. Martins et al. 60	Juazeiro - BA
		p3	S. Martins et al. 84	Agrestina - PE
		p4	F. França et al. 3919	Lençóis - BA
		p5	K.R.B. Leite 298	Angüera - BA
		p6	M. Oliveira 752 & A.A. Grillo	Ibateguara - AL
		p7	S. Martins et al. 94	Bezerros - PE
		p8	A. Alves-Araújo 97	Caucaia - CE
Cunc	<i>Cyperus uncinulatus</i> Schrad. ex Nees	p1	S. Martins et al. 91	Bezerros - PE
		p2	S. Martins et al. 80	Buíque - PE
		p3	S. Martins et al. 101	Venturosa - PE
		p4	S. Martins et al. 136	Bezerros - PE
		p5	S. Martins et al. 108	Bezerros - PE
		p6	E.B. Miranda 609	Canudos - BA
		p7	S. Martins et al. 224	Porto da Folha - SE

Tabela 1. Continuada.

Cód.	Espécie	p.	Coleção	Local de Coleta
Csp1	<i>Cyperus</i> sp1.	p1	S. Martins et al. 118	Caruaru - PE
Csp2	<i>Cyperus</i> sp2.	p1	S. Martins et al. 159	Pombos - PE
Csp3	<i>Cyperus</i> sp3.	p1	S. Martins 234	Recife-PE
		p2	S. Martins et al. 135	Recife-PE
Caffsr	<i>C. aff. surinamensis</i>	p1	S. Martins et al. 131	Bezerros - PE
Caffsb	<i>C. aff. sublenax</i>	p1	K.B.R. Leite 434 & E.L. Alves	Cananéia - BA
Kbre	<i>Kyllinga brevifolia</i> Rottb.	p1	S. Martins et al. 81	Agrestina - PE
		p2	S. Martins et al. 95	Bezerros - PE
		p3	S. Martins et al. 172	Cabo de Santo Agostinho - PE
Kodo	<i>K. odorata</i> Vahl	p1	S. Martins et al. 122	Caruaru - PE
		p2	S. Martins et al. 137	Bezerros - PE
		p3	S. Martins et al. 142	Bezerros - PE
		p4	S. Martins et al. 111	Bezerros - PE
Kpum	<i>K. pumila</i> Michx.	p1	S. Martins et al. 169	São Lourenço da Mata - PE
Ksqu	<i>K. squamulata</i> Thonn. ex Vahl	p1	S. Martins et al. 106	Caruaru - PE
		p2	S. Martins et al. 135	Bezerros - PE
		p3	S. Martins et al. 215	Itabaiana - SE
		p4	S. Martins 230 & M. Alves	Tibau do Sul - RN
Kvag	<i>K. vaginata</i> Lam.	p1	S. Martins et al. 53	Cabo de Santo Agostinho - PE
Lmic	<i>Lipocarpa micrantha</i> (Vahl) G. Tucker	p1	S. Martins et al. 75	Venturosa - PE
		p2	S. Martins et al. 153	Recife - PE
		p3	M. Oliveira 804 & A.A. Grillo	Ibateguara - AL
		p4	S. Martins et al. 188	Mirandiba - PE
Lsal	<i>L. salzmanniana</i> Steud.	p1	S. Martins et al. 134	Bezerros - PE
Pcap	<i>Pycneus capillifolius</i> (A.C. Rich.) C.B. Clarke	p1	S. Martins et al. 100	Venturosa - PE
		p2	S. Martins et al. 110	Bezerros - PE
		p3	S. Martins et al. 138	Bezerros - PE
		p4	M.F. Agra 5703	Serra Grande - PB
		p5	S. Martins et al. 189	Mirandiba - PE
		p6	A. Alves-Araújo 98	Caucaia - CE
Pfla	<i>P. flavescens</i> (L.) Rchb.	p1	S. Martins et al. 86	Agrestina - PE
		p2	S. Martins et al. 138	Bezerros - PE
Plan	<i>P. lanceolatus</i> (Poir.) C.B. Clarke	p1	F. França et al. 2225	Angüera - BA
Pmac	<i>P. macrostachyos</i> (Lam.) Raynal	p1	K.R.B. Leite 340	Angüera - BA
		p2	S. Martins et al. 223	Porto da Folha - SE
Ppic	<i>P. piceus</i> C.B. Clarke	p1	S. Martins et al. 139	Bezerros - PE
		p2	S. Martins et al. 140	Bezerros - PE
Ppol	<i>P. polystachyos</i> (Rottb.) P. Beauv.	p1	S. Martins et al. 58	Bezerros - PE
		p2	S. Martins et al. 109	Bezerros - PE
		p3	S. Martins et al. 147	Recife - PE
		p4	S. Martins et al. 168	São Lourenço da Mata - PE
		p5	M. Oliveira 750 & A.A. Grillo	Ibateguara - AL
		p6	S. Martins et al. 218	Itabaiana - SE
Rmar	<i>Remirea maritima</i> Aubl.	p1	S. Martins et al. 54	Cabo de Santo Agostinho - PE
		p2	S. Martins et al. 171	Cabo de Santo Agostinho - PE

FIGURAS

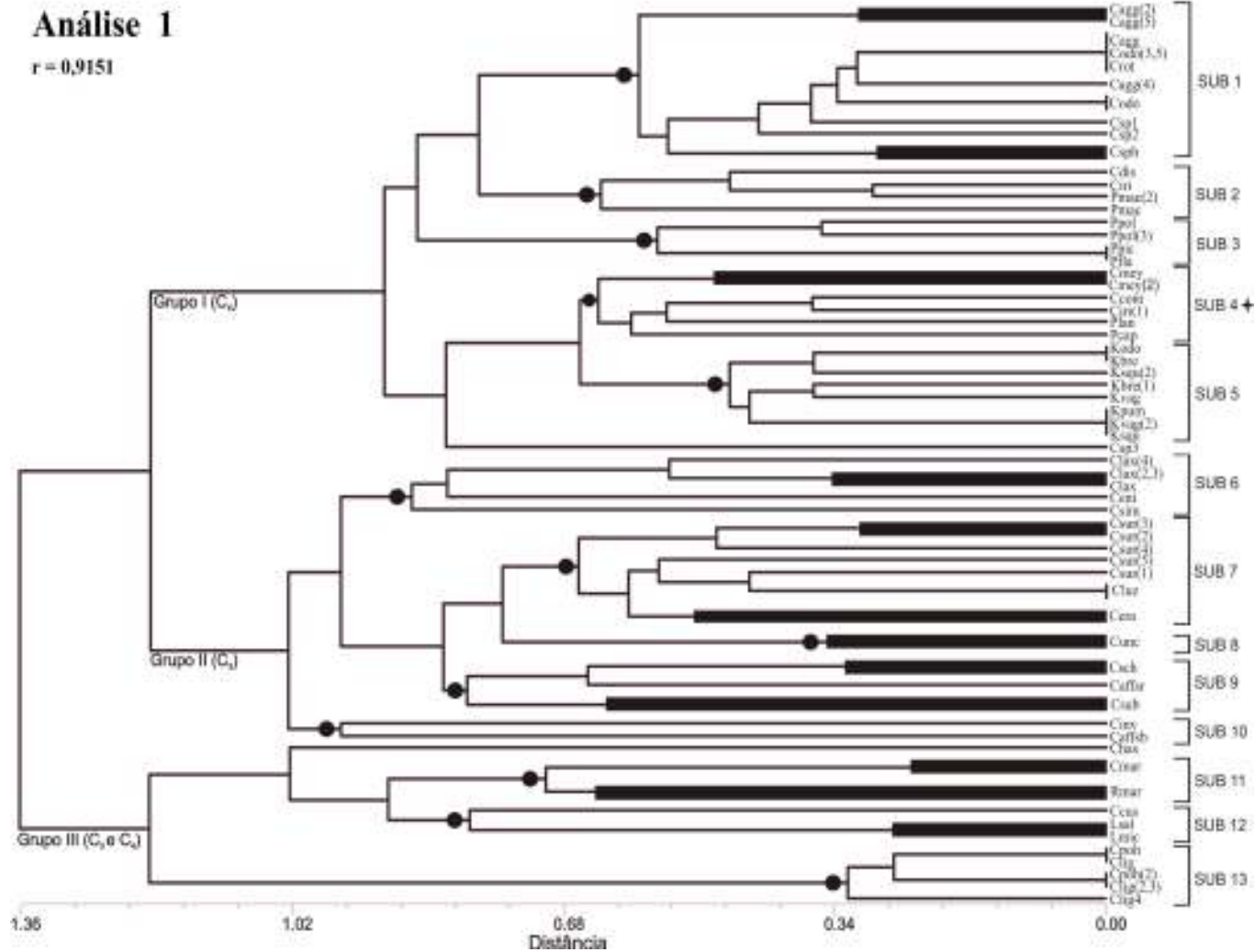


Figura 1. Análise 1 de Agrupamento obtida através da matriz de similaridade (72 OTUs e 34 caracteres) usando o coeficiente de Distância e método de UPGMA. As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não especificado.

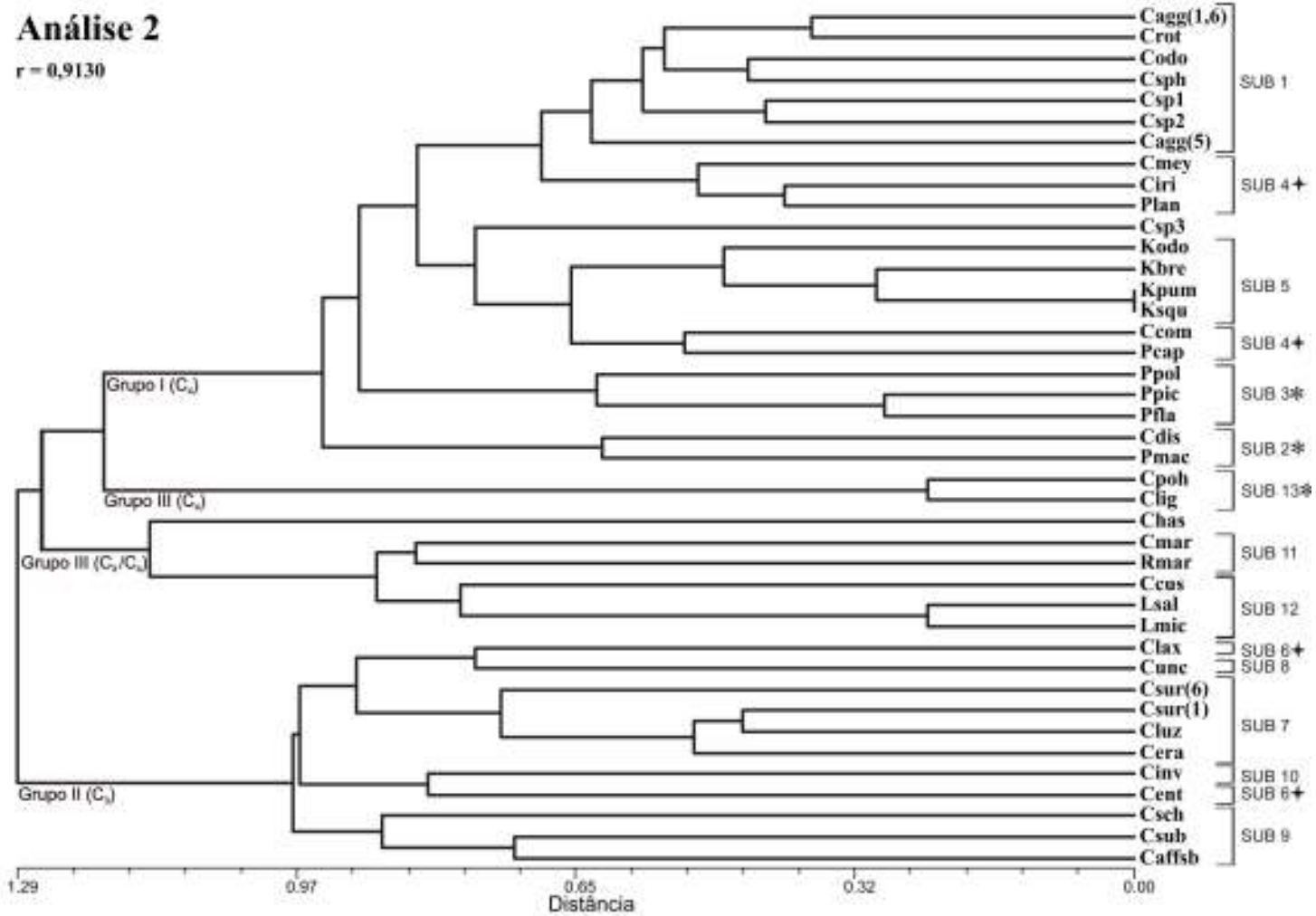


Figura 2. Análise 2 de Agrupamento obtida através da matriz de similaridade (41 OTUs e 49 caracteres) usando o coeficiente de Distância e método de UPGMA. As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não específica.

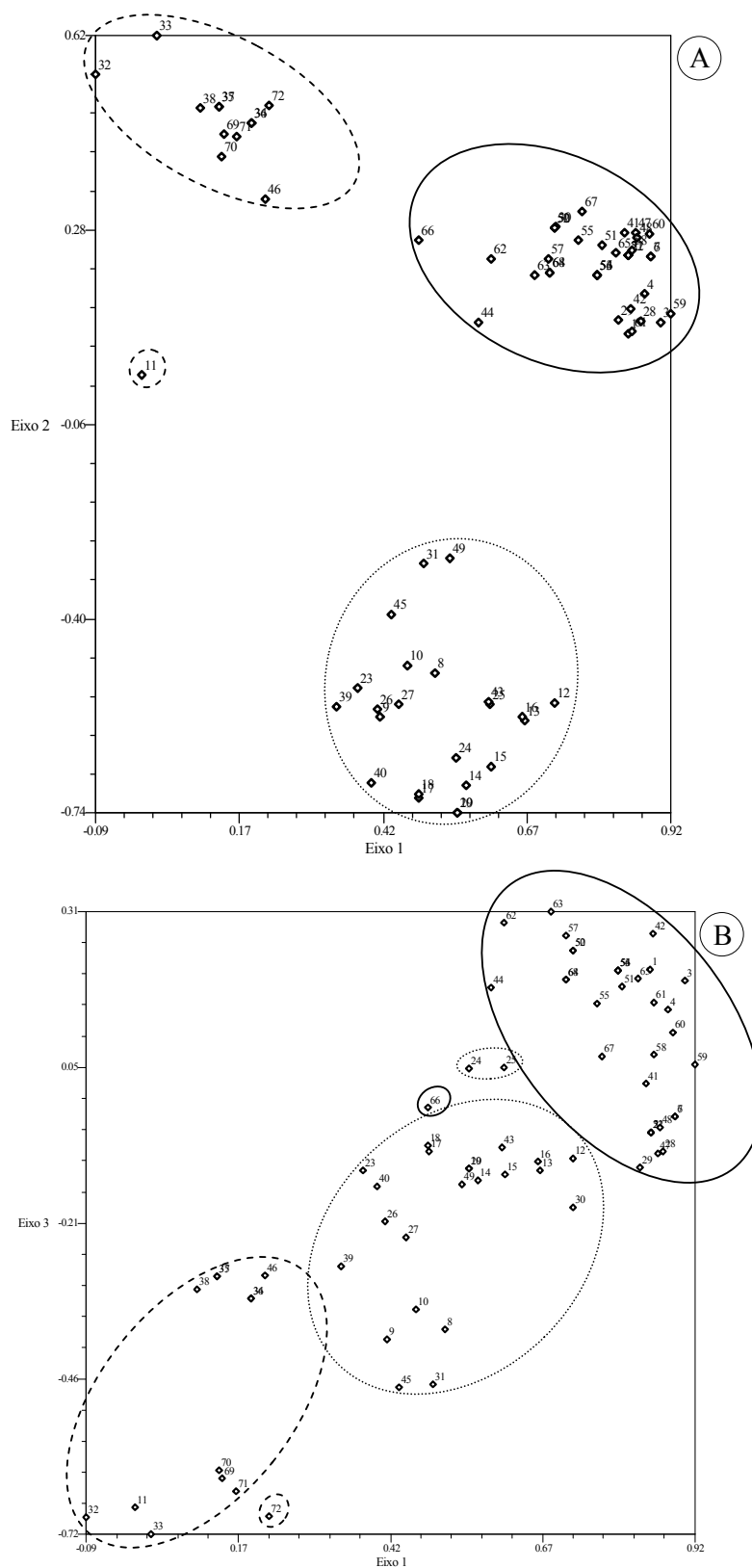


Figura 3. Análise dos Componentes Principais baseada nos dados da análise 1 (72 OTUs e 34 caracteres). Grupo I (—), Grupo II (.....) e Grupo III (- - -). A. Dados dos componentes 1 e 2. B. Dados dos componentes 1 e 3. Os números correspondem as OTUs utilizadas na análise conforme especificadas na matriz. Porcentagem da variância acumulada nos três primeiros eixos = 65.67 (primeiro eixo = 39.67; segundo eixo = 17.62; terceiro eixo = 10.86).

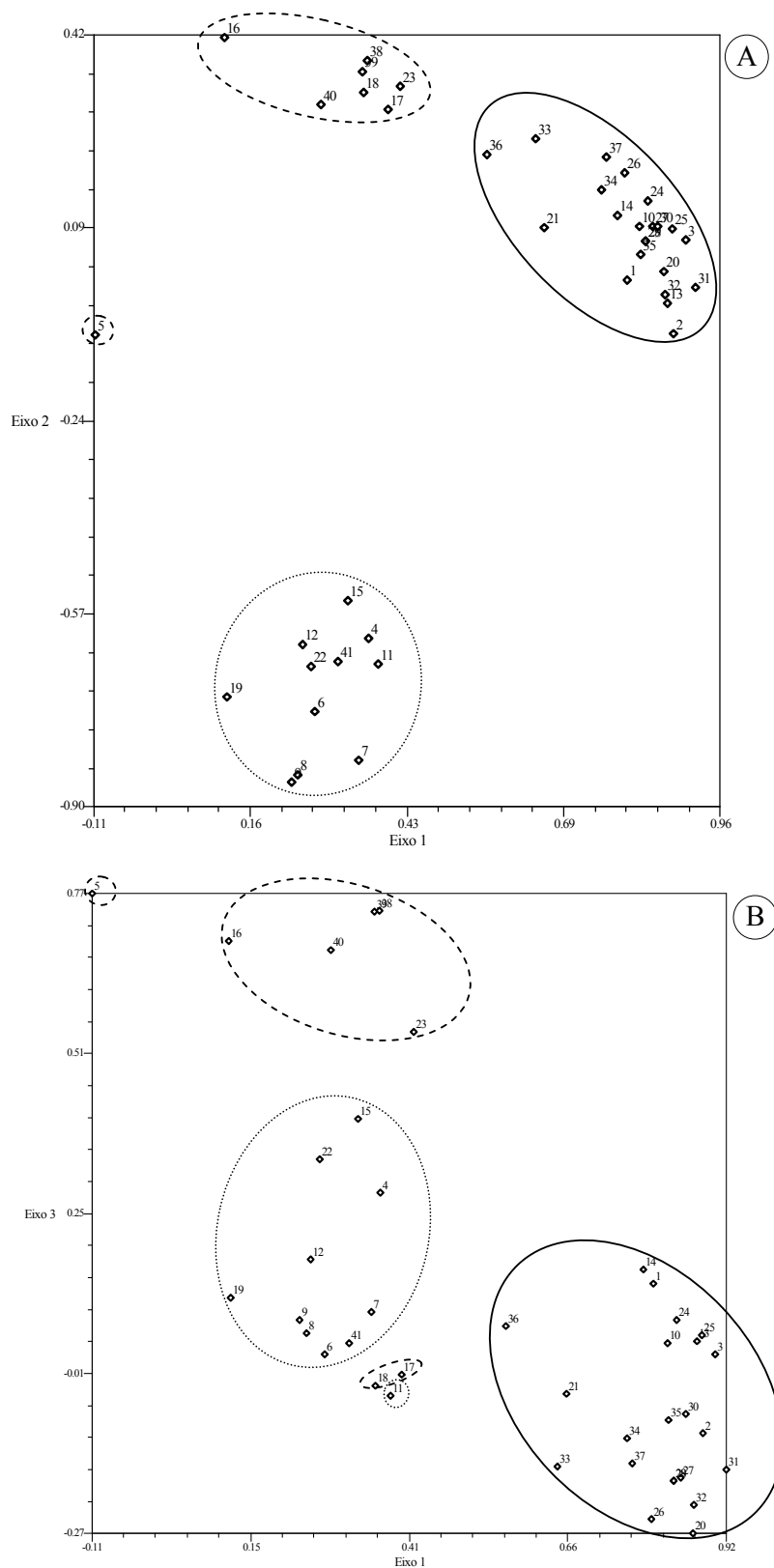


Figura 4. Análise dos Componentes Principais baseada nos dados da análise 2 (41 OTUs e 49 caracteres). Grupo I (—), Grupo II (.....) e Grupo III (- -). Os números correspondem as OTUs utilizadas na análise conforme especificadas na matriz. Porcentagem da variância acumulada nos três primeiros eixos = 65.11 (primeiro eixo = 39.65; segundo eixo = 16.26; terceiro eixo = 9.20).

Figura 5. A-M, ST dos órgãos foliáceos e do escapo das espécies de *Cyperus* s.l. pertencentes ao Grupo I. A-E. Subgrupo 1. A-B. Órgãos foliáceos. A. *Cyperus aggregatus* (S. Martins et al. 114) destacando anatomia Kranz do tipo clorociperóide e células epidérmicas com proporções diferentes. B. *Cyperus aggregatus* (S. Martins 228 & M. Alves) evidenciando a lamina foliar em “V”. C-D. Detalhe do escapo. C. *Cyperus odoratus* (S. Martins et al. 119), região medular destacando as cavidades de ar (esquizo-lisígeno). D. *Cyperus sphacelatus* (S. Martins et al. 151) mostrando os feixes vasculares periféricos. E. *Cyperus odoratus* (S. Martins et al. 48), folha mostrando a nervura central com quilha aguda e com três cordões de fibras. F-H. Órgãos foliáceos, subgrupo 2. F. *Cyperus iria* (S. Martins et al. 113), nervura central em domo com três cordões de fibras e hipoderme na face adaxial. G-H. *Cyperus distans* (S. Martins et al. 150) e *P. macrostachyos* (S. Martins et al. 223), respectivamente, destacando a região do limbo com cavidades de ar e com os cordões de fibras alinhados aos feixes vasculares. Legenda: ab = abaxial, ad = adaxial, bk = bainha Kranz, bl = buliforme, bm = bainha mestoma, cf = cordão de fibras, cv = cavidade de ar, ep = epiderme, es = estômato, ev = elemento de vaso, fp = feixe vascular periférico, fs = feixe vascular secundário, hp = hipoderme, pr = parênquima radiado.

