

Morfologia externa e interna de raiz e caule de espécies de *Huperzia* Bernh. (Lycopodiaceae - Pteridophyta) do Brasil

Patrícia Borges Pita¹, Nanuza Luiza de Menezes² e Jefferson Prado¹

Recebido: 22.11.2005; aceito: 22.09.2006

ABSTRACT - (External and internal morphology of root and stem of *Huperzia* Bernh. species (Lycopodiaceae - Pteridophyta) from Brazil). A morphological survey was carried out in ten *Huperzia* species, seven endemic to Brazil: *Huperzia christii* (Silveira) Holub, *H. friburgensis* (Nessel) B. Øllg., *H. hemleri* (Nessel) B. Øllg., *H. intermedia* Trevis., *H. reflexa* (Lam.) Trevis. and *H. treitubensis* (Silveira) B. Øllg., these terrestrials; *H. fontinaloides* (Spring) Trevis., *H. heterocarpon* (Fée) Holub, *H. hexasticha* B. Øllg. & P.G. Windisch and *H. quadrifariata* (Bory) Rothm., these epiphytics. The roots are adventitious, with cortical and external portions. The leaf bases are decurrent on the stem surface, epidermis and cortex are continuous in these two organs. The stem cortex varies from totally parenchymatic, partially parenchymatic or totally lignified, depending on the stem region and the species. The stele is protostelic and exarch. The species were joined in two groups that corroborate the classifications. An identification key was elaborated.

Key words: Lycophyta, Lycopsidea, plant anatomy

RESUMO - (Morfologia externa e interna de raiz e caule de espécies de *Huperzia* Bernh. (Lycopodiaceae - Pteridophyta) do Brasil). Foi realizado um estudo morfológico com 10 espécies de *Huperzia*, sendo sete endêmicas do Brasil: *Huperzia christii* (Silveira) Holub, *H. friburgensis* (Nessel) B. Øllg., *H. hemleri* (Nessel) B. Øllg., *H. intermedia* Trevis., *H. reflexa* (Lam.) Trevis. e *H. treitubensis* (Silveira) B. Øllg., que são terrestres e *H. fontinaloides* (Spring) Trevis., *H. heterocarpon* (Fée) Holub, *H. hexasticha* B. Øllg. & P.G. Windisch e *H. quadrifariata* (Bory) Rothm, que são epífitas. As raízes são adventícias, com porções corticais e externas. A base foliar é decorrente na superfície do caule, e portanto, epiderme e córtex são contínuos nestes dois órgãos. O córtex do caule varia de totalmente parenquimático, parcialmente parenquimático e lignificado a totalmente lignificado, dependendo da região analisada e da espécie. O estelo é protostélico e exarco. As espécies foram reunidas em dois grupos, corroborando classificações existentes. Foi elaborada uma chave de identificação.

Palavras-chave: anatomia vegetal, Lycophyta, Lycopsidea

Introdução

Lycopodiaceae é constituída por cerca de 200 a mais de 500 espécies, distribuídas em quatro gêneros: *Huperzia* Bernh., *Lycopodiella* Holub, *Lycopodium* L. e *Phylloglossum* Kunze (Øllgaard 1987). A família é cosmopolita, exceto *Phylloglossum*, que está restrito ao sudoeste da Austrália, Nova Zelândia e Tasmânia (Øllgaard 1987). No Brasil, ocorrem 52 espécies de Lycopodiaceae, sendo 38 de *Huperzia*, quatro de *Lycopodium* e 11 de *Lycopodiella* (Øllgaard & Windisch 1987).

Huperzia é o maior gênero, com aproximadamente 300 espécies (Øllgaard 1992) e, segundo a classificação de Øllgaard (1987), o gênero está dividido em 22 grupos informais, sendo o grupo de *Huperzia selago* (L.) Schrank & Mart. o único que Øllgaard (1987) considera como uma entidade infragenérica (secção) consistente, fato corroborado nas análises filogenéticas de Wikström & Kenrick (1997, 2000, 2001) e de Wikström *et al.* (1999). Muitos dos outros grupos de espécies delimitados por Øllgaard (1987) são polifiléticos, como o grupo de *H. phlegmaria* (L.) Rothm., ou parafiléticos, como o

1. Instituto de Botânica, Caixa Postal 4005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil

2. Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Caixa Postal 11461, 05508-090 São Paulo, SP, Brasil

3. Autor para correspondência: patriciabpita@yahoo.com

grupo de *H. saururus* (Lam.) Trevis., ou pouco sustentados, como o grupo de *H. reflexa* (Lam.) Trevis. (Wikström 2001). Um fator que contribui para acentuar os problemas de delimitação infra-genérica é o número reduzido de coletas que, conseqüentemente, reduz o número de espécimens analisados (Windisch 1996).

