



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
MINISTÉRIO DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI – MPEG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BOTÂNICA TROPICAL**

LAYSE KRISTINE CORRÊA LOPES

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E SUAS IMPLICAÇÕES SISTEMÁTICAS
PARA *SELAGINELLA* (SELAGINELLACEAE)**

**BELÉM-PA
2019**

LAYSE KRISTINE CORRÊA LOPES

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E SUAS IMPLICAÇÕES SISTEMÁTICAS
PARA *SELAGINELLA* (SELAGINELLACEAE)**

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas – Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Morfologia e Sistemática Vegetal ou de Fungos.

Orientadora: Dr^a. Ana Carla Feio dos Santos

**BELÉM-PA
2019**

Lopes, Layse Kristine Corrêa

Caracterização anatômica e suas implicações sistemáticas para *Selaginella* (Selaginellaceae). / Layse Kristine Corrêa Lopes; Orientação de Ana Carla Feio dos Santos – Belém, 2019.

87f.: il.

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Botânica Tropical da Universidade Federal Rural da Amazônia e Museu Paraense Emílio Goeldi, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

1. Selaginella. 2. Caule. I. Santos, Ana Carla Feio, Orient. II. Título.

CDD 587.9

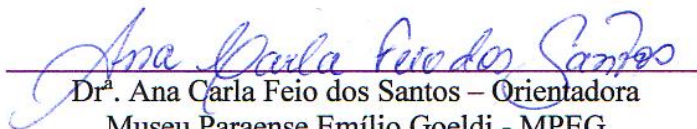
LAYSE KRISTINE CORRÊA LOPES

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E SUAS IMPLICAÇÕES SISTEMÁTICAS
PARA *SELAGINELLA* (SELAGINELLACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi como parte das exigências do Curso de Mestrado em Botânica Tropical, para obtenção do título de mestre. Área de Concentração: Morfologia e Sistemática Vegetal ou de Fungos.

19 de fevereiro de 2019
Data da aprovação

Banca Examinadora:


Dr^a. Ana Carla Feio dos Santos – Orientadora
Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG


Dr^a. Thais Elias Almeida - 1^a examinadora
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA


Dr^a. Fernanda Ilkiu Borges de Souza - 2^a examinadora
Embrapa Amazônia Oriental


Dr. Pedro Lage Viana – 3^o examinador
Museu Paraense Emílio Goeldi – MPEG

Dr^a. Anna Luiza Ilkiu Borges Benkendorff – Suplente
Museu Paraense Emílio Goeldi – MPEG

**Em memória de minha avó Maria Matias Corrêa,
aos meus pais que nunca deixaram de acreditar
nos meus sonhos e a minha irmã que sempre me
incentivou durante minha trajetória no curso de
mestrado em Botânica Tropical.**

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida;

À Universidade Federal Rural da Amazônia e ao Museu Paraense Emílio Goeldi pela oportunidade de realizar este curso tão sonhado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida;

À minha orientadora prof^a. Dr^a. Ana Carla Feio por todos os ensinamentos repassados, pelo apoio, e principalmente pela paciência e puxões de orelha tão necessários ao longo destes dois anos do curso de mestrado. Sinto-me extremamente honrada pela sua orientação. Muito obrigada!

Ao meu coorientador Dr. Luiz Góes-Neto pelo fornecimento de amostras para a realização do estudo;

À banca examinadora por aceitar o convite e pelas contribuições a serem feitas na dissertação;

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal pelas trocas de conhecimento, pela companhia, risos e ajuda dada durante todo o tempo de convivência;

À minha família em especial a minha mãe Maria Francelina pelas orações, pela torcida e por acreditar em mim desde o processo de seleção do mestrado, álias, por acreditar desde sempre! Ao meu pai Ronildo Lopes pela compreensão e por não medir esforços em me ajudar nas tantas vezes que precisei e a minha irmã Larissa Lopes por todas as palavras de afeto e de apoio. Amo vocês, meus amores!

À Charlene Silva que sempre esteve ao meu lado, pela paciência em me ouvir falando de trabalhos do mestrado por horas, pela torcida e apoio incondicionais, e principalmente pelos abraços dados nos momentos de aflição, por nunca soltar a minha mão. Obrigada por estar comigo na realização de mais um sonho.

À Nara Natasha pela ajuda nas inúmeras traduções de artigos e ao Marlon Myron pela ajuda e opiniões tão valiosas. Amigos maravilhosos, vocês foram essenciais!

À Luciula Barbosa e a Ana Luísa Lima que compartilharam as angústias de apresentação de seminários, preparação para provas, trabalhos, prazos apertados, disciplinas maravilhosas.

À todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E SUAS IMPLICAÇÕES SISTEMÁTICAS
PARA *SELAGINELLA* (SELAGINELLACEAE)**

“The road is rough,

but i'm gonna make it...”

Jimmy London

RESUMO

As espécies de *Selaginella* P. Beauv. apresentam dados anatômicos utilizados tanto na caracterização de espécies como nas delimitações subgenéricas, no entanto, não são devidamente explorados, principalmente as características relacionadas ao caule e aos microfilos. Nesse contexto, tem-se a recente circunscrição de *Selaginella* subg. *Gymnogynum* que apresenta fragilidades na definição e na descrição das articulações e do sistema vascular caulinar, onde uma revisão estrutural pode melhorar a delimitação de espécies no subgênero. Diante disso, o objetivo do trabalho foi descrever e revisar a diversidade estrutural das articulações e o padrão do sistema vascular caulinar, assim como fornecer informações adicionais para delimitar as espécies de *S.* subg. *Gymnogynum*. As amostras foram oriundas de herbários brasileiros, representando os subgêneros *Gymnogynum*, *Exaltatae* e *Stachygynandrum*, onde passaram pelo processo de reversão de herborização e tratamentos subsequentes sendo destinadas à microscopia de luz. Como resultados, todas as espécies de *Gymnogynum* e *Selaginella exaltata* (subg. *Exaltatae*) são articuladas. A região da articulação pode ser caracterizada e classificada com base na ocorrência de dilatações ou nódulos (hiperplasia), a presença predominante de pectina na parede celular e a formação de sulcos que alcançam até a região cortical (constrições), que combinados formam cinco tipos articulares, somente *Selaginella anaclasta* (subg. *Exaltatae*) e *Selaginella coarctata* (subg. *Stachygynandrum*) não apresentam articulações. Os tipos de sistema vascular caulinar encontrados foram: haplostelo, actinostelo, plectostelo e actino-plectostelo. Em *Gymnogynum*, foi observada a ocorrência de haplostelo bistélico, além de duas variações de actinostelo e plectostelo. O estudo revelou a diversidade anatômica presente no caule de *Selaginella* subg. *Gymnogynum*, com informações adicionais para os subgêneros *Exaltatae* e *Stachygynandrum*, expandindo o banco de dados anatômicos detalhados que poderão contribuir para delimitação mais acurada dos táxons e para estudos posteriores de história evolutiva. Nos microfilos de *Selaginella* são observadas estruturas que recebem diferentes denominações dentre elas: idioblastos e papilas, e assemelham a corpos de sílica. No entanto, não há estudos que atestem a composição e que confirmem a natureza de tais estruturas. O objetivo do trabalho foi preencher as lacunas quanto ao conhecimento de corpos silicosos no gênero, a partir de uma análise comparativa dos microfilos, com uma amostragem significativa de cinco subgêneros de *Selaginella*, para investigar a presença e distribuição de corpos de sílica, visando reinterpretar este caráter. As amostras foram oriundas de herbários brasileiros, com 55 espécies representando os subgêneros *Exaltatae*, *Gymnogynum*, *Rupestrae*, *Selaginella* e *Stachygynandrum*, onde passaram por tratamentos convencionais e foram destinadas à microscopia eletrônica de varredura. No microfilos constatou-se que as estruturas são corpos de sílica. Foram observados quatro padrões de distribuição na superfície foliar conforme as regiões do microfilos (margem, região intermediária e nervura): medial-marginal; laminar; marginal; medial-costal. A partir da pesquisa realizada nos microfilos, a criação de padrões de distribuição e a revisão terminológica, certas implicações taxonômicas podem ser extraídas e a presença de corpos de sílica é uma potencial sinapomorfia para *Selaginella*. Contudo, há necessidade de aprofundar estudos de evolução deste caráter, sendo indispensável as análises anatômicas aprofundadas para o diagnóstico correto.

Palavras-chave: Articulação. Caule. Estelo. Licófitas. Microfilos. Silício. Taxonomia.

ABSTRACT

The species of *Selaginella* P. Beauv. present anatomical data used both in the characterization of species and in the subgeneric delimitations, however they are not properly explored, especially the stem and microphyll characteristics. In this context, it has been the recent circumscription of *Selaginella* subg. *Gymnogynum* that presents a weak in the definition and description of the articulation and the vascular system, where a structural revision can improve the delimitation of species in the subgenera. Therefore, the objective of this work was to describe and review the structural diversity of the articulations and the pattern of the vascular system, as well as to provide additional information to delimit the species of *S.* subg. *Gymnogynum*. The samples were from Brazilian herbariums, representing the subgenera *Gymnogynum*, *Exaltatae* and *Stachygynandrum*, where they underwent the herborization reversal process and subsequent treatments were destined to light microscopy. As a result, all species of *Gymnogynum* and *Selaginella exaltata* (subg. *Exaltatae*) are articulated. The region of the articulation can be characterized and classified based on the occurrence of dilatations or nodules (hyperplasia), the predominant presence of pectin in the cell wall and the formation of grooves that reach up to the cortical region (constrictions), which combine to form five articulation types, only *Selaginella anaclasta* (subg. *Exaltatae*) and *Selaginella coarctata* (subg. *Stachygynandrum*) do not present articulations. The types of vascular system found were: haplostele, actinosteles, plectosteles and actino-plectostely. In *Gymnogynum*, the occurrence of bistelic haplostele was observed, besides two variations of actinostele and plectostele. The study revealed the anatomical diversity present in the stem of *Selaginella* subg. *Gymnogynum*, with additional information for the subgenus *Exaltatae* and *Stachygynandrum*, expanding the detailed anatomical database that could contribute to a more accurate delimitation of the taxa and to later studies of evolutionary history. In the microphylls of *Selaginella* structures are observed that receive different denominations among them: idioblasts and papilas, and resemble the silica bodies. However, there are no studies that attest to the composition and confirm the nature of such structures. The objective of this work was to fill the gaps regarding the knowledge of siliceous bodies in the genus, based on a comparative analysis of microphylls, with a significant sampling of five subgenera of *Selaginella*, to investigate the presence and distribution of silica bodies, aiming to reinterpret this character. The samples were from Brazilian herbariums, with 55 species representing the subgenus *Exaltatae*, *Gymnogynum*, *Rupestrae*, *Selaginella* and *Stachygynandrum*, where they underwent conventional treatments and were destined to scanning electron microscopy. In the microphyll it was found that the structures are silica bodies. Four leaf distribution patterns were observed according to the regions of the microphyll (margin, intermediate region and vein): medial-marginal; laminar; marginal; medial-costal. From the research done on microphylls, the creation of distribution patterns and terminological revision, certain taxonomic implications can be extracted and the presence of silica bodies is a potential synapomorphy for *Selaginella*. However, there is a need to deepen studies of the evolution of this character, and the in-depth anatomical analysis for the correct diagnosis is indispensable.

Keywords: Articulation. Stem. Estele. Lycophytes. Microphyll. Silicon. Taxonomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

Figura 1	Visão geral anatômica do caule de <i>Selaginella</i> (em seção longitudinal)	37
Figura 2	Visão geral anatômica do caule de <i>Selaginella</i> (em seção transversal)	40

CAPÍTULO 2

Figura 1	Espectroscopia de dispersão de energia por raio-X	62
Figura 2	Padrões de distribuição dos corpos de sílica em <i>Selaginella</i>	63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Apêndice I	Espécies analisadas e materiais com vouchers selecionados. Acrônimos dos herbários entre parênteses de acordo com Thiers (2018)	42
Tabela 1	Diversidade estrutural da articulação e sistema vascular caulinar	43

CAPÍTULO 2

Tabela 1	<i>Taxa</i> analisados e vouchers de materiais selecionados. Acrônimos de herbários entre parênteses de acordo com Thiers (2018)	58
Tabela 2	Padrões de distribuição dos corpos de sílica nos microfilos de <i>Selaginella</i>	60

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO	11
1.1	<i>Selaginella</i>	11
1.2	Anatomia aplicada à taxonomia	12
1.3	A articulação	12
1.4	O sistema vascular caulinar	13
1.5	Corpos de sílica	14
	REFERÊNCIAS	16
2	CAPÍTULO 1: Anatomia caulinar na taxonomia de <i>Selaginella</i> subg. <i>Gymnogynum</i> (Selaginellaceae)	21
	RESUMO	21
	ABSTRACT	22
2.1	Introdução	23
2.2	Material e métodos	25
2.3	Resultados	26
2.4	Discussão	28
2.5	Conclusões	32
	AGRADECIMENTOS	32
	REFERÊNCIAS	32
3	CAPÍTULO 2: Corpos de sílica em <i>Selaginella</i> (Selaginellaceae)	44
	RESUMO	44
	ABSTRACT	44
3.1	Introdução	45
3.2	Material e métodos	46
3.3	Resultados	47
3.4	Discussão	49
3.5	Conclusões	51
	AGRADECIMENTOS	52
	LITERATURA CITADA	52
4	CONCLUSÕES GERAIS	66
	ANEXO I	67
	ANEXO II	74

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 *Selaginella*

Selaginellaceae Willk. é uma família botânica monogenérica pertencente à classe Lycopodiopsida, juntamente com Isoëtaceae Dumort. e Lycopodiaceae Mirbel, em que para *Selaginella* P. Beauv. são registradas 700–800 espécies amplamente distribuídas, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (GÓES-NETO; SALINO, 2018; PPG I, 2016). No entanto, existem espécies do gênero resistentes à seca, bem como a condições climáticas alpinas e árticas (JERMY, 1990). No Brasil ocorrem em diferentes domínios fitogeográficos e são registrados até o momento aproximadamente 95 espécies, dentre estas 37 são endêmicas (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2018; GÓES-NETO et al., 2016; VALDESPINO et al., 2018).

O gênero é caracterizado por plantas terrestres ou rupícolas, raramente epífitas, onde a posição do caule em relação ao solo se apresenta principalmente de forma reptante, decumbente, cespitoso, ereto ou escandente. No caule, próximo as dicotomias podem estar presentes articulações e o rizóforo que ocorre na região dorsal ou ventral caular. As folhas são do tipo microfilo que podem ser isófilas dispostas em várias filas, ou mais comumente anisófilas em quatro fileiras, duas filas laterais de folhas maiores e duas fileiras de folhas medianas, com folhas axilares e presença de lígula foliar. Os esporos são caracterizados como megasporos e micrósporos, uma sinapomorfia compartilhada com Isoëtaceae, sendo subtendidos por esporofilos e dispostos em estróbilos (GÓES-NETO, 2016; GÓES-NETO et al., 2016; GÓES-NETO; SALINO, 2018; JERMY, 1990; KORALL et al., 1999; MICKEL et al., 2004; VALDESPINO et al., 2015; WIKSTRÖM; KENRICK, 1997).

As classificações mais recentes de *Selaginella* são caracterizadas por seis subgêneros (ZHOU; ZHANG, 2015) viz. *Boreoselaginella* Warb., *Ericetorum* Jermy, *Heterostachys* Baker, *Pulviniella* Li Bing Zhang & X.M. Zhou, *Selaginella*, *Stachygynandrum* (P.Beauv. ex Mirb.) Baker, ou sete subgêneros (WESTSTRAND; KORALL, 2016b) viz. *Ericetorum*, *Exaltatae* Weststrand & Korall, *Gymnogynum* (P.Beauv.) Weststrand & Korall, *Lepidophyllae* (Li Bing Zhang & X.M. Zhou) Weststrand & Korall, *Rupestrae* Weststrand & Korall, *Selaginella* e *Stachygynandrum*. As circunscrições subgenéricas em ambas as classificações são baseadas na forma de crescimento, posição dos rizóforos, isofilia e anisofilia dos microfilos e dos esporofilos, características dos esporos, e dados genômicos sobre o DNA nuclear e o DNA cloroplastidial. A classificação de Zhou e Zhang (2015) ainda

incluiu dados sobre a distribuição geográfica, enquanto em Weststrand e Korall (2016b) foram adicionadas informações sobre ocorrência de articulações e tipos de sistema vascular caulinar.

1.2 Anatomia aplicada à taxonomia

Para Maideen et al. (2013), problemas relacionados a taxonomia em *Selaginella* são em função de similaridade nas características morfológicas e que através de estudos anatômicos poderiam ser solucionados. Como exemplo, as articulações utilizadas na delimitação de *S. subg. Gymnogynum* e *S. subg. Exaltatae*, ainda não apresentam função esclarecida e caracterização estrutural (FEIO; GÓES-NETO, 2018; SOMERS, 1982). Em trabalhos sobre o gênero, dados macromorfológicos são preferencialmente empregados, dada a facilidade no acesso às informações em comparação a anatomia e a processos que necessitam de um tempo maior de preparo para observação, como visto em inúmeras análises em micromorfologia. No geral, os estudos que utilizam características anatômicas aplicadas à taxonomia para o gênero são pouco explorados e restringem-se a análises não mais que descritivas ou com descrições anatômicas imprecisas como observado nas descrições do sistema vascular caulinar realizadas por Weststrand e Korall (2016b). Logo, não demonstram toda a riqueza existente em dados de origem anatômica.

No que diz respeito a trabalhos de anatomia aplicada à taxonomia de outras famílias botânicas, podem ser citados aqueles realizados com espécies de samambaias, foram apresentadas características anatômicas significativas sobre estruturas caulinares, através destes estudos, o sistema vascular caulinar foi indicado como um carácter conservado, por sofrer poucas influências do meio ambiente, tal informação anatômica, é considerada como um elemento diagnóstico importante para a taxonomia em estudos comparativos, além de ser apresentado como possível uma fonte de dados para filogenia, história evolutiva e paleobotânica (BECARI-VIANA; SCHWARTSBURD, 2017; NOPUN et al., 2016; SRIVASTAVA; CHANDRA, 2009).

1.3 A articulação

As articulações são utilizadas para fins taxonômicos no gênero e podem ser caracterizadas como estruturas presentes no caule de algumas espécies de *Selaginella*, definidas como elevações tanto no caule principal como nos ramos, onde estão situadas geralmente logo abaixo das dicotomias (SOMERS, 1978). Apresentam variação de cores e

formas, sendo uma característica relacionada à série *Articulatae* Spring (SOMERS, 1978) e atualmente estão presentes nos subgêneros *Gymnogynum* e *Exaltatae* segundo a circunscrição de Weststrand e Korall (2016b), no entanto, em *Gymnogynum* todos os representantes são descritos como articulados (BRAUN, 1865; HIERONYMUS; SADEBECK, 1901; JERMY, 1986; WALTON; ALSTON, 1938; ZHOU et al., 2016). As articulações são classificadas em três tipos: quando apresentam coloração escura em contraste com o resto do caule são denominadas enegrecidas; quando ocorre o estrangulamento do caule, as articulações são subdivididas em: nodosas, com expansão visível no caule e inconspícuas, quando o estrangulamento ocorre de forma discreta (ASSIS, 2016; SOMERS, 1978).