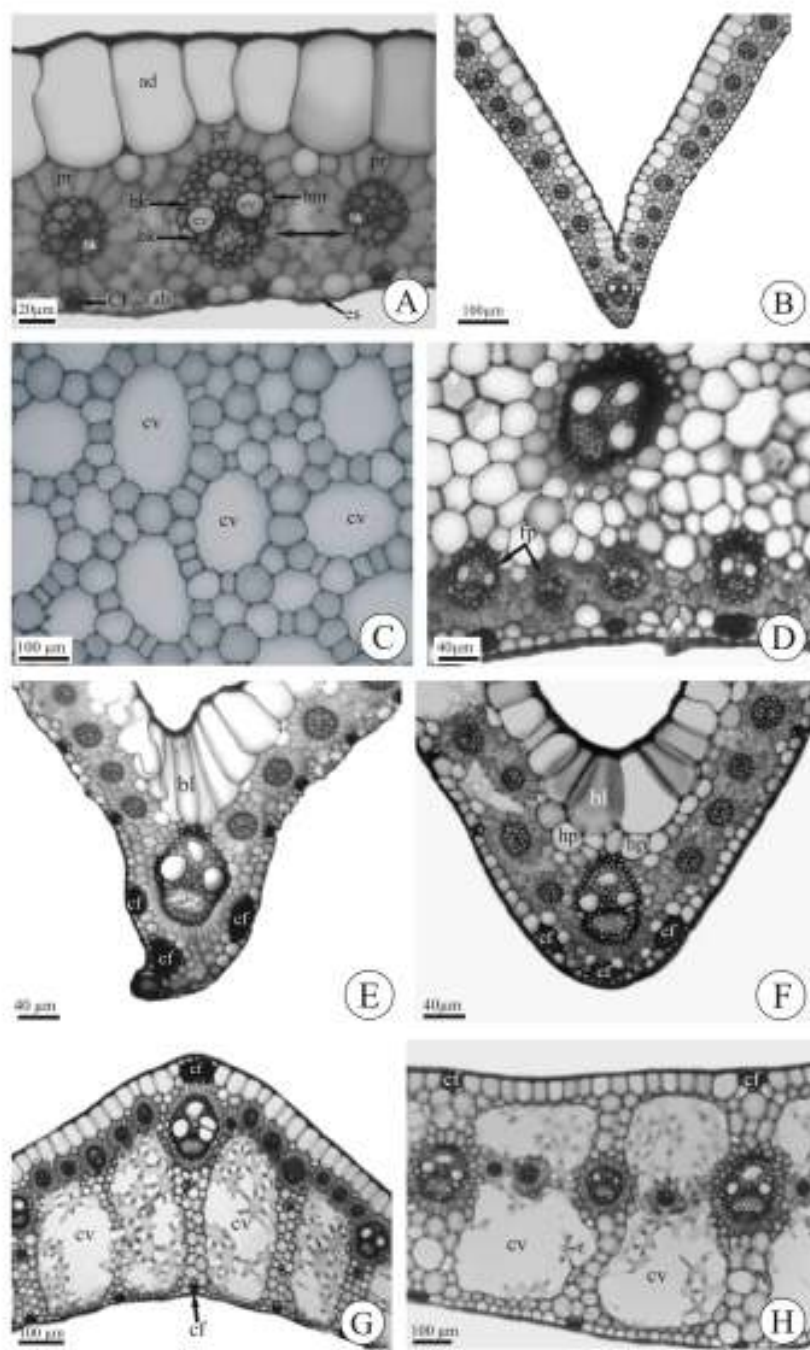


Figura 6. A-B. Subgrupo 3. A. *Pycneus polystachyos* (S. Martins et al. 109), folha com epiderme multisseriada. B. *Pycneus flavescens* (S. Martins et al. 138), escapo destacando o bordo arredondado e feixes vasculares periféricos. C. Subgrupo 4, *Pycneus lanceotatus* (F. França et al. 2225), folha mostrando feixes vasculares em fileira única e células epidérmicas com proporções diferentes. D-F. Órgãos foliáceos, subgrupo 5. D. *Kyllinga odorata* (S. Martins et al. 137) detalhe dos dois cordões de fibra e feixe secundário. E-F. *Kyllinga squamulata* (S. Martins 230 & M. Alves). E. Nervura central em domo com dois cordões de fibra e feixe secundário. F. Região intercostal destacando feixes vasculares com anatomia Kranz e células proporcionalmente diferentes entre as faces epidérmicas. Legenda: ab = abaxial, ad = adaxial, bk = bainha Kranz, bl = buliforme, bm = bainha mestoma, cf = cordão de fibras, cv = cavidade de ar, ep = epiderme, es = estômato, ev = elemento de vaso, fp = feixe vascular periférico, fs = feixe vascular secundário, hp = hipoderme, pr = parênquima radiado.

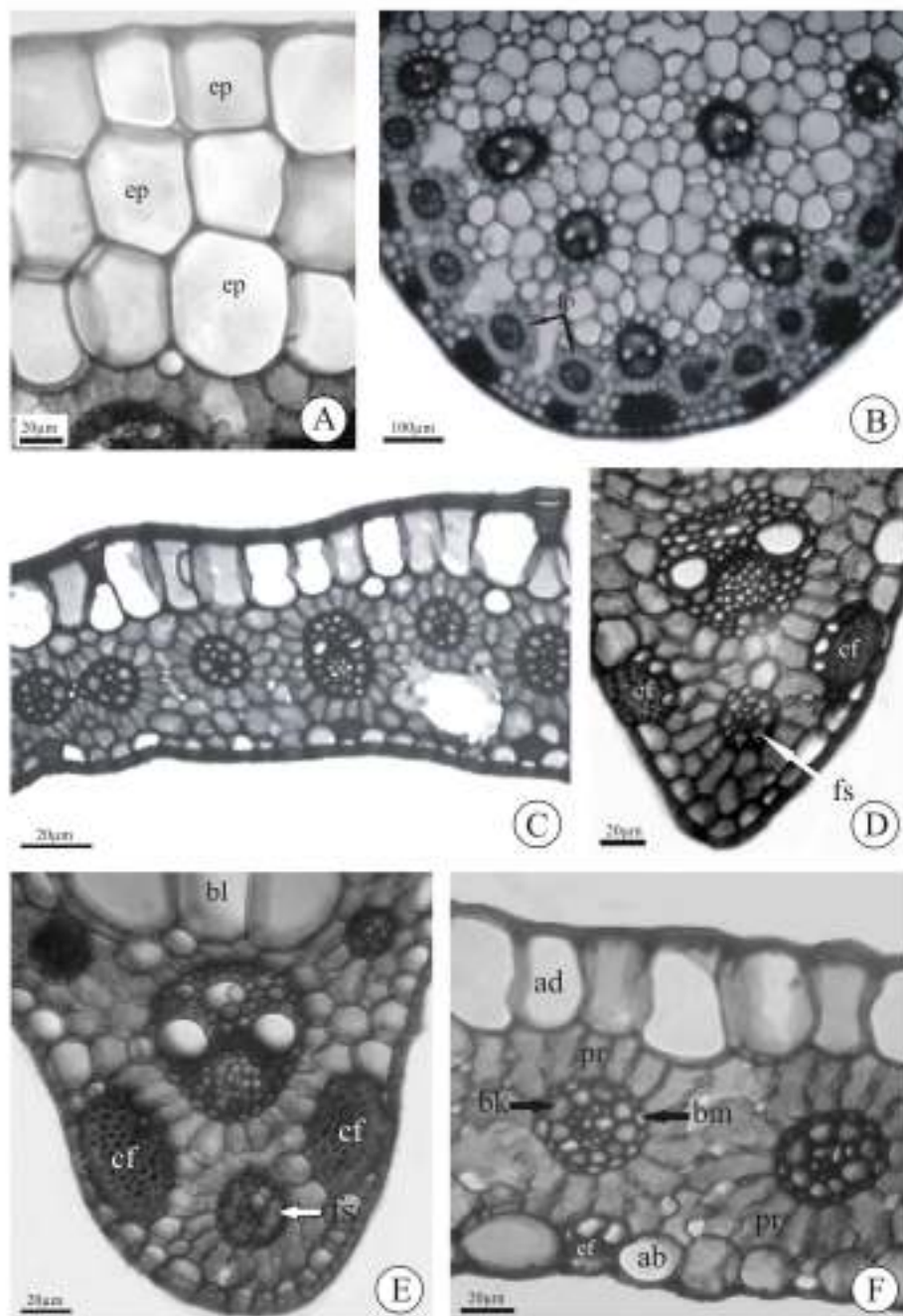


Figura 7. A-I, ST dos órgãos foliáceos e de escapo das espécies de *Cyperus* s.l. pertencentes aos Grupos II e III. A-J. Grupo II. A-C. Órgãos foliáceos. A. Subgrupo 6, *Cyperus laxus* (S. Martins et al. 24), detalhe do nervura central em domo, com um cordão de fibra e células buliformes restritas a essa região. B-C. Subgrupo 7. B. *Cyperus eragrostis* (S. Martins et al. 107) destacando a nervura em domo e dois cordões de fibras, células epidérmicas com proporções diferentes entre as faces, cavidades de ar e cordões de fibras adjacentes aos feixes vasculares (seta). C. *Cyperus surinamensis* (S. Martins et al. 83) detalhe do limbo foliar com cavidades de ar e feixes vasculares com e sem contato com os cordões de fibras. D. Escapo, subgrupo 8, *Cyperus uncinulatus* (S. Martins et al. 101), destacando o bordo arredondado sem feixes vasculares periféricos e cavidades de ar. E-H. Subgrupo 9. E. *Cyperus subcastaneus* (S. Martins et al. 128), limbo foliar com parênquima paliçádico em ambas as faces, parênquima lacunoso com poucos espaços intercelulares e colunas de fibras. F. *Cyperus schomburgkianus* (S. Martins et al. 129), escapo com parênquima paliçádico na periferia do órgão. G-H. *Cyperus* aff. *surinamensis* (S. Martins et al. 131). G. Nervura central ressaltando a nervura central com três cordões de fibras. H. Região intercostal evidenciando as cavidades de ar e a diferença das células epidérmicas entre as faces. I-J. Subgrupo 10. I. *Cyperus* aff. *sublenax* (K.B.R. Leite 434 & E.L. Alves), folha com paliçádico em ambas as faces e com poucos espaços no lacunoso. J. *Cyperus involucratus* (S. Martins et al. 149), escapo evidenciando a região medular sem cavidades de ar e com feixes vasculares. L-M. Grupo III, *Cyperus haspan* (S. Martins et al. 120). L. Nervura central proeminente, devido ao formato triangular, e com dois cordões de fibras. M. Região intercostal destacando o parênquima paliçádico em ambas as faces e presença de colunas. Legenda: ab = abaxial, ad = adaxial, bl = buliforme, cf = cordão de fibras, cl= coluna de fibras, cv = cavidade de ar, pl = parênquima lacunoso, pp= parênquima paliçádico.

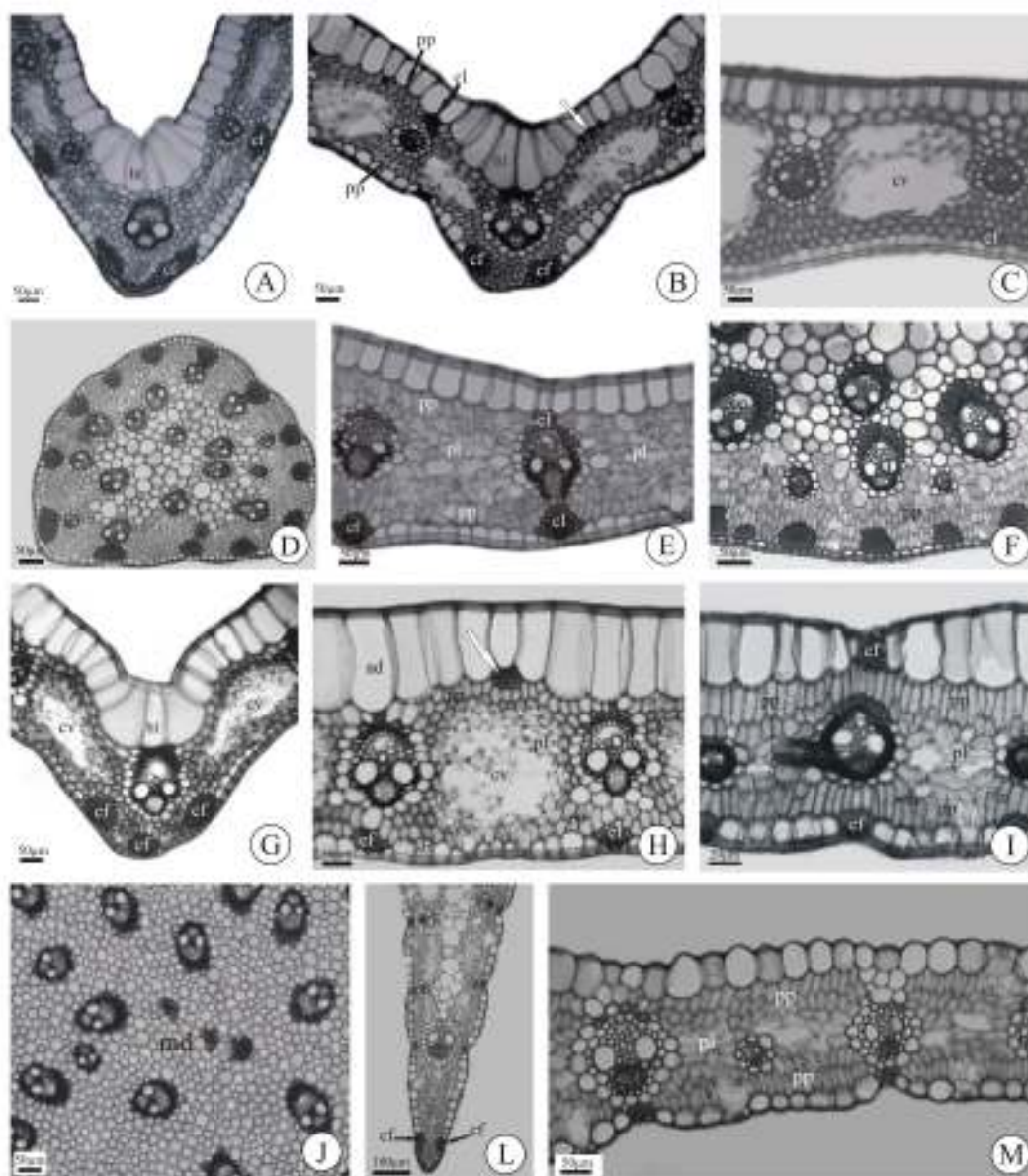
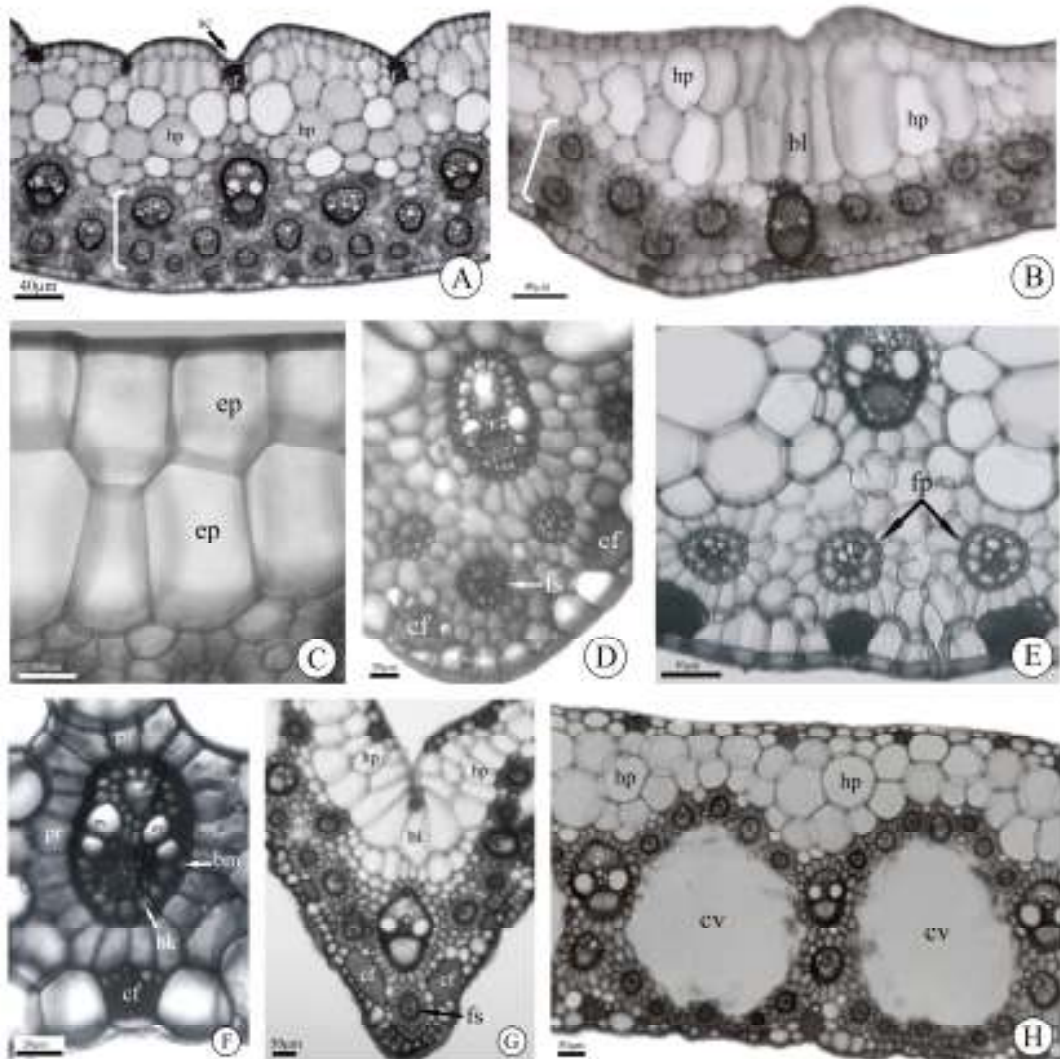


Figura 8. A-H. Grupo III. A-B. Subgrupo 11. A. *Cyperus maritimus* (S. Martins 226 & M. Alves), folha concentriforme espessa sem quilha e com hipoderme multisseriada e feixes vasculares em duas fileiras. B. *Remirea maritima* (S. Martins et al. 54), folha concentriforme espessa, sem quilha, hipoderme multisseriada, feixes em fileira dupla e com células buliformes restritas à nervura central. C-F. Subgrupo 12. C-D. *Cyperus cuspidatus* (S. Martins et al. 68). C. Detalhe evidenciando a epiderme multisseriada. D. Nervura central descascando feixe secundário. E-F. *Lipocarpha micrantha* (S. Martins et al. 75). E. Escapo com feixes periféricos. F. Folha evidenciando a anatomia Kranz. G-H. *Cyperus ligularis* (S. Martins et al. 18), subgrupo 13. G. Nervura central foliar com dois cordões de fibra e feixe secundário. H. Região intercostal evidenciando o padrão “Kranzkette”. Legenda: bk = bainha Kranz, bl = buliforme, bm = bainha mestoma, cf = cordão de fibras, cv = cavidade de ar, ep = epiderme, es = estômato, ev = elemento de vaso, fp = feixe vascular periférico, fs = feixe vascular secundário, hp = hipoderme, pa = papilas, pr = parênquima radiado, sc = sulco.



ANEXOS

Manuscrito 1

Anexo I. Matriz de dados dos caracteres anatômicos de *Cyperus s.l.* referentes à Análise 1 (folha ou bráctea). As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não especificado.

	1	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	29	30	31	32	33	34	
1-Cagg2	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
2-Cagg136	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
3-Cagg5	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
4-Cagg4	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
5-Codo135	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
6-Codo246	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
7-Codo78	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
8-Clax4	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	-	1	0	1	1	1	0	
9-Clax23	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	-	1	0	1	1	1	0	
10-Clax1	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	-	1	0	1	1	1	0	
11-Chas	1	0	0	0	1	4	1	0	1	0	1	1	2	0	0	-	1	1	0	3	0	0	1	0	1	1	1	-	1	0	1	1	1	0	
12-Csur3	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	2	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	1	0	1	1	1	0	
13-Csur46	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	1	0	1	1	1	0	
14-Csur57	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	-	1	0	1	1	1	0	
15-Csur1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
16-Csur24	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	1	0	1	1	1	0	
17-Cera	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
18-Cera1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
19-Cluz	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	1	0	1	1	1	1	0
20-Cluz3	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	1	0	1	1	1	1	0
21-Crot12	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
22-Crot	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	
23-Csim	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	-	1	0	1	1	0	0	
24-Cunc1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	2	1	0	1	1	1	1	0	
25-Cunc	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	-	1	0	1	1	1	0	
26-Csch	1	0	1	1	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	0	-	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	2	1	0	1	1	1	0	
27-Csch1	1	0	1	1	0	0	0	-	1	0	1	0	0	1	0	-	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	2	1	0	1	1	1	0	
28-Csph2	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	2	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0	
29-Csph	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	2	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0	
30-Cdis	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	2	0	1	1	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0	
31-Cinv	1	0	1	1	0	2	1	1	2	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	-	1	1	1	2	1	1	0	1	1	1	0	
32-Cmar	1	0	1	0	0	3	0	-	2	0	1	1	0	0	0	-	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
33-Cmar2	1	0	1	0	0	3	0	-	2	0	1	1	0	0	0	-	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	-	-	0	0	0	0	-	0	
34Cpoh	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	2	1	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	1	
35-Cpoh2	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	2	1	1	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	1	
36-Clig1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	2	1	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	1	
37-Clig	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	2	1	1	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	1	
38-Clig4	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	2	1	1	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	1	
39-Csub	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	-	-	-	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	
40-Csub3	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	2	1	0	1	1	1	0	
41-Cmey	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0		
42-Cmey2	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	
43-Caffsu	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2	1	1	1	1	1	0	
44-Csp3	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	2	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	
45Cent	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	-	1	0	1	1	1	0
46-Ccus	0	1	1	1	0	3	1	1	0	0	0	-	-	-	1	2	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	
47-Csp1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	

Anexo I. Continuado.

	1	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	29	30	31	32	33	34
48-Csp2	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	3	-	0	0	0	0	-	0
49-Caffsb	1	0	1	1	0	0	1	0	2	0	0	-	-	-	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	-	0	0	1	1	1	0
50-Kodo	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
51-Kbre1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
52-Kbre	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
53-Kpum	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
54-Kvag2	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
55-Kvag	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
56-Ksqu	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
57-Ksqu2	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
58-Ccom	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
59-Ciri1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
60-Ciri2	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0
61-Plan	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	-	0	0	0	0	-	0
62-Ppol	0	1	1	1	0	0	0	-	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
63-Ppol3	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
64-Ppic	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
65-Pcap	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
66-Pmac1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	-	0	1	0	3	0	1	1	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0
67-Pmac2	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	2	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0
68-Pfla	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0
69-Lsal	1	0	1	0	0	3	0	-	0	0	1	1	0	0	0	-	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	-	0	0	0	0	-	0
70-Lmic	1	0	1	0	0	3	0	-	0	0	1	1	0	0	0	-	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	-	0	0	0	0	-	0
71-Rmar1	1	0	1	0	0	3	1	1	1	0	1	1	0	0	1	2	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0
72-Rmar2	1	0	1	0	0	2	0	-	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	-	1	0	0	0	-	0

Anexo II. Matriz de dados dos caracteres anatômicos de *Cyperus* s.l. referente à Análise 2 (combinada- folha o bráctea e escapo). As OTUs sem o número da população especificado correspondem a todas as populações analisadas ou ao restante não especificado.

	1	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
1-Cagg	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	2	0	0	0	1	1	0	1	1	-	1	0	0	0	0	
2-Cagg5	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	2	0	0	0	1	1	0	0	1	-	1	0	0	0	0	
3-Codo	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	2	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	0	
4-Clax	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	-	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	
5-Chas	1	0	0	0	1	4	1	0	1	0	1	1	2	0	0	-	1	1	0	3	0	0	1	0	1	1	1	-	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	
6-Csur4	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-	1	0	1	1	1	0	2	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	
7-Csur1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	-	1	0	1	1	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
8-Cera	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	
9-Cluz	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	2	1	0	1	1	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	
10-Crot	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	-	1	0	1	0	0	
11-Cunc	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	-	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	
12-Cscha	1	0	1	1	0	0	0	-	1	0	0	-	-	0	-	-	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	2	1	0	1	1	1	0	2	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	
13-Cspha	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	2	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0	2	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	0	
14-Cdis	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	2	0	1	1	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0	2	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	0	
15-Cinv	1	0	1	1	0	2	1	1	2	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	-	1	1	2	1	1	0	1	1	1	0	2	1	0	1	0	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	
16-Cmar	1	0	1	0	0	3	0	-	2	0	1	1	0	0	0	-	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	2	1	0	0	1	1	0	1	1	-	0	0	0	1	0	
17-Cpoh	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	2	1	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	1	2	0	1	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	1	
18-Clig	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	2	1	1	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	1	2	0	1	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	1	
19-Csub	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	-	-	-	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	2	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	
20-Cmey	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	0
21-Csp3	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	2	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	1	0
22-Cent	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	-	1	0	1	1	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0	
23-Ccus	0	1	1	1	0	3	1	1	0	0	0	-	-	-	1	2	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	0	0	0	1	1	0	0	1	-	1	0	1	1	0	
24-Csp1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	2	-	0	0	0	0	-	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	-	1	0	1	1	0	
25-Csp2	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	3	-	0	0	0	0	-	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	1	0	
26-Kodo	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	1	0	
27-Kbre	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	0	1	0	
28-Kpum	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	0	1	0	
29-Ksqu	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	0	1	0	
30-Ccom	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	1	0
31-Ciri	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	0	
32-Plan	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	-	0	0	0	0	-	0	2	0	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	0	0	
33-Ppol	0	1	1	1	0	0	0	-	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	1	1	1	0	0	1	-	0	0	1	1	0	
34-Ppic	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	0	1	0	
35-Pcap	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	-	-	-	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	0	1	1	0	0	1	-	1	0	0	1	0	
36-Pmac	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	-	0	1	0	3	0	1	1	0	1	0	2	-	1	0	0	0	-	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	-	0	0	1	1	0	
37-Pfla	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	1	1	1	0	0	1	-	1	0	1	1	0	
38-Lsal	1	0	1	0	0	3	0	-	0	0	1	1	0	0	0	-	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	0	1	1	0	0	1	-	1	0	0	1	0	
39-Lmic	1	0	1	0	0	3	0	-	0	0	1	1	0	0	0	-	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	-	0	0	0	0	-	0	2	1	0	0	1	1	0	0	1							

Anexo III. Lista dos caracteres anatômicos dos órgãos foliáceos e do escapo utilizados nas análises de Agrupamento e dos Componentes Principais.