Huperzia é peculiar pela alta porcentagem de endemismos nos Andes (73% das espécies ocorrentes) e no Brasil (68% das espécies ocorrentes), além de ser o único gênero de Lycopodiaceae em que ocorrem espécies epífitas, além de terrestres (Øllgaard 1992, 1996). O Brasil apenas apresenta grupos de espécies endêmicas, como o subgrupo de *Huperzia quadrifariata* (Bory) Rothm., do grupo de *H. phlegmaria* (L.) Rothm., o que não acontece em nenhuma outra localidade, fazendo do Brasil uma região fitogeograficamente distinta neste aspecto (Øllgaard 1987, 1996).

Os trabalhos de anatomia aplicados à taxonomia das Lycopodiaceae reafirmaram a subdivisão da família em quatro gêneros, como os de Chu (1974), Øllgaard (1975), Bruce (1976a) e Tryon & Lugardon (1991). Outros trabalhos aplicados à taxonomia buscaram caracterizar espécies, como os de Stokey (1907), Hill (1914), Spessard (1928), Roberts & Herty (1934), Hackney (1950), Wilder (1970), Roller (1971, 1975, 1978), Toursakissian (1971), Bruce (1976b), dentre outros.

A grande maioria destes estudos foi feita com espécies do Hemisfério Norte, poucos com espécies Neotropicais e muito raros com espécies brasileiras, principalmente no que diz respeito à anatomia. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo ampliar o conhecimento sobre a anatomia do grupo, principalmente das espécies endêmicas do país e, possivelmente, elucidar a delimitação das espécies e formalizar e/ou redelimitar os grupos já descritos, considerando as dificuldades taxonômicas do gênero.

Para tanto, foram escolhidos os seguintes grupos informais de *Huperzia* (*sensu* Øllgaard 1987), por apresentarem espécies endêmicas do Brasil: cinco espécies brasileiras do grupo de *H. reflexa* (Lam.) Trevis., e as três espécies do subgrupo de *H. quadrifariata* (Bory) Rothm., pertencentes ao grupo de *H. phlegmaria* (L.) Rothm., que apresenta somente espécies endêmicas do Brasil. Também foram analisadas as espécies *H. treitubensis* (Silveira) B. Øllg., do grupo de *H. brongniartii* (Spring) Trevis. e *H. heterocarpon* (Fée) Holub, do grupo de

H. heterocarpon (Fée) Holub, que não são consideradas relacionadas aos grupos anteriormente citados (Øllgaard 1992), para verificar a consistência dos mesmos. De uma maneira geral, as espécies analisadas ocorrem na região sudeste do Brasil e no sul da Bahia, em Ilhéus, exceto *H. heterocarpon*, que ocorre no sudeste e sul do Brasil e na província de Misiones, Argentina, *H. reflexa* que ocorre em toda a América Tropical e *H. intermedia* Trevis. que ocorre disjuntamente nas Antilhas, Venezuela e no sudeste brasileiro (Øllgaard 1992).

Material e métodos

Para este estudo foram utilizadas plantas fixadas a fresco no campo e plantas provenientes de exsicatas de herbários (que foram identificadas a seguir com um asterisco). Para a re-hidratação do material herborizado, fragmentos de caule e raiz foram colocados em água destilada com algumas gotas de glicerina e mantidos em estufa a 58 °C (Chu 1974). Depois deste procedimento, o material herborizado e também o material coletado foram fixados em FGAA (Lersten & Curtis 1988) e depois transferidos para etanol 50° GL e, posteriormente, mantidos em etanol 70° GL.

A classificação taxonômica adotada no presente trabalho é a de Øllgaard (1987), a mesma utilizada na "Sinopse das Licopodiáceas do Brasil" (Øllgaard & Windisch 1987). As espécies estudadas estão relacionadas a seguir, com os números de coletores e siglas de herbários onde as exsicatas estão depositadas. No caso da exsicata não apresentar número de coletor, foi citado o número do herbário.