Apesar de serem empregadas na taxonomia do gênero e com informações tipológicas sobre a sua morfologia, as articulações ainda permanecem sem função esclarecida e caracterização estrutural abrangente, algumas hipóteses foram formuladas na tentativa de estabelecer possíveis funções, mas nenhuma delas foi confirmada. Para Hieronymus e Sadebeck (1901), as articulações seriam uma forma de reprodução assexuada do tipo vegetativa, enquanto Somers (1978) sugeriu que as plantas sejam separadas e transportadas para outros locais onde pudessem enraizar, como consequência da ação de ventos fortes e, talvez em razão do peso das próprias plantas. Para Feio e Góes-Neto (2018), as características articulares possibilitariam a flexibilidade do caule, que sofre com a ação de fatores abióticos como a chuva, o vento e impactos físicos.

1.4 O sistema vascular caulinar

Como relatado por Becari-Viana e Schwartsburd (2017), Nopun et al. (2016) e Srivastava e Chandra (2009) o sistema vascular caulinar é uma região que tende a ser conservada por sofrer poucas influências ambientais. Para *Selaginella*, o sistema vascular geralmente está no centro de uma lacuna (espaço intercelular), onde é suspenso por um tipo de endoderme, formada por conjunto de células radialmente alongadas chamada trabécula (OGURA, 1972).

Ogura (1972) relatou seis tipos vasculares para o gênero, que variam em relação à forma: 1. protostélico, consiste em um feixe circular concêntrico, cujo xilema possui entre sete e oito protoxilemas exarcos; 2. monostélico, caracterizado por um único feixe vascular cercado por uma lacuna e é subdividido em: a) O feixe é achatado, consistindo de uma forma protostélica concêntrica, bicolateral ou dorsiventral, provido de protoxilemas nas extremidades, b) Composto por um feixe achatado e um pequeno acessório; 3. bistélico, dois

meristelos (unidades de feixe vascular) cada um dos quais é fechado por sua própria lacuna e é subdividido em: a) Dois meristeleos planos são dispostos em paralelo, nos lados dorsal e vertical do caule rastejante, b) Dois meristelos elípticos são dispostos lado a lado; 4. tristélico, três meristelos planos dispostos paralelamente um ao outro, onde os dois externos são um pouco mais curtos em relação ao do meio; 5. polistélico, vários meristelos, dos quais os maiores estão dispostos em um anel, enquanto os menores estão situados dentro deles, dispostos de forma irregular, cada meristema é fechado por sua própria lacuna; 6. solenostélico, o raio do xilema com alguns protoxilemas é protegido por floemas externos e internos e ainda por lacunas externas e internas, e no centro é situado um pequeno meristema medular acessório, sem protoxilema, cercado por sua própria lacuna.

Mickell e Hellwig (1969) descreveram o tipo actino-plectostelo (plectostelo trilobado) para *S. exaltata* (Kunze) Spring, como sendo a anatomia vascular mais complexa conhecida para *Selaginella*. Em seção transversal, o xilema é encontrado disperso e rodeado por floema com esclerênquima ocorrendo entre suas porções. O sistema vascular é em forma de 'T' em vista transversal, com o fundo do 'T' em direção ao lado ventral do corpo da planta, um padrão que se repete nos ramos primário e secundário (MICKELL; HELLWIG, 1969).

Na filogenia de Weststrand e Korall (2016a), *S. exaltata* está incluída no subgênero *Exaltatae*, juntamente com espécies do tipo actinostelo, que é caracterizado pelo xilema que em corte transversal, dispõe-se de forma lobada (LELLINGER, 2002). Ogura (1972) e Weststrand e Korall (2016) destacam que os tipos de sistema vascular caulinar mais comuns para *Selaginella* são mono e bistélico.

1.5 Corpos de sílica

O silício é o segundo elemento mais abundante após o oxigênio na crosta terrestre, sendo encontrado principalmente na forma de sílica ou dióxido de silício (CHAUHAN et al., 2011; LIMA-FILHO et al., 1999). Nas plantas, a sílica biogênica pode ser depositada sobre as células epidérmicas, em cavidades dentro e entre as células, onde é chamada de corpos de sílica (CHAUHAN et al., 2009). Os corpos de sílica são um tipo de fitólito que se forma devido à absorção de ácido silicoso dissolvido na água do solo durante o crescimento das plantas (CHAUHAN et al., 2009; PIPERNO; PEARSALL, 1998).

As funções relacionadas à ocorrência dos corpos de sílica nas plantas são principalmente associadas à proteção e resistência, contra a ação de herbívoros, agentes patógenos e condições climáticas desfavoráveis como a seca, pois funcionariam como barreira

mecânica em função da deposição de sílica na parede das células (CHAUHAN et al., 2011; MA; YAMAJI, 2008; MORAES et al., 2004). Nas folhas, a sílica se associa com a cutícula e regula a taxa de transpiração da epiderme (YOSHIDA et al., 1962). Para Dengler & Lin (1980), a deposição de sílica nos microfilos de *Selaginella* P. Beauv. possivelmente fornece suporte.

Os corpos de sílica podem auxiliar estudos taxonômicos em samambaias e licófitas (IRIARTE; PAZ, 2009; KAUFMAN et al., 1971; MAZUMDAR, 2011; RIBEIRO et al., 2007; SUNDUE, 2009). Nos microfilos são descritos para *S. kraussiana* (Kunze) A. Braun (LECOQ et al., 1973; ROBERT et al., 1973; ROBERT; LAROCHE, 1979; WATERKEYN; BIENFAIT, 1967; WATERKEYN; PEETERS, 1982), *S. pallescens* (C. Presl) Spring var. *pallescens* (DENGLER; LIN, 1980), *S. erythropus* Spring (RESHAK; SHEUE, 2012), *S. bryopteris* (L.) Baker (CHAUHAN, et al.; 2009), *Selaginella* sp. (TREMBATH-REICHERT et al., 2015), sendo também relatados para os demais órgãos vegetativos (GIBSON, 1893; GIBSON, 1894; MAZUMDAR, 2011; OGURA, 1972; PIPERNO, 1988).

REFERÊNCIAS

- ASSIS, E. L. M. **Estudos taxonômicos em *Selaginella* P. Beauv. subgênero *Stachygynandrum* (P. Beauv.) Baker no Brasil e filogenia da série *Articulatae* Spring.** 2016. 199 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.
- BECARI-VIANA, I.; SCHWARTSBURD, P. B. Morpho-anatomical studies and evolutionary interpretations of the rhizomes of extant Dennstaedtiaceae. **American Fern Journal**, v. 107, p. 105-123, 2017.
- BRAUN, A. Selaginelleae. In TRIANA, J; PLANCHON, J. E. eds. **Prodromus Florae Novo-Granatensis**. Paris: Victor Masson et Fills, 1865. p. 270-305.
- CHAUHAN, D. K.; TRIPATHI, D. K.; SINHA P.; TIWARI, S. P. Biogenic silica in some pteridophytes. **Bionature**, v. 29, n. 1, p.1-9, 2009.
- CHAUHAN, D. K.; TRIPATHI, D. K.; RAI, N. K.; RAI, A. K. Detection of biogenic silica in leaf blade, leaf sheath, and stem of bermuda grass (*Cynodon dactylon*) using LIBS and phytolith analysis. **Food Biophysics**, v. 6, n. 3, p. 416-423, 2011.
- DENGLER, N. G.; LIN, E. Y. Electron microprobe analysis of the distribution of silicon in the leaves of *Selaginella emmeliana*. **Canadian Journal of Botany**, v. 58, n. 23, p. 2459-2466, 1980.
- FEIO, A. C.; GÓES-NETO, L. A. A. The Articulated and Non-Articulated Stem in *Selaginella* (Selaginellaceae-Lycopodiopsida). **American Fern Journal**, v. 108, p. 170-176, 2018.
- GIBSON, R. J. H. On the Siliceous Deposit in the Cortex of Certain Species of *Selaginella*, Spr. **Annals of Botany**, v.7, n. 27, p. 355-366, 1893.
- GIBSON, R. J. H. Contributions toward a knowledge of the anatomy of the genus *Selaginella* Spr. I. The stem. **Annals of Botany (London)**, v. 8, p.133-206, 1894.
- GÓES-NETO, L. A. A. **Estudos taxonômicos em Selaginellaceae Willk. (Lycopodiophyta) no Brasil.** 2016. 254 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2016.
- GÓES-NETO, L. A. A.; PALLOS, J.; SALINO, A. Flora of the cangas of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil: Selaginellaceae. **Rodriguésia**, v. 67, n. 5, p. 1177-1180, 2016.
- GÓES-NETO, L. A. A.; SALINO, A. *Selaginella kriegeiriana* (Selaginellaceae-Lycopodiopsida), an Endemic New Species from Brazil with Notes About the Genus in Caparaó National Park. **Systematic Botany**, v. 43, n. 4, p. 920-929, 2018.
- HIERONYMUS, G; SADEBECK, R. Selaginellaceae. In ENGLER, A. PRANTL, K. eds. **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann, 1901. p. 621-716.

IRIARTE, J.; PAZ, E. A. Phytolith analysis of selected native plants and modern soils from southeastern Uruguay and its implications for paleoenvironmental and archeological reconstruction. **Quaternary International**, v. 193, n.1-2, p. 99-123, 2009.

JERMY, A. C. Subgeneric names in *Selaginella*. **Fern Gazette**, v.13, n. 2, p. 117-118, 1986.

JERMY, A. C. Selaginellaceae. In: KRAMER, K.U.; GREEN, P.S. eds. **Pteridophytes and gymnosperms**. Berlin, Heidelberg: Springer, 1990. p. 39-45.

KAUFMAN, P. B.; BIGELOW, W. C.; SCHMID, R.; GHOSHEH, N. S. Electron microprobe analysis of silica in epidermal cells of *Equisetum*. **American Journal of Botany**, v. 58, n.4, p. 309-316, 1971.

KORALL, P.; KENRICK, P.; THERRIEN, J. P. Phylogeny of Selaginellaceae: evaluation of generic/subgeneric relationships based on rbcL gene sequences. **International journal of plant sciences**, v. 160, n. 3, p. 585-594, 1999.

LE COQ, C.; GUERVIN, C.; AROCHE, J. L.; ROBERT, D. Mise en place de la silice dans les cellules épidermiques de la feuille d'une Ptéridophyte: *Selaginella kraussiana* I. Données fournies par la microscopie électronique à balayage, la microscopie de fluorescence et la microanalyse par sonde électronique. **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle Sér. 3, Botanique**, v. 13, p. 185-208, 1973.

LELLINGER, D. B. **Modern multilingual glossary for taxonomic pteridology**. Washington: American Fern Society, 2002. 263 p.

LIMA-FILHO, O. F; LIMA, M. T. G.; TSAI, S. M. O silício na agricultura. **Informações Agronômicas**, v. 87, n. 1, p. 1-7, 1999.

MA, J. F.; YAMAJI, N. Functions and transport of silicon in plants. **Cellular and molecular life sciences**, v. 65, n. 19, p. 3049-3057, 2008.

MAIDEEN, H.; HAZWANI, A. N.; NURFARAHAIN, Z.; DAMANHURI, A.; NORAINI, T.; RUSEA, G.; QISTINA, L.; MASNORYANTE, M. Systematic significance of stipe anatomy of *Selaginella* (Selaginellaceae) in Peninsular Malaysia. **Sains Malaysiana**, v. 42, n. 5, p. 693-696, 2013.

MAZUMDAR, J. Phytoliths of pteridophytes. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 1 p. 10-19, 2011.

MICKEL, J. T; HELLWIG, R. L. Actino-plectostely, a complex new stelar pattern in *Selaginella*. **American Fern Journal**, v. 59, p. 123-134, 1969.

MICKEL, J. T.; SMITH, A. R.; VALDESPINO, I. A. *Selaginella*. In: MICKEL, J. T.; SMITH, A. R. eds. **The Pteridophytes of Mexico**. New York: Memoirs of The New York Botanical Garden, 2004, p. 550–602.

MORAES, J. C.; GOUSSAIN, M. M.; BASAGLI, M. A.; CARVALHO, G. A.; ECOLE, C. C.; SAMPAIO, M. V. Silicon influence on the tritrophic interaction: wheat plants, the greenbug *Schizaphis graminum* (Rondani)(Hemiptera: Aphididae), and its natural enemies,

Chrysoperla externa (Hagen)(Neuroptera: Chrysopidae) and *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 5, p. 619-624, 2004.

NOPUN, P.; TRAIPEM, P; BOONKERD, T; JENJITTIKUL, T. Systematic importance of rhizome stelar anatomy in selected Monilophytes from Thailand. **Taiwania**, v. 61, p. 175-184, 2016.

OGURA, Y. **Comparative anatomy of the vegetative organs of the Pteridophytes**. Encyclopedia of Plant Anatomy, 1972. 502 p.

PIPERNO, D. R. **Phytolith analysis: an archeological and geological perspective**. San Diego: Academic Press, 1988. 280 p.

PIPERNO, D. R.; PEARSALL, D. M. The silica bodies of tropical American grasses: morphology, taxonomy, and implications for grass systematics and fossil phytolith identification. **Smithsonian Contributions to Botany**, v. 85, p. 1-40, 1998.

PPG I. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 54, n. 6, p. 563-603, 2016.

RESHAK, A. H.; SHEUE, C. R. Second harmonic generation imaging of the deep shade plant *Selaginella erythropus* using multifunctional two-photon laser scanning microscopy. **Journal of microscopy**, v. 248, n. 3, p. 234-244, 2012.

RIBEIRO, M. L. R. C; SANTOS, M. G.; MORAES, M. G. Leaf anatomy of two *Anemia* Sw. species (Schizaeaceae-Pteridophyte) from a rocky outcrop in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 30, n. 4, p. 695-702, 2007.

ROBERT, D.; GUERVIN, C.; LE COQ, C; SAU-VANET, A. Mise en place de la silice dans les cellules épidermiques de la feuille d'une Ptéridophyte, *Selaginella kraussiana* II Étude ultrastructurale. **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle Sér. 3, Botanique**, v. 14, p. 209-234, 1973.

ROBERT, D.; LAROCHE, J. La callose chez la feuille de *Selaginella kraussiana*. Mise en place et rôle dans le flux hydrique et la minéralisation. **Revue Générale de Botanique**, v. 86, p. 191-202, 1979.

SELAGINELLACEAE. In: Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB92048>. Acesso em: 03 Dez. 2018.

SOMERS, P. **A systematic survey of the *Articulatae* series of the genus *Selaginella* and monographic treatment of the *S. sulcata* group (sensu str.)**. 1978. 370 f. Tese (Doutorado em Filosofia) – The university of Tennessee, Knoxville, 1978.

SOMERS, P. A unique type of microsporangium in *Selaginella* series *Articulatae*. **American Fern Journal**, v. 72, p. 88-92, 1982.

SRIVASTAVA, A; CHANDRA, S. Structure and organization of the rhizome vascular system of four *Polypodium* species. **American Fern Journal**, v. 99, p. 182-193, 2009.

SUNDUE, M. Silica bodies and their systematic implications in Pteridaceae (Pteridophyta). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 4, p. 422-435, 2009.

TREMBATH-REICHERT, E.; WILSON, J. P.; MCGLYNN, S. E.; FISCHER, W. W. Four hundred million years of silica biomineralization in land plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 17, p. 5449-5454, 2015.

VALDESPINO, I. A.; LÓPEZ, C. A.; CEBALLOS, J. *Selaginella germinans* (Selaginellaceae), a new articulate species from Chapada dos Veadeiros region in the State of Goiás, Brazil. **Botany Letters**, v. 165, n. 487-493, 2018.

VALDESPINO, I. A.; HERINGER, G.; SALINO, A.; GÓES-NETO, L. A. A.; CEBALLOS, J. Seven new species of *Selaginella* subg. *Stachygynandrum* (Selaginellaceae) from Brazil and new synonyms for the genus. **PhytoKeys**, v. 50, p. 61-99, 2015.

WALTON J.; ALSTON, A. H. G. Lycopodiinae. In: VERDOORN, F. eds. **Manual of pteridology**. The Hague: Martinus Nijhoff. 1938. p. 500-506.

WATERKEYN, L.; BIENFAIT, A. Les émergences callosiques et silicifiées des feuilles de Sélaginelles. **Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences**, v. 264, p. 1608-1611, 1967.

WATERKEYN, L.; BIENFAIT, A.; PEETERS, A. Callose et silice épidermiques: Rapports avec la transpiration cuticulaire. **Cellule**, v.73, p. 267-287, 1982.

WESTSTRAND, S.; KORALL, P. Phylogeny of Selaginellaceae: There is value in morphology after all!. **American Journal of Botany**, v. 103, n. 12, p. 2136-2159, 2016a.

WESTSTRAND, S.; KORALL, P. A subgeneric classification of *Selaginella* (Selaginellaceae). **American Journal of Botany**, v. 103, n. 12, p. 2160-2169, 2016b.

WIKSTRÖM, N.; KENRICK, P. Phylogeny of Lycopodiaceae (Lycopsidea) and the relationships of *Phylloglossum drummondii* Kunze based on rbcL sequences. **International Journal of Plant Sciences**, v. 158, n. 6, p. 862-871, 1997.

YOSHIDA, S.; OHNISHI, Y.; KITAGISHI, K. Histochemistry of silicon in rice plant: III. The presence of cuticle-silica double layer in the epidermal tissue. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 8, n. 2, p.1-5, 1962.

ZHOU, X.; ZHANG, L. A classification of *Selaginella* (Selaginellaceae) based on molecular (chloroplast and nuclear), macromorphological, and spore features. **Taxon**, v. 64, n. 6, p. 1117-1140, dez. 2015.

ZHOU, X. ROTHFELS, C. J.; ZHANG, L.; HE, Z.; PÉCHON, T. L.; HE, H.; LU, N. T.; KNAPP, R.; LORENCE, D.; HE, X.; GAO, X.; ZHANG, L. A large-scale phylogeny of the lycophyte genus *Selaginella* (Selaginellaceae: Lycopodiopsida) based on plastid and nuclear loci. **Cladistics**, v. 32, n. 4, p. 360-389, 2016.

ARTIGO I

A ser enviado ao periódico *International Journal of Plant Sciences*.

(Normas para submissão no anexo I)

Anatomia caulinar na taxonomia de Selaginella subg. Gymnogynum (Selaginellaceae)

**ANATOMIA CAULINAR NA TAXONOMIA DE *SELAGINELLA* SUBG.
GYMNOGYNUM (SELAGINELLACEAE)**

Layse Kristine Corrêa Lopes¹, Luiz Armando Araújo Góes-Neto², Ana Carla Feio^{3*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas–Botânica Tropical, Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, Avenida Perimetral, Belém, PA 66077-830, Brazil.