Folha ou Bráctea

1. Epiderme unisseriada: ausente = 0; presente = 1.
2. Epiderme multisseriada: ausente = 0; presente = 1.
3. Parede periclinal externa das células epidérmicas: delgada = 0; espessa = 1.
4. Proporção das células epidérmicas nas diferentes faces: semelhante = 0; diferentes = 1.
5. Papilas: ausente = 0; presente = 1.
6. Forma da lâmina foliar em ST: em “V” = 0; em “M” = 1; concentriforme fino = 2; concentriforme espesso = 3; triangular = 4.
7. Quilha abaxial da nervura central: ausente = 0; presente = 1.
8. Forma da quilha abaxial: aguda (triangular) = 0; arredondada (em domo) = 1.
9. Sulco na face adaxial: ausente = 0; restrito à nervura central = 1; mais de um sulco = 2.
10. Hipoderme na face abaxial: ausente = 0; presente = 1.
11. Hipoderme na face adaxial: ausente = 0; presente = 2.
12. Número de camadas da hipoderme na face adaxial: uma a duas camadas = 0; mais de duas camadas = 1.
13. Distribuição da hipoderme na face adaxial: completa = 0; restrita à nervura central = 1; nas nervuras central e secundária = 2.
14. Relação de tamanho das células hipoderméricas da face adaxial com as células epidérmicas: maiores que as células epidérmicas = 0; menores que as células epidérmicas = 1.
15. Células buliformes: ausente = 0; presente = 1.
16. Distribuição das células buliformes: restritas à nervura central = 0; presentes na nervura central e nos feixes secundários = 1; completa na face adaxial = 2.
17. Cavidades de ar localizadas entre os feixes vasculares e o parênquima clorofiliano: ausente = 0; presente = 1.
18. Cordões de fibras na região intercostal: ausente = 0; presente = 1.
19. Arranjo dos feixes vasculares (exceto na nervura central): fileira única = 0; fileira dupla = 1; formando anéis = 2.
20. Localização dos feixes vasculares na lâmina foliar: região mediana = 0; abaxialmente = 1; adaxialmente = 2; variada = 3.
21. Feixe vascular secundário sob o feixe principal na nervura central: ausente = 0; presente = 1.
22. Anatomia Kranz: ausente = 0; presente = 1.
23. Localização dos cordões de fibras (exceto no bordo foliar): restritos à face abaxial = 0; ambas as faces = 1.
24. Colunas de fibras: ausente = 0; presente = 1.
25. Cordões de fibras na nervura central: ausente = 0; presente = 1.
26. Relação quanto ao número de feixes vasculares e cordões de fibras: maior número = 0; menor ou igual número = 1.
27. Número de cordões ou colunas de fibras na nervura central: um = 0; dois = 1; três = 2; quatro = 3.
28. Distribuição das colunas de fibras: restritas à abaxial = 0; ambas as faces = 1; restritas à face adaxial = 2.
29. Cordões de fibras sempre alinhados aos feixes vasculares: ausente = 0; presente = 1.
30. Pequenos grupos de fibras adjacentes aos feixes vasculares na face adaxial: ausente = 0; presente = 1.
31. Parênquima lacunoso: ausente = 0; presente = 1.
32. Parênquima paliçádico: ausente = 0; presente = 1.
33. Localização do parênquima paliçádico: restrito à adaxial = 0; ambas as faces = 1.
34. Cavidades de ar envolvidas por feixes vasculares: ausente = 0; presente = 1.

Escapo

35. Parede periclinal externa das células epidérmicas: delgada = 0; espessa = 1.
 36. Forma do escapo e ST: angular = 0; não angular = 1.
 37. Cavidades de ar na periferia do órgão (lisígeno): ausente = 0; presente = 1.
 38. Cavidades de ar na região medular (esquizo-lisígeno): ausente = 0; presente = 1.
 39. Feixes vasculares na periferia do órgão: ausente = 0; presente = 1.
 40. Anatomia Kranz: ausente = 0; presente = 1.
 41. Parênquima paliçádico: ausente = 0; presente = 1.
 42. Colunas de fibras: ausente = 0; presente = 1.
 43. Calotas de fibras bem desenvolvidas, adjacentes ao xilema: ausente = 0; presente = 1.
 44. Número camadas do parênquima paliçádico: uma a duas = 0; três a quatro = 1; cinco ou mais = 2.
 45. Bordo do escapo: agudo = 0; arredondado = 1.
 46. Parênquima lacunoso: ausente = 0; presente = 1.
 47. Hipoderme: ausente = 0; presente = 1.
 48. Medula: ausente = 0; presente = 1.
 49. Cavidades de ar periféricas localizadas em torno dos feixes vasculares: ausente = 0; presente = 1.
-

ANÁLISE ULTRA-ESTRUTURAL DOS TECIDOS KRANZ EM ESPÉCIES DE *CYPERUS* S.L.
(CYPERACEAE)

Manuscrito 2

(Manuscrito a ser submetido ao periódico Revista Brasileira de Botânica)

**Análise ultra-estrutural dos tecidos Kranz em espécies de *Cyperus s.l.*
(Cyperaceae)¹**

Shirley Martins², Silvia Rodrigues Machado³ e Marccus Alves²

¹Parte da dissertação da primeira autora

²Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Recife, PE, CEP 50670-901. E-mail: shirley_botany@yahoo.com.br

³Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo, Caixa Postal 510, Botucatu, São Paulo, CEP 18618-000.

Apoio financeiro: CNPq e Fapesp.

Abstract – (Ultrastructure analyze of Kranz tissues in species of *Cyperus s.l.* (Cyperaceae)). Seven species of *Cyperus s.l.* were studied searching to investigate the ultrastructure features of leaves and scape to contribute with the taxonomy of the group and subsidiary evolutionary interpretation. The collection were made in coastal dunes and derange area. The leaves and scape were submitted to ultrastructure analysis. All species studied have the chlorocyperoid type. The radiate parenchyma cells present chloroplasts with well-developed and organized grana, but the number and shape vary among the species. The Kranz cells has centrifugal chloroplasts, agranais or poorly developed grana, and generally with convolute thylakoids. The peripheral reticulum occur in majority of species, however, it is more developed in sheath Kranz cell than in radiate parenchyma cells. The most of species present starch and phenolic compounds either in Kranz sheath or radiate parenchyma. Pits connection were observed between parenchyma radiate cells, between them and the mestome sheath, between them and the Kranz sheath and between the Kranz cells. Instead of the species studied present ultrastructure difference, these are not relevant in the group, this fact contribute with the indication of unique origin of the C₄ pathway in *Cyperus s.l.*

Key words: *Cyperus*, Kranz, evolution, ultrastructure, C₄ plants

Resumo – (Análise ultra-estrutural dos tecidos Kranz em espécies de *Cyperus s.l.* (Cyperaceae)). Foram estudadas sete espécies de *Cyperus s.l.* com objetivo de investigar as características ultra-estruturais de folhas e escapo, visando contribuir com a taxonomia do grupo e subsidiar interpretações evolutivas. As espécies foram coletadas em dunas litorâneas e áreas antropizadas. As folhas e escapo foram submetidos à análise ultra-estrutural. Todas as espécies estudadas possuem o tipo clorociperóide. As células do parênquima radiado apresentam cloroplastos com grana desenvolvidos e bem estruturados, variando em número e forma entre as espécies. Na bainha Kranz os cloroplastos são centrífugos, agranais ou com quase nenhuma grana e geralmente com tilacóides convolutos. O retículo periférico ocorre na maioria das espécies, porém mais desenvolvidos nos cloroplastos das células Kranz que nos do parênquima radiado. Grãos de amido e compostos fenólicos foram observados tanto nas células Kranz quanto no parênquima radiado da maioria das espécies. Plasmodesmos ocorrem entre as células do parênquima radiado, entre essas e as da bainha mestoma, entre estas e as da bainha Kranz e entre as da bainha Kranz. Apesar das espécies apresentarem diferenças ultra-estruturais, essas não são relevantes no grupo, o que contribui com a indicação de única origem da via C₄ em *Cyperus s.l.*

Palavra-chave: *Cyperus*, Kranz, evolução, ultra-estrutura, plantas C₄

Introdução

As espécies com fotossíntese C_4 caracterizam-se anatomicamente pela presença de dois tipos de tecidos fotossintéticos especializados, o parênquima radiado, conhecido como o tecido de assimilação do carbono primário (primary carbon assimilation - PCA) e a bainha do feixe (photosynthetic carbon reduction - PCR), onde ocorre a redução do carbono fotossintético (Soros & Dengler 1998, Soros & Bruhl 2000). Nas espécies C_4 há também um maior número de feixes vasculares quando comparado às espécies C_3 que se deve à curta distância entre o PCA e o PCR (Hattersley & Watson 1975, Soros & Dengler 2001).

Do ponto de vista ultra-estrutural, as plantas C_4 diferem das C_3 , pelo grande número de cloroplastos nas células da bainha do feixe das espécies C_4 , estando ausentes ou em pequena quantidade nas C_3 (Black & Mollenhauer 1971, Brown & Hattersley 1989). A morfologia dos cloroplastos pode também apresentar diferenças entre os dois tecidos fotossintéticos (Brown 1958, Black & Mollenhauer 1971). As características ultra-estruturais em grupos com fotossíntese C_4 podem ser de grande relevância para abordagens taxonômicas e sistemáticas (Brown 1958, 1975, Black & Mollenhauer 1971, Ueno *et al.* 1988, Jacobs 2001).

Cyperaceae é uma das três famílias de monocotiledôneas (Liliopsida) a possuir representantes com a via fotossintética C_4 (Soros & Dengler 1998, Sage 2004). Análises cladísticas sugerem que essa via surgiu diversas vezes na família, pela presença, entre as espécies C_4 , de quatro distintos tipos anatômicos: clorociperóide, eleocaróide, fimbristilóide e rincosporóide (Muasya *et al.* 1998, Soros & Bruhl 2000, Soros & Dengler 2001). Cada tipo anatômico apresenta uma relação com o subtipo bioquímico C_4 , podendo ser diagnosticados pelas características anatômicas e ultra-estruturais (Ueno *et al.* 1988, Soros & Dengler 2001). Os tipos clorociperóide, fimbristilóide e rincosporóide são do subtipo bioquímico que emprega a enzima NADP-málico (NADP-ME) e o eleocaróide e a espécie *Eleocharis vivipara* com o tipo fimbristilóide possuem o subtipo NAD-málico (NAD-ME).

Cyperus s.l. compreende espécies de *Cyperus s.s.* e táxons relacionados (Goetghebeur 1998, Muasya *et al.* 2002). Sendo estes tratados como um único gênero por Kükenthal (1936). No nordeste do Brasil, entre os representantes deste grupo estão os gêneros *Cyperus s.s.*, *Kyllinga*, *Lipocarpa*, *Pycneus* e *Remirea* (Luceño *et al.* 1997). Desses gêneros, apenas *Cyperus* possui espécies C_3 e C_4 , enquanto os demais são exclusivamente C_4 (Goetghebeur 1998, Bruhl & Wilson, *in press*). Entre as espécies C_4 de *Cyperus s.l.*, todas, até o momento, apresentam o tipo clorociperóide, que se caracteriza anatomicamente pela presença de duas bainhas em torno dos

feixes vasculares: a bainha do mestoma externamente e a bainha Kranz (PCR) internamente, esta última descontínua, sendo interrompida por elementos do metaxilema, apenas nos feixes de maior calibre (Soros & Bruhl 2000). Entre os caracteres ultra-estruturais relacionados ao subtipo bioquímico NADP-ME, como o indicado para o tipo clorociperóide estão: cloroplastos do parênquima radiado com grana bem desenvolvido e pouco retículo periférico; bainha mestoma com lamela de suberina e plasmodesmos em constrições entre essas células e as do parênquima radiado e da bainha Kranz; células da bainha Kranz com cloroplastos centrífugos, ovais, às vezes amebóides, tilacóides convolutos, grana ausente ou reduzido e retículo periférico desenvolvido (Carolin *et al.* 1977, Ueno *et al.* 1988).

Devido à homogeneidade da anatomia Kranz nas espécies de *Cyperus s.l.*, Goetghebeur (1998) sugere a existência de um único evento evolutivo para o surgimento da via C_4 no grupo, sendo esta indicação corroborada por análises filogenéticas recentes (Muasya *et al.* 1998, 2002). Entretanto, esses mesmos autores comentam que mais de um evento evolutivo pode ter ocorrido, pois determinados caracteres relacionados à morfologia da inflorescência não concordam com a hipótese de única origem da via C_4 . As espécies de *Cyperus s.s.* com via C_4 apresentam, em sua maioria, inflorescências laxas, enquanto as C_3 geralmente possuem inflorescências congestionadas. A presença de espécies C_4 com inflorescência congestionada e de C_3 com inflorescência laxa levou alguns autores a proporem hipóteses alternativas, em que as diferenças encontradas na morfologia da inflorescência de *Cyperus s.s.* seriam produtos de convergência adaptativa (Goetghebeur 1998, Muasya *et al.* 2002).

Para outras famílias C_4 tais como, Chenopodiaceae, Poaceae e Portulacaceae origens independentes são indicadas (Kadereit *et al.* 2003, Sage 2004). O gênero mais variado neste contexto é *Suaeda* (Chenopodiaceae) que possui 40 espécies C_4 com quatro possíveis origens (Sage 2004).

Diante das dúvidas existentes entre as hipóteses de surgimento da via C_4 em *Cyperus s.l.* e da importância da análise ultra-estrutural dos tecidos fotossintéticos de plantas C_4 para fins taxonômicos (Carolin *et al.* 1977, Estelita-Teixeira & Handro 1987, Estelita 1993), busca-se com este trabalho caracterizar através da análise ultra-estrutural, os principais órgãos fotossintéticos de espécies C_4 de *Cyperus s.l.*, visando contribuir com o conhecimento taxonômico do grupo e subsidiar a compreensão de sua origem.

Material e Métodos

Foram estudadas sete espécies de *Cyperus s.l.*, sendo cinco de *Cyperus s.s.* e as demais de

outros gêneros: *Cyperus aggregatus* (Willd.) Endl. (S. Martins 228 & M. Alves), *Cyperus articulatus* L. (S. Martins 231 & M. Alves), *Cyperus maritimus* Poir. (S. Martins 226 & M. Alves), *Cyperus iria* L. (S. Martins 222 & M. Alves), *Kyllinga squamulata* Thonn ex. Vahl (S. Martins 230 & M. Alves), *Cyperus compressus* L. (S. Martins 229 & M. Alves) e *Remirea maritima* Aubl. (S. Martins et al. 54).

A espécies analisadas foram coletadas no Distrito de Pipa, Tibau do Sul, estado do Rio Grande do Norte, exceto *R. maritima* que foi coletada na Praia do Paiva, Cabo de Santo Agostinho, estado de Pernambuco. A maioria das espécies foi coletada em áreas antropizadas, exceto *C. maritimus* e *R. maritima* que ocorrem em dunas litorâneas.

O material coletado foi herborizado e as exsicatas estão depositadas no Herbário UFP (UFPE). Para a análise ultra-estrutural (Microscopia eletrônica de transmissão - MET), amostras da região mediana de folhas totalmente expandidas e da região mediana do escapo de *C. articulatus* (espécie que possui folhas reduzidas à catafilos basais), foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,3, pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 0,5%. Em seguida, as amostras foram lavadas em água destilada, desidratadas em série crescente de soluções de acetona, embebidas e incluídas em Araldite. Os cortes ultra-finos foram constratados com citrato de chumbo e acetato de uranila etílica e visualizados em microscópio eletrônico de transmissão Phillips EM 100, 80kV. As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP Campus de Mesquita – Botucatu).

Resultados e Discussão

Todas as espécies estudadas apresentam o padrão anatômico descrito para o tipo clorociperóide, com duas bainhas, a mestoma e a Kranz, esta interrompida nos feixes de maior calibre pelos elementos do metaxilema. Apenas *C. maritimus* difere em parte deste padrão típico, pela ocorrência de uma terceira bainha bem desenvolvida (tabela 1), que envolve metade do feixe vascular, na região adjacente ao floema. A presença dessa terceira bainha parcialmente desenvolvida é indicada como rara e entre as espécies de *Cyperus s.l.*, ocorre apenas em poucas espécies de *Cyperus s.s.* (Goetghebeur 1998).

O termo clorociperóide vem do gênero *Chlorocyperus*, em que Rikli (1895 *apud* Carolin et al. 1977) incluiu espécies de *Cyperus* com anatomia Kranz. Todos os membros da tribo Cypereae possuem o tipo clorociperóide, este sendo também descrito para algumas espécies de *Rhynchospora*, que geralmente apresenta o tipo rincosporóide (Takeda et al. 1980, Soros & Bruhl 2000).

Na análise ultra-estrutural todas as espécies estudadas apresentam as células do mesofilo (parênquima radiado - PCA) com paredes delgadas e disposição radiada em torno dos feixes vasculares (figuras 1, 5, 13, 16, 19, 22). Os cloroplastos estão sempre localizados próximos à parede celular e em geral ocorrem 2-3 em cada célula do parênquima radiado (tabela 1, figuras 5, 13), porém *C. articulatus* e *R. maritima* apresentam 4-5 (figuras 19, 23) e *C. compressus* 1-2 cloroplastos (figura 10). Quanto à forma, os cloroplastos aparecem geralmente como elipsóides e circulares (figuras 2, 10, 14, 19, 23), alguns amebóides, como em *C. maritimus* (figura 5). O sistema lamelar apresenta grana evidente e bem estruturado (figuras 2, 10, 14, 20, 23). O retículo periférico é pouco desenvolvido em *C. aggregatus*, *C. articulatus*, *C. compressus* (figura 10) e *R. maritima* (figura 20) e inconspícuo nas demais espécies.

O retículo periférico é formado por uma série de vesículas ou túbulos anastomosados localizados na periferia do estroma e contínuos com a membrana interna do envelope do cloroplasto, sendo geralmente aceito como característico de plantas C₄, porém reportado em algumas plantas C₃ (Laetsch 1974). Esse autor indica que o retículo periférico teria como função agilizar o transporte dos metabólitos entre o citoplasma e os cloroplastos, através das margens desses.

De maneira geral os aspectos ultra-estruturais do parênquima radiado aqui observados, confirmam as descrições de vários trabalhos com espécies C₄ de Cyperaceae, inclusive de tipos anatômicos diferentes, sendo, portanto comuns na família (Ueno *et al.* 1988, Estelita 1992, Ueno 1996, Rodrigues & Estelita 2003). Exceto, quanto a presença, em algumas espécies aqui estudadas, do retículo periférico neste tecido. Este caráter é indicado como presente em apenas algumas espécies com o tipo clorociperóide (Ueno *et al.* 1988).

Apenas em *C. articulatus* e *R. maritima* não foram observados grãos de amido no interior dos cloroplastos das células do parênquima radiado (tabela 1). Em *C. aggregatus* (figura 2), *C. iria* e *C. maritimus* são observados poucos grãos em alguns cloroplastos, sendo esses abundantes nos cloroplastos de *C. compressus* (figura 10) e *K. squamulata* (figuras 13-14). Quanto à forma, os grãos de amido são geralmente elipsóides (figuras 2, 10, 14) e com formatos variados em *C. compressus* e *K. squamulata* (figura 13). Vários plastoglôbulos são observados no interior dos cloroplastos (figuras 10, 14). Compostos fenólicos foram visualizados em pequenos glôbulos no citoplasma das células do parênquima radiado apenas em *C. compressus*, *C. iria*, *C. maritimus* e *K. squamulata* (figura 13). Todas as espécies apresentam plasmodesmos entre as células do parênquima radiado (figura 2) e entre essas e as células da bainha mestoma (figura 20).

A ocorrência de grãos de amido nos cloroplastos exclusivamente da bainha Kranz, como indicado por Downton *et al.* (1969) é aqui contestada com a presença desses também no

parênquima radiado. Nas espécies de Poaceae estudadas por Alvarez *et al.* (2005) não foram observados grãos de amido no parênquima radiado, entretanto, esses foram registrados para espécies de Poaceae e Cyperaceae neste mesmo tecido por Black & Mollenhauer (1971). Estes autores sugerem que a presença de grãos de amido, por ser variável em determinados tecidos, não pode ser utilizada como indicativo de tipo de via fotossintética. Laetsch (1974) comenta que as células do mesofilo, ou parênquim radiado, são perfeitamente capazes de formar grãos de amido.

A ocorrência de plasmodesmos entre as células do parênquima radiado e da bainha mestoma são sempre citadas (Ueno *et al.* 1988, Estelita 1992, Rodrigues & Estelita 2003), porém poucos registros existem quanto aos plasmodesmos existentes entre as células do parênquima radiado, como aqui observado em todas as espécies. Compostos fenólicos são freqüentes em espécies de Cyperaceae, principalmente em *Cyperus* (Metcalf 1971), mas são pouco referidos em análises ultra-estruturais (Estelita & Caldeira 1997).

Na terceira bainha que envolve os feixes vasculares de maior calibre de *C. maritimus*, também foram observados cloroplastos com grana evidentes e semelhantes quanto à forma e localização aos presentes no parênquima radiado. Nos tipos fimbristilóide e rincosporóide a bainha parenquimática está presente e localizada externamente ao PCR, reconhecida como bainha Kranz no tipo fimbristilóide e bainha mestoma no tipo rincosporóide (Soros & Bruhl 2000). Nesses tipos, a bainha parenquimática, que é completa do fimbristilóide e incompleta no rincosporóide, também apresenta cloroplastos semelhantes aos do parênquima radiado (Carolín *et al.* 1977, Ueno *et al.* 1988, Ueno 1996), como observado em *C. maritimus*.

Na células da bainha mestoma a lamela de suberina é evidente (figuras 6, 17, 20), não tendo sido observado cloroplastos (figuras 15, 24). As células dessa bainha são circulares em *C. maritimus* (figura 6), *R. maritima* (figura 19) e alongadas e com paredes sinuosas nas demais espécies (figuras 1, 15, 24). O lúmen é reduzido pelo forte espessamento da parede apenas em *C. maritimus* (figura 6) e *R. maritima* (figura 19), ao contrário das demais espécies em que a parede é menos espessas e o lúmen é mais evidente (figuras 9, 15). A parede das células apresenta microfibrilas com disposição laxa em *C. compressus*, *C. iria* (figura 18) e *K. squamulata* e compacta nas outras (figura 6). As células do mestoma, além de conectadas, através dos plasmodesmos, às células do parênquima radiado também apresentam plasmodesmos com às da bainha Kranz (figuras 6, 15, 18, 24). Esses plasmodesmos, relacionados às células da bainha mestoma, sempre ocorrem nas regiões de constrições da parede, diferente do observado nos plasmodesmos ocorrentes entre as demais células.

A bainha mestoma é descrita como aquela que apresenta células com parede espessa, vacúolo grande e plastídeos indiferenciados (Estelita 1992), como observado no presente estudo. Em

Cyperaceae, Soros & Dengler (2001) indicam a origem procambial dessa bainha.