Materiais selecionados: *Huperzia christii* (Silveira) Holub. BRASIL. RIO DE JANEIRO: Serra dos Órgãos, *Brade 3069** (CESJ); MINAS GERAIS: Serra do Caparaó, *P.G. Windisch 4966** (SPF), Campos do Jordão, *P.G. Windisch 4994** (SPF). *H. friburgensis* (Nessel) B. Øllg. BRASIL. RIO DE JANEIRO: Rio de Janeiro, *L. Sylvestre 1405b, 1406b* (RBR). *H. hemleri* (Nessel) B. Øllg. BRASIL. RIO DE JANEIRO: Santa Maria Madalena, Parque Estadual do Desengano, *M. Leitman 324** (RB); Santa Maria Madalena, Serra da Furquilha, *s. col.* (RB288536*). *H. intermedia* Trevis. BRASIL. MINAS GERAIS: Parque Nacional da Serra do Cipó, *P. Soffiatti 39* (SPF), *T. Konno 789* (SP). *H. reflexa* (Lam.) Trevis. BRASIL. MINAS GERAIS: Parque Nacional da Serra do Cipó, *G.F. Melo 13* (SPF), *V.A. Cardoso 5* (SPF),

T. Konno 783 (SP); estas pertencentes ao grupo de *H. reflexa* (Lam.) Trevis., *sensu* Øllgaard (1987). *Huperzia rostrifolia* (Silveira) Holub, também pertencente ao grupo, não pôde ser analisada, pois seus dois únicos exemplares encontram-se em herbários da Alemanha e França.

Huperzia treitubensis (Silveira) B. Øllg. BRASIL. MINAS GERAIS: Parque Florestal Estadual do Ibitipoca, *s.col.* (CESJ27346*), *P.B. Pita* 321* (CESJ), pertencente ao grupo de *H. brongniartii* (Spring) Trevis., *sensu* Øllgaard (1987).

Huperzia fontinaloides (Spring) Trevis. BRASIL. MINAS GERAIS: Campos do Jordão, *E.A. Rodrigues* 72* (SP). *H. hexasticha* B. Øllg. & P.G. Windisch. BRASIL. MINAS GERAIS: Campos do Jordão, *J. Prado* 778* (SP), *J. Prado* 800* (SP), *A. Salino* 5616 (BHCB). *H. quadrifariata* (Bory) Rothm. BRASIL. RIO DE JANEIRO: *Brade* 14191* (RB). SANTA CATARINA: Parque Botânico Morro do Baú, *V.L.G. Klein* 3526 (FLOR). MINAS GERAIS: Monte Verde, *L. Meireles* 1203 (UEC), pertencentes ao subgrupo de *H. quadrifariata* (Bory) Rothm. do grupo de *H. phlegmaria* (L.) Rothm., *sensu* Øllgaard (1987).

Huperzia heterocarpon (Fée) Holub. BRASIL. RIO DE JANEIRO: Serra dos Órgãos, *Brade* 16411* (RB); RIO DE JANEIRO: Macaé, Pico do Frade de Macaé, *M. Leitman* 57* (RB); MINAS GERAIS: Parque Florestal Estadual do Ibitipoca *P.B. Pita* 273* (CESJ), pertencente ao grupo de *H. heterocarpon* (Fée) Holub, *sensu* Øllgaard (1987).

Os terços apical, mediano e basal de raiz e caule foram seccionados à mão livre, com lâmina de barbear e em micrótomo rotatório, quando incluídos em Paraplast® (Johansen 1940) e em Historresina (Leica). O material seccionado à mão livre e incluído em Paraplast® foi corado com azul de astra em ácido tartárico 2% e fucsina básica 50% em etanol 50° GL (Kraus *et al.* 1998) e montado em glicerina 50% e em bálsamo-do-canadá, respectivamente; o material incluído em historresina foi corado com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1965) em tampão fosfato (Deutscher 1990).

As mesmas regiões de raiz e caule acima citadas foram maceradas de acordo com Franklin (1945 *apud* Kraus & Arduin 1997, modificado) e coradas com safranina 1% em etanol 50° GL (Johansen 1940) e montadas em glicerina 50%.

Foram feitos testes com azul de resorcina (Cheadle *et al.* 1953), para verificar a presença de calose; com cloreto férrico (Johansen 1940), para verificar a presença de compostos fenólicos; com cloreto de zinco iodado (Jensen 1962), para verificar a presença de lignina e amido; com floroglucinol acidificado (Foster 1949) e violeta cristal (Ma *et al.* 1993), para verificar a presença de lignina; com reagente de Steinmetz (Costa 1970), para verificar a presença de lignina, celulose, amido e substâncias lipídicas; com Sudam IV (Jensen 1962), para verificar a presença de substâncias lipídicas, cutina e suberina.

Os resultados importantes foram registrados em fotomicroscópio.