²Baobá Consultoria Ambiental Ltda, Rua Alceu Amoroso Lima, Salvador, BA 41820-770, Brazil.

³Coordenação de Botânica, Museu Paraense Emílio Goeldi, Avenida Perimetral, Belém, PA 66077-830, Brazil.

* Autor para correspondência: anacarlafeio@gmail.com

Título curto: Anatomia caular de *Selaginella* subg. *Gymnogynum*

RESUMO

Premissa da Pesquisa. A recente circunscrição de *Selaginella* subg. *Gymnogynum* apresenta fragilidades na definição e na descrição das articulações e do sistema vascular caular. Uma revisão estrutural pode melhorar a delimitação de espécies no subgênero *Gymnogynum*, sendo primordial para estudos taxonômicos e evolutivos em *Selaginella*.

Metodologia. Foram amostrados 33 espécimes representando 12 espécies de *S.* subg. *Gymnogynum*, duas espécies de *S.* subg. *Exaltatae* e uma espécie de *S.* subg. *Stachygynandrum*. O material de estudo foi oriundo de herbários (BHCB, IAN, MG e RB).

As amostras foram submetidas ao processo de reversão de herborização e destinadas as metodologias usuais para análise em microscopia de luz.

Principais resultados. Todas as espécies de *Gymnogynum* amostradas e *Selaginella exaltata* são articuladas. Somente *Selaginella anaclasta* (subg. *Exaltatae*) e *Selaginella coarctata* (subg. *Stachygynandrum*) não apresentam articulações. A região da articulação pode ser caracterizada e classificada com base na ocorrência de elevações ou nódulos (hiperplasia), a presença predominante de pectina na parede celular e a formação de sulcos que alcançam até a região cortical (constrições), que combinados formam cinco tipos articulares aqui descritos. Os tipos de sistema vascular caulinar encontrados foram: haplostelo, actinostelo, plectostelo e actino-pectostelo. Em *Gymnogynum*, foi observada a ocorrência de haplostelo bistélico, além de duas variações de actinostelo e plectostelo.

Conclusões. A análise possibilitou a caracterização padronizada e revisada para as espécies do subg. *Gymnogynum*, com informações adicionais para os subgêneros *Exaltatae* e *Stachygynandrum*, expandindo o banco de dados anatômicos detalhados que poderão contribuir para delimitação mais acurada dos táxons e para estudos posteriores de história evolutiva.

Palavras-chave: articulação, caule, Licófitas, taxonomia.

ABSTRACT

Premise of Research. The recent circumscription of *Selaginella* subg. *Gymnogynum* presents weak in the definition and description of the articulation and the vascular system. A structural review may improve the delimitation of species in the subgenus *Gymnogynum*, being primordial for taxonomic and evolutionary studies in *Selaginella*.

Methodology. The study material was obtained from Brazilian herbaria (BHCB, IAN, MG and RB), the samples were submitted to the herborization reversion process and the usual methodologies were used for light microscopy analysis.

Pivotal Results. All species of *Gymnogynum* sampled and *S. exaltata* are articulated. Only *Selaginella anaclasta* (subg. *Exaltatae*) and *Selaginella coarctata* (subg. *Stachygynandrum*) do not present articulations. The region of the articulation can be characterized and classified based on the occurrence of elevations or nodules (hyperplasia), the predominant presence of pectin in the cell wall and the formation of grooves that reach up to the cortical region (constrictions), which combine to form five articulation types described herein. The types of vascular system found were: haplostele, actinosteles, plectosteles and actino-plectostely. In *Gymnogynum*, the occurrence of bistelic haplosteles was observed, besides two variations of actinosteles and plectosteles.

Conclusions. The analysis made possible the standardized and revised characterization of subg. *Gymnogynum*, with additional information for the subgenus *Exaltatae* and *Stachygynandrum*, expanding the detailed anatomical database that could contribute to a more accurate delimitation of the taxa and to later studies of evolutionary history.

Key words: articulation, stem, Lycophytes, taxonomy.

INTRODUÇÃO

Selaginella subg. *Gymnogynum* (P.Beauv.) Weststrand e Korall foi recentemente estabelecido como nova combinação (Weststrand e Korall 2016a), baseadas no número de espécies articuladas tradicionalmente incluídas na extinta série *Articulatae* de Somers (1982), são estimadas 40-50 espécies para o subg. *Gymnogynum* (Valdespino et al. 2018), com distribuição principalmente neotropical (Weststrand e Korall 2016a). No Brasil, são

registradas 13 espécies ocorrendo principalmente na região amazônica (Assis 2016). O subgênero *Gymnogynum* é caracterizado por plantas com caules articulados, mono ou bistélicos, raramente tri- ou 4-5-estélicos, rizóforos dorsais, folhas vegetativas dimórficas (pelo menos em partes distais da planta) em quatro fileiras; esporofilos monomórficos com estróbilo tetragonal, estróbilo único (raramente dois), megasporângio basal com um padrão exósporo reticulado (Weststrand e Korall 2016a). Contudo, estas características não são uniformemente distribuídas nos táxons do subgênero, sendo a maioria dos caracteres homoplásicos no gênero (Weststrand e Korall 2016a).

Os representantes do subgênero *Gymnogynum* passaram por muitas mudanças em relação a sua circunscrição, baseadas principalmente em características morfológicas (Somers 1978, Zhou e Zhang 2015, Weststrand e Korall 2016a,b). A partir destes trabalhos, e principalmente na atual classificação de Weststrand e Korall (2016b), observaram-se fragilidades na definição e na descrição de algumas características, como as articulações e o sistema vascular caulinar. As articulações apesar de serem utilizadas taxonomicamente, carecem de informações quanto à definição anatômica, como já relatado por Feio e Góes Neto (2018). Enquanto a caracterização do sistema vascular caulinar apresentou uma descrição predominantemente numérica dos feixes vasculares, impossibilitando a construção de padrões tipológicos para classificação.

As articulações são estruturas peculiares de *Selaginella* P. Beauv. e estão presentes tanto no subgênero *Gymnogynum*, como em *Selaginella* subg. *Exaltatae* Weststrand & Korall. Contudo, em *Gymnogynum* a presença das articulações é utilizada na taxonomia como caráter diagnóstico, uma vez que todos os representantes são descritos como articulados (Spring 1849, Braun 1865, Hieronymus e Sadebeck 1901, Walton e Alston 1938, Jermy 1986, Zhou et al. 2016). Morfologicamente, as articulações já foram descritas como “swellings” (dilatações)

tanto no caule principal como nos ramos, com variedade de cores e formas (Somers 1978), situadas próximas das ramificações caulinares e atualmente são descritos três tipos (Assis 2016): quando apresentam coloração escura em contraste com o resto do caule são denominadas enegrecidas; quando ocorre o estrangulamento do caule, as articulações são subdivididas em: nodosas, com expansão visível no caule e inconspícuas, quando o estrangulamento ocorre de forma discreta.

Os padrões dos caracteres anatômicos ainda são pouco explorados em *Selaginella*. Estudos anatômicos em samambaias demonstraram que o sistema vascular do caule é um carácter conservado, que sofre poucas influências do meio ambiente, portanto, é uma estrutura chave em estudos comparativos e um elemento diagnóstico importante como fonte de dados para a taxonomia, filogenia e paleobotânica (Srivastava e Chandra 2009, Nopun et al. 2016, Becari-Viana e Schwartzburd 2017).

A partir deste cenário, o objetivo deste trabalho foi descrever e revisar a diversidade estrutural das articulações e o padrão do sistema vascular caulinar, assim como fornecer informações adicionais para delimitar as espécies de *S. subg. Gymnogynum*. Para isso, um estudo anatômico comparativo foi conduzido com amostragem concentrada em espécies de *S. subg. Gymnogynum*. Foram selecionadas também espécies de seu grupo irmão (*S. subg. Exaltatae*) baseado na filogenia de Weststrand e Korall (2016a) e um representante de um clado mais distante [*S. subg. Stachygynandrum* (P.Beauv. ex Mirb.)], para comparação das estruturas caulinares entre os subgêneros, ampliando o banco de dados de caracteres disponíveis para futuros estudos de evolução morfológica em *Selaginella*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico. — Foram amostrados três espécimes para cada táxon totalizando 33 espécimes, representando 12 espécies de *Selaginella* subg. *Gymnogynum*, duas de *S. subg.*

Exaltatae e uma de *S.* subg. *Stachygynandrum*. Todas as informações, incluindo a autoria, o testemunho das espécies e o herbário estão resumidos no Apêndice I. As siglas dos herbários seguem Thiers (2018, continuamente atualizadas).

Microscopia de luz. — As amostras de herbário dos caules foram reidratadas (Smith e Smith 1942) e armazenadas em etanol a 70%. Posteriormente, foram desidratadas em série etanólica crescente e embebidas em resina de 2-hidroxietil metacrilato (Historesin Leica®, as soluções foram preparadas de acordo com as instruções do fabricante) seguindo Meira e Martins (2003). Todas as amostras foram seccionadas transversal e longitudinalmente com espessura de 3 a 7 µm, usando micrótomo rotativo (modelo RM 2245, Leica® Biosystems, Heidelberg, Alemanha) com navalhas de tungstênio (Leica® Biosystems). As secções foram coradas com azul de toluidina pH 4,6 (O'Brien et al. 1965), onde estruturas de composição pectica coram em tons de rosa e as celulósicas em tons de azul. As lâminas foram montadas em resina (Permount®, Fisher Scientific, New Jersey, EUA). Observações e documentação fotográfica foram realizadas com microscópio de luz (Axio Scope. A1, © Carl Zeiss, Göttingen, Alemanha) equipado com câmera digital (AxioCam HRC; © Carl Zeiss). Macroimagens foram obtidas usando estereomicroscópio (SteREO Discovery. V8, © Carl Zeiss) com câmera digital acoplada (AxioCam ICc5, © Carl Zeiss).

Descrição dos caracteres anatômicos. — As descrições anatômicas foram baseadas em Ogura (1972), Evert (2006) e Feio e Góes-Neto (2018). A terminologia do sistema vascular seguiu a classificação de Schmid (1982).

RESULTADOS

A distribuição dos tipos de articulação e de sistema vascular caulinar nos representantes dos três subgêneros estudados está sumarizada na Tabela 1.

Articulação

A região da articulação pode ser definida por diferentes alterações estruturais restritas a região cortical do caule, geralmente logo abaixo das bifurcações caulinares, e podem ser classificadas de acordo com a ocorrência de elevações ou nódulos (hiperplasia), a presença predominante de pectina na parede celular e a formação de sulcos que alcançam até a região cortical (constrições). Quando combinadas, estas características formaram 5 diferentes tipos de articulação: 1. Péctica, com presença predominante de pectina na parede celular, levando a formação de uma faixa (Fig. 1A-1B); 2. Nodosa, com aumento significativo do diâmetro na região articulada, resultando em um nódulo (Fig. 1C-1E); 3. Elevada monossulcada, com discreta dilatação na região articulada e a presença de um sulco (Fig. 1F); 4. Elevada péctica monossulcada, com discreta dilatação na região articulada, faixa péctica e presença de um sulco (Fig. 1G-1K) e 5. Elevada péctica bissulcada, com discreta dilatação na região articulada, faixa péctica e dois sulcos (Fig. 1L). Todas as espécies analisadas de *S. subg. Gymnogynum* são articuladas. *Selaginella exaltata* também apresentou caules articulados, enquanto, somente *S. anacasta* Alston ex Crabbe & Jermy (subg. *Exaltatae*) (Fig. 1M) e *S. coarctata* Spring (subg. *Stachygynandrum*) (Fig. 1N) não apresentaram alterações estruturais no caule.

Sistema vascular caulinar

Em *S. subg. Gymnogynum* foram registrados os tipos: haplostelo bistélico (Fig. 2A-2E), actinostelo (Fig. 2F-2M) e plectostelo (Fig. 2N). Foram observadas duas variações do tipo actinostelo em *S. subg. Gymnogynum*: actinostelo bilobado (Fig. 2F, 2H-2K) presente em *S. calceolata* Jermy & J.M Rankin, *S. fragilis*, *S. marginata*, *S. parkeri*, *S. parviarticulata* e actinostelo trilobado (Fig. 2G) em *S. conduplicata*. Em *S. anacasta* (*S. subg. Exaltatae*)

observou-se o tipo actinostelo bilobado (Fig. 2L), em *S. exaltata* o tipo actino-plectostelo (Fig. 2O), e *S. coarctata* (*S. subg. Stachygynandrum*) com o actinostelo trilobado (Fig. 2M).

DISCUSSÃO

Articulação

As articulações apresentaram maior diversidade estrutural do que o descrito até o momento na literatura (Assis 2016, Somers 1978). No entanto, o tipo “inconspícuo” não foi observado, porque não há modificações morfológicas e anatômicas nas espécies citadas por Assis (2016), como *S. anaclasta* e *S. coarctata*. Góes-Neto (2016) já ressaltava a necessidade de mais estudos sobre *S. anaclasta*, e que apesar da espécie ser definida como articulada (Crabbe e Jermy 1973, Somers 1978, Smith 1995, Assis 2016), não observou indícios de articulação em sua análise morfológica, tanto em *S. anaclasta* como em *S. coarctata*. Posteriormente, a partir de análises micromorfológicas e anatômicas, foi confirmado que *S. anaclasta* realmente não possui caule articulado (Feio e Góes Neto 2018). Baseado na circunscrição de Weststrand e Korall (2016b) *S. anaclasta* pertence ao subg. *Exaltatae*, em que as espécies podem ou não ser articuladas, enquanto *S. coarctata* pertence ao subg. *Stachygynandrum*, onde a articulação não caracteriza o grupo, sendo assim, a ausência de articulação, em ambos os subgêneros, não interfere na classificação proposta, contudo, delimita melhor seus representantes, adicionando informações e contribuindo para uma classificação mais natural.

A descrição de cinco variações de articulação confirmou a importância da caracterização anatômica para a classificação precisa desta estrutura em *Selaginella*, como também observado por Feio e Góes-Neto (2018), onde o trabalho aqui realizado configurou-se como a primeira classificação anatômica das articulações e com amostragem robusta. As articulações observadas são similares entre si e cada tipo é originado da combinação entre

hiperplasia, composição da parede celular e constrições. A presença de constrições que variam de um a dois sulcos, delimita a região da articulação (Feio e Góes-Neto 2018) e alcançam até a região cortical, justificando observações de que a região articular é quebradiça (Somers 1978).

A pectina que caracterizou várias espécies articuladas é um componente importante das paredes celulares primárias e da lamela média (Willats et al. 2001, Mesbahi et al. 2005), regulando os processos morfogenéticos que requerem a modulação das propriedades mecânicas da parede das células (Palin e Geitmann 2012). Além disso, a pectina também está associada aos processos de defesa nas plantas (Mohnen 2008) e na proteção contra a seca (Yapo 2011). As possíveis funções das articulações são relacionadas com a reprodução assexuada do tipo vegetativa (Hieronymus e Sadebeck 1901), as plantas são separadas e transportadas para outros locais onde podem enraizar, como consequência da ação de ventos fortes e, talvez em razão do peso das próprias plantas (Somers 1978), além disso, a presença de articulações possibilitaria a flexibilidade do caule, que sofre com a ação de fatores abióticos como a chuva, o vento e impactos físicos (Feio e Góes-Neto 2018).

Sistema vascular caulinar

Outros estudos já haviam relatado a utilização taxonômica do sistema vascular em *Selaginella* (Somers 1978, Korall e Kenrick 2002, Maideen et al. 2013, Weststrand e Korall 2016 a,b). Neste estudo, a caracterização anatômica foi útil para delimitar de forma mais robusta o subgênero *Gymnogynum*, resultando em uma descrição inédita, considerando tipologias do sistema vascular caulinar. Entre as tipologias mais representativas estão as variações do tipo protostelo e a localização dos polos de protoxilema, importante para determinação do número de lobos (Fahn 1985).

Foram confirmadas cinco espécies bistélicas para *S.* subg. *Gymnogynum* conforme os trabalhos de Weststrand e Korall (2016 a,b) e de Gibson (1894) para *S. sulcata* e *S. kraussiana*. O tipo bistélico seria derivado do monostélico por divisão lateral (Ogura 1972). Para Mickel e Hellwig (1969) e Somers (1978), a maioria das espécies articuladas é bistélica, contudo, esse padrão não foi observado nos representantes do subg. *Gymnogynum*, em que a maioria apresenta o tipo actinostelo.

A ocorrência de tipo actinostelo, e suas variações dentro dos três subgêneros, ressalta a importância da descrição detalhada do sistema vascular, já que o caráter é diagnóstico na atual filogenia (Weststrand e Korall 2016a). Apesar disso, *S. marginata* e *S. anacasta* apresentaram o sistema vascular do tipo actinostelo bilobado, discordando dos padrões bistélico e actinostelo trilobado, respectivamente, listados por Weststrand e Korall (2016a). Informações evolutivas do sistema vascular caulinar mostram uma tendência de deslocamento dos vasos condutores para a região periférica, como observado no protoxilema exarco do tipo actinostelo (Roth et al. 1994), e sua origem pode se dar por modificação do protostelo (Beck et al. 1982), como a fusão dos feixes vasculares em um eixo polistélico (Zimmermann 1952). Contudo, estudos ontogenéticos são necessários tanto no subgênero como em *Selaginella*.

O tipo plectostelo presente em *S. asperula* (*S.* subg. *Gymnogynum*) é pouco observado no gênero, ocorrendo principalmente em Lycopodiaceae (Wikström e Kenrick 2001, Pita et al. 2006), e registrado apenas para o sistema vascular foliar de *S. martensii* Spring (Espíñeira 2010), sendo assim ressalta-se o ineditismo deste estado de caráter para os caules de *Selaginella*. O tipo plectostelo é o mais diferenciado entre as variações de protostelo (Zimmermann 1930). Na filogenia atual da família (Weststrand e Korall, 2012a), apesar deste tipo não ter sido descrito para nenhuma das espécies, algo próximo foi observado como o tipo actino-pectostelo em *S. exaltata* (subg. *Exaltatae*). Este tipo foi descrito por Mickel e

Hellwig (1969) e considerado com a organização vascular mais complexa para *Selaginella*, sendo utilizado na atual circunscrição com uma das principais diferenças em relação ao subgênero *Gymnogynum*, além da articulação (Weststrand e Korall 2016a).

Significância das características anatômicas para a taxonomia

Na caracterização estrutural das articulações, a presença de pectina também revelou valor taxonômico para *Selaginella* já que apresentou uma distribuição muito peculiar nesta região, resultando em faixas, o que ainda não havia sido elucidado nos estudos morfológicos. O mesmo se aplica à hiperplasia e às constrições, que variam entre as espécies e podem ser utilizadas na identificação e delimitação dos subgêneros, já que *S. exaltata* (subg. *Exaltatae*) foi a única a apresentar dois sulcos, sendo uma possível separação para as articulações entre os dois subgêneros, contudo, é necessário expandir este tipo de análise para uma amostragem mais robusta dos demais subgêneros.