Nas espécies de Cyperaceae, tanto C_3 quanto C_4 , a lamela de suberina sempre ocorre na bainha mestoma (Brown 1975, Soros & Bruhl 2000). Entretanto, Ueno (1996) descreveu para *Eleocharis vivipara* (Cyperaceae), com o tipo fimbristilóide, a ausência da lamela de suberina na parede radial das células da bainha mestoma. Nas espécies C_4 de Poaceae é a bainha Kranz, que nesta família tem origem do meristema fundamental, que apresenta células com parede espessa e com lamela de suberina (Brown *et al.* 1983, Soros & Dengler 2001). Em espécies de Eudicotiledôneas com via C_4 essa lamela de suberina está ausente (Crookston 1980, Ueno *et al.* 1988). Segundo Crookston (1980) a lamela de suberina lembra as estrias de Caspary observadas em raízes e serviria para prevenir a perda de água do sistema vascular. Carolin *et al.* (1977) e Laetsch (1974) acrescentam que, além disso, a lamela de suberina pode atuar como barreira para a difusão via apoplasto do CO_2 e contribuir para a manutenção de alta concentração de CO_2 nas células Kranz. Com a presença dessa barreira o transporte célula a célula é realizado principalmente através de plasmodesmos, estes sempre presentes entre as células da bainha mestoma e as do parênquima radiado e da bainha Kranz em espécies C_4 de Cyperaceae (Carolin *et al.* 1977, Ueno *et al.* 1988, Rodrigues & Estelita 2003).

Nas espécies aqui estudadas, a bainha Kranz apresenta células de formato circular e com parede geralmente espessa. Quanto ao número de cloroplastos (tabela 1), a maioria das espécies possui 1-2(3) por célula (figuras 1, 11, 13, 15, 19), enquanto em *C. articulatus* e *C. maritimus* são observados 3-5 cloroplastos (figuras 7, 22). Em geral estão arranjados centrifugamente em relação ao tecido vascular (figuras 1, 11, 13, 22). A presença de cloroplastos sempre centrífugos na bainha Kranz é relatada por vários autores para o tipo clorociperóide e outros tipos na família, exceto o eleocaróide (Carolin *et al.* 1977, Estelita-Teixeira & Handro 1987, Ueno *et al.* 1988).

Cloroplastos com estroma denso e fortemente corados foram observados apenas em *K. squamulata* (figura 15), fato este também relatado por Carolin *et al.* (1977) em *Kyllinga brevifolia*.

Entre as espécies aqui estudadas, em geral, mais da metade da área das células da bainha Kranz é ocupada por cloroplastos, podendo chegar a quase a totalidade da célula, como observado em *C. articulatus* (figura 22), *C. iria* (figura 13), *C. maritimus* (figura 7), *K. squamulata* (figura 15), e *R. maritima* (figuras 19). Com relação à forma, os cloroplastos mostram-se geralmente circulares em *C. articulatus* e *C. iria* (figuras 16, 22) com minoria amebóides, diferente das demais espécies em que o amebóide predomina sobre o circular (figuras 1, 7, 11, 13, 21), podendo ainda os dois formatos serem observados na mesma espécie ou célula.

Os cloroplasto da bainha Kranz são agranaís e com sistema lamelar formado por tilacóides fortemente convolutos em *C. compressus* (figura 11) e *C. maritimus* (figura 7), moderadamente em

C. articulatus e *C. iria* (figuras 18, 24) e pouco convolutos nas restantes. O retículo periférico é conspícuo (figura 3) nos cloroplastos dessa bainha na maioria das espécies, sendo inconspícuo em *C. maritimus* e *K. squamulata* e bem desenvolvido em *C. articulatus*, nesta penetrando inclusive no estroma (figura 24).

A bainha Kranz é indicada como originada do procâmbio em Cyperaceae, independente do tipo anatômico existente (Brown 1975, Soros & Dengler 2001, Rodrigues & Estelita 2003).

Nesta bainha, a presença de cloroplastos agranaais ou com grana pouco desenvolvido é referida para as espécies de Cyperaceae com tipo clorociperóide e fimbristilóide, exceto as de *Eleocharis* (Carolin *et al.* 1977, Ueno *et al.* 1988, Rodrigues & Estelita 2003). No entanto, para espécies com o tipo rincosporóide e de *Eleocharis* com o fimbristilóide, foram relatados cloroplastos com grana desenvolvido e estruturado, porém, em menor grau que os do parênquima radiado (Ueno *et al.* 1988). Em Poaceae C₄ é também indicada a ocorrência de grana em geral externamente à bainha Kranz e com pouca incidência nos cloroplastos dessa bainha (Johnson & Brown 1973, Alvarez *et al.* 2005). Em algumas espécies de Poaceae, Black & Mollenhauer (1971) e Brown *et al.* (1983) observaram cloroplastos com grana bem desenvolvido tanto no parênquima radiado quanto na bainha do feixe. Em Portulacaceae, os cloroplastos da bainha Kranz foram descritos como agranaais (Marinho & Estelita 1996).

Com relação ao sistema lamelar, de acordo com Carolin *et al.* (1977) a preseça de tilacóides convolutos, como observado na maioria das espécies aqui estudadas, pode aumentar a área superficial do estroma. Este aspecto foi também observado em outras espécies com o tipo clorociperóide, como em *Cyperus giganteus*, *Kyllinga brevifolia* e *Pycnus polystachyos* (Carolin *et al.* 1977, Rodrigues & Estelita 2003), sendo citado como comum em espécies com tipo clorociperóide e fimbristilóide (Ueno *et al.* 1988).

Quanto ao retículo periférico, este é referido como ausente no cloroplastos do tecido PCR (bainha mestoma) no tipo rincosporóide, segundo Ueno *et al.* (1988). Entretanto, diversos autores observaram que esse é bem desenvolvido nos cloroplastos da bainha Kranz (PCR) do tipo clorociperóide, como *Cyperus esculentus* e *Remirea maritima* (Estelita 1992), *C. iria* (Ueno *et al.* 1988), *C. giganteus* (Rodrigues & Estelita 2003), *C. bowmanii*, *C. conicus*, *C. iria*, *C. victoriensis* e *Pycnus macrostachyos* (Carolin *et al.* 1977) e também em espécies com o tipo fimbristilóide (Ueno *et al.* 1988). O presente estudo confirma observações anteriores, em que a maioria das espécies de Cyperaceae apresenta cloroplastos com retículo periférico conspícuo, sendo os da bainha Kranz mais desenvolvido que os do parênquima radiado. Dados esses, no entanto, diferentes dos apresentados por Lastsch (1974), o qual comenta que o retículo periférico é mais desenvolvido nas células do parênquima radiado que nas da bainha Kranz em plantas C₄.

Ueno *et al.* (1988) relata para *C. iria* a presença do retículo periférico penetrando no estroma, apesar de não ter sido observada no indivíduo dessa espécie aqui estudado, mas sim nos cloroplastos da bainha Kranz de *C. articulatus* aqui estudado e nos de *C. esculentus* estudado por Estelita (1992).

Grande parte das espécies aqui analisados possui cloroplastos com 1-3 grãos de amido na células da bainha Kranz (figuras 3, 18), sendo abundantes, no entanto, nos cloroplastos de *K. squamulata* (figura 13) e *C. compressus*. Não foram observados grãos de amido nos cloroplastos desse tecido em *R. maritima*. Platoglóbulo estão presentes nos cloroplastos de todas as espécies (figuras 11, 12, 18), sendo mais abundantes nestes cloroplastos do que naqueles observados no parênquima radiado. Em todas as espécies, exceto em *R. maritima*, foram visualizados compostos fenólicos ocorrendo em pequenos glóbulo dispersos no citoplasma ou dentro dos vacúolos das células da bainha Kranz (figuras 8, 12). Compostos fenólicos foram referidos como abundantes nos vacúolos e dispersos no citoplasma, tanto das células do parênquima radiado quanto da bainha Kranz em *C. obtusatus* por Estelita & Caldeira (1997).

Além das plasmodesmos presentes entre as células da bainha mestoma e da Kranz, esses também foram evidenciados entre as células da bainha Kranz (figura 12) de todas as espécies estudadas. Plasmodesmos são também observados entre as células Kranz e o parênquima xilemático em *C. maritimus* (figura 8) e entre essas e o elemento do tubo crivado em *C. aggregatus* (figura 4).

Plasmodesmos entre as células da bainha Kranz não foram visualizados em *C. giganteus* por Rodrigues & Estelita (2003), porém, assim como visto nas espécies aqui estudadas, estão registrados em várias espécies C₄ de Cyperaceae (Carolin *et al.* 1977, Ueno *et al.* 1988 Estelita 1992).

Visualmente, as mitocôndrias são geralmente mais abundantes nas células da bainha Kranz (PCR) do que no parênquima radiado (figura 21), exceto em *C. articulatus* e *C. maritimus*, onde não foi observada diferença na quantidade de mitocôndrias entre os dois tecidos fotossintéticos.

Muitos trabalhos relatam que não existe diferença significativa em relação ao número de mitocôndrias entre as células do parênquima radiado e as da bainha Kranz (Carolin *et al.* 1977, Ueno *et al.* 1988, Marinho & Estelita 1996). Entretanto, Estelita-Teixeira & Handro (1987) e Ueno (1996) encontraram um número maior de mitocôndrias e microcorpos nas células da bainha Kranz em espécies de Cyperaceae, assim como Brown *et al.* (1983) em espécies de *Panicum* (Poaceae). Black & Mallenhauer (1971) comentam que um grande número de mitocôndrias nas células da bainha Kranz pode ser considerado como uma indicação de alta capacidade fotossintética, tal como ocorre nas plantas C₄.

Dois cloroplastos elipsóides e com grana pouco desenvolvido foram observados em células do

parênquima xilemático de *C. maritimus* (tabela 1, figura 8). Em *C. aggregatus* foi evidenciado um cloroplasto agranal, ocupando quase a área total da célula desse tecido (tabela 1, figura 4).

A presença de cloroplastos em células do parênquima do xilema foi reportada para *Rhynchospora rubra* (Cyperaceae) por Ueno *et al.* (1988), em *Boerhavia paniculata* (Nyctaginaceae) e *Portulaca olerace* (Portulacaceae) por Crookston & Ozbun (1975) e nas células companheiras de *Pfaffia jubata* (Amaranthaceae) por Estelita-Teixeira & Handro (1984). Crookston & Ozbun (1975) sugerem que estas organelas localizadas no tecido vascular podem atuar na reciclagem do CO₂ metabolizado.

As evidências anatômicas e ultra-estruturais aqui observadas corroboram as descrições indicadas por Carolin *et al.* (1977) e Ueno *et al.* (1988) para espécies com o subtipo bioquímico NADP-ME.

Entre os aspectos que geram dúvidas sobre a origem da via C₄ em *Cyperus s.s.*, está a ausência de relação com a morfologia da inflorescência. Neste contexto, entre as espécies aqui estudadas deste grupo, estão *C. articulatus*, *C. compressus* e *C. iria* com inflorescência laxa e *C. aggregatus* e *C. maritimus* com inflorescências congestas. Apesar da similaridade quanto a morfologia na inflorescência, não existem características anatômicas e ultra-estruturais que possam ser interpretadas como restritas a um tipo de inflorescência, portanto, corroborando as indicações de única origem da via C₄ em *Cyperus s.s.*, e de que as inflorescências congestas em espécies C₄ de *Cyperus s.s.* são possivelmente produtos de convergência adaptativa (Soros & Bruhl 2000, Muasya *et al.* 2002).

Entre os aspectos ultra-estruturais observados, foi possível verificar que existem diferenças em determinadas características entre as espécies analisadas (tabela 1), mas que no entanto, alguns desses aspectos são variáveis na família. Diante disso, de acordo com os dados obtidos não existem diferenças marcantes que justifiquem a interpretação de várias origens da via C₄ em *Cyperus s.s.* e em *Cyperus s.l.*, o que sugere a possível origem comum. Destaca-se ainda a necessidade de estudos com um maior número de espécies de *Cyperus s.l.*, além de análises comparativas com os outros tipos anatômicos de Cyperaceae, visando o melhor entendimento da variabilidade ultra-estrutural existente no grupo.

Agradecimentos

Ao Centro de microscopia Eletrônica, do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu onde foram realizadas as análises ultra-estruturais; aos membros do Laboratório de Morfo-taxonomia Vegetal pela constante colaboração no desenvolvimento do trabalho. Ao CNPq pela

Bolsa de Produtividade em Pesquisa à S. R. Machado; à FAPESP pelo auxílio financeiro (Proc. 00/12469-3).

Referências Bibliográficas

- ALVAREZ, J.M., ROCHA, J.F. & MACHADO, S.R. 2005. Estrutura foliar de *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert e *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae). Revista Brasileira de Botânica 28: 23-37.
- BLACK, C.C. & MOLLENHAUER, H.H. 1971. Structure and distribution and other organelles in leaves with various rates of photosynthesis. Plant Physiology 47:15-23.
- BROWN, W.V. 1958. Leaf anatomy in grass systematics. Botanical Gazette 119:170-178.
- BROWN, W.V. 1975. Variations in anatomy, associations and origins of Kranz tissue. American Journal of Botany 62: 395-402.
- BROWN, R.H., BOUTON, J.H., RIGSBY, L. & RIGLER, M. 1983. Photosynthesis of Grass species differing in carbon dioxide fixation pathways: VIII. Ultrastructure characteristics of *Panicum* species in the *Laxa* group. Plant Physiology 71: 425-431.
- BROWN, R.H. & HATTERSLEY, P.W. 1989. Leaf anatomy of C₃-C₄ species as related to evolution of C₄ photosynthesis. Plant Physiology 91:1543-1550.
- BRUHL, J.J. 1995. Sedge genera of the world: relationships and new classification of the Cyperaceae. Australian Systematic Botany 8: 125-305.
- BRUHL JJ, WILSON K.L. In press. Towards a comprehensive survey of C₃ and C₄ photosynthetic pathway in Cyperaceae. In Monocots: comparative biology and evolution. (J.T. COLUMBUS, E.A. FRIAR, C.W. HAMILTON, J.M. PORTER, L.M. PRINCE & M.G. SIMPSON, eds). Claremont, Rancho Santa Ana Botanic Garden.
- CAROLIN, R. C., JACOBS, W. L. & VESK, M. 1977. The ultrastructure of Kranz cells in the family Cyperaceae. Botanical Gazette 138: 413-419.
- CROOKSTON, R.K. 1980. The structure and function of C₄ vascular tissue. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 93: 71-78.
- CROOKSTON, R.K. & OZBUN, J.L. 1975. Occurrence and ultrastructure of chloroplasts in phloem parenchyma of leaves of C₄ dicotyledons. Planta 123:247-255.
- DOWNTON, W.J.S., BISALPUTRA, T. & TREGUNNA, E.B. 1969. The distribution and ultrastructure chloroplast in leaves differing photosynthetic carbon metabolism. II. *Atriplex rosea* and *Atriplex hastata* (Chenopodiaceae). Canadian Journal of Botany 47: 915-919.

- ESTELITA, M.E.M. 1992. Origin and structure of the Kranz tissues in Cyperaceae. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo 13: 41-48.
- ESTELITA, M.E.M. 1993. *Remirea* Aubl. (Cyperaceae), a new Kranz genus. Revista Brasileira de Botânica 16: 137-141.
- ESTELITA, M.E.M. & CALDEIRA, W. 1997. Ultrastructure of phenolic storage cells in leaf and scape of *Cyperus obtusatus* (Cyperaceae), a Kranz species. Acta Microscópica 6: 642-643.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E.M. & HANDRO, W. 1984. Leaf ultrastructure in species of *Gomphrena* and *Pfaffia* (Amaranthaceae). Canadian Journal of Botany 62:812-817.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E. & HANDRO, W. 1987. Kranz pattern in leaf, scape and bract of *Cyperus* and *Fimbristylis* species. Revista Brasileira de Botânica 10: 105-111.
- GOETGHEBEUR, P. 1998. Cyperaceae; pp. 141-190. In The families and genera of vascular plants (K. Kubitzki, H. Huber, P.J. Rudall, P.S. Stevens & T. Stützel, eds.). Springer-Verlag, Berlin.
- HATTERSLEY, P.W. & WATSON, L. 1975. Anatomical parameters for predicting photosynthesis pathways.
- JACOBS, S.W.L. 2001. Review of leaf anatomy and ultrastructure in the Chenopodiaceae (Caryophyllales). Journal of the Torrey Botanical Society 128: 236-253.
- JOHNSON SC, BROWN WV. 1973. Grass leaf ultrastructural variations. American Journal of Botany 60:727-735.
- KADEREIT, G., BORSCH, T., WEISING, K. & FREITAG, H. 2003. Phylogeny of Amaranthaceae and Chenopodiaceae and the evolution of C₄ photosynthesis. International Journal of Plant Science 164: 959-986.
- KÜKENTHAL, G. 1935-36. *Cyperus* (Cyperaceae:Scirpodoideae). Das Pflanzenreich 4:1-621.
- LAETSCH, W. M. 1974. The C₄ syndrome: a structural analysis. Annual Review of Plant Physiology 25: 27-52.
- LUCENÑO, M., ALVES, M. & MENDES, A.P. 1997. Catálogo florístico y claves de identificación de las ciperáceas de los Estados de Paraíba y Pernambuco (Nordeste de Brasil). Anales del Jardín Botánico de Madrid 55: 67-100.
- MARINHO, T.C. & ESTELITA, M.E.M. 1996. Anatomia e ultra-estrutura foliar das Portulacaceae da Serra do Cipó, Minas Gerais. Revista Brasileira de Botânica 19: 61-65.
- METCALFE, C.R. 1971. Anatomy of the monocotyledons: Cyperaceae. Oxford: Clarendon Press.
- MUASYA, A.M., SIMPSON, D.A., CHASE, M.W & CULHAM, A. 1998. An assessment of suprageneric phylogeny in Cyperaceae using *rbcL* DNA sequences. Plant Systematic and Evolution 211: 257-271.

- MUASYA, A.M., SIMPSON, D.A., CHASE, M.W. 2002. Phylogenetic relationships in *Cyperus s.l.* (Cyperaceae) inferred from plastid DNA sequence data. *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 145-153.
- RODRIGUES, A.C. & ESTELITA, M.E.M. 2003. Origin and structure of the Kranz tissue in bracts of *Cyperus giganteus* Vahl (Cyperaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 445-452.
- SAGE, R. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* 161: 341-370.
- SOROS, C.L. & BRUHL, J.J. 2000. Multiple evolutionary origins of C₄ photosynthesis in the Cyperaceae; pp. 629-636. *In* Monocots: Systematics and Evolution (K.L. WILSON & D.A. MORRISON, eds.). CSIRO, Melbourne.
- SOROS, C.L. & DENGLER, N.G. 1998. Quantitative leaf anatomy of C₃ and C₄ Cyperaceae and comparisons with the Poaceae. *International Journal of Plant Science* 159: 480-491.
- SOROS, C.L. & DENGLER, N.G. 2001. Ontogenetic derivation and cell differentiation in photosynthetic tissue of C₃ and C₄ Cyperaceae. *American Journal of Botany* 88: 992-1005.
- TAKEDA, T., UENO, O. & AGATA W. 1980. The occurrence of C₄ species in the genus *Rhynchospora* and its significance in Kranz anatomy of the Cyperaceae. *The Botanical Magazine of Tokyo* 93: 55-65.
- UENO, O. 1996. Structural characterization of photosynthetic cells in an amphibious sedge, *Eleocharis vivipara*, in relation to C₃ and C₄ metabolism. *Planta* 199: 382-393.
- UENO, O., TAKEDA, T. & MAEDA, E. 1988. Leaf ultrastructure of C₄ species possessing different Kranz anatomical types in the Cyperaceae. *The Botanical Magazine of Tokyo* 101: 141-152.

TABELA

Tabela 1. Principais caracteres ultra-estruturais observados em espécies *C₄* de *Cyperus s.l.*.

Caracteres/Espécies	<i>C. aggregatus</i>	<i>C. articulatus</i>	<i>C. compressus</i>	<i>C. iria</i>	<i>C. maritimus</i>	<i>K. squamulata</i>	<i>R. maritima</i>
Número cloroplastos (Pr)	2-3	4-5	1-2	2-3	2-3	2-3	4-5
Retículo periférico (Pr)	±	±	±	-	-	-	±
Grãos de amido (Pr)	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente
Terceira Bainha	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente
Forma celular (Bm)	Alongada	Alongada	Alongada	Alongada	Circular	Alongada	Circular
Lúmen celular (Bm)	Evidente	Evidente	Evidente	Evidente	Reduzido	Evidente	Reduzido
Microfibrilas (Bm)	Compacta	Compacta	Laxa	Laxa	Compacta	Laxa	Compacta
Número cloroplastos (Bk)	1-2(3)	4-5	1-2(3)	1-2(3)	4-5	1-2(3)	1-2(3)
Convulsão dos cloroplastos (Bk)	Pouco	Moderada	Forte	Moderada	Forte	Pouco	Pouco
Retículo periférico (Bk)	+	⦿	+	+	-	-	+
Número de grãos de amido (Bk)	1-3	1-3	1-3	1-3	>3	>3	Ausente
Cloroplastos (Pv)	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente

Legenda: Bm=bainha mestoma; Bk=bainha Kranz; Pr=parênquima radiado e Pv=parênquima vascular. Inconspícuo (-); Pouco (±); Conspícuo (+); Bem desenvolvido (⦿); Circular (Ci); Amebóide (Am).

FIGURAS

Figura 1-12. Aspectos ultra-estruturais das folhas de *Cyperus s.l.* **1-4.** *Cyperus aggregatus* (Willd.) Endl. **1.** Visão geral da estrutura Kranz com mesofilo (PCA), bainha mestoma e bainha Kranz (PCR). **2.** Detalhe das células do mesofilo com cloroplastos com grana desenvolvido e plasmodesmos. **3.** Célula Kranz com cloroplasto agranal, com grãos de amido e retículo periférico conspicuo. **4.** Detalhe do tecido vascular, mostrando o cloroplasto agranal do parênquima xilemático e os plasmodesmos ramificados entre a célula Kranz e o elemento de tubo de tubo crivado. **5-8.** *Cyperus maritimus* Poir. **5.** Células do mesofilo com cloroplastos granais. **6.** Detalhe da célula mestomática, com parede fortemente espessa, lamela de suberina e com plasmodesmos em constrições. **7.** Célula Kranz com vários cloroplastos e tilacóides convolutos. **8.** Parênquima vascular com cloroplastos mostrando grana pouco desenvolvido. **9-12.** *Cyperus compressus* L. **9.** Visão geral da estrutura Kranz. **10.** Célula do mesofilo com grana, grãos de amido e plastoglóbulos. **11.** Célula Kranz evidenciando os cloroplastos com tilacóides convolutos, plastoglóbulos e retículo periférico. **12.** Detalhe da bainha Kranz, mostrando compostos fenólicos e plasmodesmos entre as células. Legenda: Bk= célula da bainha Kranz; Bm= célula da bainha mestoma; Cf= composto fenólico; Ev= elemento de vaso; Et= elemento do tubo crivado; Gr= grana; Ga= grão de amido; Pg= plastoglóbulos; Pl= plasmodesmos; Pr= célula do parênquima radiado; Pv= parênquima vascular; Rp=retículo periférico; Tl= tilacóides.