Resultados

Huperzia christii (figura 1a), *H. friburgensis*, *H. hemleri*, *H. intermedia* (figura 1b) e *H. reflexa*, do grupo de *H. reflexa*, e *H. treitubensis* (figura 1c), do grupo de *H. brongniartii*, foram coletadas em regiões de campo rupestre, em local úmido e sombreado e *H. reflexa* em local úmido (margem de rio) e aberto. São terrestres, apresentam caule ereto a recurvado e ramificado dicotomicamente (figura 1a-b). As folhas são homófilas, diminuindo gradualmente de tamanho em direção ao ápice, podendo ser esporangiadas desde a base do caule até o ápice; a base da folha é decorrente na superfície do caule (figura 6, traço).

Huperzia fontinaloides, *H. hexasticha* (figura 1d-e), *H. quadrifariata* (figura 1f), do subgrupo de *H. quadrifariata*, e *H. heterocarpon* (figura 1g), do grupo de *H. heterocarpon*, foram coletadas em regiões de mata de altitude, em locais sombreados e úmidos. São epífitas, pendentes, com caule ramificado dicotomicamente (figura 1d, f-g); as folhas são homófilas, diminuindo gradualmente de tamanho em direção ao ápice, ou às vezes heterófilas, podendo ser esporangiadas desde a base do caule até o ápice; a base e o meio da folha são decorrentes na superfície do caule (figura 1e-f); em *H. heterocarpon*, apenas a base é decorrente na superfície do caule.

As raízes podem ser aéreas (nas espécies epífitas) ou subterrâneas (nas espécies terrestres). Em secção transversal e longitudinal do esporófito adulto, observou-se que têm origem no periciclo do caule. Portanto, são adventícias e emergem do caule na região basal (figura 1b).

Em secção transversal, verificou-se que, em *Huperzia christii*, as raízes são formadas a partir da