Em samambaias, os estudos anatômicos têm enfoque no sistema vascular do caule, pois é uma região que tende a ser conservada por sofrer pouca influência do ambiente (Srivastava e Chandra 2009, Nopun et al. 2016, Becari-Viana e Schwartsburd 2017). Essa relevância também foi observada em *Selaginella*, já que as variações anatômicas encontradas, nos tipos vasculares e nas articulações, foram valiosas tanto para padronização e revisão destas características, quanto para adicionar informações à descrição das espécies analisadas. A ocorrência dos tipos actinostelo e plectostelo foram considerados os caracteres diagnósticos mais relevantes para o gênero, uma vez que ainda não havia registros para o subg. *Gymnogynum* e para o caule de *Selaginella*, respectivamente.

CONCLUSÃO

Este estudo revelou a diversidade anatômica presente no caule de *Selaginella* subg. *Gymnogynum*, em que a articulação e o sistema vascular caulinar são caracteres diagnósticos relevantes, desde que analisados anatomicamente. A partir desta análise foi possível estabelecer uma caracterização padronizada e revisada para as espécies do subg. *Gymnogynum*, com informações adicionais para os subgêneros *Exaltatae* e *Stachygynandrum*, expandindo o banco de dados anatômicos detalhados, onde foram descritos cinco diferentes tipos de articulações com a amostragem mais ampla e o registro de novas tipologias para o sistema vascular caulinar de *Selaginella*, que poderão contribuir para delimitação mais acurada dos táxons e para estudos posteriores de história evolutiva.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES pela bolsa de pesquisa concedida a LKCL (processo:) e ao CNPq pela atual bolsa de Pós-Doutorado Junior (PDJ; processo: 151425/2018-3) concedida a ACF, aos herbários MG, IAN, RB e BHCB e aos Laboratórios de Anatomia Vegetal (LAVEG) e de Taxonomia Vegetal (LABTAX) do Campus de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi.

REFERÊNCIAS

- Assis ELM 2016 Estudos taxonômicos em *Selaginella* P. Beauv. subgênero *Stachygynandrum* (P. Beauv.) Baker no Brasil e filogenia da série *Articulatae* Spring. PhD Thesis. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BR.
- Becari-Viana I, PB Schwartzburd 2017 Morpho-anatomical studies and evolutionary interpretations of the rhizomes of extant Dennstaedtiaceae. Am Fern J 107: 105-123.
- Beck CB, R Schmid, GW Rothwell 1982 Stellar morphology and the primary vascular system of seed plants. Bot Rev 48: 691-815.

- Braun A 1865 Selaginelleae. Pages 270-305 in J Triana, JE Planchon, eds. *Prodromus Florae Novo-Granatensis*. Victor Masson et Fills, Paris.
- Crabbe JA, AC Jermy 1973 Seven new species of *Selaginella* from Tropical South America. *Am Fern J* 63: 135-144.
- Espiñeira JM, EN Uzal, LVG Ros, JS Carrión, F Merino, AR Barceló, F Pomar 2011 Distribution of lignin monomers and the evolution of lignification among lower plants. *Plant Biol* 13: 59-68.
- Evert RF 2006 *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley & Sons.
- Fahn A 1985 *Anatomia Vegetal*. E diciones Pirámide, S. A., Madrid.
- Feio AC, LAA Góes-Neto 2018 The Articulated and Non-Articulated Stem in *Selaginella* (Selaginellaceae-Lycopodiopsida). *Am Fern J* 108: 170-176.
- Gibson, RH 1894 Contributions towards a knowledge of the anatomy of the genus *Selaginella*, Spr. *Ann Bot* 8: 133-206.
- Góes-Neto LAA 2016 Estudos taxonômicos em Selaginellaceae Willk. (Lycopodiophyta) no Brasil. PhD Thesis. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, BR.
- Hieronymus G, R Sadebeck 1901 Selaginellaceae. Pages 621–716 in A Engler, K Prantl, eds. *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Vol. 1. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Jermy AC 1986 Subgeneric names in *Selaginella*. *Fern Gaz* 13: 117-118.
- Korall P, P Kenrick 2002 Phylogenetic relationships in Selaginellaceae based on rbcL sequences. *Am J Bot* 89: 506-517.
- Maideen H, AN Hazwani, Z Nurfarahain, A Damanhuri, T Noraini, G Rusea, L Qistina, M Masnoryante 2013 Systematic significance of stipe anatomy of *Selaginella* (Selaginellaceae) in Peninsular Malaysia. *Sains Malays* 42: 693-696.

- Meira RMSA, FM Martins 2003 Inclusão de material herborizado em metacrilato para estudos de Anatomia Vegetal. *Rev Árvore* 27: 109-112.
- Mesbahi G, J Jamalian, A Farahnaky 2005 A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocoll* 19: 731-738.
- Mickel JT, RL Hellwig 1969 Actino-plectostely, a complex new stelar pattern in *Selaginella*. *Am Fern J* 59: 123-134.
- Mohnen D 2008 Pectin structure and biosynthesis. *Curr Opin Plant Biol* 11: 266-277.
- Nopun P, P Traiperm, T Boonkerd, T Jenjittikul 2016 Systematic importance of rhizome stelar anatomy in selected Monilophytes from Thailand. *Taiwania* 61: 175-184.
- O'Brien TP, N Feder, ME Mccully 1965 Polychromatic staining of plant cells walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Ogura Y 1972 Comparative anatomy of the vegetative organs of the Pteridophytes. *Encyclopedia of Plant Anatomy*.
- Palin R, A Geitmann 2012 The role of pectin in plant morphogenesis. *Biosystems* 109: 397-402.
- Pita PB, NL Menezes, J Prado 2006 Morfologia externa e interna de raiz e caule de espécies de *Huperzia* Bernh.(Lycopodiaceae-Pteridophyta) do Brasil. *Hoehnea* 33: 495-510.
- Schmid R 1982 The terminology and classification of steles: historical perspective and the outlines of a system. *Bot Rev* 48: 817-931.
- Smith, AR 1995 Selaginellaceae. Pages 296-314 in PE Berry, BK Holst, K Yatskievych, eds. *Flora of the Venezuelan Guyana 2. Pteridophytes, Spermatophytes: Acanthaceae-Araceae*. Timber Press, Portland.
- Smith FH, EC Smith 1942 Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *Am J Bot* 29: 464-471.

- Somers P 1978 A systematic survey of the *Articulatae* series of the genus *Selaginella* and monographic treatment of the *S. sulcata* group (*sensu str.*). PhD Thesis. The university of Tennessee, Knoxville, Tennessee, NY.
- Somers P 1982 A unique type of microsporangium in *Selaginella* series *Articulatae*. *Am Fern J* 72: 88-92.
- Spring AF 1849 Monographie de la Famille des Lycopodiacees, Seconde Partie, 24. Mémoires de l'Académie Royale de Belgique, BE.
- Roth A, V Mosbrugger, HJ Neugebauer 1994 Efficiency and evolution of water transport systems in higher plants: a modelling approach. II. Stelar evolution. *Phil Trans R Soc Lond B* 345: 153-162.
- Srivastava A, S Chandra 2009 Structure and organization of the rhizome vascular system of four *Polypodium* species. *Am Fern J* 99: 182-193.
- Thiers B. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. (Continuamente atualizado) Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/ih/>>. Acesso em: 02 out. 2018.
- Valdespino IA, CA López, J Ceballos 2018 *Selaginella germinans* (Selaginellaceae), a new articulate species from Chapada dos Veadeiros region in the State of Goiás, Brazil. *Bot Lett* 165: 487-493.
- Walton J, AHG Alston 1938 Lycopodiinae. Pages 500-506 in F Verdoorn, eds. *Manual of pteridology*. Martinus Nijhoff, The Hague.
- Weststrand S, P Korall 2016a Phylogeny of Selaginellaceae: There is value in morphology after all!. *Am J Bot* 103: 2136-2159.
- Weststrand S, P Korall 2016b A subgeneric classification of *Selaginella* (Selaginellaceae). *Am J Bot* 103: 2160-2169.

- Wikström N, P Kenrick 2001 Evolution of Lycopodiaceae (Lycopsidea): estimating divergence times from rbcL gene sequences by use of nonparametric rate smoothing. *Molec Phylogenet Evol* 19: 177-186.
- Willats WGT, L McCartney, W Mackie, JP Knox 2001 Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Mol Biol* 47: 9-27.
- Yapo BM 2011 Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins-A new hypothetical model. *Carbohydr Polym* 86: 373-385.
- Zhou X, L Zhang 2015 A classification of *Selaginella* (Selaginellaceae) based on molecular (chloroplast and nuclear), macromorphological, and spore features. *Taxon* 64: 1117-1140.
- Zhou X, CJ Rothfels, L Zhang, Z He, TL Péchon, H He, NT Lu, R Knapp, D Lorence, X He, X Gao, L Zhang 2016 A large-scale phylogeny of the lycophyte genus *Selaginella* (Selaginellaceae: Lycopodiopsida) based on plastid and nuclear loci. *Cladistics* 32: 360-389.
- Zimmermann W 1930 Die Phylogenie der pflanzen: ein überblick über tatsachen und probleme. Jena: Gustav Fischer.
- Zimmermann W 1952 Main results of the “telome theory”. *Palaeobotanist* 1: 456-470.

FIGURAS E LEGENDAS

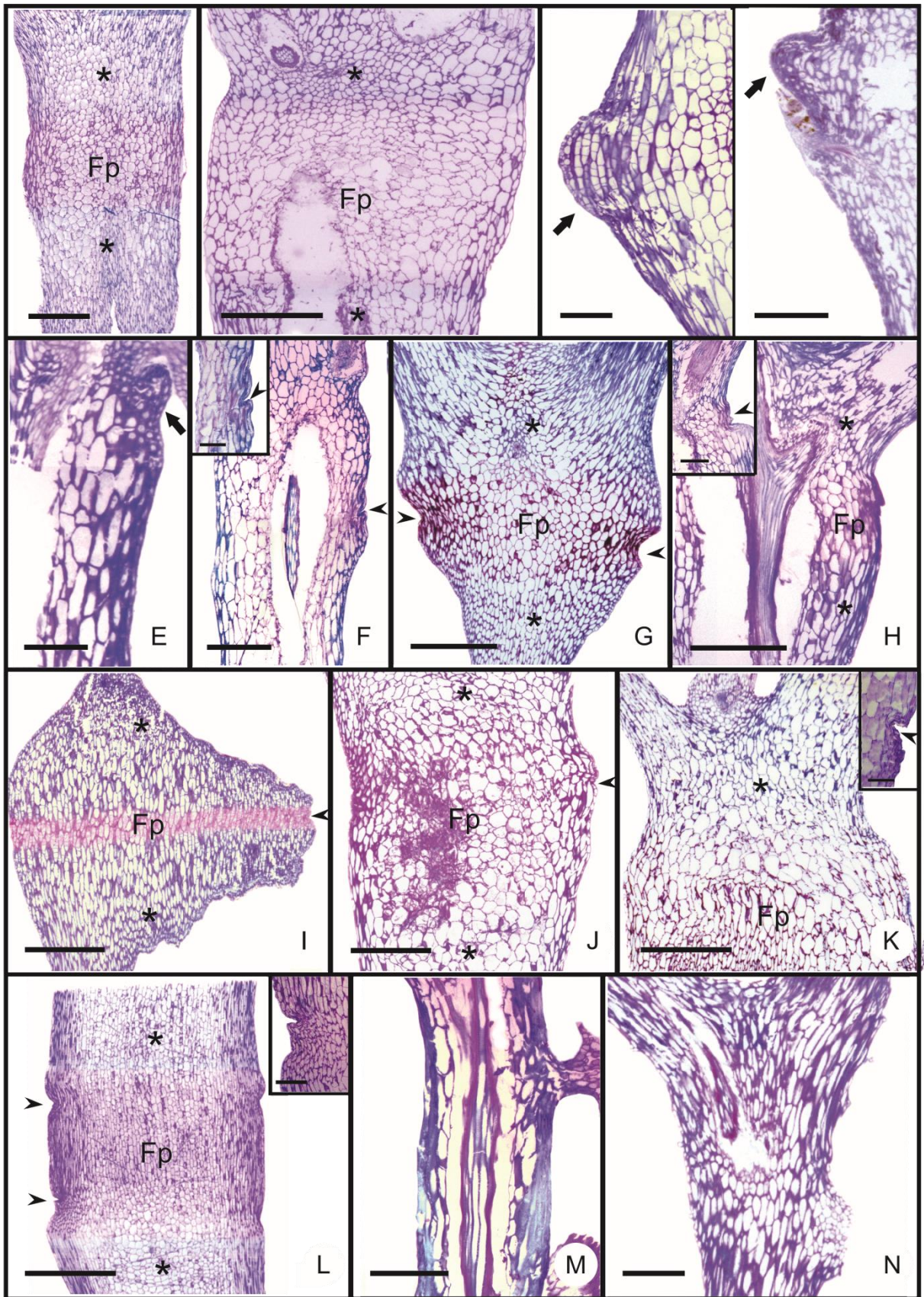


Fig. 1 Visão geral anatômica do caule de *Selaginella* (em seção longitudinal). A. *Selaginella epirrhizos* (Huber 1373, MG), com a articulação do tipo péctica (Fp) e região não articulada (asterisco). B. *Selaginella suavis* (Heringer 1522, MG), com a articulação do tipo péctica (Fp) e região não articulada (asterisco). C. *Selaginella asperula* (Carreira et al. 468, MG), com articulação do tipo nodosa (indicado pela seta). D. *Selaginella conduplicata* (Silva e Rosário 5356, MG), com articulação do tipo nodosa (indicado pela seta). E. *Selaginella parviarticulata* (Viveros 251, BHCB), com articulação do tipo nodosa (indicado pela seta). F. *Selaginella kraussiana* (Rosa e Pires 3885, MG), com articulação elevada monossulcada, a inserção mostra o sulco (ponta da seta). G. *Selaginella fragilis* (Silva et al. 408, MG), com articulação elevada péctica monossulcada (Fp) e região não articulada (asterisco) com o sulco indicado (ponta da seta). H. *Selaginella marginata* (Ribas et al. 5137, MG), com articulação elevada péctica monossulcada (Fp) e região não articulada (asterisco), a inserção mostra a presença de um sulco (ponta da seta). I. *Selaginella parkeri* (Cavalcante 2379, MG), com articulação elevada péctica monossulcada (Fp) e região não articulada (asterisco) com o sulco indicado (ponta da seta). J. *Selaginella sulcata* (Strudwick et al. 3658, MG), com articulação elevada péctica monossulcada (Fp) e região não articulada (asterisco), a inserção mostra a presença de um sulco (ponta da seta). K. *Selaginella valida* (Salino et al. 15617, BHCB), com articulação elevada péctica monossulcada (Fp) e região não articulada (asterisco), a inserção mostra a presença de um sulco (ponta da seta). L. *Selaginella exaltata* (Almeida e Salino 2557, BHCB), com articulação elevada péctica bissulcada (Fp) e região não articulada (asterisco), presença de dois sulcos (ponta da seta), a inserção mostra um dos sulcos de forma detalhada (ponta da seta). M. *Selaginella anaclasta* (Labiak et al. 5639, RB), caule com ausência de articulação. N. *Selaginella coarctata* (Rosa e Lira 2339, MG), caule com ausência de articulação. Barras: 100 μm = (inset F, inset K), 200 μm = (M, inset H, inset J), 250 μm =

(*C, H*), 300 μm = (*N*), 350 μm = (*E, F, G, I, J, inset L*), 400 μm = (*B, D, K*), 450 μm = (*L*),
500 μm = (*A*).

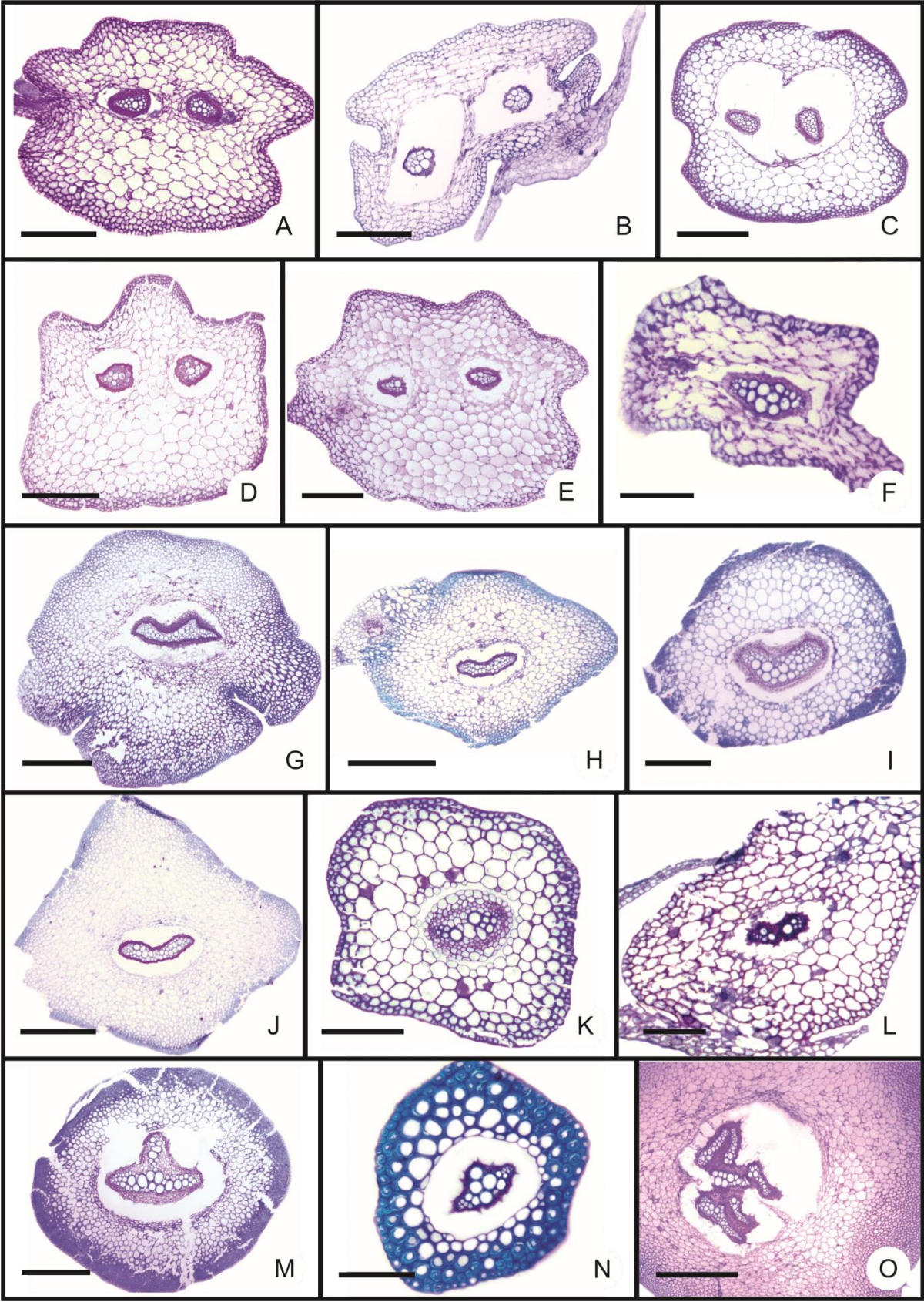


Fig. 2 Visão geral anatômica do caule de *Selaginella* (em seção transversal). A. *Selaginella epirrhizos* (Huber 1373, MG). B. *Selaginella kraussiana* (Rosa e Pires 3885, MG). C. *Selaginella suavis* (Santos Lima e Brade 13189, MG). D. *Selaginella sulcata* (Strudwick et al. 3658, MG). E. *Selaginella valida* (Salino et al. 15617, BHCB). F. *Selaginella calceolata* (Spruce 2535, RB). G. *Selaginella conduplicata* (Cid e Lima 3707, MG). H. *Selaginella fragilis* (Cavalcante 3189, MG). I. *Selaginella marginata* (Brade 13961, MG). J. *Selaginella parkeri* (Poole 1898, MG). K. *Selaginella parviarticulata* (Viveros 251, BHCB). L. *Selaginella asperula* (Carreira et al. 468, MG). M. *Selaginella coarctata* (Prance et al. s.n., MG). N. *Selaginella anaclasta* (Labiak et al. 5639, RB). O. *Selaginella exaltata* (Almeida e Salino 2557, BHCB). Barras: 100 μm = (F, K, N), 200 μm = (B, L), 250 μm = (A, D, I, M), 350 μm = (C, E, G, J), 400 μm = (H, O).