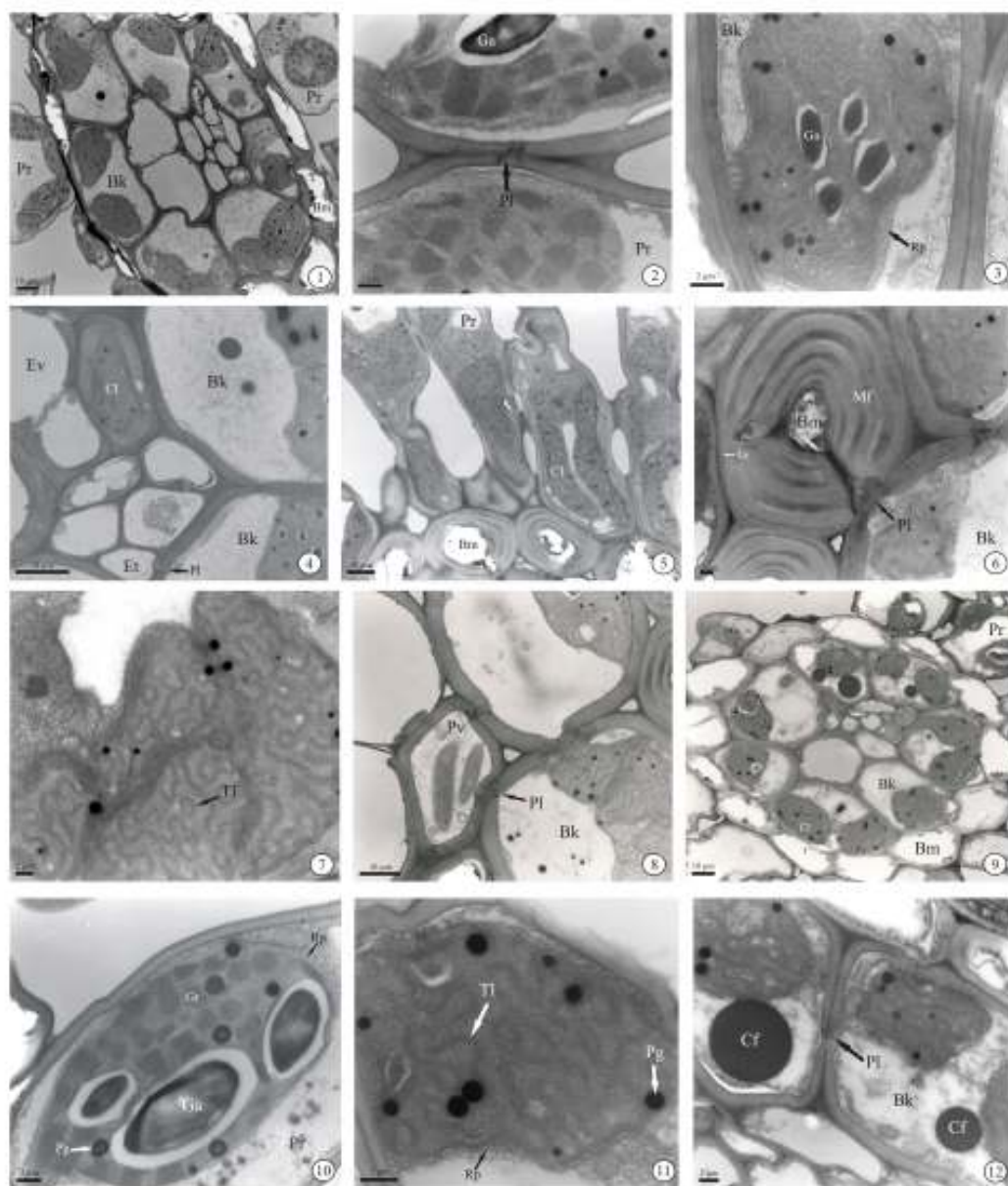
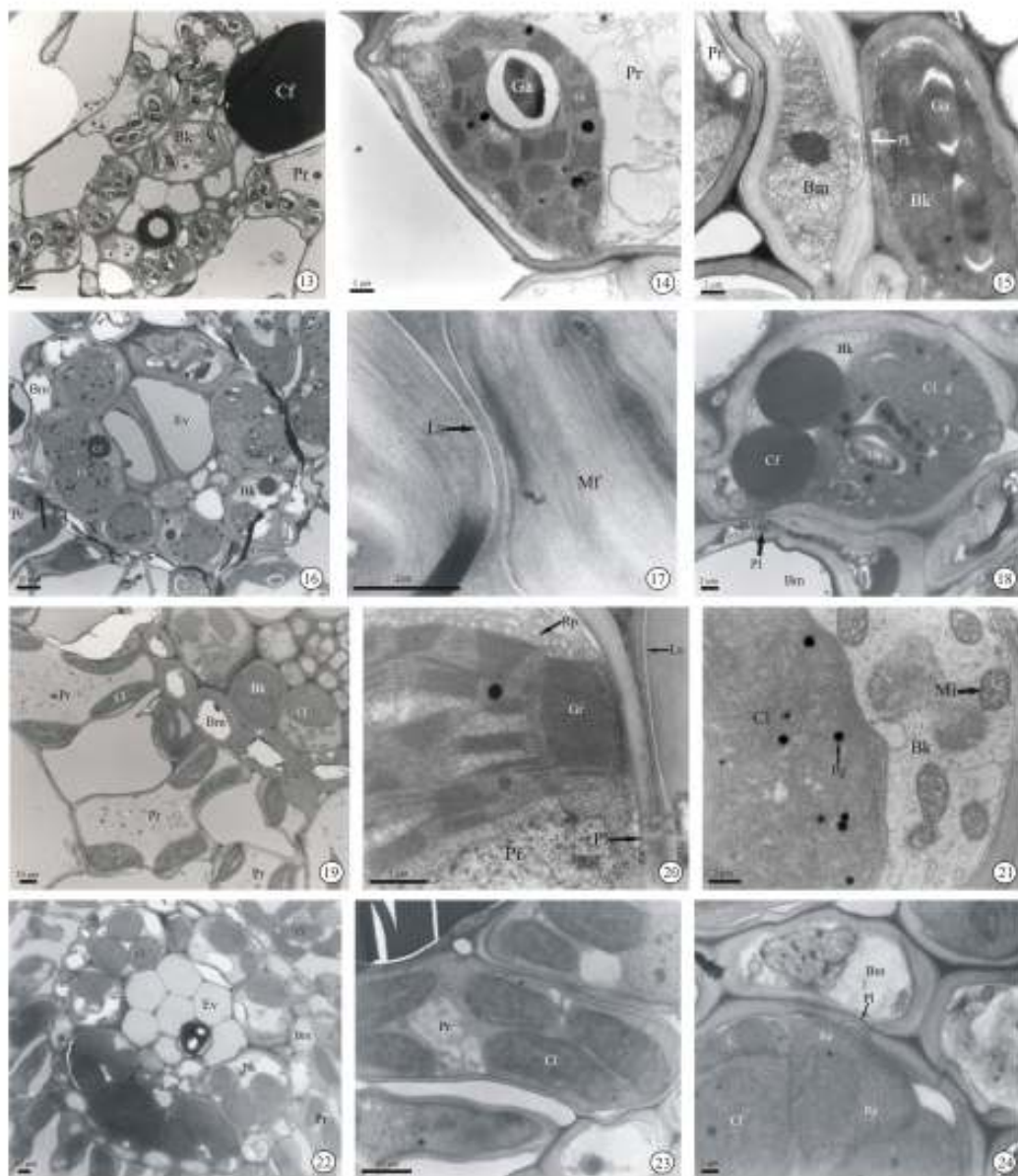


Figura 13-24. Aspectos ultra-estruturais das folhas e escapo de *Cyperus s.l.* **13-21.** Folha. **13-15.** *Kyllinga squamulata* Thonn. ex Vahl. **13.** Visão geral da estrutura Kranz, destacando os cloroplastos com muitos grãos de amido e célula com idioblasto fenólico. **14.** Detalhe da célula do mesofilo mostrando cloroplasto com grana desenvolvido e grão de amido. **15.** Célula da bainha mestoma com parede sinuosa, plasmodesmos entre essas e cloroplastos na célula da bainha Kranz com conteúdo denso, agranais e grãos de amido. **16-18.** *Cyperus iria* L. **16.** Visão geral da bainha Kranz mostrando os cloroplastos ocupando grande parte da célula. **17.** Detalhe da parede da bainha mestoma destacando as microfibrilas com disposição laxa e a lamela de suberina. **18.** Célula da bainha Kranz com compostos fenólicos e cloroplastos agranais com grãos de amido. **19-21.** *Remirea maritima* Aubl. **19.** Aspecto geral da estrutura Kranz com mesofilo com cloroplastos centrífugos, bainha mestoma com células de parede espessa e bainha Kranz com grandes cloroplastos. **20.** Detalhe da célula do mesofilo, mostrando os tilacóides formando grana bem estruturado e plasmodesmos entre essa célula e a do mestoma com lamela de suberina evidenciada. **21.** Detalhe da célula Kranz com muitas mitocôndrias e cloroplastos agranais com plastoglóbulos. **22-24.** Escapo de *Cyperus articulatus* L. **22.** Visão geral da estrutura Kranz, com grandes cloroplastos circulares. **23.** Célula do mesofilo com cloroplastos granais. **24.** Célula da bainha Kranz, destacando o retículo periférico penetrando no estroma. Legenda: Bk= célula da bainha Kranz; Bm= célula da bainha mestoma; Cf= composto fenólico; Cl= cloroplastos; Ev= elemento de vaso; Ga= grão de amido; Gr=grana; Ls= lamela de suberina; Mf= microfibrilas; Mi= mitocôndria; Pg= plastoglóbulos; Pl= plasmodesmos; Pr= célula do parênquima radiado; Rp=retículo periférico; Tl= tilacóides.



ANATOMIA E ULTRA-ESTRUTURA FOLIAR DE *CYPERUS MARITIMUS* POIR.
(CYPERACEAE): ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS AO AMBIENTE DE DUNAS
LITORÂNEAS.

Manuscrito 3

(Manuscrito a ser submetido ao periódico Acta Botanica Brasilica)

Anatomia e ultra-estrutura foliar de *Cyperus maritimus* Poir. (Cyperaceae): estratégias adaptativas ao ambiente de dunas litorâneas¹

Shirley Martins^{2,3}, Silvia Rodrigues Machado⁴ & Marccus Alves³

¹Parte da dissertação da primeira autora

²Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal – PPGBV/UFPE.

³Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Recife, PE, CEP 50670-901. E-mail: shirley_botany@yahoo.com.br

⁴Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual de São Paulo, Caixa Postal 510, Botucatu, São Paulo, CEP 18618-000.

Apoio financeiro: CNPq e Fapesp.

RESUMO – (Anatomia e ultra-estrutura foliar de *Cyperus maritimus* Poir. (Cyperaceae): com ênfase nas estratégias adaptativas ao ambiente de dunas litorâneas). Foram analisados aspectos anatômicos e ultra-estruturais de *Cyperus maritimus* Poir. visando identificar caracteres adaptativos ao ambiente de dunas litorâneas. Para isto, indivíduos ocorrentes nas dunas da Praia de Pipa, RN, Brasil, tiveram as folhas submetidas a diferentes análises: microscopia de luz, eletrônica de varredura e de transmissão. Em vista frontal a epiderme possui tricomas unicelulares, corpos de sílica, cutícula estriada e depósitos de cera. Em secção transversal, a epiderme é unisseriada com parede periclinal externa espessa. Os estômatos são paracíticos, podendo o ostíolo estar obstruído por cera. Abaixo da face adaxial observa-se o parênquima aquífero. Os feixes vasculares ocorrem em duas fileiras, a periférica composta por feixes de diâmetro menor que os da central. Foram observados caracteres relacionados à síndrome Kranz do tipo clorociperóide e os aspectos ultra-estruturais reforçam a indício da via C₄. Neste trabalho foi possível observar vários caracteres importantes para plantas submetidas a estresse hídrico e salino, como: cera, células epidérmicas com parede espessa, parênquima aquífero e síndrome Kranz.

Palavras-chave : *Cyperus*, Cyperaceae, Kranz, anatomia, ultra-estrutura, salinidade

ABSTRACT – (Leaf anatomy and ultrastructure of *Cyperus maritimus* Poir. (Cyperaceae): with emphasis in the adaptive strategies to the coastal dunes environmental). Anatomical and ultrastructural aspects of *Cyperus maritimus* Poir. were analyzed aiming to identify adaptive features to dune environment. The collection was made in Pipa's beach, RN, Brazil. The leaves collected were submitted to difference analyzes: light microscopy, scanning and transmission electron microscopy. In frontal view the epidermis show unicellular thricomes, silica bodies, striate cuticle and wax deposits. In transverse section the epidermis is unisseriate with outer periclinal wall cells thickened. The stomata are paracitics and sometimes the pore can be obstructed by wax. Below the adaxial face there are several layers of aquiferous parenchyma. The vascular bundles occur in double rows, the peripheral row have bundle with fewer diameter than the central row. Characters related to Kranz syndrome of the chlorocyperoid type were observed and the ultrastructure features reinforce the C₄ pathway. In this study were possible to observe several important features to plants submitted to water and salt stresses, such as: wax, epidermis cells with thick-walled, aquiferous parenchyma and Kranz syndrome.

Key word: *Cyperus*, Cyperaceae, Kranz, anatomy, ultrastructure, salinity

Introdução

As comunidades vegetais ocorrentes em dunas litorâneas são caracterizadas por tolerarem altos níveis de salinidade, deficiência hídrica e de nutrientes, ampla variação de umidade e temperatura, além de injúrias causadas pelos fortes ventos (Maun 1994).

Entre os prejuízos causados às plantas submetidas à alta salinidade estão: a redução do crescimento, a inibição da divisão e expansão celular, a desorganização celular, o acúmulo de metabólitos tóxicos, a inibição da fotossíntese e diminuição na aquisição de nutrientes (Flowers *et al.* 1985; Hasegawa & Bressan 2000). Os fatores que atuam na tolerância a esses altos níveis de salinidade são frequentemente dependentes da complexidade anatômica e fisiológica da planta (Shannon 1997).

A maioria dos trabalhos referentes à resistência à salinidade trata dos aspectos fisiológicos das plantas (Flowers *et al.* 1977; Prisco 1980; Flowers & Yeo 1986; Marcum & Murdoch 1992). Entretanto, poucos estudos abordam as adaptações morfológicas apresentadas por estas plantas (Yeo 1983; Perazzolo & Pinheiro 1991; Fahn & Cutler 1992; Naidoo *et al.* 1992; Degano 1999). Dentre eles, destacam-se os referentes à caracterização estrutural e ultra-estrutural das glândulas de sal (Levering & Thomson 1971; Fahn 1988). Além disso, a ênfase maior dos trabalhos sobre salinidade é destinada a plantas de interesse econômico, tendo-se pouca informação sobre espécies ocorrentes em dunas litorâneas (Mooney *et al.* 1991; Marcum & Murdoch 1992; San *et al.* 2003).

Atualmente, o ambiente dunal têm despertado interesse científico por abrigar espécies endêmicas (FEEMA 1988) e pelo relevante papel ecológico desempenhado pelas espécies na preservação da morfologia costeira (Cordazzo & Seeliger 2003; Cordeiro 2005). Entre os representantes da vegetação costeira no Brasil, espécies das famílias Poaceae e Cyperaceae são consideradas de grande importância, por atuarem na rápida colonização das dunas e na fixação do sedimento, reduzindo assim os danos causados pela erosão (Matias & Nunes 2001; Cordeiro 2005).

Cyperaceae é uma das famílias mais representativas nesses ambientes (Luceño *et al.* 1997; Goetghebeur 1998; Matias & Nunes 2001; Cordeiro 2005) e *Remirea maritima* Aubl. e *Cyperus maritimus* Poir. são exemplos de espécies dessa família que ocorrem no Brasil e têm distribuição restrita às dunas litorâneas (Luceño *et al.* 1997).

No Brasil, *C. maritimus* teve sua presença registrada em dunas litorâneas dos estados da Bahia, Ceará, Paraíba e Rio Grande do Norte (Luceño *et al.* 1997; Cordeiro 2005), sendo sua presença indicativa de áreas pouco antropizadas (Luceño *et al.* 1997).

Pertence, juntamente com outras 24 espécies, à *Cyperus* sec. *Arenarii* de acordo com Väre & Kukkonen (2005). Os taxóns dessa seção apresentam uma forte relação com ambientes dunais, sendo a maioria das espécies consideradas psamófilas (plantas que vivem em zonas arenosas) e ocorrendo em dunas costeiras e desertos (Väre & Kukkonen 2005).

Diante da escassez de informações sobre os aspectos estruturais das plantas ocorrentes em dunas e sendo *Cyperus maritimus* uma espécie atualmente vulnerável à ação antropica, é objetivo deste trabalho descrever estruturalmente as folhas desta espécie, visando identificar caracteres indicativos de adaptações ao ambiente de dunas litorâneas.

Material e métodos

Material botânico - Indivíduos de *Cyperus maritimus* foram coletados nas dunas da Praia de Pipa, município de Tibau do Sul - RN (35°03'05" e 6°03'40") – S. Martins *et al.* 49 e S. Martins 226 & M. Alves, sendo parte herborizada e depositada no Herbário UFP da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e parte processada para análises anatômicas e ultra-estruturais.

Microscopia de luz (ML) – Para observação da epiderme em vista frontal, fragmentos foliares foram fervidos em solução de ácido nítrico a 50% (Ghouse & Yunus 1972) até a dissociação. Após a dissociação o material foi lavado em água destilada, corado com safranina 50% (Kraus & Arduin 1997) e montadas lâminas semi-permanentes em glicerina 50%. Para descrição anatômica do limbo foliar, foram realizadas secções transversais (ST) a mão livre, com o auxílio de lâmina de barbear, da região mediana do limbo de folhas totalmente expandidas. Estas foram clarificadas com hipoclorito de sódio 50% e coradas com azul de Astra e safranina (Kraus & Arduin 1997) e montadas em glicerina 50% (Purvis *et al.* 1964). As ST foram também submetidas a testes microquímicos com Lugol (Berlyn & Miksche 1976) para identificação de amido; Cloreto férrico (Johansen 1940) para substâncias fenólicas e Sudan IV (Sass 1951) para lipídios. O material foi analisado usando o fotomicroscópio Zeiss MC 80.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) – Amostras da região mediana na lâmina foliar foram fixadas glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,3, pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 0,5%, lavadas em água destilada, desidratadas em série etílica, secadas em “ponto crítico” utilizando carbono líquido e metalizadas em ouro. A observação foi realizada em microscópio eletrônico de varredura Phillips SEM 515, 20 kV.

Microscopia eletrônica de transmissão (MET) – Amostras da região mediana de folhas

totalmente expandidas foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,3, pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 0,5%, lavadas em água destilada, desidratadas em série crescente de soluções de acetona, embebidas e incluídas em Araldite. Os cortes ultra-finos foram contratados com citrato de chumbo e acetato de uranila etílica e visualizados em microscópio eletrônico de transmissão Phillips EM 100, 80kV.

As análises de microscopia eletrônica foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP Campus de Mesquita – Botucatu).

Resultados

Cyperus maritimus é uma herbácea perene com cerca de 30 cm de altura que ocorre em dunas litorâneas, formando grandes touceiras. Apresenta rizoma bem desenvolvido e folhas canaliculadas dispostas em roseta (Fig. 1). As folhas apresentam um aspecto glaucescentes devido ao depósito de cera.

Em MEV o limbo foliar apresenta triomas unicelulares curtos (Fig. 2) com parede espessa e silicificada, distribuídos na face adaxial ao longo das nervuras de maior calibre e na margem foliar. A cutícula apresenta estrias dispostas longitudinalmente (Fig. 2) em ambas as faces, sendo mais conspícuas na face abaxial. Depósitos amorfos de cera ocorrem em ambas as faces epidérmicas, entretanto, são mais evidentes na adaxial (Fig. 3). Em ambas as faces epidérmicas, a maioria das células são retangulares com paredes anticlinais retas na face adaxial e levemente sinuosas na abaxial (Fig. 3-4). Entre essas células epidérmicas retangulares maiores ocorrem fileiras unisseriadas de células estreitas com paredes anticlinais sinuosas, essas apresentando 2-4 corpos de sílica por célula com formato circular (Fig. 4). Os estômatos são paracíticos, restritos à face abaxial e distribuídos em fileiras longitudinais ao longo da zona intercostal (Fig. 4).

Em ML a folha em ST possui epiderme unisseriada com células de ambas as faces com proporções semelhantes (Fig. 5). A cutícula é delgada e a parede periclinal externa das células epidérmicas é espessa em ambas as faces (Fig. 6,8). Os corpos de sílica são cônicos, ocorrendo no interior das células epidérmicas fixados à parede periclinal interna (Fig. 6). As células portadoras dos corpos silicosos estão sempre associadas aos cordões de fibras (Fig. 6).

A face epidérmica adaxial apresenta leves sulcos, onde se localizam cordões de fibras, conferindo assim, um aspecto ondulado a esta face (Fig. 5-6). Internamente à face

adaxial observa-se uma fileira descontínua de células parenquimáticas retangulares com paredes delgadas e maiores que as células epidérmicas, semelhante à células buliforme (Fig. 6). Abaixo desta células, ocorrem 3-5 camadas de células parenquimáticas grandes com paredes delgadas e aspecto translúcido, constituindo o parênquima aquífero (Fig. 5-6).

Os estômatos ocorrem ao mesmo nível das demais células epidérmicas, com a parede das células-guarda fortemente espessada (Fig. 7-8). Na análise de MET foi verificado que alguns estômatos com depósitos de cera no interior do ostíolo (Fig. 7), o que pode vir a obstruir a passagem por esta via. A câmara subestomática é reduzida, sendo delimitada por duas células parenquimáticas alongadas, estreitas e com parede espessa (Fig. 8).

Os feixes vasculares são do tipo colateral, localizados próximos à face abaxial e dispostos em duas fileiras (Fig. 5). A fileira periférica é composta por feixes de menor calibre, próximos entre si, com dupla bainha, a externa com células de parede fortemente espessada (bainha mestoma) e a interna com células maiores e parede menos espessa (bainha Kranz) (Fig. 8-9). A fileira interna é formada apenas por feixes de maior calibre, com elementos do metaxilema interrompendo a bainha Kranz (Fig. 9). Nesses feixes, além das bainhas mestoma e Kranz, ocorre uma terceira bainha incompleta, envolvendo metade do feixe, principalmente na região adajcente ao floema (Fig. 9). Essa terceira bainha apresenta algumas células com parede espessa, localizadas abaxialmente, e outras com parede delgada dispostas na lateral do feixe (Fig. 9).

O parênquima clorofiliano apresenta disposição radiada em torno dos feixes vasculares, envolvendo completamente aqueles de menor calibre (Fig. 8), localizados na fileira periférica. Nos feixes de maior calibre, esse tecido envolve apenas a metade do feixe, sendo interrompido pela terceira bainha parenquimática (Fig. 9).

Na análise de MET dos tecidos fotossintéticos, as células do parênquima radiado apresentam 2-3 cloroplastos elipsóides, localizados próximo à parede celular (Fig. 10), cujo sistema lamelar apresenta grana bem desenvolvido e retículo periférico inconspícuo (Fig. 11). Plastoglôbulos são visualizados no interior desses cloroplastos (Fig. 11). Plasmodesmos são observados entre as células do parênquima radiado e entre essas e a bainha mestoma. Na terceira bainha que envolve o feixe, as células com parede delgada, que ficam localizadas lateralmente ao feixe, apresentam pequenos cloroplastos com grana evidentes localizados próximos a parede das células (Fig. 12).

Na bainha mestoma os cloroplastos estão ausentes e as células apresentam lúmen reduzido com parede fortemente espessada e polilamelada (Fig. 12-13). A presença de lamela de suberina é também evidenciada (Fig. 13).

As células da bainha Kranz apresentam 2-5 cloroplastos volumosos, com formato arredondado a amebóide, ocupando, geralmente, mais da metade da célula e localizados em posição centrípeta (Fig. 14-15). Nos cloroplastos dessa bainha, o sistema lamelar é reduzido, sem grãos desenvolvidos e formado por tilacóides convolutos (Fig. 15-16). Dentro dos cloroplastos são observados grãos de amido elipsóides e vários plastoglôbulos (Fig. 15-16). Substâncias fenólicas ocorrem no interior das células da bainha Kranz (Fig. 15). Os plasmodesmos são observados entre as células Kranz, entre estas e as células da bainha mestoma, além de também terem sido evidenciadas entre as células Kranz e as células do parênquima vascular (Fig. 13, 17).

Cloroplastos com formato alongado foram também observados nas células do parênquima xilemático (Fig. 17). Contudo, esses diferem dos ocorrentes na bainha Kranz, por apresentarem grana pouco evidentes e menos estruturados que os presentes no parênquima radiado (Fig. 18).

Não foram observadas diferenças entre as células dos tecidos fotossintéticos quanto à presença e organização de outras organelas, tais como mitocôndrias e microcorpos.

Discussão

A disposição das folhas em roseta, como a apresentada por *C. maritimus*, é relatada como um mecanismo difundido entre as plantas submetidas à condições salinas visando a exclusão do sal, onde grandes quantidades de íons podem ficar acumulados nas folhas maduras e senescentes, sendo então liberados com a abscisão destas (Ashraf & O'Leary 1997; Hasegawa & Bressan 2000). A presença de folhas canaliculada e glaucescentes, observadas em *C. maritimus*, são também citadas para a maioria das espécies de *Cyperus* sec. *Arenarii* como estratégias na redução da perda de água por evaporação (Väre & Kokkonenn 2005).