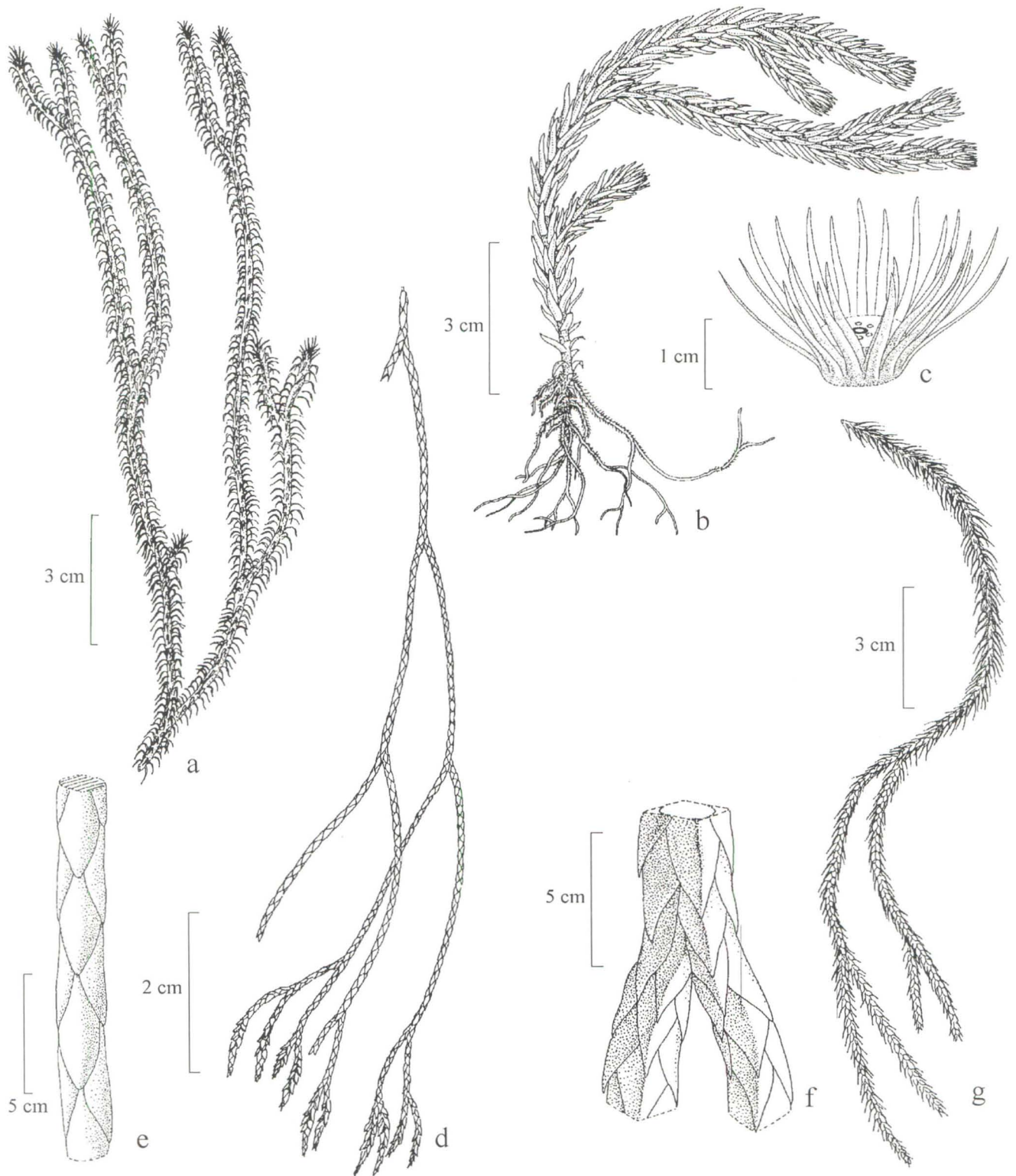


Figura 1a-g. Hábito (a-b, d, g) e detalhes de partes do caule (c, e-f) de espécies de *Huperzia*. a. *H. christii* (Brade 3069); b. *H. intermedia* (Soffiatti 39); c. *H. treitubensis* (CESJ27346); d-e. *H. hexasticha* (Salino 5616); f. *H. quadrifariata* (Meireles 2003); g. *H. heterocarpon* (Pita 273).

região apical do caule; em *H. hemleri* e *H. treitubensis* são formadas a partir da região mediana e, nas demais espécies, são formadas em um nível bem próximo da base do caule (figura 9). Independente da região de onde são formadas, as raízes atravessam o córtex do caule longitudinalmente, paralelo ao sistema vascular do mesmo (figura 5), e emergem num tufo basal (figura 1b). Sendo assim, pode-se dizer que as raízes são constituídas de porções corticais e porções externas.

Nas diferentes espécies, a raiz apresenta uma estrutura anatômica como se vê em *Huperzia hexasticha* nas figuras 2-3, e em *H. heterocarpon* na figura 4, sendo esta última uma raiz cortical.

A epiderme é uniestratificada, com pêlos absorventes unicelulares (figuras 2-3). Cada célula epidérmica origina 1 ou 2 (figuras 2-3) pêlos absorventes.

O córtex apresenta duas regiões diferentes: uma externa, com camadas de células de paredes espessadas, celulósicas ou lignificadas (figuras 2-4), e outra interna, com camadas de células de paredes delgadas, celulósicas (figuras 2, 4). O córtex externo é formado por fibroesclereídes, que apresentam pontoações bastante evidentes. Internamente às camadas lignificadas, ocorrem 2 camadas de células de paredes menos espessadas, não lignificadas (figura 4, setas). No córtex interno, observam-se 3 a 4 camadas de células de paredes delgadas (figuras 2, 4). A endoderme é uniestratificada, com estrias de Caspary nas paredes anticlinais, posteriormente substituídas por um leve espessamento em U, como se vê na raiz cortical de *Huperzia heterocarpon* (figura 4).

Quanto ao estelo, o periciclo (Pe) é uniestratificado, com células de paredes delgadas e celulósicas (figura 4); o xilema apresenta uma disposição em forma crescente, ou ferradura (figuras 2, 4); o protoxilema (Px) apresenta elementos de diâmetro bastante reduzido em relação ao metaxilema (figura 4, Mx); o floema (Fl) está localizado internamente aos pólos de protoxilema (figura 4).

Em secção longitudinal, verificou-se que as células epidérmicas são arredondadas e as células corticais são alongadas, tanto as parenquimáticas, quanto as esclerenquimáticas.