Apêndice I

Espécies analisadas e materiais com vouchers selecionados. Acrônimos dos herbários entre parênteses de acordo com Thiers (2018)

Taxon	Coletor (Herbário)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Exaltatae</i> Weststrand & Korall	
<i>S. anaclasta</i> Alston ex Crabbe & Jermy	Labiak et al. 5639 (RB)
<i>S. exaltata</i> (Kunze) Spring	Almeida e Salino 2557 (BHCB), Huber 1373 (MG); Prance et al. s.n. (MG)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Gymnogynum</i> (P.Beauv.) Weststrand e Korall	
<i>S. asperula</i> Spring	Carreira et al. 468 (MG); Cavalcante 3141 (MG); Nascimento 541 (MG)
<i>S. calceolata</i> Jermy & J.M Rankin	Spruce 2535 (RB)
<i>S. conduplicata</i> Spring	Cid e Lima 3707 (MG); Oliveira 6364 (MG); Silva e Rosário 5356 (MG)
<i>S. epirrhizos</i> Spring	Bisby et al. s.n. (MG); Huber 1623 (MG); Irwin et al. s.n. (MG)
<i>S. fragilis</i> A. Braun	Cavalcante 3189 (MG); Plowman et al. s.n. (MG); Rosa e Pires 3885 (MG); Silva et al. 408 (MG)
<i>S. kraussiana</i> (Kunze) A. Braun	
<i>S. marginata</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Spring	Brade 13961 (MG); Ribas et al. 5137 (MG); Santos Lima e Brade 13190 (MG)
<i>S. parkeri</i> (Hook. & Grev.) Spring	Cavalcante 2379 (MG); Cid et al. 551 (MG); Poole 1898 (MG)
<i>S. parviarticulata</i> Buck	Viveros 251 (BHCB)
<i>S. suavis</i> Spring	Heringer 1522 (MG); Santos Lima e Brade 13189 (MG)
<i>S. sulcata</i> (Desv. ex Poir) Spring ex. Mart	Strudwick et al. 3658 (MG); Strudwick et al. 3694 (MG); Strudwick et al. 4504 (MG)
<i>S. valida</i> Alston	Salino et al. 15617 (BHCB)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Stachygynandrum</i> (P.Beauv. ex Mirb.) Baker	
<i>S. coarctata</i> Spring	Prance et al. s.n. (MG); Rosa e Cordeiro 1567 (MG); Rosa e Lira 2339 (MG)

Tabela 1

Diversidade estrutural da articulação e do sistema vascular caulinar

Taxon	Articulação caulinar	Sistema vascular
<i>Selaginella</i> subg. <i>Gymnogynum</i> (P.Beauv.) Weststrand e Korall		
<i>S. asperula</i> Spring	Nodosa	Plectostelo
<i>S. calceolata</i> Jermy & J.M Rankin	Não amostrado	Actinostelo bilobado
<i>S. conduplicata</i> Spring	Nodosa	Actinostelo trilobado
<i>S. epirrhizos</i> Spring	Péctica	Bistélico
<i>S. fragilis</i> A. Braun	Elevada péctica monossulcada	Actinostelo bilobado
<i>S. kraussiana</i> (Kunze) A. Braun	Elevada monossulcada	Bistélico
<i>S. marginata</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Spring	Elevada péctica monossulcada	Actinostelo bilobado
<i>S. parkeri</i> (Hook. & Grev.) Spring	Elevada péctica monossulcada	Actinostelo bilobado
<i>S. parviarticulata</i> Buck	Nodosa	Actinostelo bilobado
<i>S. suavis</i> Spring	Péctica	Bistélico
<i>S. sulcata</i> (Desv. ex Poir) Spring ex. Mart	Elevada péctica monossulcada	Bistélico
<i>S. valida</i> Alston	Elevada péctica monossulcada	Bistélico
<i>Selaginella</i> subg. <i>Exaltatae</i> Weststrand & Korall		
<i>S. anaclasta</i> Alston ex Crabbe & Jermy	Não articulado	Actinostelo bilobado
<i>S. exaltata</i> (Kunze) Spring	Elevada péctica bissulcada	Actino-plectostelo
<i>Selaginella</i> subg. <i>Stachygynandrum</i> (P.Beauv. ex Mirb.) Baker		
<i>S. coarctata</i> Spring	Não articulado	Actinostelo trilobado

ARTIGO II

A ser enviado ao periódico *American Fern Journal*.

(Normas para submissão no anexo II)

Corpos de sílica em *Selaginella* (Selaginellaceae)

Corpos de sílica em *Selaginella* (Selaginellaceae)

LAYSE KRISTINE CORRÊA LOPES

Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas–Botânica Tropical, Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, Avenida Perimetral, 1901, Terra Firme, CEP 66077-830, Belém, PA, Brazil, email: laysekristinee@gmail.com

ANA CARLA FEIO

Museu Paraense Emílio Goeldi, Coordenação de Botânica. Avenida Perimetral, 1901, Terra Firme, CEP 66077-830, Belém, PA, Brazil, email: anacarlafeio@gmail.com

RESUMO.— Nos microfilos de *Selaginella* são observadas estruturas que recebem diferentes denominações dentre elas: idioblastos e papilas, mas que se assemelham a corpos de sílica. No entanto, não há estudos que atestem a composição e que confirmem a natureza de tais estruturas na maioria das espécies. Neste estudo, baseado em análises em microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de dispersão de energia por raio-X, é confirmada a presença de corpos de sílica nos microfilos de *Selaginella*, resultando na criação de padrões de distribuição e na revisão terminológica. A presença de corpos de sílica pode ser considerada uma potencial sinapomorfia para o gênero.

PALAVRAS-CHAVE.— Licófitas, silício, spikemoss, taxonomia.

ABSTRACT.— In microphylls of *Selaginella* structures are observed that receive different denominations among them: idioblasts and papilas, but that resemble to silica bodies. However, there are no studies that attest the composition and confirm the nature of such

structures in most species. In this study, based on analyzes in scanning electron microscopy and energy dispersion X-ray spectroscopy, the presence of silica bodies in the *Selaginella* microphylls is confirmed, resulting in the creation of distribution patterns and terminological revision. The presence of silica bodies can be considered a potential synapomorphy for the genus.

KEY WORDS.— Lycophytes, silicon, spikemoss, taxonomy.

O silício é o principal constituinte inorgânico de plantas vasculares e ocorre na forma de sílica gel ou corpos de sílica (Chauhan *et al.* 2011; Frantz *et al.* 2011; Gibson, 1893; Kim *et al.* 2002; Piperno e Pearsall, 1998; Sundue, 2009), com a função de proteção e resistência, principalmente contra a ação de herbívoros, agentes patógenos e condições climáticas desfavoráveis como a seca (Chauhan *et al.* 2011; Ma e Yamaji, 2008; Moraes *et al.* 2004). Durante a absorção da água através das raízes das plantas, o silício é absorvido na forma de ácido monossilícico e depositado em várias células vegetais, como células buliformes, células buliformes paralelepipedais, células curtas de sílica, células longas epidérmicas de paredes sinuosas e pêlos espiciformes (Chauhan *et al.* 2011).

Os corpos de sílica podem auxiliar estudos taxonômicos em samambaias e licófitas (Iriarte e Paz, 2009; Kaufman *et al.* 1971; Mazumdar, 2011; Ribeiro *et al.* 2007; Sundue, 2009), e são relatados para os órgãos vegetativos de *Selaginella* P. Beauv. (Gibson, 1893; Gibson, 1894; Mazumdar, 2011; Ogura, 1972; Piperno, 1988), contudo, somente Dengler e Lin (1980) e Trembath-Reichert *et al.* (2015) realizaram testes para a presença de sílica. Ainda assim, tais trabalhos carecem de uma amostragem significativa, logo, não há um levantamento sistemático, tanto da presença quanto da distribuição dos corpos de sílica, na maioria das espécies. Esses aspectos limitam a utilização deste caráter diante da riqueza

específica de *Selaginella*, com cerca de 700 espécies (PPG I, 2016), atualmente organizadas em sete subgêneros com ampla distribuição (Weststrand e Korall, 2016b).

Outro aspecto que dificulta a utilização dos corpos de sílica na taxonomia de *Selaginella* é o emprego de terminologias inadequadas. Há autores que relataram a presença de estruturas na superfície dos microfilos presumindo que poderiam ser corpos de sílica, contudo, foram chamados de “esclereides verrugosas” (Dengler, 1980), “fibras verrugosas” (Dahlen, 1988), “verrugas epidérmicas” (Bienfait e Waterkeyn, 1974), “células papilosas” (Góes-Neto *et al.* 2017), “idioblastos com formato de células papilosas” (Valdespino *et al.* 2014), “células papilosas alongadas” (Valdespino, 2015a,b). Valdespino (2015c) ainda sinonimizou células papilosas e idioblastos, “células alongadas papilosas semelhantes a idioblastos” (Valdespino *et al.* 2015), “idioblastos” (Cremers e Boudrie, 2007; Góes-Neto e Salino, 2018; Góes-Neto *et al.* 2015; Valdespino, 2017a), “papilas” (Valdespino, 2017a,b), “idioblastos papiloides” (Valdespino *et al.* 2018).

Apesar de serem facilmente observados na epiderme foliar, percebem-se as discordâncias conceituais das estruturas citadas sem análise anatômica e sem clareza sobre possíveis padrões de distribuição dos corpos de sílica em *Selaginella*. A fim de preencher ambas as lacunas quanto ao conhecimento de corpos silicosos no gênero, foi realizada uma análise comparativa dos microfilos, com uma amostragem significativa de cinco subgêneros de *Selaginella*, para investigar a presença e distribuição de corpos de sílica, visando reinterpretar este caráter.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem.—Foram analisadas 55 espécies representando cinco dos sete subgêneros de *Selaginella*: duas espécies de *Selaginella* subg. *Exaltatae* Weststrand & Korall, 14 de S. subg. *Gymnogynum* (P.Beauv.) Weststrand e Korall, três de S. subg. *Rupestrae* Weststrand &

Korall, uma de *S.* subg. *Selaginella* P.Beauv. e 35 de *S.* subg. *Stachygynandrum* (P.Beauv. ex Mirb.) Baker, de acordo com Weststrand e Korall (2016a,b), sendo analisada a epiderme do microfilo destas espécies. Foram considerados os dados de herbário (Tabela 1). As siglas dos herbários estão de acordo com Thiers (2018, continuamente atualizadas).

Microscopia Eletrônica de Varredura.—As amostras de microfilos dorsais e laterais foram transferidas de espécimes de herbário para *stubs* revestidos com fita de carbono de dupla face. Os *stubs* foram cobertos de ouro com o metalizador Emitech K550, as amostras foram examinadas e fotografadas em diferentes ampliações com TESCAN MIRA3, com uma voltagem de aceleração de 15 kV, no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu Paraense Emílio Goeldi.

Espectroscopia de dispersão de energia por raio-X.—As microanálises químicas de EDS foram realizadas em inclusões celulares sólidas, com o detector de raios-X PentaFET Precision acoplado ao mesmo microscópio e sob as mesmas condições operacionais para a captura das eletromicrografias, permitindo a análise qualitativa da composição química, bem como a análise de composição atômica semiquantitativa. Os picos de absorbância indicando concentração química elementar relativa $\geq 0.5\%$ e intervalos de erros 0-1 foram considerados significativos.

RESULTADOS

A presença de corpos de sílica na epiderme foi observada em todas as espécies com distintos padrões de distribuição e sempre na forma de projeções cônicas, exceto em *S. beitelii* A. R. Smith e *S. willdenowii* (Desv. ex Poir.) Baker (subg. *Stachygynandrum*); *S. selaginoides* (L.) Link (subg. *Selaginella*); *S. silvestris* Aspl. (subg. *Gymnogynum*). As microanálises químicas (EDS) confirmaram a composição silicosa (Fig. 1A–1F) nos representantes dos subgêneros analisados: *S. coarctata* Spring, *S. simplex* Baker e *S. willdenowii* (subg.

Stachygynandrum); *S. asperula* Spring e *S. conduplicata* Spring (subg. *Gymnogynum*), *S. anaclasta* Alston ex Crabbe & Jermy (subg. *Exaltatae*), *S. rupestris* (L.) Spring (subg. *Rupestreae*), exceto em *S. selaginoides* (subg. *Selaginella*). Foram observados quatro padrões de distribuição conforme as regiões do microfilo (margem, região intermediária e nervura), que são descritos abaixo e sua distribuição nos representantes de *Selaginella* está sumarizada na Tabela 2.

Medial-marginal (Fig. 2A–2B).—Corpos de sílica restritos à margem e à região intermediária do microfilo em *S. amazonica* Spring, *S. bombycina* Spring, *S. brevifolia* Baker, *S. coarctata*, *S. contigua* Baker, *S. convoluta* (Arn.) Spring, *S. decomposita* Spring, *S. erythropus* Spring, *S. falcata* (P. Beauv.) Spring, *S. flagellata* Spring, *S. flexuosa* Spring, *S. homaliae* A. Braun, *S. kochii* Hieron., *S. lechelri* Hieron., *S. microdonta* A. C. Sm., *S. muscosa* Spring, *S. pallescens* (C. Presl) Spring, *S. producta* Baker, *S. radiata* (Aubl.) Spring (subg. *Stachygynandrum*); *S. asperula*, *S. conduplicata*, *S. epirrhizos* Spring, *S. fragilis* A. Braun, *S. geniculata* (C. Presl) Spring, *S. lingulata* Spring, *S. marginata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Spring, *S. parkeri* (Hook. & Grev.) Spring, *S. tomentosa* Spring (subg. *Gymnogynum*); *S. anaclasta* (subg. *Exaltatae*), *S. sartorii* Hieron. e *S. selowii* Hieron. (subg. *Rupestreae*).

Laminar (Fig. 2C–2D).—Corpos de sílica sobre todas as regiões da lâmina do microfilo em *S. applanata* A. Braun, *S. breynii* Spring, *S. microphylla* (Kunth) Spring, *S. minima* Spring, *S. mucugensis* Valdespino, *S. nanuzae* Valdespino, *S. pulcherrima* Liebm., *S. revoluta* Baker, *S. simplex*, *S. tenuissima* Féen (subg. *Stachygynandrum*); *S. parviarticulata* Buck (subg. *Gymnogynum*); *S. rupestris* (subg. *Rupestreae*).

Marginal (Fig. 2E–2F).—Corpos de sílica restritos à margem foliar, presente em *S. apoda* (L.) Spring, *S. potaroensis* Jenman, *S. rhodostachya* Baker e *S. seemanii* Baker. (subg. *Stachygynandrum*); *S. kraussiana* (Kunze) A. Braun e *S. suavis* Spring (subg. *Gymnogynum*), *S. exaltata* (Kunze) Spring (subg. *Exaltatae*).

Medial-costal (Fig. 2G–2H).—Corpos de sílica distribuídos sobre a região intermediária e nervura central presente somente em *S. sulcata* (Desv. ex Poir) Spring ex. Mart (subg. *Gymnogynum*).

DISCUSSÃO

A problemática conceitual.—A ocorrência de corpos de sílica na epiderme e ao longo do microfilo de *Selaginella* estão de acordo com o padrão observado para *S. kraussiana* (Le Coq *et al.* 1973; Robert e Laroche, 1979; Robert *et al.* 1973; Waterkeyn e Bienfait, 1967; Waterkeyn *et al.* 1982), *S. pallescens* (C. Presl) Spring var. *pallescens* (Dengler e Lin, 1980), *S. erythropus* (Reshak e Sheue, 2012), *S. bryopteris* (L.) Baker (Chauhan, *et al.* 2009) e *Selaginella* sp. (Trembath-Reichert *et al.* 2015). A partir dos parâmetros de análise fotográfica nos trabalhos citados e nesta análise de 56 representantes de *Selaginella*, as estruturas citadas em estudos taxonômicos recentes como “idioblastos”, “papilas”, “idioblastos papilóides” (Góes-Neto e Salino, 2018; Góes-Neto *et al.* 2015; Góes-Neto *et al.* 2017; Valdespino, 2015a,b,c; Valdespino *et al.*, 2015; Valdespino, 2017a,b; Valdespino *et al.* 2018) são na verdade corpos de sílica.

Em termos conceituais, “idioblastos” são células especializadas que ocorrem de forma individualizada e dispersa entre outros tecidos vegetativos e reprodutivos, nas quais a função secretora prevalece (Fahn, 1979, Roshchina e Roshchina, 1993), enquanto que “papilas” podem ser definidas como projeções da parede periclinal externa das células epidérmicas (Metcalf e Chalk, 1979) e “idioblastos papilóides” seria uma fusão igualmente equivocada dos dois termos. Logo, diante das características estruturais e distribuição descritos para os corpos de sílica nos representantes de *Selaginella*, percebe-se que tais termos veem sendo empregados de forma equivocada. Esse cenário pode ser o resultado da escassez de estudos com amostragem mais robusta e da ausência de testes sobre a composição química destas

inclusões minerais observadas ao longo dos anos pelos taxonomistas especialistas, ocasionando sucessivas replicações equivocadas de tais terminologias, onde algumas vezes é possível compreender a tentativa de relacioná-las à ocorrência de corpos de sílica. A mesma situação foi observada em Pteridaceae (Sundue, 2009), onde a utilização de termos por outros autores como “células espiculares”, “idioblastos” e “idioblastos venulóides” implicou na incipiência do potencial sistemático dos corpos de sílica, que a partir de uma revisão foi possível indicar essa característica como sinapomorfia entre os diversos clados da família.