As características do tecido epidérmico de *C. maritimus*, como paredes celulares espessas e depósitos de cera epicuticulares, são consideradas de grande importância para plantas submetidas à déficit hídrico (Perazzolo & Pinheiro 1991; Fahn & Cutler 1992; Shannon 1997). A presença de cera epicuticular reduz a perda excessiva de água durante a transpiração, pois, quando os estômatos estão fechados esta perda é determinada pela taxa de transpiração cuticular, sendo a sobrevivência das plantas dependente quase que

exclusivamente da permeabilidade da cutícula (Ihlenfeldt & Hartmann 1982; Salatino *et al.* 1986). Desse modo, a presença dos depósitos de cera em *C. maritimus* pode atuar na redução da taxa de transpiração. A presença de corpos de sílica é também sugerida na redução da transpiração em folhas e aumento da eficiência no uso da água (Prichid *et al.* 2004).

Com relação aos estômatos, sua restrição à face abaxial, como aqui observado, pode estar relacionada à proteção dos mesmos contra elevadas taxas de evaporação (Rozema 1991). Em plantas submetidas a estresse salino, o fechamento estomático é considerado a primeira linha de defesa contra o dessecamento (Chaves & Oliveira 2004). Além da presença de depósitos de cera no interior do ostíolo e de células-guarda com paredes espessas, como observado em *C. maritimus*, a proteção estomática pode ser realizada pela presença de projeções cuticulares, papilas ou mesmo tricomas sobre o poro estomático, ou ainda pela localização dos estômatos em sulcos ou criptas (Perazzolo & Pinheiro 1991; Fahn & Cutler 1992; Alvarez *et al.* 2005). Esses mecanismos que atuam na proteção estomática são comuns às plantas que se desenvolvem em ambientes salinos (Fahn & Cutler 1992).

Entretanto, qualquer tipo de mecanismo que atue no fechamento estomático ou em sua obstrução implica em restrições na captação do CO₂, o que não representaria um fator limitante nas espécies com via fotossintética C₄ (Sage 2004). Entre as principais características anatômicas utilizadas para identificação de espécies com via C₄ estão a presença do parênquima clorofiliano com disposição radiada, da bainha Kranz com cloroplastos abundantes e de feixes vasculares próximos entre si, separados por 3-4 células (Crookston 1980; Sage 2004). Essas características constituem conjuntamente a chamada “Síndrome Kranz”.

Em Cyperaceae, as espécies com via fotossintética C₄ são divididas em quatro tipos anatômicos, que são diferenciados pelo número de bainhas em torno dos feixes e pela continuidade ou não da bainha Kranz nos feixes de maior calibre, que neste último caso é interrompida pelos vasos do metaxilema (Soros & Dengler 2001). No gênero *Cyperus* são encontradas ambas as vias fotossintéticas (C₃ e C₄), sendo as C₄ do tipo clorociperóide, que se caracteriza pela presença de duas bainhas em torno dos feixes, sendo a mestoma externa à Kranz que é descontínua nos feixes de maior calibre (Soros & Bruhl 2000). Em *C. maritimus*, além da presença das duas bainhas comuns ao tipo clorociperóide, ocorre nos feixes de maior calibre uma terceira bainha incompleta (Martins & Alves, dados não publicados). Soros & Dengler (2001) e Soros & Bruhl (2000) indicam que no tipo

clorociperóide pode ocorrer apenas uma a poucas células parenquimáticas externas à bainha mestoma e adjacentes aos elementos do metaxilema.

Além das características anatômicas, os aspectos ultra-estruturais observados reforçam a presença da fotossíntese C_4 nesta espécie, tais como a presença de uma maior quantidade de organelas, principalmente de cloroplastos na bainha do feixe, fato não observado entre as plantas C_3 (Carolin *et al.* 1977; Ueno *et al.* 1988; Sage 2004). Nas espécies C_4 , os cloroplastos da bainha do feixe, em geral, não apresentam grana desenvolvidos em comparação com as células do mesofilo (Ueno *et al.* 1988; Marinho & Estelita 1996). Em *C. maritimus*, a presença de grana apenas nos cloroplastos do parênquima radiado corrobora o relatado para outras espécies do gênero (Ueno *et al.* 1988; Estelita 1992; Ueno 1996; Rodrigues & Estelita 2003).

De acordo com Carolin *et al.* (1977) a presença de tilacóides convolutos na bainha Kranz, como observado na espécie em estudo, aumenta a área de interface tilacóide-estroma. Em *Cyperus* os tilacóides com estas características podem estar presentes ou ausentes (Carolin *et al.* 1977; Estelita-Teixeira & Handro 1987; Ueno *et al.* 1988; Rodrigues & Estelita 2003).

Carolin *et al.* (1977), Rodrigues & Estelita (2003) e Estelita (1992), estudando os aspectos anatômicos e ultra-estruturais de Cyperaceae não observaram plasmodesmos entre as células da bainha Kranz e as do tecido vascular. Enquanto que, Ueno *et al.* (1988) indicam como rara a presença de plasmodesmos entre as células Kranz e o tecido vascular de *Rhynchospora rubra*. Em *C. maritimus* os plasmodesmos foram observados entre as células da bainha Kranz e entre estas e o parênquima vascular, sendo a primeira citação dessa característica para o gênero.

Assim como em *C. maritimus*, a ocorrência da lamela de suberina na bainha mestoma é comum em plantas C_4 de Cyperaceae, sendo sua principal função bloquear a saída apoplástica do CO_2 , aumentando a concentração na bainha Kranz e consequentemente a produção de açúcares (Laetsch 1974; Ueno *et al.* 1988; Sage 2004). Na bainha mestoma, os plasmodesmos são restritos aos campos de pontoação, onde a lamela de suberina apresenta um aspecto polilamelado (Ueno *et al.* 1988), como aqui observado. Segundo Crookston (1980) a lamela de suberina pode ser relacionada, quanto a sua morfologia e fisiologia, às estrias de Caspary, o que possivelmente levou alguns autores a tratá-la por endoderme (Menezes *et al.* 2003). Entretanto, Martins & Alves (dados não publicados) sugerem que essa interpretação apresentada por Menezes *et al.*

(2003) pode estar equivocada, devido a origem procambial da bainha mestoma (Carolin *et al.* 1977; Estelita 1992; Soros & Dengler 2001; Rodrigues & Estelita 2003).

Cloroplastos ocorrentes no tecido vascular de espécies C_4 em Cyperaceae, como o observado em *C. maritimus*, foi também apresentado por Ueno *et al.* (1988) em *Rhynchospora rubra*. Crookston & Ozbun (1975) registraram a ocorrência de cloroplastos no tecido vascular de *Boerhavia paniculata* (Nyctaginaceae) e *Portulaca olerace* (Portulacaceae), sugerindo que estas organelas atuariam na reciclagem do CO_2 metabolizado.

Entre os aspectos ultra-estruturais considerados importantes para observação dos danos sofridos por plantas submetidas a estresse salino estão os relacionados a estrutura dos cloroplastos (Flowers *et al.* 1985; Sam *et al.* 2003). Pois, um dos principais efeitos do excesso de NaCl é a perda do envelope e a desorganização do grana nos cloroplastos (Flowers *et al.* 1985). Além da presença de vários plastoglôbulos, sendo também relacionada com o estresse salino (Morales *et al.* 1998; Dekov *et al.* 2004) e o estresse hídrico (Munne-Bosch & Alegre 2004). Os cloroplastos observados em *C. maritimus* não apresentam modificações quanto ao envelope e a estrutura do grana, indicando que estes não são afetados pelas condições salinas à que a espécie está submetida. E os cloroplastos, principalmente do parênquima radiado, apresentam vários plastoglôbulos em seu interior.

Assim como *C. maritimus*, muitas outras plantas C_4 são frequentemente citadas como ocorrendo em ambientes salinos (Mooney *et al.* 1991; Rozema 1991), sendo esta presença relacionada com o uso mais eficiente de água por essas plantas, além do requerimento de sódio. A eficiência no uso de água e nutrientes confere as plantas C_4 a capacidade de crescer em habitats que podem ser severos para as C_3 , como é o caso de ambientes salinos (Sage 2004). Essa vantagem está relacionada ao fato do metabolismo C_4 ser menos dependente de altas concentrações de CO_2 . As plantas com esse tipo de via podem reduzir a abertura dos estômatos sem grandes perdas metabólicas, portanto, diminuindo as taxas de evaporação (Sage 2004).

Com relação ao requerimento de sódio, esse é normalmente tóxico para os vegetais, porém ele tem um papel fundamental na via C_4 (Brownell & Crossland 1972, Taiz & Zeiger 2004). Desse modo, a presença do mecanismo C_4 em *C. maritimus* atuaria como um mecanismo para compensar a baixa disponibilidade hídrica, o estresse salino e a elevada radiação a que essa espécie está submetida, além de ser favorecido pela maior disponibilidade de sódio neste ambiente.

A presença de parênquima aquífero é também considerado um caráter importante para plantas submetidas a condição salina (Fahn & Cutler 1992; Degano 1999), pois as folhas de halófitas tendem a acumular NaCl por ajuste osmótico, aumentando a suculência do órgão (Flowers & Yeo 1986). A presença de tecidos responsáveis pelo armazenamento de água é também referida como adaptação para resistência à seca, sendo comum entre as plantas submetidas a estresse hídrico (Fahn & Cutler 1992). Diante disso, é possível que as camadas de parênquima aquífero encontradas em *C. maritimus* atuem tanto na osmorregulação quanto na resistência à deficiência hídrica.

As células buliformes são tratadas como de origem epidérmica, porém Metcalfe (1971) sugere que em algumas espécies de Cyperaceae, as células da camada subepidérmica podem ser maiores e mais infladas do que as da própria epiderme, chamando estas também de buliformes. No presente trabalho, apesar da semelhança estrutural das células da camada subepidérmica com as células buliformes, preferimos tratar esta camada como “células parenquimáticas com aspecto buliforme”, por não ter sido comprovada a origem destas células.

A presença de vários aspectos estruturais e ultra-estruturais relacionados à estratégias que visam minimizar as consequências do estresse hídrico e salino como: parede das células epidérmicas espessa, depósitos de cera, corpos de sílica, parênquima aquífero desenvolvido e estruturas relacionadas à síndrome Kranz, constituem características indicativas de adaptações foliares peculiares em *C. maritimus* associadas à resistência ao ambiente de dunas litorâneas.

Agradecimentos

Aos técnicos Nivalde Antonio Basso e Maria Helena Moreno do Centro de Microscopia Eletrônica–UNESP/Botucatu pelo auxílio nas técnicas de microscopia eletrônica. Aos membros do Laboratório de Morfo-taxonomia Vegetal pela constante colaboração no desenvolvimento do trabalho. Ao CNPq pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa a S.R.Machado, à FAPESP pelo auxílio financeiro (Proc. 00/12469-3).

Referências bibliográficas

- Alvarez, J.M.; Rocha, J.F. & Machado, S.R. 2005. Estrutura foliar de *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert e *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 28(1): 23-37.
- Ashraf, M. & O'Leary, J.W. 1997. Ion distribution in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive lines of spring wheat salt stress. **Acta Botanica Neerlandica** 46(2):207-217.
- Berlyn, G. & Miksche, J. 1976. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames, The Iowa State University Press.
- Brownell, P.F. & Crossland, C.J. 1972. The requirement for sodium as a micronutrient by species having the dicarboxylic photosynthetic pathway. **Plant Physiology** 49: 794-797.
- Carolin, R. C.; Jacobs, W. L. & Veski, M. 1977. The ultrastructure of Kranz cells in the family Cyperaceae. **Botanical Gazette** 138(4): 413-419.
- Chaves, M.M. & Oliveira, M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospect for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany** 55(407): 2365-2384.
- Cordazzo, C.V. & Seelinger, U. 2003. Reproduction and vegetative regeneration in *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae) on backshores of southern Brazil. **Journal of Coastal Research** 35: 481-485.
- Cordeiro, S.Z. 2005. Composição e distribuição da vegetação herbácea em três áreas com fisionomias distintas na Praia do Però, Cabo Frio, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 19(4): 679-693.
- Crookston, R.K. 1980. The structure and function of C₄ vascular tissue. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft** 93: 71-78.
- Crookston, R.K. & Ozbun, J.L. 1975. Occurrence and ultrastructure of chloroplasts in phloem parenchyma of leaves of C₄ dicotyledons. **Planta** 123: 247-255.
- Degano, C.A.M. 1999. Respuestas morfológicas y anatómicas de *Tessaria absinthioides* (Hook. Et Arn.) DC. a la salinidad. **Revista Brasileira de Botânica** 22(3): 357-363.
- Dekov, I., Tsonev, T., Yordanov, I. 2000. Effects of water stress and high-temperature stress on the structure and activity of photosynthetic apparatus of *Zea mays* and *Helianthus annuus*. **Photosynthetica** 38: 361-366.

- Estelita, M.E.M. 1992. Origin and structure of the Kranz tissues in Cyperaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** **13**: 41-48.
- Estelita-Teixeira, M.E.M. & Handro, W. 1984. Leaf ultrastructure in species of *Gomphrena* and *Pfaffia* (Amaranthaceae). **Canadian Journal of Botany** **62**: 812-817.
- Estelita-Teixeira, M.E.M. & Handro, W. 1987. Kranz pattern in leaf, scape and bract of *Cyperus* and *Fimbristylis* species. **Revista Brasileira de Botânica** **10**(4): 105-111.
- Fahn, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist** **108**(1): 229-259.
- Fahn, A. & Cutler, D.F. 1992. **Xerophytes**. Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- FEEMA 1988. Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente, Importância da biota da região de Cabo Frio. Rio de Janeiro, FEEMA.
- Flowers, T.J., Troke, P.F. & Yeo, A.R. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. **Annual Review of Plant Physiology** **28**: 89-121.
- Flowers, T.J., Duque, E., Hajibagheri, M.A., McGonogole, T.P. & Yeo, A.R. 1985. The effect of salinity on leaf ultrastructure and net photosynthesis in two varieties of rice: further evidence for a cellular component of salt-resistance. **New Phytologist** **100**: 37-43.
- Flowers, T.J. & Yeo, A.R. 1986. Ion relations of plants under drought and salinity. **Australian Journal of Plant Physiology** **13**(1):75-91.
- Ghouse, A.K.M. & Yunus, M. 1972. Preparations of epidermal peels from leaves of Gymnosperm by treatment with 60% HNO₃. **Stain Technology** **47**: 322-325.
- Goetghebeur, P. 1998. Cyperaceae. Pp. 141-190. In: K. Kubitzki; H. Huber; P.J Rudall; P.S. Stevens & T. Stützel (eds.) **The families and genera of vascular plants**. Berlin, Springer-Verlag.
- Haseguawa, P.M. & Bressan, R.A. 2000. Plant cellular e molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** **51**: 463-499.
- Ihlenfeldt, H.D. & Hartmann, H.E.K. 1982. Leaf sufarces in Mesembryanthemaceae. Pp. 397-423. In: D.F. Cutler, K.L. Alvin & C.E. Price (eds.). **The plant cuticle**. London, Academic Press.
- Johansen, D. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Inc.
- Kraus, J. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro, EDUR.

- Laetsch, W. M. 1974. The C₄ syndrome: a structural analysis. **Annual Review of Plant Physiology** **25**: 27-52.
- Levering, A.C. & Thomson, W.W. 1971. The ultrastructure of salt glands of *Spartina foliosa*. **Planta** **97**:183-196.
- Luceño, M., Alves, M. & Mendes, A.P. 1997. Catálogo florístico y claves de identificación de las ciperáceas de los Estados de Paraíba y Pernambuco (Nordeste de Brasil). **Anales del Jardín Botánico de Madrid** **55**(1): 67-100.
- Marinho, T.C. & Estelita, M.E.M. 1996. Anatomia e ultra-estrutura foliar das Portulacaceae da Serra do Cipó, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica** **19**(1): 61-65.
- Marcum, B. & Murdoch, C.L. 1992. Salt tolerance of the coastal salt marsh grass, *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. **New Phytologist** **120**(2): 281-288.
- Matias, L.Q. & Nunes, E.P. 2001. Levantamento florístico da área de proteção ambiental de Jericoacara, Ceará. **Acta Botânica Brasilica** **15**(1): 33-43.
- Maun, M.A. 1994. Adaptations enhancing survival and establishment of seedlings on coastal dune systems. **Vegetatio** **111**: 59-70.
- Menezes, N.L., Silva, D.C. & Melo-De-Pinna, G.F.A. 2003. Folha. Pp. 303-325. In: B. Appezzato-da-Glória & S. Carmello-Guerreiro (eds.). **Anatomia Vegetal**. Viçosa, Editora UFV.
- Metcalfé, C.R. 1971. **Anatomy of the monocotyledons: Cyperaceae**. Oxford, Clarendon Press.
- Mooney, H.A., Winner, W.E. & Pell, E.J. 1991. **Response of plants to multiple stresses**. St Louis, Missouri, Academic Press.
- Morales, M.A., Sanchez-Blanco, M. J., Olmos, E., Torrecillas, A. & Alarcon, J.J. 1998. Changes in the growth, leaf water relations and cell ultrastructure in *Argyranthemum coronopifolium* plants under saline conditions. **Journal of Plant Physiology** **153**(1-2): 174-180.
- Munné-Bosch, S. & Alegre, L. 2004. Die and let live: Leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. **Functional of Plant Biology** **31**(3): 203–216.
- Naidoo, G., Mckee, K.L. & Mendelssohn, I.A. 1992. Anatomical and metabolic responses to waterlogging and salinity in *Spartina alterniflora* and *S. patens* (Poaceae). **American Journal of Botany** **79**(7): 765-770.

- Perazzolo, M. & Pinheiro, F. 1991. Aspectos anatômicos e adaptativos das partes vegetativas de *Spartina densiflora* Brong. (Gramineae) da Marisma do estuário da Lagoa dos Patos-RS. **Acta Botanica Brasilica** 5(2): 3-16.
- Prichid, C.J., Rudall, P.J. & Gregory, M. 2004. Systematic and Biology Bodies in Monocotyledons. **The Botanical Review** 69: 377-440.
- Prisco, J.T. 1980. Alguns aspectos da fisiologia do stress salino. **Revista Brasileira de Botânica** 3: 85-97.
- Purvis, M., Collier, D. & Wall, D. 1964. **Laboratory Techniques in Botany**. London, Butterworths.
- Rodrigues, A.C. & Estelita, M.E.M. 2003. Origin and structure of the Kranz tissue in bracts of *Cyperus giganteus* Vahl (Cyperaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 26(4): 445-452.
- Rozema, J. 1991. Growth, water and ion relationships of halophytic monocotyledonae and dicotyledonae; a unified concept. **Aquatic Botany** 39: 17-33.
- Sage, R. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. **New Phytologist** 161(2): 341-370.
- Salatino, A., Montenegro, G. & Salatino, M.L. 1986. Microscopia eletrônica de varredura de superfícies foliares de espécies lenhosas do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica** 9: 117-124.
- Sam, O., Ramirez, C., Coronado, M.J., Testillano, P.S. & Risueno, M.C. 2003. Changes in tomato leaves induced by NaCl stress: Leaf organization and cell ultrastructure. **Biologia Plantarum** 47(3): 361-366.
- Sass, J. 1951. **Botanical Microtechnique**. Ames, The Iowa State College Press.
- Shannon, M.C. 1997. Adaptation of plants to salinity. **Advances in Agronomy** 60: 75-120.
- Soros, C.L. & Bruhl, J.J. 2000. Multiple evolutionary origins of C₄ photosynthesis in the Cyperaceae. Pp. 629-636. In: K.L. Wilson & D.A. Morrison (eds.). **Monocots: Systematics and Evolution**. Melbourne, CSIRO.
- Soros, C.L. & Dengler, N.G. 2001. Ontogenetic derivation and cell differentiation in photosynthetic tissue of C₃ and C₄ Cyperaceae. **American Journal of Botany** 88(6): 992-1005.
- Ueno, O. 1996. Structural characterization of photosynthetic cells in an amphibious sedge, *Eleocharis vivipara*, in relation to C₃ and C₄ metabolism. **Planta** 199: 382-393.

- Ueno, O., Takeda, T. & Maeda, E. 1988. Leaf ultrastructure of C₄ species possessing different kranz anatomical types in the Cyperaceae. **The Botanical Magazine of Tokyo** **101**(2): 141-152.
- Väre, H. & Kukkonen, I. 2005. Seven new species of *Cyperus* (Cyperaceae) section *Arenarii* and one new combination and typification. **Annales Botanici Fennici** **42**: 473-483.
- Yeo, A.R. 1983. Salinity resistance: physiology and prices. **Physiologia Plantarum** **58**(2): 214-222.

FIGURAS

Manuscrito 3

Figura 1-9. *Cyperus maritimus* Poir. 1. Hábito. 2-9. Folhas. 2-3. Face adaxial em MEV. 2. Epiderme com tricoma unicelular e estrias cuticulares. 3. Células da epiderme com paredes anticlinais retas e depósitos de cera. 4. Vista frontal em ML da face abaxial com estômatos paracíticos e células com corpos de sílica. 5. Visão geral em ST, destacando o aspecto ondulado da lâmina foliar, o parênquima aquífero e os feixes vasculares dispostos em duas fileiras. 6. Detalhe da face adaxial destacando a parede periclinal externa espessa, os corpos de sílica, os sulcos, o parênquima com aspecto buliforme e o parênquima aquífero. 7. Estômato em MET com parede das células-guarda espessa e cera no ostíolo. 8-9. Folha em ST. 8. Detalhe da face abaxial com epiderme com parede periclinal externa espessa, idioblasto fenólico e feixes de menor calibre com estrutura Kranz. 9. Feixe de maior calibre mostrando parênquima radiado interrompido pela terceira bainha, formada por células com parede delgada e espessa, a bainha mestoma e a bainha Kranz interrompida pelo elementos do metaxilema. Legenda: Bd = bainha com células de parede delgada, Be = bainha com células de parede espessa, Bk = bainha Kranz, Bm = bainha mestoma, Cf = cordão de fibras, Ce = câmara subestomática, Cr = cera, Cs = corpos de sílica, Ce = câmara subestomática, Es = estômato, Ev = elemento de vaso, Et = estrias, F1 = feixes de maior calibre, F2 = feixes de menor calibre, If = idioblasto fenólico, Pa = parênquima aquífero, Pb = parênquima com aspecto buliforme, Pc = parede da célula-guarda, Pe = parede periclinal externa, Pr = parênquima radiado, Ps = parede levemente sinuosa, Tr = tricoma.