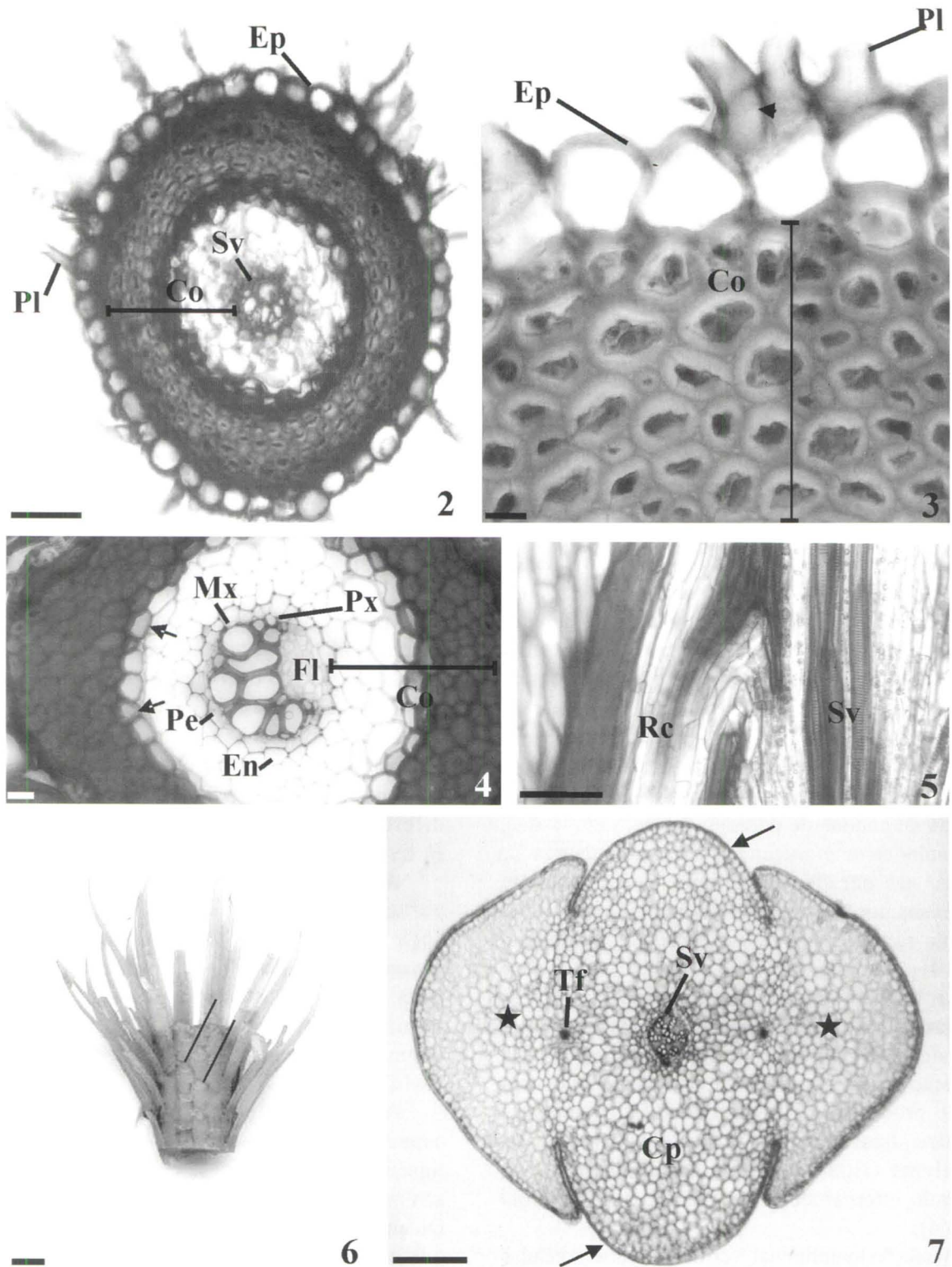
As porções corticais das raízes apresentam morfologia semelhante à descrita para as porções aéreas, mas não apresentam pêlos radiculares.

No caule, em secção transversal, foi verificado que, como a base ou até o meio da folha são decorrentes em relação à superfície do caule, a epiderme, o córtex e o mesofilo são contínuos nestas regiões, ou seja, a epiderme e o córtex do caule são contínuos com a epiderme e o mesofilo da folha. Para *Huperzia treitubensis*, a figura 6 mostra claramente esta situação de sobreposição e decorrência, com os traços indicando as bases das folhas. Situações semelhantes a esta também são encontradas em *H. intermedia* (figuras 8-9, ★) e *H. hexasticha* (figura 10, ★) em secção transversal, e em *H. heterocarpon* (figuras 11-13, ★) em secção transversal e longitudinal. O que se observa nestas figuras é o que ocorre ao longo de todo o caule em todas as espécies estudadas: o caule é totalmente envolvido por folhas (base da folha, ou base e meio da folha). A única exceção é *H. intermedia*, em que as bases das folhas são decorrentes, mas não cobrem o caule em toda sua extensão. Em *H. friburgensis*, *H. fontinaloides* (figura 16), *H. hemleri*, *H. treitubensis* (figura 19) e *H. christii*, parece ocorrer a mesma situação que em *H. intermedia*; entretanto, como nessas espécies as bases foliares são delgadas, não é nítida a presença das mesmas ao redor do caule.