Implicações taxonômicas e ecológicas.—Embora a absorção e a concentração de sílica sejam afetadas por fatores ambientais, o controle genético é predominante (Piperno, 1988). Famílias consideradas não-acumuladoras não acumulam sílica, independentemente das condições ambientais, logo, plantas que apresentam diferentes formas de sílica retêm suas morfologias individuais quando cultivadas sob condições ambientais idênticas (Prychid *et al.* 2003).

Os quatro padrões de distribuição demonstraram a diversidade com que os corpos de sílica podem estar organizados nos microfilos. O padrão “Medial-marginal” agrupou o maior número de espécies de *Selaginella*. Apesar de não haver um padrão por subgênero, os corpos de sílica podem ser considerados caracteres diagnósticos importantes para estudos taxonômicos (Prychid *et al.* 2003). Em *Selaginella*, já são utilizados na identificação de espécies, apesar das denominações equivocadas, como observado nos trabalhos de Góes-Neto *et al.* (2015), Valdespino (2015a), Góes-Neto *et al.* (2017) e Valdespino *et al.* (2018). Sendo assim, a partir desta revisão terminológica, também será possível auxiliar imediatamente esses estudos.

Quanto à topologia, 92% das espécies analisadas apresentaram corpos de sílica epidérmicos, o que pode ser uma característica unificadora para *Selaginella* como sugerido por Dengler e Lin (1980), juntamente com outras sinapomorfias como o estelo e o

megasporângio com quatro megásporos (Weststrand e Korall, 2016a). No entanto, são necessárias investigações mais aprofundadas, levando-se em consideração a evolução destas características em *Selaginella*.

Os corpos de sílica, quando presentes na lâmina foliar, estão relacionados a regiões da planta onde a perda de água pode ser maior (Prychid *et al.* 2003). Quando associados com a cutícula regulam a taxa de transpiração da epiderme (Yoshida *et al.* 1962). Para Chauhan *et al.* (2011) a ocorrência de corpos de sílica desempenha um papel essencial pois age como dobradiças para o rolamento das folhas com a falta de água. Logo, é notável a relação da sílica com as condições climáticas desfavoráveis como a seca. Por outro lado, acredita-se que o intemperismo dos minerais de silicato seja acelerado por climas úmidos, liberando assim maiores quantidades de sílica solúvel no solo do que em climas secos (Dunne, 1978; Siever, 1967), explicando em parte as altas concentrações de sílica em espécies de solos tropicais. Além disso, a presença de sílica funciona como uma barreira mecânica na parede celular (Ma e Yamaji, 2008; Moraes *et al.* 2004), fornecendo suporte aos microfilos (Dengler e Lin, 1980) e proteção contra herbivoria e agentes patógenos (Moraes *et al.* 2004).

CONCLUSÕES

Todos os registros anteriores em que foram empregadas terminologias como “esclereides verrugosas”, “fibras verrugosas”, “verrugas epidérmicas”, “células papilosas”, “idioblastos com formato de células papilosas”, “células papilosas alongadas”, “células alongadas papilosas semelhantes a idioblastos”, “idioblastos”, “papilas”, “idioblastos papiloides”, foram confirmados como corpos de sílica. A partir da pesquisa realizada aqui, com a criação de padrões baseados na distribuição dos corpos de sílica ao longo do microfilos, bem como a revisão terminológica, implicações taxonômicas podem ser extraídas e a presença de corpos de sílica pode ser uma potencial sinapomorfia para *Selaginella*, pois sua ocorrência

nos microfilos parecem ter a mesma origem. Contudo, há necessidade de análises mais profundas a partir de estudos de evolução deste caráter.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES pela bolsa de pesquisa concedida a LKCL (processo:) e ao CNPq pela atual bolsa de Pós-Doutorado Junior (PDJ; processo: 151425/2018-3) concedida a ACF, aos herbários ALCB, BHCB, IAN, INPA e MG, e aos Laboratórios de Anatomia Vegetal (LAVEG) e de Microscopia Eletrônica (LME) do Campus de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi.

LITERATURA CITADA

BIENFAIT A. AND L. WATERKEYN . 1974. Contribution à l'étude systématique des *Selaginella*. Spécificité des formations callosiques foliaires observées en fluorescence. Bulletin du Jardin botanique national de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van België 44(3–4):295–302.

CHAUHAN, D. K., D. K. TRIPATHI, P. SINHA AND S. P. TIWARI. 2009. Biogenic silica in some pteridophytes. Bionature 29(1):1–9.

CHAUHAN, D. K., D. K. TRIPATHI, N. K. RAI AND A. K. RAI. 2011. Detection of biogenic silica in leaf blade, leaf sheath, and stem of bermuda grass (*Cynodon dactylon*) using LIBS and phytolith analysis. Food Biophysics 6(3):416–423.

CREMERS, G. AND M. BOUDRIE. 2007. Two new species of *Selaginella* subgenus *heterostachys* (Sellaginellaceae from The Guianas). Fern Gazette 18(2):41–52.

DAHLEN, M. A. 1988. Taxonomy of *Selaginella*: a study of characters, techniques, and classification in the Hong Kong species. Botanical journal of the Linnean Society 98(4):277–302.

- DENGLER, N. G. 1980. The histological basis of leaf dimorphism in *Selaginella martensii*. Canadian Journal of Botany 58(11):1225–1234.
- DENGLER, N. G. AND E. Y. LIN. 1980. Electron microprobe analysis of the distribution of silicon in the leaves of *Selaginella emmeliana*. Canadian Journal of Botany 58(23):2459–2466.
- DUNNE, T. 1978. Rates of chemical denudation of silicate rocks in tropical catchments. Nature 274:244–246.
- FAHN, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London.
- FRANTZ, J. M., D. D. PITCHAY, J. C. LOCKE, L. E. HORST AND C. R. KRAUSE. 2005. Silicon is deposited in leaves of New Guinea *impatiens*. Plant health progress
- GIBSON, R. J. H. 1893. On the Siliceous Deposit in the Cortex of Certain Species of *Selaginella*, Spr. Annals of Botany 7(27):355–366.
- GIBSON, R. J. H. 1894. Contributions toward a knowledge of the anatomy of the genus *Selaginella* Spr. I. The stem. Annals of Botany (London) 8:133–206.
- GÓES-NETO, L. A. A., G. HERINGER AND A. SALINO. 2015. *Selaginella salinoi* (Selaginellaceae), a new species from Brazil. Phytotaxa 224(3):291–295.
- GÓES-NETO, L. A. A.; E. L. M. ASSIS AND A. SALINO. 2017. *Selaginella* (Selaginellaceae) from Brazil: a new species, new records and lectotype designation. Kew bulletin 72(3):40.
- GÓES-NETO, L. A. A. AND A. SALINO. 2018. *Selaginella kriegariana* (Selaginellaceae-Lycopodiopsida), an Endemic New Species from Brazil with Notes About the Genus in Caparaó National Park. Systematic Botany 43(4):920–929.
- IRIARTE, J. AND E. A. PAZ. 2009. Phytolith analysis of selected native plants and modern soils from southeastern Uruguay and its implications for paleoenvironmental and archeological reconstruction. Quaternary International 193(1–2):99–123.

KAUFMAN, P. B., W. C. BIGELOW, R. SCHMID AND N. S. GHOSHEH. 1971. Electron microprobe analysis of silica in epidermal cells of *Equisetum*. *American Journal of Botany* 58(4):309–316.

KIM, S. G., K. W. KIM, E. W. PARK AND D. CHOI. 2002. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Phytopathology* 92(10):1095–1103.

LE COQ, C., C. GUERVIN, J. L. AROCHE AND D. ROBERT. 1973. Mise en place de la silice dans les cellules épidermiques de la feuille d'une Ptéridophyte: *Selaginella kraussiana* I. Données fournies par la microscopie électronique à balayage, la microscopie de fluorescence et la microanalyse par sonde électronique. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle Sér. 3, Botanique* 13: 185–208.

MA, J. F. AND N. YAMAJI. 2008. Functions and transport of silicon in plants. *Cellular and molecular life sciences* 65 (19):3049–3057.

MAZUMDAR, J. Phytoliths of pteridophytes. 2011. *South African Journal of Botany* 77(1):10–19.

METCALFE, C. R. AND L. CHALK. 1979. *Anatomy of the dicotyledons: volume 1. Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject*. Oxford: Clarendon Press, England.

MORAES, J. C., M. M. GOUSSAIN, M. A. BASAGLI, G. A. CARVALHO, C. C. EOLE AND M. V. SAMPAIO. 2004. Silicon influence on the tritrophic interaction: wheat plants, the greenbug *Schizaphis graminum* (Rondani)(Hemiptera: Aphididae), and its natural enemies, *Chrysoperla externa* (Hagen)(Neuroptera: Chrysopidae) and *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae). *Neotropical Entomology* 33(5):619–624.

OGURA, Y. 1972. *Comparative anatomy of the vegetative organs of the Pteridophytes*. *Encyclopedia of Plant Anatomy*, Berlin.

- PIPERNO, D. R. 1988. *Phytolith analysis: an archeological and geological perspective*. Academic Press, San Diego.
- PIPERNO, D. R. AND D. M. PEARSALL. 1998. The silica bodies of tropical American grasses: morphology, taxonomy, and implications for grass systematics and fossil phytolith identification. *Smithsonian Contributions to Botany* (85)1–40.
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of Systematics and Evolution* 54(6):563–603.
- PRYCHID, C. J., P. J. RUDALL AND M. GREGORY. 2003. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. *The Botanical Review* 69(4):377–440.
- RESHAK, A. H. AND C. R. SHEUE. 2012. Second harmonic generation imaging of the deep shade plant *Selaginella erythropus* using multifunctional two-photon laser scanning microscopy. *Journal of microscopy* 248(3):234–244.
- RIBEIRO, M. L. R. C, M. G. SANTOS AND M. G. MORAES. 2007. Leaf anatomy of two *Anemia* Sw. species (Schizaeaceae-Pteridophyte) from a rocky outcrop in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Botany* 30(4):695–702.
- ROBERT, D., C. GUERVIN, C. LE COQ AND A. SAU-VANET. 1973. Mise en place de la silice dans les cellules épidermiques de la feuille d'une Ptéridophyte, *Selaginella kraussiana* II Étude ultrastructurale. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle Sér. 3, Botanique* 14: 209–234.
- ROBERT, D. AND J. LAROCHE, 1979. La callose chez la feuille de *Selaginella kraussiana*. Mise en place et rôle dans le flux hydrique et la minéralisation. *Revue Générale de Botanique* 86:191–202.
- ROSHCHINA, V. V. AND V. D. ROSCHINA. 1993. *The excretory function of higher plants*. Springer Science & Business Media, Alemanha.

SIEVER, R. 1957. The silica budget in the sedimentary cycle. *American Mineralogist: Journal of Earth and Planetary Materials* 42(11–12):821–841.

SUNDUE, M. 2009. Silica bodies and their systematic implications in Pteridaceae (Pteridophyta). *Botanical Journal of the Linnean Society* 161(4):422–435.

THIERS, B. 2018. (Continuamente atualizado). Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/>, Acessado 21 August 2018.

TREMBATH-REICHERT, E., J. P. WILSON, S. E. MCGLYNN AND W. W. FISCHER. 2015. Four hundred million years of silica biomineralization in land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(17):5449–5454.

VALDESPINO, I. A., G. HERINGER, A. SALINO AND L. A. A. GÓES-NETO, J. CEBALLOS. 2015. Seven new species of *Selaginella* subg. *Stachygynandrum* (Selaginellaceae) from Brazil and new synonyms for the genus. *PhytoKeys* 50:61–99.

VALDESPINO, I. A., C. LOPEZ AND L. A. A. GÓES-NETO. 2014. Additions to Cuban *Selaginella* (Selaginellaceae). *Phytotaxa* 184(4):235–244.

VALDESPINO, I. A. 2015a. *Selaginella boomii* (Selaginellaceae–Lycopodiophyta): A new and widely distributed spikemoss from South America. *Brittonia* 67(4):328–335.

VALDESPINO, I. A. 2015b. Lectotypification of *Selaginella tenuissima* and *S. papagaiensis* (Selaginellaceae) with the description of *S. monticola*. *Phytotaxa* 233(2):153–165.

VALDESPINO, I. A. 2015c. Novelties in *Selaginella* (Selaginellaceae–Lycopodiophyta), with emphasis on Brazilian species. *PhytoKeys* 57:93–133.

VALDESPINO, I. A. 2017a. *Selaginella hyalogramma* (Selaginellaceae–Lycopodiophyta): a new species from Venezuela, South America. *American Fern Journal* 107(2):72–83.

VALDESPINO, I. A. 2017b. Validation of *Selaginella psittacorrhyncha* (Selaginellaceae), a new species from the Guiana Highlands of Venezuela and Brazil. *Phytoneuron* 63:1–8.

VALDESPINO, I. A., C. A. LÓPEZ AND J. CEBALLOS. 2018. *Selaginella germinans* (Selaginellaceae), a new articulate species from Chapada dos Veadeiros region in the State of Goiás, Brazil. *Botany Letters* :1–7.

WATERKEYN, L. AND A. BIENFAIT. 1967. Les émergences callosiques et silicifiées des feuilles de Sélaginelles. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences* 264:1608–1611.

WATERKEYN, L., A. BIENFAIT AND A. PEETERS. 1982. Callose et silice épidermiques: Rapports avec la transpiration cuticulaire. *Cellule* 73:267–287.

WESTSTRAND, S. AND P. KORALL. 2016a. Phylogeny of Selaginellaceae: There is value in morphology after all!. *American Journal of Botany* 103(12):2136–2159.

WESTSTRAND, S. AND P. KORALL. 2016b. A subgeneric classification of *Selaginella* (Selaginellaceae). *American Journal of Botany* 103(12):2160–2169.

YOSHIDA, S., Y. OHNISHI AND K. KITAGISHI. 1962. Histochemistry of silicon in rice plant: III. The presence of cuticle-silica double layer in the epidermal tissue. *Soil Science and Plant Nutrition* 8(2):1–5.

TABELA 1. Táxons analisados e vouchers de materiais selecionados. Acrônimos de herbários entre parênteses de acordo com Thiers (2018)

Taxon	Collector (Herbarium)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Exaltatae</i> Weststrand & Korall	
<i>S. anaclasta</i> Alston ex Crabbe & Jermy	P. Labiak <i>et al.</i> 5639 (RB)
<i>S. exaltata</i> (Kunze) Spring	Prance <i>et al.</i> s.n. (MG)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Gymnogynum</i> (P.Beauv.) Weststrand e Korall	
<i>S. asperula</i> Spring	O. C. Nascimento 541 (MG)
<i>S. conduplicata</i> Spring	S. Maciel 1628 (MG)
<i>S. epirrhizos</i> Spring	F. Bisby <i>et al.</i> (MG)
<i>S. fragilis</i> A. Braun	A. S. L. da Silva <i>et al.</i> 408 (MG)
<i>S. geniculata</i> (C. Presl) Spring	A. H. G. Alston 7778 (MG)
<i>S. kraussiana</i> (Kunze) A. Braun	Rosa e Pires 3885 (MG)
<i>S. lingulata</i> Spring	A. G. H. Alston 8344 (MG)
<i>S. marginata</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Spring	O. S. Ribas <i>et al.</i> 5137 (MG)
<i>S. parviarticulata</i> Buck	R. Viveros 251 (BHCB)
<i>S. parkeri</i> (Hook. & Grev.) Spring	M. R. Pietrobon 7160 (MG)
<i>S. suavis</i> Spring	E. P. Heringer 1522 (MG)
<i>S. sulcata</i> (Desv. ex Poir) Spring ex. Mart	Strudwick <i>et al.</i> 3694 (MG)
<i>S. silvestris</i> Aspl.	A. H. G. Alston 7128 (MG)
<i>S. tomentosa</i> Spring	A. H. G. Alston 8634 (MG)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Rupestreae</i> Weststrand & Korall	
<i>S. sartorii</i> Hieron.	A. H. G. Alston 6513 (MG)
<i>S. selowii</i> Hieron.	A. H. G. Alston 6382 (MG)
<i>S. rupestris</i> (L.) Spring	F. G. Schroeder 6022 (MG)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Selaginella</i> P.Beauv.	
<i>S. selaginoides</i> (L.) Link	W. Repetzky s.n. (MG)
<i>Selaginella</i> subg. <i>Stachygynandrum</i> (P.Beauv. ex Mirb.) Baker	
<i>S. amazonica</i> Spring	G. T Prance <i>et al.</i> s.n. (MG)
<i>S. apoda</i> (L.) Spring	S. W. Leonard 4868 (MG)
<i>S. applanata</i> A. Braun	H. P. Bautista 82 (MG)

<i>S. beitelii</i> A. R. Smith	F. A. Carvalho <i>et al.</i> 353 (INPA)
<i>S. bombycina</i> Spring	A. H. G. Alston 7859 (MG)
<i>S. brevifolia</i> Baker	J. M. Poole 1948 (MG)
<i>S. breynii</i> Spring	C. A. Cid 531 (MG)
<i>S. coarctata</i> Spring	G. T. Prance <i>et al.</i> (MG)
<i>S. contigua</i> Baker	Schvacke 952 (MG)
<i>S. convoluta</i> (Arn.) Spring	G. J. Shepherd <i>et al.</i> (MG)
<i>S. decomposita</i> Spring	A. C. Brade 20208 (MG)
<i>S. erythropus</i> Spring	M. R. Pietrobon 5553 (MG)
<i>S. falcata</i> (P. Beauv.) Spring	H. S. Irwin <i>et al.</i> (MG)
<i>S. flagellata</i> Spring	T. Plowman <i>et al.</i> (MG)
<i>S. flexuosa</i> Spring	A. C. Brade 16585 (MG)
<i>S. homaliae</i> A. Braun	D. W. Stevenson <i>et al.</i> 978 p. p. (INPA)
<i>S. kochii</i> Hieron.	L. A. Maia <i>et al.</i> 327 (MG)
<i>S. lechelri</i> Hieron.	M. R. Pietrobon 7003 (MG)
<i>S. microdonta</i> A. C. Sm.	P. Cavalcante 3056 (MG)
<i>S. microphylla</i> (Kunth) Spring	A. H. G. Alston 6703 (MG)
<i>S. minima</i> Spring	J. Pallos & M. Pietrobon 103 (MG)
<i>S. mucugensis</i> Valdespino	F. S. Gomes <i>et al.</i> 574 (ALCB)
<i>S. muscosa</i> Spring	Pietrobon & Gomes 4628 (MG)
<i>S. nanuzae</i> Valdespino	A. Salino <i>et al.</i> 7788 (BHCB)
<i>S. pallescens</i> (C. Presl) Spring	A. H. G. Alston 5535 (MG)
<i>S. potaroensis</i> Jenman	A. H. G. Alston 5318 (MG)
<i>S. producta</i> Baker	M. R. Pietrobon 7044 (MG)
<i>S. pulcherrima</i> Liebm.	R. C. Moran 5523 (MG)
<i>S. radiata</i> (Aubl.) Spring	A. J. Arruda <i>et al.</i> 949 (MG)
<i>S. revoluta</i> Baker	B. Maguire <i>et al.</i> (MG)
<i>S. rhodostachya</i> Baker	E. Ule 8491 (MG)
<i>S. seemanii</i> Baker	A. H. G. Alston 8632 (MG)
<i>S. simplex</i> Baker	Ilkiu-Borges <i>et al.</i> s/n (MG)
<i>S. tenuissima</i> Fée	W. A. Egler 483 (MG)
<i>S. willdenowii</i> (Desv. ex Poir.) Baker	S. Maciel 1644 (MG)

TABELA 2. Padrões de distribuição dos corpos de sílica nos microfilos de *Selaginella*.