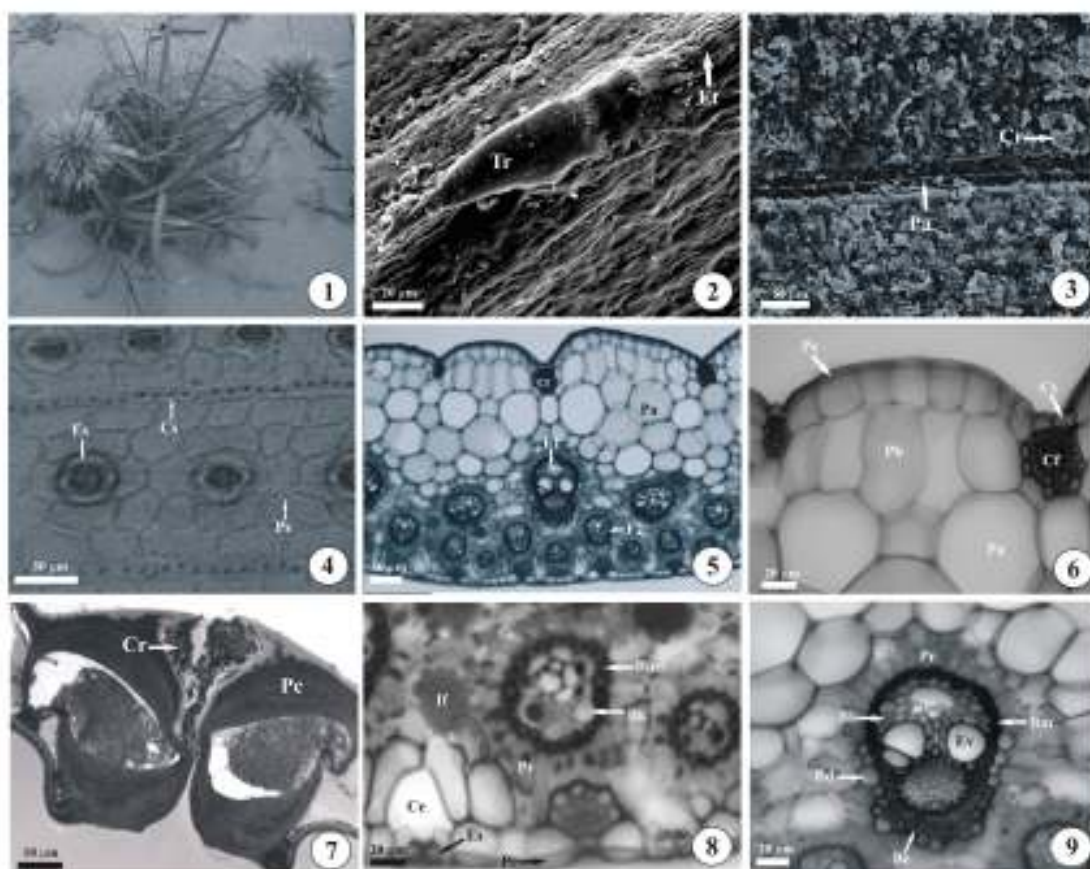
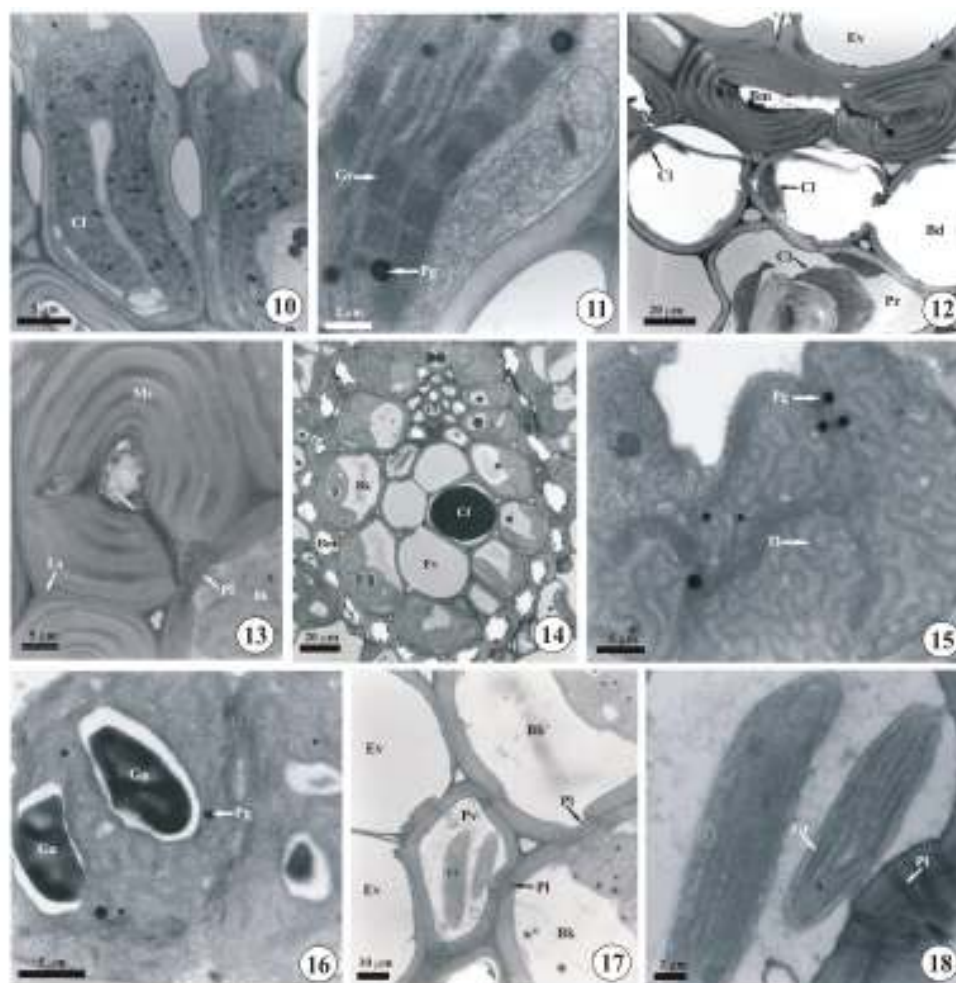


Figura 10-18. *Cyperus maritimus* Poir. MET. 10. Células do parênquima radiado com cloroplastos alongados. 11. Detalhe dos cloroplastos com grana estruturado e plastoglóbulos. 12. Detalhe da bainha parequimática, células delgadas com pequenos cloroplastos na próximos a parede. 13. Detalhe da célula da bainha mestoma, mostrando a parede fortemente espessada e polilamelada, além da lamela de suberina e plasmodemos com a bainha Kranz. 14. Visão geral do feixe vascular, destacando o arranjo da bainha Kranz e compostos fenólicos no elemento de vaso. 15. Detalhe da célula Kranz com tilacóides convolutos e plastoglóbulos presentes nos cloroplastos. 16. Célula Kranz com grãos de amido elipsóides. 17. Destaca-se a presença de cloroplastos no parênquima xilemático, plasmodemos entre a célula parenquimática e a bainha Kranz e entre as células da bainha Kranz. 18. Detalhe do parênquima vascular mostrando cloroplastos com grana e plasmodemos. Legenda. Bd = bainha com células de parede delgada, Bk = bainha Kranz, Bm =banha mestoma, Cf = compostos fenólicos, Cl =cloroplastos, El = elemento de vaso, Ev =elemento de vaso, Fl = floema, Ga=grãos de amido, Gr=grana, Ls=lamela de suberina, Ms=mestoma, Pg=plastoglóbulos, Pl=plasmodemos, Pv=parênquima vascular, Tl=tilacóides.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ♦ A análise anatômica dos órgãos vegetativos revelou aspectos importantes para interpretações taxonômicas e filogenéticas em *Cyperus s.l.*, sendo portanto de grande utilidade nesse tipo de abordagem.
- ♦ *Remirea* e *Lipocarpha* foram reforçadas como gêneros distintos de *Cyperus*.
- ♦ As espécies de *Kyllinga*, apesar de poderem ser separadas do ponto de vista anatômico, apresentam uma alta similaridade com as espécies de *Cyperus* com anatomia Kranz.
- ♦ *Pycneus* como um todo não emerge com um grupo distinto de *Cyperus*, não sendo possível separá-lo através da anatomia.
- ♦ Algumas espécies de *Pycneus* e *Cyperus* apresentam uma epiderme com aspecto multisseriada, sendo este trabalho a primeira referência para tal característica em Cyperaceae. Entretanto, sugere-se estudos ontogenéticos nesses táxons para confirmação de tal estrutura.
- ♦ Algumas espécies Kranz de *Cyperus*, devido a certas particularidades anatômicas, apresentam pequena similaridade com as espécies de *Cyperus* que possuem o padrão típico de anatomia Kranz apresentado pelo gênero.
- ♦ Espécies que apresentam grande plasticidade da morfologia externa, com a indicação da ocorrência de híbridos naturais, refletem essa mesma variação na estrutura anatômica.
- ♦ O tipo clorociperóide ocorre em todas as espécies com anatomia Kranz analisadas.
- ♦ A ausência de variações anatômicas e ultra-estruturais reforçam a indicação de origem comum da via C₄ em *Cyperus s.l.*
- ♦ Neste trabalho temos o primeiro registro para o gênero *Cyperus* e segundo para a família da ocorrência de cloroplastos no tecido vascular.
- ♦ *Cyperus maritimus* Poir. apresenta vários caracteres estruturais e ultra-estruturais relacionados à estratégias que visam minimizar as consequências do estresse hídrico e salino.

RESUMO

Cyperus s.l. é formado por *Cyperus s.s.* e outros gêneros relacionados que já estiveram dentro de sua circunscrição ou apresentam uma íntima relação. Este grupo é um dos poucos de Cyperaceae a apresentar espécies C_3 e C_4 , estas últimas do tipo clorociperóide. Este estudo teve como objetivo analisar a anatomia e ultra-estrutura dos órgãos fotossintéticos de espécies de *Cyperus s.l.* ocorrentes no Nordeste do Brasil, visando fornecer subsídios para taxonomia e filogenia do grupo, além de informações no âmbito da anatomia ecológica. Neste trabalho foram estudadas 43 espécies de *Cyperus s.l.*: *Cyperus s.s.*(30), *Pycneus* (6), *Kyllinga* (5), *Lipocarpha* (2) e *Remirea* (1). A análise multivariada realizada com caracteres anatômicos de folhas ou brácteas e escape de 148 populações pertencentes a 42 espécies mostrou a formação de três grupos principais: Grupo I (espécies com anatomia Kranz), Grupo II (espécies sem anatomia Kranz) e Grupo III (espécies com e sem anatomia Kranz). Os dados obtidos nestas análises evidenciaram aspectos relevantes para discussão de posicionamentos taxonômicos, além de fornecer subsídios para interpretações filogenéticas. O estudo ultra-estrutural realizado em sete espécies Kranz pertencentes a *Cyperus*, *Kyllinga* e *Remirea* confirmou a indicação do tipo clorociperóide com o subtipo bioquímico NAPD-málico. Alguns aspectos ultra-estruturais são comuns como a presença de cloroplastos centrífugos, agranaís ou com grana reduzido na células Kranz, diferente dos do parênquima radiado que apresentam grana desenvolvido e bem estruturado. O número de cloroplastos, desenvolvimento do retículo periférico, a presença e quantidade de grãos de amido, entre outros caracteres apresentam variação entre as espécies, porém essas diferenças não são relevantes no grupo, contribuindo com a indicação de única origem da via C_4 em *Cyperus s.l.* Pela particularidade do habitat, foram estudados os caracteres anatômicos e ultra-estruturais de *Cyperus maritimus* Poir. visando identificar caracteres adaptativos ao ambiente de dunas litorâneas. Entre os caracteres considerados importantes para plantas submetidas a estresse hídrico e salino, como os ocorrentes em dunas litorâneas, foram observados a presença de ceras epicuticulares, células epidérmicas com paredes espessas, parênquima aquífero e síndrome Kranz.

Palavra-chave – *Cyperus s.l.*, Taxonomia, Anatomia, Kranz, Ultra-estrutura, salinidade

ABSTRACT

Cyperus s.l. comprises *Cyperus s.s.* and other genera closer that before were inclusive in the *Cyperus* circumscription or present closer relation. This group is one of few of Cyperaceae to have C₃ and C₄ species, these with the chlrorocyperoid type. This study have as objective to analyze the anatomy and ultrastructure of the photosynthetic tissues of the *Cyperus s.l.* species from Northeastern of Brazil aiming to subsidiary the group taxonomy and phylogeny, besides provide information about the ecological anatomy. In this work 43 species of *Cyperus s.l.*: *Cyperus s.s.*(30), *Pycneus* (6), *Kyllinga* (5), *Lipocarpa* (2) and *Remirea* (1) were analyzed. The multivariate analyze with leaves or bracts and scapes from 148 populations of 42 species showed three principal groups: Group I (species with Kranz anatomy), Group II (species without Kranz anatomy) and Group III (mainly of the species with Kranz anatomy). The data acquired in these analyzes revealed important aspects to the discussion of the taxonomic position, besides to provide subsidies to phylogenetical interpretations. The ultrastructural study with seven Kranz species of *Cyperus*, *Kyllinga* and *Remirea* corroborated the indication of the chlrocyperoid type with the NADP-malic biochemical subtype. Some ultrastructural aspects are commom among the species, as the presence in the Kranz cells of centrifugal, agranais or poorly developed grana chloroplasts, different from the radiate parenchyma cells that have chloroplast with well development grana. The number of chloroplasts, peripheral reticulum development, starch presence and quantity besides others characters present vatiation amog the species, however these diferences are not relevants in the group what corroborate the indication of one origin of the C₄ pathway. Faced with the peculiar habitat, was studied the anatomical and ultrastructural characteres of *Cyperus maritimus* Poir. searching to identify adaptative features to dune environment. Among the characteres considerate important to plants submitted to water and salt stress, how exist in coastal dunes, were observed: wax deposits, epidermis cells with thick-walled, aquiferous parenchyma and Kranz syndrome.

Key words – *Cyperus s.l.*, Taxonomy, Anatomy, Kranz, Ultrastructure, salinity

ANEXOS DISSERTAÇÃO

Normas dos periódicos para onde serão enviados os manuscritos

SYSTEMATIC BOTANY CHECKLIST FOR PREPARATION OF MANUSCRIPTS AND ILLUSTRATIONS

I. General Instructions

Membership in ASPT is required for at least one author from date of manuscript submission through to publication. Not a member? Contact the ASPT Business Office to join now (aspt@uwo.edu).

Consult current issues for guidance on format Read Information for Authors on inside back cover of most recent issue or the web site. Double-space throughout. Do not use justified right margin.

Use line numbering to facilitate reviews of electronic manuscripts (do not use on final manuscript). Font formatting in manuscript corresponds to that used in the journal (e.g., *italics* for genus and species names; LARGE AND SMALL CAPITALS for primary headings, author names in literature cited, author names and short title on title page; **bold italics** for second level headings, etc.). Do not italicize common Latin words or phrases (e.g., et al., i.e., sensu, etc.).

Include surname(s) of author(s) and page number as a header on all manuscript pages. Assemble manuscript in this order: 1) Title page, 2) Abstract page, 3) Text, 4) Literature Cited, 5) Tables, 6) Appendices, if any, 7) Figure legends, 8) Figures. Do not staple the manuscript.

II. Title Page (Page 1)

Running head 6-8 lines below top of page, in all capital letters, no italics, and right justified. Include author(s) surname(s), colon, and a short title (total characters including spaces must not exceed 50).

Center title, in upper and lower case, bold. Omit authors of scientific names. Include family in parentheses unless the genus is the type for the family. Below title, list all author names in large and small capitals in one centered paragraph. Author names are followed by author addresses starting on next line. Each address is a separate, centered paragraph. Addresses are written out in full without abbreviation.

Include country in address, including those in the U.S.A. Use superscript numbers following author names and preceding addresses to associate each author and the appropriate address. Superscript number(s) following author(s) name(s) are also used to indicate any new addresses. New addresses are numbered sequentially after all author primary addresses.

Author for correspondence may be designated using a superscript number. The "Author for correspondence" follows on a new line following author addresses and should be the final superscript number used. Include email address in parentheses.

III. Abstract Page (Page 2)

Abstract must be one paragraph. Do not cite references, taxonomic authorities, or use abbreviations in the abstract. Be concise (usually not more than 200 words), but include brief statements about the paper's intent, materials and methods, results, and findings.

Indicate new taxonomic names and new combinations in boldface.

Below abstract, as a separate paragraph, include up to six, non-title keywords (or short phrases such as 'adaptive radiation') in alphabetical order, separated by commas, and with a period following the final term. This section should begin with 'Keywords:' in bold, large and small capital letters. The keywords themselves should not be in bold and not use small caps. For example, **KEYWORDS:** Adaptive radiation, chloroplast DNA, nuclear nitrate reductase gene, phylogeography, *Ulnus*.

IV. Text (Page 3, etc.)

Cite each figure and table in the text. Organize text, as far as possible, so that they are cited in numerical order. Use "Figure" only to start a sentence; otherwise, "Fig." or "Figs."

Use these abbreviations without spelling out or punctuation: hr, min, sec, yr, mo, wk, d, diam, m, cm, mm, μ m; designate temperature as 30°C.

Systematic Botany Checklist, p. 2

Write out other abbreviations first time used in the text; abbreviate thereafter. "Transmission electron microscopy (TEM) was used...." Numbers: Write out one to nine unless a measurement or in taxonomic descriptions (e.g., four samples, 3 mm, 35 sites, 6 yr). Use 1,000 instead of 1000; 0.13 instead of .13; % instead of percent.

Each reference cited in the text must be listed in Literature Cited section, and vice versa. Literature citations in the text are as follows: One author- Jones (1990) or (Jones 1990). Noteno comma used.

Two authors- Jones and Jackson (1990) or (Jones and Jackson 1990). No comma used. Three or more authors- Jones et al. (1990) or (Jones et al. 1990). No comma used. Jones and Smith (in press) or (Jones and Smith, in press) J. Jones (unpubl.

data); J. Jones (in mss.); (J. Jones, pers. obs.); or J. Jones (pers. comm.)

Within parentheses, use a semicolon to separate different types of citations (Fig. 4; Table 2) and (Felix and Smith 1988; Jones and Anderson 1989). Cite several references within parentheses by year, with the oldest one first.

Main headings are large and small capital letters and centered on one line. The following are typical main headings: MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, TAXONOMIC TREATMENT (no Introduction, Conclusion, or Summary sections).

Summary or conclusions must be incorporated in discussion.

Second level headings are ***Bold Italics*** with normal indentation. Capitalize first letter of each word. Headings are followed by a period.

Third level headings are LARGE AND SMALL CAPITALS followed by a period, with normal indentation.

Taxonomic authorities should be cited for all taxon names at generic rank and below at their first usage in the text, or referenced in a table. ACKNOWLEDGEMENTS follows discussion section.

Style is same as third level heading (large and small capitals followed by period, indent first line).

V. Taxonomic Treatment

For nomenclatural matter (i.e., synonymy, typification) use one paragraph per homotypic basionym (see recent Syst. Bot. or Regnum Veg. 58:39-40. 1968). Heterotypic basionyms are in separate paragraphs. New names and new combinations should be in bold. All other names of accepted taxa should be in large and small capitals. Names of synonyms are italicized in upper and lower case.

Use *Authors of Plant Names* (Brummitt and Powell 1992, Royal Botanic Gardens, Kew) for authors of botanical names. May be provided in a table if all relevant names are listed (e.g., table of voucher specimens).

References cited only as part of nomenclatural matter and not elsewhere are not included in literature cited; use TL-2 for abbreviations.

Use *Index herbariorum* for designations of herbaria. If specimens are cited, use the following forms:

TYPE: MEXICO. Nuevo León: 24 km S of San Roberto Jct., 26 Sep 1970, Turner 6214 (holotype: TEX!; isotype: UC!).

Representative Specimens Examined.
U.S.A.

Michigan: Lapeer Co., along Flint River, 1.5 mi NE Columbiaville, 5 Jul 1955, *Beal s.n.* (NCSC). Ohio: Wood Co., just W Scotch ridge, 7 Jun 1955, *Beal 1073* (US).

Each country begins a new paragraph. Descriptions of new taxa (species and below) should include the following: 1) an illustration (line drawing) clearly showing the diagnostic characters, 2) a comparison with related (or sympatric, or similar) taxa in a dichotomous key or table, and 3) a discussion of the characteristics, ecology, geography, or reproductive biology, etc. that are the basis for its distinctiveness. Abbreviate subspecies as subsp.

VI. Literature Cited (Continue page numbering, include in same file as text. Not a separate file.)

Verify all entries against original sources, especially journal titles, volume and page numbers, accents, diacritical marks, and spelling in languages other than English. Capitalize all nouns in German. Cite references in strict alphabetical order by first author's surname. References by a single author precede multiauthored works by same senior author, regardless of date. Of those multiauthored works, 1) references with two authors precede all other multiauthored works and are listed in alphabetical order, and 2) references with three or more authors are

Systematic Botany Checklist, p. 3

listed in alphabetical order of authors, regardless of the number of authors involved. List works by the same author(s) chronologically, beginning with earliest date of publication. Use a long dash when the author(s) is/are the same as in the immediately preceding citation. "In press" citations must have been accepted for publication and the name of the journal or publisher included.

Insert a period and space after each initial of an author's name.

Leave one space between the colon following the volume number and the page number(s).

WRITE OUT JOURNAL TITLES IN FULL USING ITALICS FONT. Do not use abbreviations.

Write author's names in large and small capitals. The word "and" joining three or more authors should be in lowercase letters.

Examples of books, edited volumes, and special cases:

KIM, S.-C., D. J. CRAWFORD, J. FRANCISCO-ORTEGA, and A. SANTOS-GUERRA. 1996. A common origin for woody *Sonchus* and five

related genera in the Macaronesian islands: molecular evidence for extensive radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 93: 7743-7748.

SPECHT, C. D. and D. W. STEVENSON. In press. A new generic taxonomy for the monocot family Costaceae (Zingiberales). *Taxon*.

SMITH, C. F. 1998. *A flora of the Santa Barbara region, California*. Ed. 2. Santa Barbara: Santa Barbara Botanic Garden.

NOOTEBOOM, H. P. 2003. Symplocaceae. Pp. 443-449 in *The families and genera of vascular plants* vol. 6, ed. K. Kubitzki. Berlin: Springer Verlag.

SWOFFORD, D. L. 1998. PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), v. 4.0 beta 10. Sunderland: Sinauer Associates.

BAUML, J. A. 1979. *A study of the genus Hymenocallis (Amaryllidaceae) in Mexico*. M.S. thesis. Ithaca, NY: Cornell University.

DO NOT USE TABS TO MAKE HANGING INDENTS. Use paragraph formatting command.

VII. Tables (Continue page numbering, include in same file as text and literature cited.)

Each table must start on a separate sheet, doublespaced. Include tables in manuscript file, use page or section breaks and landscape layout as necessary to fit the table on the page. Use legal-size paper if necessary to allow adequate margins.

The title should be indented and begin with the word TABLE (large and small caps.) and number (in Arabic) followed by a period.

Do not use footnotes; instead, add notes to the end of the table caption. Do not use vertical lines in tables. DO NOT use tabs or spaces to align columns. Use the table building and formatting tools in your word processing package.

VIII. Figure Legends (Continue page numbering, include in same file as text. Not a separate file)

Double-space legends and group them according to figure arrangements. Quadruple space between groups. Do not use a separate page for each group. Type legends in paragraph form, starting with statement of inclusive numbers:

FIGS. 3-5. Seeds of orchids. 3. At germination. 4. 2 wk after germination. 5. Seedlings.

FIG. 6. *Ipomopsis spicata* subsp. *robruthii*. A. Habit. B. Flower.

IX. Preparation of Illustrations

Important: High quality digital images may be sent (see below), but high quality hard copy images are also required for the final submission. In cases of discrepancy between digital files and hard copy, or if digital files can not be used due to incorrect format or other problems, the supplied hard copy will be scanned and used in the final publication by the printer. Illustrations are either black and white half-tones (photograph), drawings, or graphs. Authors must pay costs for color illustrations.

Prepare illustrations using professional standards. Flaws will not be corrected.

Italicized words (e.g., names of species) should be italicized, not underlined. Consult recent issues of *Systematic Botany* for examples. Illustrations MUST have at least 1-inch (25 mm) margins.

Length for an illustration or plate as published is up to a maximum of 218 mm. Allow space for caption if possible.

Two widths are possible for figures:

Systematic Botany Checklist, p. 4

one-column width figure is 72 mm. full-page width figure is 148 mm. Original photographic figures must be submitted in final journal size for 100% reproduction.

Original black and white illustrations may be oversize if they fit in a 10 x 13" envelope.

Illustrations of highly magnified areas require a scale bar; a numerical magnification may also be included in the caption. Be sure to calculate magnification accordingly if reproduction is not at 100%.

If several photos are included, group them into one or more plates. The individual images should be butted together with no space between adjacent photos (printer will add white separator lines). Printer will not alter digital figure files in any way other than adding separator lines.

Group several drawings to form a plate of drawings, in the same order as discussed in the text.

Include a scale and references to latitude and longitude on each map.

Write author name and figure number on back of each figure or plate, on both originals and review copies.

Digital Illustrations: Grayscale images **must** be minimum of 350 dpi (138 pixels per cm). Color graphics **must** be CMYK mode, at least 350 pixels per inch (138 pixels per cm).

Line art (e.g., cladograms, botanical illustrations) **must** be at least 1200 pixels per inch (473 pixels per cm). It is essential that this resolution be obtained from the original scan or conversion from vector

artwork, NOT by changing the pixel density of an originally low pixels per inch or cm image. For final submission, we prefer to have **both** good quality printouts and high-resolution TIFF files. If this is a problem, please contact the Editor-in-Chief.

Unacceptable formats: JPEG, GIF, WMF, and files created using Microsoft PowerPoint or Word are not suitable; **do not** convert files made in PowerPoint or Word to another format as this only makes things worse. Unless figure is to be printed in color, always convert file to grayscale or bitmap (black and white) mode. The printer requires a publication quality, hardcopy printout of the digital image that must match the digital file—submit this hardcopy with the digital images and the final manuscript. Consult with editor if uncertain whether image file will be acceptable.

X. Data

All sequences used as data must be deposited in one of the international nucleotide sequence databases, preferably GenBank. Post-review final manuscript will not be accepted until sequence database accession numbers are included.