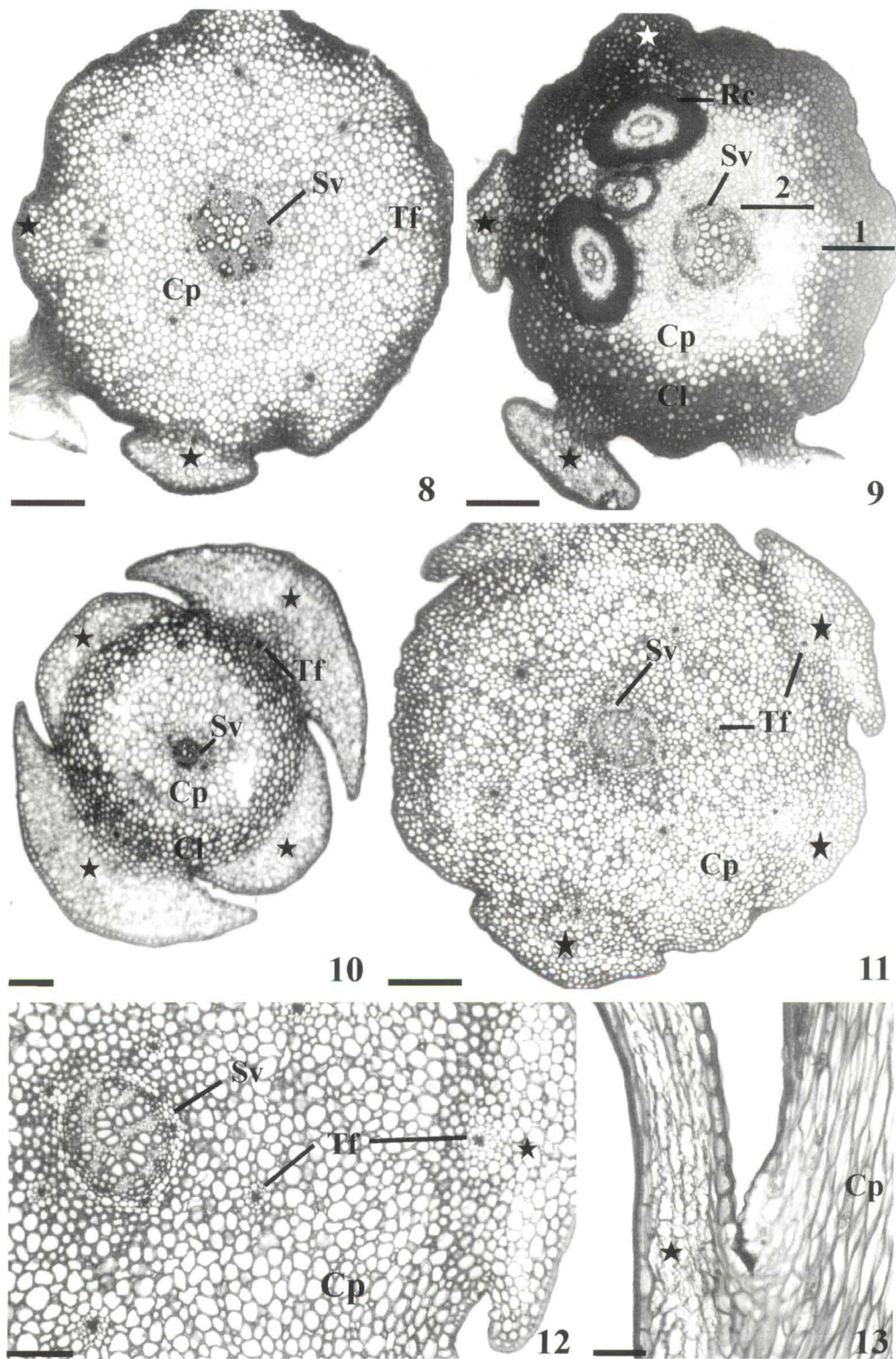
Em algumas espécies, como *Huperzia intermedia*, a transição entre o caule e a folha é perceptível (figuras 8 ★, 14). Em outras, essa diferenciação não é tão perceptível, como em *H. treitubensis* (figura 19).

A epiderme que envolve o caule corresponde, portanto, à epiderme da folha, com exceção de *Huperzia intermedia*. As células epidérmicas (Ep) são uniestratificadas (figuras 14-16, 18), e apresentam parede periclinal externa espessada e muitas vezes lignificada (figuras 14-16, 18), algumas vezes, diminuindo bastante o lúmen destas células (figuras 15-16).