Taxon	Padrão de Distribuição
<i>Selaginella</i> subg. <i>Exaltatae</i> Weststrand & Korall	
<i>S. anaclasta</i> Alston ex Crabbe & Jermy	Medial-marginal
<i>S. exaltata</i> (Kunze) Spring	Marginal
<i>Selaginella</i> subg. <i>Gymnogynum</i> (P.Beauv.) Weststrand e Korall	
<i>S. asperula</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. conduplicata</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. epirrhizos</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. fragilis</i> A. Braun	Medial-marginal
<i>S. geniculata</i> (C. Presl) Spring	Medial-marginal
<i>S. kraussiana</i> (Kunze) A. Braun	Marginal
<i>S. lingulata</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. marginata</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Spring	Medial-marginal
<i>S. parviarticulata</i> Buck	Laminar
<i>S. parkeri</i> (Hook. & Grev.) Spring	Medial-marginal
<i>S. suavis</i> Spring	Marginal
<i>S. sulcata</i> (Desv. ex Poir) Spring ex. Mart	Medial-costal
<i>S. silvestris</i> Aspl.	Não observado
<i>S. tomentosa</i> Spring	Medial-marginal
<i>Selaginella</i> subg. <i>Rupestreae</i> Weststrand & Korall	
<i>S. sartorii</i> Hieron.	Medial-marginal
<i>S. selowii</i> Hieron.	Medial-marginal
<i>S. rupestris</i> (L.) Spring	Laminar
<i>Selaginella</i> subg. <i>Selaginella</i> P.Beauv.	
<i>S. selaginoides</i> (L.) Link	Não observado
<i>Selaginella</i> subg. <i>Stachygynandrum</i> (P.Beauv. ex Mirb.) Baker	
<i>S. amazonica</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. apoda</i> (L.) Spring	Marginal
<i>S. applanata</i> A. Braun	Laminar
<i>S. beitelii</i> A. R. Smith	Não observado
<i>S. bombycina</i> Spring	Medial-marginal

<i>S. brevifolia</i> Baker	Medial-marginal
<i>S. breynii</i> Spring	Laminar
<i>S. coarctata</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. contigua</i> Baker	Medial-marginal
<i>S. convoluta</i> (Arn.) Spring	Medial-marginal
<i>S. decomposita</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. erythropus</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. falcata</i> (P. Beauv.) Spring	Medial-marginal
<i>S. flagellata</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. flexuosa</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. homaliae</i> A. Braun	Medial-marginal
<i>S. kochii</i> Hieron.	Medial-marginal
<i>S. lechelri</i> Hieron.	Medial-marginal
<i>S. microdonta</i> A. C. Sm.	Medial-marginal
<i>S. microphylla</i> (Kunth) Spring	Laminar
<i>S. minima</i> Spring	Laminar
<i>S. mucugensis</i> Valdespino	Laminar
<i>S. muscosa</i> Spring	Medial-marginal
<i>S. nanuzae</i> Valdespino	Laminar
<i>S. pallescens</i> (C. Presl) Spring	Medial-marginal
<i>S. potaroensis</i> Jenman	Marginal
<i>S. producta</i> Baker	Medial-marginal
<i>S. pulcherrima</i> Liebm.	Laminar
<i>S. radiata</i> (Aubl.) Spring	Medial-marginal
<i>S. revoluta</i> Baker	Laminar
<i>S. rhodostachya</i> Baker	Marginal
<i>S. seemanii</i> Baker	Marginal
<i>S. simplex</i> Baker	Laminar
<i>S. tenuissima</i> Fée	Laminar
<i>S. willdenowii</i> (Desv. ex Poir.) Baker	Não observado

LEGENDAS E FIGURAS

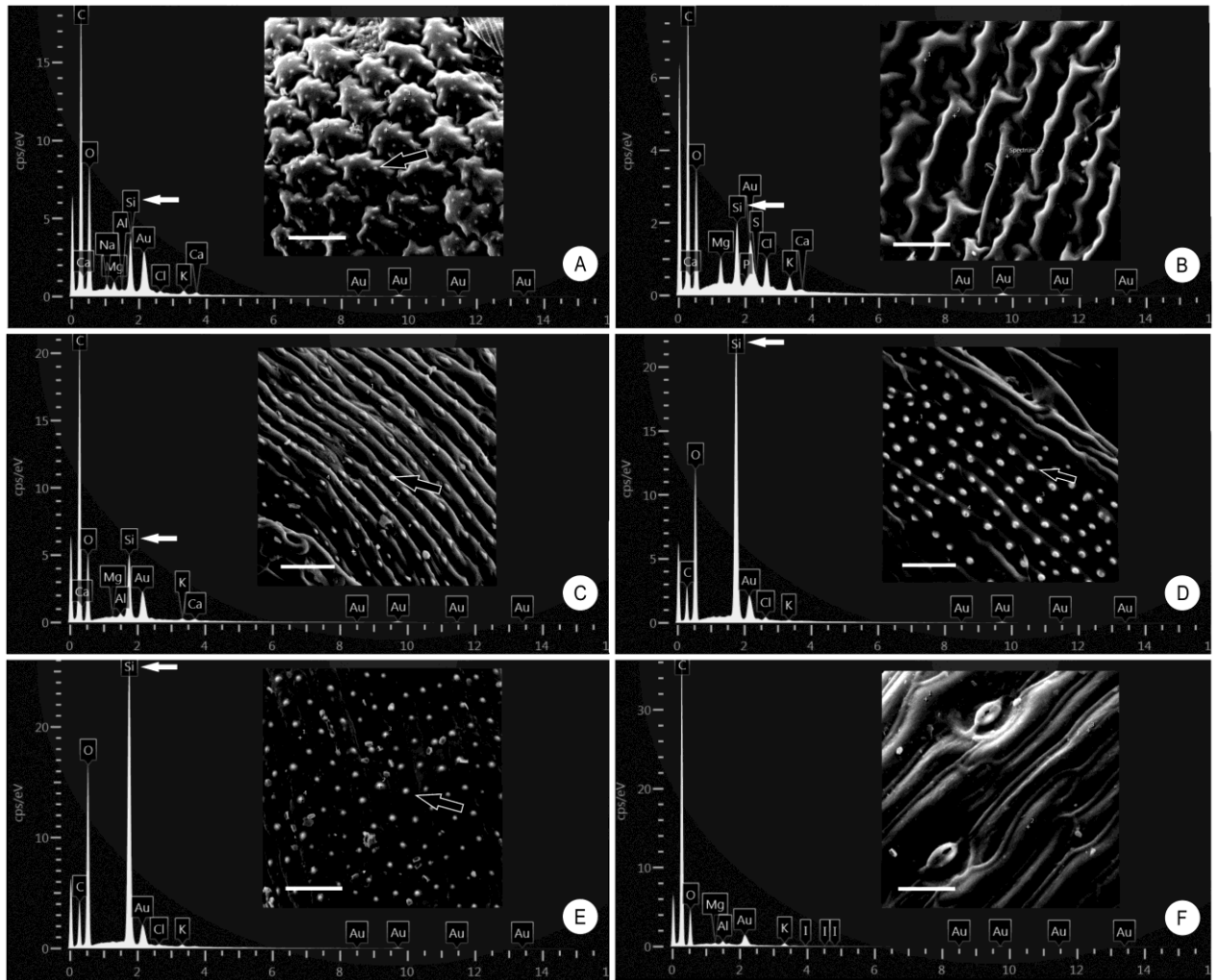


FIG. 1. Espectroscopia de dispersão de energia por raio-X. **A.** *Selaginella simplex*. **B.** *S. wildenowii*. **C.** *S. anacasta*. **D.** *S. conduplicata*. **E.** *S. rupestris*. **F.** *S. selaginoides*. Corpos de sílica (setas). Barras: 25 μm (A, B, C, D, E, F).

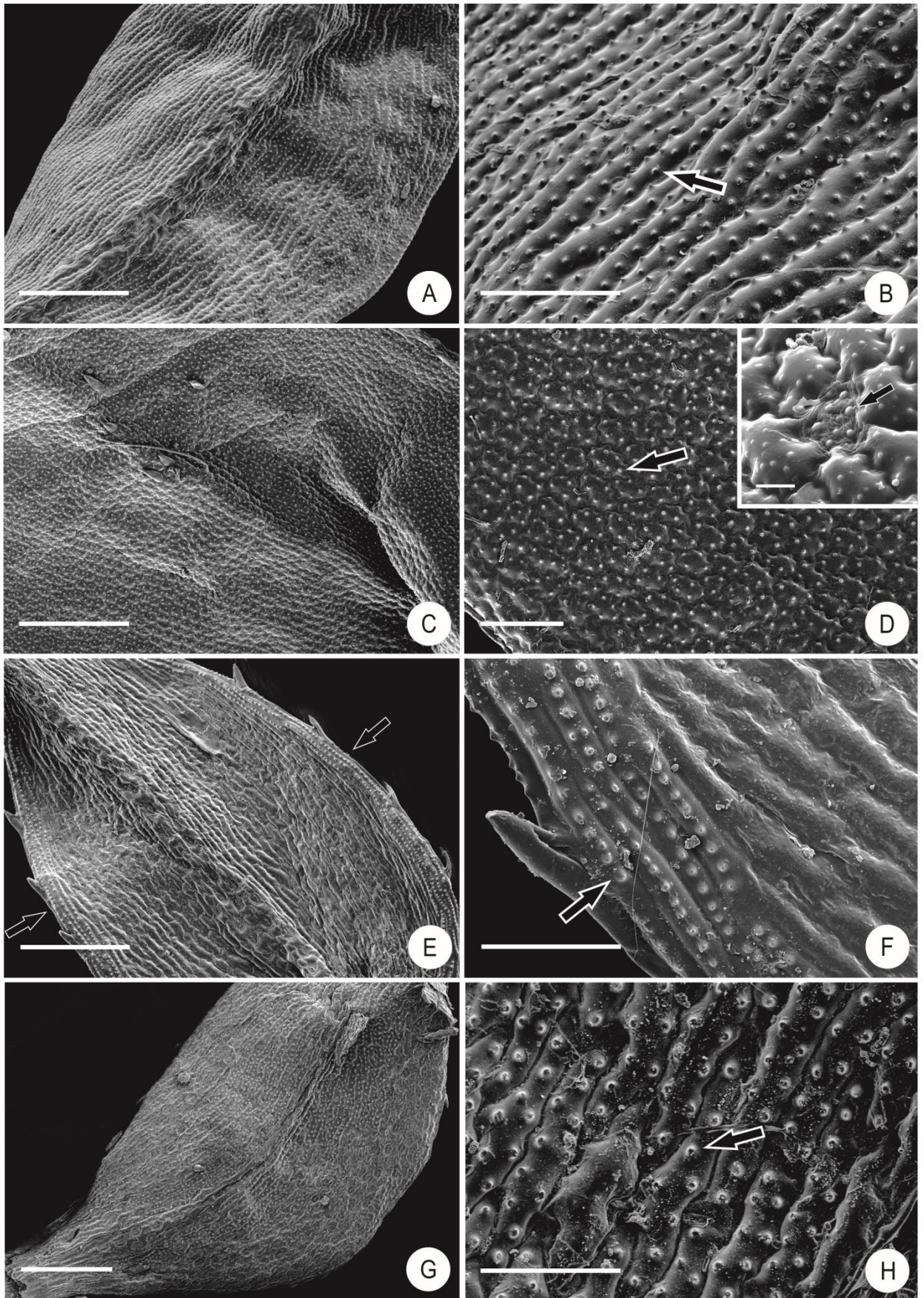


FIG. 2. Padrões de distribuição dos corpos de sílica em *Selaginella*. **A–B.** *Selaginella marginata*, padrão medial-marginal. **C–D.** *S. minina*, padrão laminar, **inset D.** *S. simplex*, corpos de sílica em maiores detalhes. **E–F.** *S. kraussiana*, padrão marginal. **G–H.** *S. sulcata*, padrão medial-costal. Corpos de sílica (setas). Barras: 10 μm (*inset D*), 20 μm (H), 50 μm (B, D, F), 200 μm (A, C, E, G).

4 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados apresentados nos capítulos 1 e 2 foram importantes para a caracterização das espécies do *Selaginella* subg. *Gymnogynum* e de *Selaginella*, respectivamente, estudadas ao longo deste trabalho e se configuram como novidades que devem ser adicionadas ao banco de dados do gênero, onde possivelmente contribuirão para estudos taxonômicos, sistemáticos, filogenéticos e ecológicos.

Em *S.* subg. *Gymnogynum*, o estudo anatômico do caule possibilitou a caracterização estrutural, identificação de cinco tipos de articulação, bem como, a descrição detalhada do sistema vascular caulinar para o grupo. As articulações que eram descritas com base em informações morfológicas imprecisas, podem ser classificadas a partir de dados anatômicos. O sistema vascular caulinar que era definido como protostelo simples circular ou elíptico para algumas espécies do subgênero, baseado na recente filogenia, agora é descrito como duas variações de actinostelo, além do tipo plectostelo para *S. asperula*. As características encontradas ressaltam a necessidade e a importância de estudos anatômicos aplicados à taxonomia para o gênero *Selaginella*.

Em relação às análises nos microfilos de *Selaginella*, onde estruturas observadas presentes na superfície foliar que até então são definidas como idioblastos e papilas, no trabalho foi comprovado que se tratam de corpos de sílica. Com base nisso, também foram estabelecidos quatro padrões de distribuição conforme as regiões do microfilo (margem, região intermediária e nervura). O fato dos corpos de sílica ainda serem pouco explorados para o gênero indica que estudos futuros são necessários para agregar informações mais completas sobre a ocorrência em todos os subgêneros, sendo indispensável o uso de técnicas anatômicas mais aprofundadas.

ANEXO I

Normas para a submissão no periódico *International Journal of Plant Sciences*

Information For Authors

- Information for Authors
- Abbreviations and Symbols

Manuscript Submission

Authors are encouraged to submit manuscripts online via the *International Journal of Plant Sciences* Editorial Manager system at <https://www.editorialmanager.com/ijpss>. Detailed instructions are available below. If you do not have access to the Web, please send one hard copy of your manuscript and a CD-R containing all relevant electronic files to the editorial office. It is no longer necessary to submit a hard copy in addition to an electronic submission.

Statement of Policy

International Journal of Plant Sciences invites papers in all areas of the plant sciences, including genetics and genomics, developmental and cell biology, biochemistry and physiology, morphology and structure, systematics, plant-microbe interactions, paleobotany, evolution, and ecology. To be considered for publication, a manuscript must report unpublished original research not under consideration for publication elsewhere and is expected to present the results of a cohesive investigation. Manuscripts concerned with techniques or methods are acceptable only when accompanied by illustrative observations or quantitative data. The editors welcome manuscripts presenting evaluations and new perspectives on areas of current interest in plant biology. These manuscripts should follow the style of *International Journal of Plant Sciences* and are subject to both review and editing.

Open Access Policy

IJPS authors have the option to make their accepted paper freely available online immediately upon publication. The fee for Open Access is \$1,300 (discounted to \$400 if the author's institution subscribes to the journal). Contact ijps@press.uchicago.edu for more information.

UK authors should note that this option cannot be used to comply with RCUK regulations for gold OA, as the University of Chicago Press requires permission for commercial reuse. UCP does comply with the RCUK regulations for green OA.

"Green" Open Access

The University of Chicago Press supports Green Open Access for all articles, as defined by the RCUK Open Access Policy, under the Press's Guidelines for Journal Authors' Rights.

Formatting Electronic Files

Please adhere to the requirements below when submitting a new or revised manuscript via Editorial Manager. The system relies on automated processing to create a PDF file from your submission. If you do not follow these instructions, your submission cannot be processed and will not be received by the journal office.

Acceptable Formats

- Microsoft Word (.doc)(any recent version)
- PDF (.pdf)
- LaTeX (.tex)
- WordPerfect (.wpd)
- Rich Text Format (.rtf)

File Contents

Word documents should be submitted as a single file. Authors should submit figures as separate files, in TIFF (.tif) or EPS (.eps) (not GIF [.gif] or JPEG [.jpg]) format.

If you submit a LaTeX file, all figures and tables should be external files that are referenced within the main "ms.tex" file by using appropriate commands. LaTeX is especially suited for articles containing extensive math; authors of math-intensive manuscripts can use the AASTeX manuscript package available at <http://aastex.aas.org/>.

Please note that authors of accepted manuscripts may be required to submit high-resolution hard copies of all figures during production, as not all digital art files are usable.

In addition to the main manuscript file, submit your cover letter *as a separate file* in the same format as your main file. If you used any revision or editorial tracking tools in your word-processing program, be sure the final version of your manuscript does not contain tracked changes.

File Compression and Archives

If you have more than two files to upload into the system (e.g., manuscript, figures, and cover letter), we recommend you combine these files into an archive, so you upload only a single file when submitting the manuscript. Applications for Mac OS (such as StuffIt) and Windows (such as WinZip) support the formats listed below.

The following archive formats may be used:

- Zip (e.g., "archive.zip")
- Unix gzipped tar files (e.g., "archive.tar.gz")

Revised and Final Versions of Manuscripts

If you are submitting a *revised* manuscript, please include your responses to the reviewers' comments as part of the cover letter file. When submitting a revised manuscript with figures, include all figures, even if they have not changed since the previous version. The *final* version of your manuscript must be submitted in Word (doc.), Rich Text (.rtf), or LaTeX (.tex) format, because your keystrokes will be used in publication; a PDF does not contain usable character data and is thus not adequate. For both revised and final versions of manuscripts, please observe the same formatting instructions outlined above.

General Specifications

Manuscripts that do not follow *International Journal of Plant Sciences* style will be subject to further revision. Please consult the List of Abbreviations and Symbols that may be used without definition in *IJPS*. Manuscripts should be entirely double spaced and arranged in the following sequence:

Title Page

Include manuscript title, authors, affiliations, a shortened title that does not exceed 55 characters (including names of authors) for use as a running head, and four to six keywords.

Abstract

Authors, please note that the format of abstracts has changed.

IJPS requires an abstract in four sections (no citations, no more than 300 words), written in the following format:

- Premise of the Research (Why was the investigation done? Why is it important?)
- Methodology

- Pivotal Results
- Conclusions (What should the readers take from this investigation?)

Please note: In manuscripts where the methods are obvious from the title (e.g., "microscopical investigation of cell wall morphology"), the Methodology section may be omitted.

Text: Manuscripts must meet the following formatting before review:

- All sections should be **double spaced**.
- **Continuous line numbering** must be applied to the manuscript to assist reviewers
- Include **page numbers** on all pages.