All data sets for phylogenetic analyses must be submitted to TreeBASE (<http://www.treeBASE.org>). A TreeBASE accession number (study number alone is acceptable) should be cited in the Materials and Methods section in the final version of the manuscript. For manuscript review, either submit the data file together with the manuscript (if data not yet in TreeBASE) or provide the name and P.I.N. of the author who submitted the data to treebase. Referees will need this information to gain access to the submitted data sets.

Italicize the full name of a gene, e.g., *rbcL*, *matK*. Representative photographic figures should be provided to document interpretations of isozymes/allozymes.

In addition to character state distributions, consistency index, and retention index (where appropriate), some measure of support for clades (e.g., bootstrap values, decay indices ["Bremer support"], jackknife, etc.) must be provided for phylogenetic analyses. Indicate in Materials and Methods the percentage of data matrix cells scored as missing data. When the data matrix is not part of the manuscript the data file or TreeBASE access information must be provided with submitted manuscript for use by reviewers. Voucher specimens should be cited in an appendix to document sources of morphological and molecular data. Vouchers should be herbarium

specimens, not living plant accession numbers from botanical gardens or DNA tube numbers, etc.

XI. Commentaries

Contributions to the Commentary Section may be submitted that discuss recent articles or current topics in systematics. These should be no more than five printed pages. In general, the format for longer articles should be followed.

An attempt will be made to solicit a "Counterpoint" view to be published immediately following the commentary to facilitate more timely.

Systematic Botany Checklist, p. 5

discussion on topics of particular interest. The commentary author will receive the counterpoint text before final manuscript is submitted.

XII. Before Submitting

Have all coauthors read the manuscript critically. Proofs and reprint order forms are sent to authors via email attachment as PDF files. Authors send corrected proof to Managing Editor and reprint orders to printer. Authors should make only necessary changes in proof. There is a mandatory charge for more than five changes made in proof. Papers longer than 50 printed pages should be sent to Editor-in-Chief of Systematic Botany Monographs.

XIII. What and Where to Submit

Authors have the choice of paper submission or electronic submission of manuscripts. **Electronic Submission – Initial Submission** All parts of the manuscript, including figures, must be included in one single file (PDF format preferred, Word or WordPerfect [Windows or Mac format] files are acceptable if PDF is not possible). All figures should be inserted at the end of the manuscript in numerical order, separated by page breaks.

For review copy, keep manuscript file size down by using jpeg format and reduced pixel density for figures (keep good quality figure files for later submission of final revised manuscript). File name must include the surname of the first author and date of submission (e.g., Clark20Nov02.doc) Cover letter (in the form of an email message; a separate file is not necessary). This should include any special instructions, any address change during the next several months, and phone and fax number and email address for the corresponding author. Names, addresses, and email addresses of possible objective reviewers should also be included.

Submit cover letter, manuscript file, data file(s), and completed checklist (download file, complete, and save- file name: "surname checklist.doc"). Send files as email attachments to Editor-in-Chief at address below. The author will receive an email message acknowledging receipt of the new submission. The manuscript will be forwarded to an Associate Editor for review.

Electronic Submission – Revised Manuscript

Final revised manuscript is submitted to the Associate Editor. The revised manuscript file should include all parts of the paper (except figures) in one file. File name takes the form: "Clark MS02-80 Final.doc" [the manuscript number is assigned when a new manuscript is received]. The final version must be submitted as a word processing file. Do not send PDF files. Original figures. Please send hard copy (e.g., halftones [photographic prints], botanical illustrations, etc.) by post directly to the Editor-in-Chief. Please send digital illustration files to the Associate Editor along with information on software, platform, and version used to create them. Files may be sent by on CD, email, or (if too large for email) by online filetransfer services such as www.dropload.com or www.yousendit.com. File names for figures include author surname, manuscript number, and figure number (e.g., "Clark MS02-80 Fig 1.tif"). Please also submit one set of high quality hard copy images (protected, for example between cardboard, to the Editor-in-Chief (see IX above). Send manuscript file and electronic figure files to Associate Editor as email attachments. Final revised manuscripts requiring significant editing by the Managing Editor to conform to Syst. Bot. style will be returned to authors causing significant delay in publication.

Paper Submission – Initial Submission

THREE copies of manuscript and three copies of illustrations plus disk copies of data files if not yet deposited in TreeBASE. DO NOT SUBMIT ORIGINAL ILLUSTRATIONS. Cover letter. This should include any special instructions, any address change during the next several months, and phone and fax number and email address for the corresponding author. Names, addresses, and email addresses of possible objective reviewers should also be included. This checklist with completed items marked. Send to Editor-in-Chief at address below. Paper Submission –

Revised Manuscript Final revised manuscript is submitted to the Associate Editor together with original figures and copy of manuscript on disk (one file containing full manuscript including text, literature cited, tables, figure captions, appendices). Microsoft Word or WordPerfect for Windows or Macintosh are preferred. This checklist with completed items marked.

REVISTA BRASILEIRA DE BOTÂNICA

A *Revista Brasileira de Botânica* (RBB), periódico editado pela Sociedade Botânica de São Paulo (SBSP), publica artigos originais de pesquisa completos e notas científicas em Ciências Vegetais, em Português, Espanhol ou Inglês, sendo recomendado este último. Os manuscritos completos (incluindo figuras e tabelas), **em quatro cópias**, devem ser enviados ao Editor Responsável da Revista Brasileira de Botânica, Caixa Postal 57088, 04089-972 São Paulo, SP, Brasil, acompanhados do "formulário para submissão de trabalhos" encontrado no site: www.botanicasp.org.br. Recomenda-se a consulta das instruções constantes nesse endereço eletrônico.

A aceitação inicial dos trabalhos depende de decisão do Corpo Editorial. Os artigos são avaliados por um editor de área e por, pelo menos, dois das respectivas áreas de especialidade. Os artigos devem conter as informações estritamente necessárias para a sua compreensão. Artigos que excedam 15 páginas impressas (cerca de 30 páginas digitadas, incluindo figuras e tabelas), poderão ser publicados, a critério do Corpo Editorial. **Fotografias coloridas** poderão ser publicadas, a critério do Corpo Editorial, **devendo o(s) autor(es) cobrir os custos de publicação** das mesmas. As notas científicas deverão apresentar contribuição científica ou metodológica original e não poderão exceder 10 páginas digitadas, incluindo até 3 ilustrações (figuras ou tabelas). Notas científicas seguirão as mesmas normas de publicação dos artigos completos. Artigos de revisão podem ser publicados, **a convite do corpo editorial**. Serão fornecidas, gratuitamente, 20 separatas dos trabalhos nos quais pelo menos um dos autores seja sócio quite da SBSP. Para os demais casos, as separatas poderão ser solicitadas por ocasião da aceitação do trabalho e fornecidas ao preço de custo.

Instruções aos autores

Preparar todo o manuscrito com numeração seqüencial das páginas incluindo tabelas e ilustrações utilizando: Word for Windows versão 6.0 ou superior; papel A4, todas as margens com 2 cm; fonte Times New Roman, tamanho 12 e espaçamento duplo.

Deixar apenas um espaço entre as palavras e não hifenizá-las. Usar tabulação (tecla Tab) apenas no início de parágrafos. Não usar negrito ou sublinhado. Usar itálico apenas para nomes científicos, palavras e expressões em latim ou em outra língua, descrições ou diagnoses de táxons novos e nomes e números de coletores.

Formato do manuscrito

Primeira página - Título: conciso e informativo (em negrito e apenas com as iniciais maiúsculas); nome completo do(s) autor(es) (em maiúsculas); filiação e endereço completo como nota de rodapé, indicando autor para correspondência e respectivo e-mail; título resumido. Auxílios, bolsas recebidas e números de processos, quando for o caso, devem ser referidos no item Agradecimentos.

Segunda página - ABSTRACT (incluir título do trabalho em inglês), Key words (até 5, em inglês, ordenadas alfabeticamente), RESUMO (incluir título do trabalho em português), Palavras-chave (até 5, em português, ordenadas alfabeticamente). O Abstract e o Resumo devem conter no máximo 250 palavras.

Texto - Iniciar em nova página colocando seqüencialmente: **Introdução, Material e métodos, Resultados / Discussão, Agradecimentos e Referências bibliográficas**. Citar cada figura e tabela no texto em ORDEM NUMÉRICA CRESCENTE.

Colocar as citações bibliográficas de acordo com os exemplos: Smith (1960) / (Smith 1960); Smith (1960, 1973); Smith (1960a, b); Smith & Gomez (1979) / (Smith & Gomez 1979); Smith *et al.* (1990) / (Smith *et*

al. 1990); (Smith 1989, Liu & Barros 1993, Araujo *et al.* 1996, Sanches 1997).

Em trabalhos taxonômicos, detalhar as citações de material botânico, incluindo ordenadamente: local e data de coleta, nome e número do coletor e sigla do herbário, conforme os modelos a seguir: BRASIL. MATO GROSSO: Xavantina, s.d., *H.S. Irwin s.n.* (HB3689). SÃO PAULO: Amparo, 23-XII-1942, *J.R. Kuhlmann & E.R. Menezes 290* (SP); Matão, ao longo da BR 156, 8-VI-1961, *G. Eiten et al. 2215* (SP, US). Os nomes de autores de táxons devem ser abreviados seguindo Brummit & Powell (1992), colocando espaços após cada ponto, como ex.: *Brassica nigra* (L.) W. D. J. Koch. O(s) nome(s) do(s) autor(es) em nível de espécie ou abaixo deve(m) ser citado(s) no Título, Resumo, Abstract e na primeira vez que aparece(m) no texto ou em Tabela. Abreviaturas de obras em trabalhos taxonômicos devem seguir o BPH. Citar referências a resultados não publicados ou trabalhos submetidos da seguinte forma: (S.E. Sanchez, dados não publicados) Citar números e unidades da seguinte forma: - Escrever números até nove por extenso, a menos que sejam seguidos de unidades ou indiquem numeração de figuras ou tabelas. - Utilizar, para número decimal, vírgula nos artigos em português ou espanhol (10,5 m) ou ponto nos artigos escritos em inglês (10.5 m).

- Separar as unidades dos valores por um espaço (exceto para porcentagens ou para graus, minutos e segundos de coordenadas geográficas); utilizar abreviações sempre que possível. - Utilizar, para unidades compostas, exponenciação e não barras (Ex.: mg dia⁻¹ ao invés de mg/dia, µmol min⁻¹ ao invés de µmol/min).

Não inserir espaços para mudar de linha, caso a unidade não caiba na mesma linha.

Não inserir figuras no arquivo do texto.

Referências bibliográficas - Indicar ao lado da referência, a lápis, a(s) página(s) onde a mesma foi citada. Adotar o formato apresentado nos seguintes exemplos:

ZAR, J.H. 1999. Biostatistical analysis. 4th ed., Prentice Hall, Upper Saddle River.

YEN, A.C. & OLMSTEAD, R.G. 2000. Phylogenetic analysis of *Carex* (Cyperaceae): generic and subgeneric relationships based on chloroplast DNA. *In* Monocots: Systematics and evolution (K.L. Wilson & D.A. Morrison, eds.). CSIRO Publishing, Collingwood, p.602-609.

BENTHAM, G. 1862. Leguminosae. Dalbergiae. *In* Flora brasiliensis (C.F.P. Martius & A.G. Eichler, eds.). F. Fleischer, Lipsiae, v.15, pars 1, p.1-349.

DÖBEREINER, J. 1998. Função da fixação de nitrogênio em plantas não leguminosas e sua importância no ecossistema brasileiro. *In* Anais do IV Simpósio de Ecossistemas Brasileiros (S. Watanabe, coord.). Aciesp, São Paulo, v.3, p.1-6.

FARRAR, J.F., POLLOCK, C.J. & GALLAGHER, J.A. 2000. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. *Plant Science* 154:1-11.

PUNT, W., BLACKMORE, S., NILSSON, S. & LE THOMAS, A. 1999. Glossary of pollen and spore terminology.

<http://www.biol.ruu.nl/~palaeo/glossary/glos-int.htm>

(acesso em 10/04/2003).

Citar dissertações ou teses **somente em caráter excepcional**, quando as informações nelas contidas forem imprescindíveis para o entendimento do trabalho e quando não estiverem publicadas na forma de artigos científicos. Nesse caso, utilizar o seguinte formato:

SANO, P.T. 1999. Revisão de *Actinoccephalus* (Koern.) Sano - Eriocaulaceae. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Não citar resumos de congressos.

Tabelas Usar os recursos de criação e formatação de tabela do Word for Windows. Evitar abreviações (exceto para unidades). Colocar cada tabela em página separada e o título na parte superior conforme exemplo: Tabela 1. Produção de flavonóides totais e fenóis totais (% de massa seca) em folhas de *Pyrostegia venusta*.

Não inserir linhas verticais; usar linhas horizontais apenas para destacar o cabeçalho e para fechar a tabela.

Figuras

Submeter **um conjunto de figuras originais** em preto e branco e **três cópias** com alta resolução.

Enviar ilustrações em pranchas (fotos ou desenhos, gráficos, mapas, esquemas) no **tamanho máximo de 23,0 × 17,5 cm**, incluindo-se, aí, o espaço necessário para a legenda. Não serão aceitas figuras que ultrapassem o tamanho estabelecido ou que apresentem qualidade gráfica ruim. Figuras digitalizadas podem ser enviadas, desde que possuam nitidez e que sejam impressas em papel fotográfico ou “glossy paper”. **Figuras em meio digital devem vir em formato .tif com, pelo menos, 600 dpi de resolução e NUNCA devem ser coladas no MS Word ou no Power Point.**

Gráficos ou outras figuras que possam ser publicados em uma única coluna (8,5 cm) serão reduzidos; atentar, portanto, para o tamanho de números ou

letras, para que continuem visíveis após a redução. Tipo e tamanho da fonte, tanto na legenda quanto no gráfico, deverão ser os mesmos utilizados no texto. Gráficos e figuras confeccionados em planilhas eletrônicas **devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original**. Colocar cada prancha em página separada e o conjunto de legendas das figuras, seqüencialmente, em outra(s) página(s). Nos trabalhos em Português ou Espanhol, devem ser enviadas duas legendas para cada figura e tabela, uma na língua original do artigo e outra em Inglês.

Utilizar escala de barras para indicar tamanho. A escala, sempre que possível, deve vir à esquerda da figura; o canto inferior direito deve ser reservado para O(S) NÚMERO(S) DA(S) FIGURA(S). Letras devem ser utilizadas somente para legenda interna.

Detalhes para a elaboração do manuscrito são encontrados nas últimas páginas de cada fascículo. Sempre que houver dúvida consulte o fascículo mais recente da RBB. O trabalho somente receberá data definitiva de aceite após aprovação pelo Corpo Editorial, tanto em relação ao mérito científico quanto ao formato gráfico. A versão final do trabalho, aceita para publicação, deverá ser enviada em uma via impressa e em disquete, devidamente identificados.

NORMAS GERAIS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS NA ACTA BOTANICA BRASILICA

1.A *Acta Botanica Brasilica* publica artigos originais em todas as áreas da Botânica, básica ou aplicada, em Português, Espanhol ou Inglês. Os trabalhos deverão ser motivados por uma pergunta central que denote a originalidade e o potencial interesse da pesquisa, de acordo com o amplo espectro de leitores nacionais e internacionais da Revista, inserindo-se no debate teórico de sua área.

2. Os artigos devem ser concisos, em **quatro vias, com até 25 laudas**, seqüencialmente numeradas, incluindo ilustrações e tabelas (usar fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço entre linhas 1,5; imprimir em papel tamanho A4, margens ajustadas em 1,5 cm). A critério da Comissão Editorial, mediante entendimentos prévios, artigos mais extensos poderão ser aceitos, sendo o excedente custeado pelo(s) autor(es).

3. Palavras em latim no título ou no texto, como por exemplo: *in vivo*, *in vitro*, *in loco*, *et al.* devem estar em itálico.

4. O título deve ser escrito em caixa alta e baixa, centralizado, e deve ser citado da mesma maneira no Resumo e Abstract da mesma maneira que o título do trabalho. Se no título houver nome específico, este deve vir acompanhado dos nomes dos autores do táxon, assim como do grupo taxonômico do material tratado (ex.: Gesneriaceae, Hepaticae, etc.).

5. O(s) nome(s) do(s) autor(es) deve(m) ser escrito(s) em caixa alta e baixa, todos em seguida, com números sobrescritos que indicarão, em rodapé, a filiação Institucional e/ou fonte financiadora do trabalho (bolsas, auxílios etc.). Créditos de financiamentos devem vir em **Agradecimentos**, assim como vinculações do artigo a programas de pesquisa mais amplos, e não no rodapé. Autores devem fornecer os endereços completos, evitando abreviações, elegendo apenas um deles como Autor para correspondência. Se desejarem, todos os autores poderão fornecer e-mail.

6. A estrutura do trabalho deve, sempre que possível, obedecer à seguinte seqüência:

- **RESUMO** e **ABSTRACT** (em caixa alta e negrito) – texto corrido, sem referências bibliográficas, em um único parágrafo e com cerca de 200 palavras. Deve ser precedido pelo título do artigo em Português, entre parênteses. Ao final do resumo, citar até cinco palavras-chave à escolha do autor, em ordem de importância. A mesma regra se aplica ao Abstract em Inglês ou Resumen em Espanhol.

- **Introdução** (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): deve conter uma

visão clara e concisa de: a) conhecimentos atuais no campo específico do assunto tratado; b) problemas científicos que levou(aram) o(s) autor(es) a desenvolver o trabalho; c) objetivos.

- **Material e métodos** (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): deve conter descrições breves, suficientes à repetição do trabalho; técnicas já publicadas devem ser apenas citadas e não descritas. Indicar o nome da(s) espécie(s) completo, inclusive com o autor. Mapas - podem ser incluídos se forem de extrema relevância e devem apresentar qualidade adequada para impressão. Todo e qualquer comentário de um procedimento utilizado para a análise de dados em **Resultados** deve, obrigatoriamente, estar descrito no item **Material e métodos**.

- **Resultados e discussão** (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): podem conter tabelas e figuras (gráficos, fotografias, desenhos, mapas e pranchas) estritamente necessárias à compreensão do texto. Dependendo da estrutura do trabalho, resultados e discussão poderão ser apresentados em um mesmo item ou em itens separados.

As figuras devem ser todas numeradas seqüencialmente, com algarismos arábicos, colocados no lado inferior direito; as escalas, sempre que possível, devem se situar à esquerda da figura. As tabelas devem ser seqüencialmente numeradas, em arábico com numeração independente das figuras. Tanto as figuras como as tabelas devem ser apresentadas em folhas separadas (uma para cada figura e/ou tabela) ao final do texto (originais e 3 cópias). Para garantir a boa qualidade de impressão, as figuras não devem ultrapassar duas vezes a área útil da revista que é de 17,5×23,5 cm. Tabelas - Nomes das espécies dos táxons devem ser mencionados acompanhados dos respectivos autores. Devem constar na legenda informações da área de estudo ou do grupo taxonômico. Itens da tabela, que estejam abreviados, devem ter suas explicações na legenda.

As ilustrações devem respeitar a área útil da revista, devendo ser inseridas em coluna simples ou dupla, sem prejuízo da qualidade gráfica. Devem ser apresentadas em tinta nanquim, sobre papel vegetal ou cartolina ou em versão eletrônica, gravadas em .TIF, com resolução de pelo menos 300 dpi (ideal em 600 dpi). Para pranchas ou fotografias - usar números arábicos, do lado direito das figuras ou fotos. Para gráficos - usar letras maiúsculas do lado direito.

As fotografias devem estar em papel brilhante e em branco e preto. **Fotografias coloridas poderão ser aceitas a critério da Comissão Editorial, que deverá ser previamente consultada, e se o(s) autor(es) arcar(em) com os custos de impressão.**

As figuras e as tabelas devem ser referidas no texto em caixa alta e baixa, de forma abreviada e sem plural (Fig. e Tab.). Todas as figuras e tabelas apresentadas devem, obrigatoriamente, ter chamada no texto.

Legendas de pranchas necessitam conter nomes dos táxons com respectivos autores. Todos os nomes dos gêneros precisam estar por extenso nas figuras e tabelas. Gráficos - enviar os arquivos em Excel. Se não estiverem em Excel, enviar cópia em papel, com boa qualidade, para reprodução.

As siglas e abreviaturas, quando utilizadas pela primeira vez, devem ser precedidas do seu significado por extenso. Ex.: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Usar unidades de medida de modo abreviado (Ex.: 11 cm; 2,4 µm), o número separado da unidade, com exceção de percentagem (Ex.: 90%).

Escrever por extenso os números de um a dez (não os maiores), a menos que seja medida. Ex.: quatro árvores; 6,0 mm; 1,0-4,0 mm; 125 exsiccatas.

Em trabalhos taxonômicos o material botânico examinado deve ser selecionado de maneira a citarem-se apenas aqueles representativos do táxon em questão e na seguinte ordem:

PAÍS. Estado: Município, data, fenologia, coletor(es) número do(s) coletor(es) (sigla do Herbário).

Ex.: **BRASIL. São Paulo:** Santo André, 3/XI/1997, fl. fr., *Milanez 435* (SP).

No caso de mais de três coletores, citar o primeiro seguido de *et al.* Ex.: Silva *et al.* (atentar para o que deve ser grafado em CAIXA ALTA, Caixa Alta e Baixa, caixa baixa, **negrito, itálico**).

Chaves de identificação devem ser, preferencialmente, indentadas. Nomes de autores de táxons não devem aparecer. Os táxons da chave, se tratados no texto, devem ser numerados seguindo a ordem alfabética. Ex.:

1. Plantas terrestres
2. Folhas orbiculares, mais de 10 cm diâm 2. *S. orbicularis*
2. Folhas sagitadas, menos de 8 cm compr. 4. *S. sagittalis*
1. Plantas aquáticas
3. Flores brancas 1. *S. albicans*
3. Flores vermelhas 3. *S. purpurea*

O tratamento taxonômico no texto deve reservar o itálico e o negrito simultâneos apenas para os nomes de táxons válidos. Basiônimo e sinonímia aparecem apenas em itálico. Autores

de nomes científicos devem ser citados de forma abreviada, de acordo com índice taxonômico do grupo em pauta (Brummit & Powell 1992 para *Fanerógamas*). Ex.: 1. *Sepulveda albicans* L., Sp. pl. 2: 25. 1753. *Pertencia albicans* Sw., Fl. bras. 4: 37, t. 23, f. 5. 1870. Fig. 1-12

Subdivisões dentro de Material e métodos ou de Resultados e/ou discussão devem ser escritas em caixa alta e baixa, seguida de um traço e o texto segue a mesma linha. Ex.: Área de estudo - localiza-se. Resultados e discussão devem estar incluídos em conclusões.

- **Agradecimentos** (em caixa alta e baixa, negrito, deslocado para a esquerda): devem ser sucintos; nomes de pessoas e Instituições devem ser por extenso, explicitando o porquê dos agradecimentos.

- Referências bibliográficas

- Ao longo do texto: seguir esquema autor, data. Ex.: Silva (1997), Silva & Santos (1997), Silva *et al.* (1997) ou Silva (1993; 1995), Santos (1995; 1997) ou (Silva 1975; Santos 1996; Oliveira 1997).

- Ao final do artigo: em caixa alta e baixa, deslocado para a esquerda; seguir ordem alfabética e cronológica de autor(es); **nomes dos periódicos e títulos de livros devem ser grafados por extenso e em negrito**. Exemplos: Santos, J. 1995. Estudos anatômicos em Juncaceae. Pp. 5-22. In: **Anais do XXVIII Congresso Nacional de Botânica**. Aracaju 1992. São Paulo, HUCITEC Ed. v.I.

Santos, J.; Silva, A. & Oliveira, B. 1995. Notas palinológicas. *Amaranthaceae*. **Hoehnea** 33(2): 38-45.

Silva, A. & Santos, J. 1997. Rubiaceae. Pp. 27-55. In: F.C. Hoehne (ed.). **Flora Brasílica**. São Paulo, Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

Para maiores detalhes consulte os últimos fascículos rescentes da Revista, ou os links da mesma na internet: www.botanica.org.br ou ainda artigos on line por intermédio de www.scielo.br/abb.

Não serão aceitas Referências bibliográficas de monografias de conclusão de curso de graduação, de citações resumos **simples** de Congressos, Simpósios, Workshops e assemelhados. Citações de Dissertações e Teses **devem ser evitadas ao máximo; se necessário, citar no corpo do texto**. Ex.: J. Santos, dados não publicados ou J. Santos, comunicação pessoal.