Introduction. The context for the investigation and the author's hypothesis.

Material and Methods. Sufficient information should be provided for replication of the results by a competent colleague.

Results. Provide important results first. Data should be presented in SI units in the form of tables and figures cited in numerical sequence. Include statistical analyses if necessary. *Literature citations and discussion are not allowed in the Results section.* Please note also that figures and tables should be referred to parenthetically; for example, avoid writing "Table 1 gives. . ." or "Figure 3 shows . . ."

Discussion. This section includes important results of the investigation and the pertinent literature.

Acknowledgment(s).

Literature cited. Complete information must be provided, including publisher and location (city and state/country) for articles cited in the Introduction, Material and Methods, and Discussion.

Journal article

Platt-Aloia KM, WW Thomson, RE Young 1980 Ultrastructural changes in the walls of ripening avocados: transmission, scanning and freeze fracture microscopy. Bot Gaz 141:366-373.

Book

Berlyn GP, JP Miksche 1976 Botanical microtechnique and cytochemistry. Iowa State University Press, Ames.

Book chapter

Evert RF, RJ Mierzwa 1986 Pathway(s) of assimilate movement from mesophyll cells to sieve tubes in the *Beta vulgaris* leaf. Pages 419-432 in J Cronshaw, RT Giaguinta, WJ Lucas, eds. Plant biology. Vol 1. Phloem transport. Liss, New York.

Monograph

Fritts HC 1969 Bristlecone pine in the White Mountains of California. Papers of the Laboratory of Tree-Ring Research, no. 4. University of Arizona Press, Tucson.

Gentry HS 1972 The agave family in Sonora. USDA Handbook 399. Washington, DC.

Thesis

Anderson CD 1963 A study of the development of the maize mutant *Branched-Silkless (bd)*. PhD diss. Purdue University, West Lafayette, IN.

Footnotes

Type footnotes double spaced on a separate page, and number them consecutively; one footnote should contain definitions of all abbreviations when abbreviations are numerous.

Tables

Type tables double spaced, each on a separate page, and number them consecutively in accordance with their appearance in the text. Related data or observations should be arranged in columns. Include table title, headings, body of data, and notes numbered consecutively and keyed to specific parts of the table. For further instructions on the preparation of tables, consult the Guidelines for Tables.

Figures

Figures should be designed to fit the size of an *IJPS* page (17.5 × 23 cm, 6.75 × 9 inches) or column width (8.25 cm, 3.25 inches). Letters and numerals must be large enough to accommodate reduction and be legible. Photographs should be carefully cropped and evenly arranged in a plate to maximize space use. Figures must be numbered consecutively according to their appearance in text. *Plates should be numbered in the order that they are cited in the text, and individual figures making up the plate should be referred to alphabetically.* Graphs and figures should be of professional quality and should not include typed entries. For further instructions on the preparation of figures, consult the Guidelines for Artwork.

Figure legends

Typed double spaced on a separate page; self-explanatory without reference to the text.

Miscellaneous

There is no fee for submitting a manuscript to *IJPS*. There are no page charges for publishing a manuscript in *IJPS*. Authors of especially long or heavily illustrated manuscripts may be asked to make a contribution toward the cost of publishing theory manuscripts; however, the contribution can be waived at the editors' discretion.

All manuscripts are reviewed by expert ad hoc reviewers. Manuscripts that are accepted pending revision are accompanied by a separate checklist that explains the needed revisions; manuscripts should be revised within 8 weeks.

Color reproduction Questions on procedures and costs should be directed to the *IJPS* editorial office.

Cover photos are chosen by the editors from the contents of the issue; authors are invited to submit a figure or diagram for consideration when the manuscript is submitted.

Online-Only Content

Material that is not integral to the body of the article and that substantially lengthens the print version of the article (e.g., genetic and character matrices, extended cladograms, extended tables) should be designated as appendixes (table A1, etc.) and thus appear in the electronic edition of *IJPS* only. Exception: If voucher material is presented in your manuscript, this should be listed in the first appendix (appendix A1), and this will appear in the print version of *IJPS*. To prepare your accession data, provide an appendix title and a sentence-style row of headings for the data. For each taxon sampled, include specimen voucher information and/or gene accession numbers, separated by commas. To save space, the taxa should be run together in a paragraph.

Online Submission Instructions

Please have the following items readily available before beginning the online submission process:

- Manuscript in an acceptable format as described above
- Cover letter as a separate file
- Information from title page (to be typed into the peer review database): title, short title, list of authors and affiliations, and contact information for the corresponding author

- Abstract of the manuscript (to be copied and pasted into a field in Editorial Manager)

Go to the *IJPS* Editorial Manager system at <https://www.editorialmanager.com/ijps> to submit your manuscript. If you do not have access to the Web, please send one hard copy of your manuscript and a CD-R containing all relevant electronic files to the editorial office. It is no longer necessary to submit a hard copy in addition to an electronic submission.

ANEXO II

Normas para a submissão no periódico *American Fern Journal*

CHECKLIST FOR AUTHORS: FORMATTING MANUSCRIPTS FOR

THE AMERICAN FERN JOURNAL UPDATED JANUARY 2018

(There is a short tutorial to help with formatting manuscripts using Microsoft Word posted on the American Fern Journal website [<http://amerfernsoc.org/journal.html>]).

Page charges of ca. \$60-\$110 USD per printed page will be charged to the authors of each accepted manuscript after publication.

If at least one author is a member of the American Fern Society, page charges will be considered optional except for mandatory charges for color figures (see Page 8 below).

Non-members must agree to accept page charges before a manuscript will be considered for review.

**AFS membership information may be found online at
<https://www.amerfernsoc.org/take-action/>.**

Click the checkbox (☐) before each item to confirm that your manuscript conforms to the formatting described by that item (☐.

Please submit the completed checklist along with your manuscript.

Necessary Components of Regular Manuscripts (see specific instructions for Taxonomic Treatments and Shorter Notes below):

☒ Manuscripts must be submitted in formats readable by Microsoft Word.

- ☒ Assemble manuscript in this order: 1) Title page, 2) Abstract page, with key words, 3) Text, 4) Acknowledgments, 5) Literature Cited, 6) Tables, 7) Appendices, if any, 8) Figure legends. **Each figure must be submitted as a separate file, not embedded in the manuscript file.**
- ☒ Title page: include title and author's name (or authors' names) and full address(es) including country, and email. For multi-authored manuscripts, indicate the corresponding author, and include his or her email address. Titles should be in bold letters, with all but connecting words capitalized and the title centered on the page. Author names should be in LARGE AND SMALL CAPS and centered. Addresses, both physical and e-mail, should accompany each author's name and should be centered.
- ☒ If a species name is included in the title, the binomial must be provided but not the authority name. The authority name must be included in the text of the paper at the first mention of the species name (or in a Table). Do not abbreviate genus names that begin sentences.
- ☐ Informative, one-paragraph abstract (fewer than 250 words) that begins with the word Abstract (in small caps) followed by period and em dash (e.g., ABSTRACT.—). Structure abstract content to summarize (1) rationale for work, (2) methods applied, (3) results obtained, and (4) conclusions reached. If species names are mentioned in the abstract, the authority need not be included.
- ☒ Key words (up to 5), followed by a period and an em dash (KEY WORDS.—). Do not include words present in the article title.
- ☒ Text, including headers and keys if appropriate. The sections should be titled with LARGE AND SMALL CAPITALS (e.g., MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION) and centered on page. Do **not** use the title INTRODUCTION.
- ☒ ACKNOWLEDGMENTS (if desired). It may be appropriate to thank editors and anonymous reviewers for their contributions to the manuscript.

- ☒ LITERATURE CITED—see below for formatting instructions.
- ☒ Place TABLES after Literature Cited, and numbered in the order they first appear in the text, TABLE 1, TABLE 2, etc. in small caps. Tables must be constructed using the table feature in a word processor, not using an external program such as Excel. Accompany each table must with a short descriptive caption.
- ☒ PLACE figure captions after Tables. Group captions as a series of paragraphs. Label figures consecutively in the order they first appear in the text, FIG. 1, FIG. 2, etc. in small caps. In text, use 'Figure' only at beginning of sentence, otherwise use 'Fig.' or 'Figs.' Do not use small caps in the text of the manuscript.
- ☒ For shorter notes and reviews, see checklist at end of this document.

Manuscript Formatting:

- ☒ Double-space manuscripts throughout.
- ☒ Set margins (upper, lower, left, right) at 1 inch (2.54 cm), and set Headers and Footers at 0.5 inches (1.27 cm) from top and bottom of page, respectively.
- ☒ Use 12 point for all text; Cambria or Times New Roman preferred.
- ☒ In the upper right corner of each page, place the first author's surname with an abbreviated running title and **page number** (e.g., DIAMOND *ET AL.*: AQUAPORINS IN *CHEILANTHES LANOSA* 1).
- ☒ Left-justify all text except section headers—do not submit center-justified or right-justified text.

- ☒ Do not use footnotes.
- ☒ Do not break words at end of lines.
- ☒ Format second level headings in *Italics* followed by a period and an em dash with no spaces (e.g., *Taxon sampling*.—A total of 92 accessions...). Third level headings are LARGE AND SMALL CAPITALS followed by an em-dash (—), with normal indentation.
- ☒ Use S.I. (metric) units for all measures (e.g., distance, elevation, weight) unless quoted or cited from another source (e.g., specimen citations). Imperial units may be presented but only if S.I. unit equivalents are also shown.
- ☒ Use periods (not commas) to designate decimal points in text, tables, and figures.
- ☒ To indicate a range, use an en dash (e.g., 18–22 cm), *not* a hyphen (-).
- ☒ Use hyphens (-) for words (e.g., linear-lanceolate) or names (e.g. Jian-Xing Wang). Do not hyphenate words at the end of lines in the manuscript.
- ☒ For within-text citations, Latin words such as *sensu lato* or *et al.* must be italicized.
- ☒ Abbreviate subspecies as ‘subsp.’
- ☒ Italicize all scientific (Latin) names at the generic and lower levels. Do not italicize plant family names or families, subfamilies, tribes, etc. This rule applies to all occurrences of such names—in the main text, the literature cited, figures and figure caption, appendices, etc.
- ☒ If a sentence begins with a genus name, spell it out, do not abbreviate it.

- ☒ Authority data (authors) must be given the first time a taxon (at the rank of species or below) is mentioned, or alternately in a table where all relevant names are listed (e.g., table of voucher specimens). Use authors of plant names as posted on The International Plant Names Index (<http://www.ipni.org/>).
- ☒ Italicize names of DNA loci (e.g., *rbcL*, *ndhF*, *rpL16*, *trnL-trnF*). This rule applies to all occurrences of such names—in the main text, literature cited, figures and figure captions, appendices, etc.
- ☒ All references cited within the text, appendices, or captions must be included in the Literature Cited (and vice-versa).
- ☒ For within-text citations, references with more than three authors, list the first author, followed by “*et al.*”. In the Literature Cited section, the reference must list the names of all authors.
- ☒ For multiple parenthetical citations, list references alphabetically by surname of primary author and separate each author citation by a semi-colon (Anderson *et al.*, 2010; Billings, 1998, 2001; Carlisle and Diamond, 1962).
- ☒ Use Index Herbariorum (Regnum Veg. 120:1-693. 1990; or <http://sweetgum.nybg.org/ih/>) for designations/acronyms of herbaria.

Data [Skip parts of this section if not applicable to your manuscript.]

- ☐ Voucher specimens must be cited in a table or an appendix to document sources of morphological and molecular data. Vouchers are herbarium specimens, not living plant accession numbers from botanical gardens or DNA tube numbers, etc.
- ☐ All molecular 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. Newly reported sequences **must** be documented by an herbarium specimen. Previously published sequences may cite the voucher or a literature citation with voucher information.
- ☐ All data sets for phylogenetic analyses must be submitted to TreeBASE (<http://www.treeBASE.org>). A TreeBASE accession number (study number alone is acceptable) must 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 are 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.
- ☐ Citations for primers or sequences for new primers must be given.

Statistics [Skip parts of this section if not applicable to your manuscript.]

- ☐ Key descriptive statistics of all samples must be either numerically (mean $\pm$ standard deviation) or graphically reported.
- ☐ Reporting of all statistical tests of hypothesis must include the test statistic (e.g., F, T, or R^2), sample size(s), and associated p-value.
- ☐ The methods by which parametric assumptions of parametric tests of hypothesis were tested and the results of those tests must be reported, e.g., “Assumption of homoscedasticity was met per Levene’s test using a critical value of 0.05”).

- ☐ When parametric assumptions are not met, appropriate non-parametric tests of hypothesis must be used.
- ☐ Post-hoc tests must be reported for all significant multi-sample tests of hypothesis; e.g., ANOVA or Kruskal-Wallis tests.
- ☐ The program(s) used to conduct each statistical test must be reported.
- ☐ Rationale for using a critical value other than the standard of 0.05 must be justified.

Taxonomic Treatments [Skip this section if not applicable to your manuscript.]

- ☐ If a new taxonomic name or combination is included in the title of the manuscript, do NOT include the name of the taxonomic authority associated with the new name.
- ☐ For nomenclatural matter (i.e., synonymy, typification) use one paragraph per homotypic basionym (see *Regnum Vegetabile* 58:39-40. 1968). Heterotypic basionyms are in separate paragraphs.
- ☐ New names and combinations must always be included in the Abstract.
- ☐ New names and new combinations must be in bold and italicized. All other names of accepted taxa and synonyms must be italicized but not in bold.
- ☐ 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!).

Additional 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, Elev. 350m, *Beal 1073* (US).

- ☐ Note that specimens in the nomenclatural section directly examined by the authors must be followed by an exclamation point (e.g., US!).
- ☐ Images of specimens seen by the author must be noted (e.g., Holotype K, image seen).
- ☐ Each country begins a new paragraph.
- ☐ Descriptions of new taxa (species and below) must 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.
- ☐ When designating a lectotype (or neotype) in your manuscript, use the following format after the specimen citation: (lectotype, here designated: NY). If citing a lectotype (or neotype) previously designated, use the following format: (lectotype, designated by Mori, 1991: NY) and add this citation to the Literature Cited.

Formatting Literature Cited:

- ☒ List references in alphabetical order according to first author's surname (last name). List the references by a given first author in chronological order, regardless of the number of additional authors. For references that would otherwise have the same in-text citation (e.g., the same authors and year of publication for those references with three or fewer authors, or the same first author and year of publication for those references with more than three authors), follow the date by the character "a", "b", etc.
- ☒ Each reference cited in the text, appendices, or captions must be provided in the LITERATURE CITED, and vice versa.
- ☒ Names of all authors must be in SMALL CAPS format, including the "AND" in multiple-author citations (e.g., RODRIQUES AND SMITH).

- ☒ Abbreviate authors first or middle names (e.g., R. T. SMITH).
- ☒ For multiple author works, use 'AND' in SMALL CAP letters and preceded by a comma before name of last author (e.g., R. T. SMITH, Y.-L. WANG, AND A. J. RAMIREZ).
- ☒ For multi-authored works, the names of all authors must be provided.
- ☒ Provide complete titles for all journals. **Do not abbreviate.**
- ☒ Volume and page numbers must be separated by a colon only, not a colon followed by a space, with a period after the last page number (e.g., 107:85–96.).
- ☒ Do not cite the issue of a volume if the journal is paginated continuously across the issues. If citing number or issue of volume, do so parenthetically after the volume (e.g., 107(1):85–96.).
- ☒ To separate page numbers use an en dash (e.g., 45–78) *not* a hyphen (-).
- ☒ For chapters within a book, cite these using the following format: Wagner, W. H., Jr. 1990. Ophioglossaceae. Pp. 193–197, *in* K. U. Kramer and P. S. Green (eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants. Volume I. Pteridophytes and Gymnosperms*. Springer-Verlag, New York.
- ☒ For other matters of form or style, consult recent issues of the American Fern Journal and The Chicago Manual of Style, 14th ed. (1993, Univ. of Chicago Press, Chicago).

Figures and Illustrations:

- ☒ Authors must pay charges for the use of color figures. The mandatory charge for color

in the pdf version only and grayscale in print is \$60 per figure. The mandatory charge for color in both pdf and print is approximately \$90 per figure.

- ☒ Illustrations must be proportioned to fit the **page width** (5 inches or **12.5 cm**) with caption ultimately to be included on the same page.
- ☒ High-resolution files are required for final publication.
- ☒ Grayscale or color images with no text must be submitted at 300 dpi or higher. Combination, color, or grayscale with text must be at 600 dpi or higher.
- ☒ Line/bitmap, text, and line images (black and white) must be submitted at 1200 pixels per inch (dpi). Image files must be saved with LZW compression and with grayscale.
- ☒ Minimum thickness for lines is 0.25 points.
- ☒ Submit image files in TIFF (.tif), JPEG (.jpg), PDF (.pdf), Photoshop (.psd) or EPS (.eps) format.
- ☒ In composite blocks, abut edges of adjacent photographs.
- ☒ Avoid combining continuous-tone and line-copy in single illustrations.
- ☒ Include a scale and indication of latitude and longitude in each map.
- ☒ Please note that nearly all images that are downloaded from the Internet or that are in JPEG or GIF format will be 72 dpi and **not acceptable** for the printing process.

For additional information, please refer to the Allen Press online “Guide to Art Preparation” and “Guide to Allen veriFig” at:

<http://allenpress.com/resources/library>

Formatting Shorter Notes:

- ☐ Place the heading **SHORTER NOTE** at the top of the first page in bold, small caps.
- ☐ Shorter Notes do not have Abstracts or Key Words.
- ☐ Begin manuscript with descriptive title in bold, followed by a period and an em dash.
(e.g., **First record of *Pellaea ovata* (Pteridaceae) from Brazil.—**).
- ☐ Immediately (no spaces) after title, place text, double spaced.
- ☐ Citations must be provided parenthetically (e.g., Reed, American Fern Journal 42:53–56. 1952). Spell out journal titles (**do not abbreviate**) and do not include title of journal articles.
- ☐ Once a source has been cited, a second citation of the same source need only refer to the author(s) and year of publication.
- ☐ Volume and page numbers must be separated by a colon only, not a colon followed by a space, with a period after the last page number (e.g., 107:85–96.).
- ☐ Do not cite the issue of a volume if the journal is paginated continuously across the issues. If citing number or issue of volume, do so parenthetically after the volume (e.g., 107(1):85–96.)
- ☐ To separate page numbers use an en dash (e.g., 45–78) *not* a hyphen (-).

- ☐ Names of authors must follow acknowledgements in final paragraph of manuscript. Last sentence of acknowledgements must end with a period followed by an em dash (e.g., ...for improvements to the manuscript.—). Author names must be formatted in small caps (e.g., C. J. ROTHFELS, E. M. SIGEL, AND M. D. WINDHAM) followed by address.

- ☐ Figures and Illustrations must be formatted per instructions for full-length manuscripts; see above.

Additional stipulations for preparation of manuscripts can be found at <http://amerfernsoc.org/journal.html> by clicking on AFS Fern Journal in the list to the right.