As características das células do córtex, como espessamento, presença de parede secundária e lignificação das paredes, variam entre as espécies analisadas e ao longo do caule de uma mesma espécie. De uma maneira geral, a característica em comum é que o espessamento é menor no ápice do caule e aumenta em direção à base. Em *Huperzia hemleri*, *H. quadrifariata* (figura 7), *H. reflexa* e *H. treitubensis* (figura 19), as células corticais formam apenas parede primária. Em *H. reflexa* e *H. treitubensis*, as células corticais são bastante espessadas, com o lúmen quase obliterado a partir da



Figuras 2-7. Secções transversais da raiz de *Huperzia hexasticha* (Salino 5616) (2-3) e *H. heterocarpon* (Pita 273) (4); secção longitudinal do caule de *H. heterocarpon* (Pita 273) (5); detalhe do caule de *H. treitubensis* (CESJ27346), com os traços indicando as bases foliares (6); secção transversal do caule de *H. quadrifariata* (Klein 3526), região mediana (7). 4. Detalhe da raiz cortical em uma secção transversal de caule. 5. Raiz cortical (Rc) paralela ao sistema vascular (Sv) do caule. H = folha; cabeça de seta = pêlo duplo; Co = córtex; Cp = córtex parenquimático; En = endoderme; Ep = epiderme, Fl = floema, Mx = metaxilema, Pl = pêlo, Pe = periciclo, Px = protoxilema; setas = células de paredes menos espessadas, não lignificadas; Tf = traço foliár. Escalas: 2, 5 = 100 µm; 3, 4 = 16,5 µm; 6 = 1 cm; 7 = 20 µm.



Figuras 8-13. Secções transversais do caule de *Huperzia intermedia* (Soffiatti 39), região mediana (8), região basal (9); *H. hexasticha* (Prado 778), região mediana (10); *H. heterocarpon* (Pita 273), região mediana (11-12); secção longitudinal do caule de *H. heterocarpon* (Pita 273), região basal (13). 1 = córtex, camada externa; 2 = córtex, camada interna; H = folha, Cl = córtex lignificado; Cp = córtex parenquimático; Rc = raiz cortical; Sv = sistema vascular; Tf = traço foliar. Escalas: 8 = 250 μm ; 9, 21 = 416,5 μm ; 10 = 312,5 μm ; 11 = 377 μm ; 12-13 = 200 μm .

região mediana em *H. treitubensis*, e na base em *H. reflexa*. Em *H. hemleri* e *H. quadrifariata*, as células são relativamente espessadas, com paredes mais espessadas a partir da região mediana em *H. hemleri*, e na base em *H. quadrifariata*.

Em *Huperzia christii*, *H. fontinaloides*, *H. friburgensis*, *H. heterocarpon*, *H. hexasticha* e *H. intermedia*, as células corticais formam parede secundária, além da primária, e foram denominadas de fibroesclereídes (figura 23), mesmo que lignificadas ou não. Em *H. christii*, a parede secundária é depositada à partir da região apical (figura 17), e somente a parede primária é lignificada nas camadas mais externas e internas das regiões mediana e basal. *Huperzia fontinaloides* (figura 16) e *H. heterocarpon* as células corticais formam parede secundária a partir da região mediana, sendo que na primeira espécie ocorre a formação de uma segunda camada de parede secundária nas camadas mais externas da região basal. Em *H. heterocarpon*, as células não se lignificam (figuras 11-12), e em *H. fontinaloides* a parede primária se lignifica à partir da região mediana (figura 16), nas camadas mais externas e, na região basal, a primeira camada de parede secundária também se lignifica. Nas demais espécies, ocorre formação de parede secundária apenas na região basal. Destas, em *H. friburgensis*, somente a parede primária é lignificada nas camadas mais externas de células da região basal e, em *H. hexasticha*, a parede primária é lignificada nas camadas mais externas de células da região mediana (figura 10) e em todo o córtex da região basal. *Huperzia intermedia* também forma uma segunda camada de parede secundária nas camadas mais externas de células da região basal, e a parede primária e a primeira camada de parede secundária são lignificadas.

No córtex do caule, ocorrem cavidades aeríferas (Ca) distribuídas aleatoriamente (figuras 16-17). Em *Huperzia christii*, estas cavidades podem ser circundadas por células no início do processo de lignificação (figura 17) e por células lignificadas. Ainda no córtex, foram observados cristais estilóides e prismáticos, distribuídas em maior número na região apical (figura 21), além de traços foliares (Tf), desde o ápice até a base (figuras 7-8, 10-12, 14-15, 18-19).

A endoderme (En), em geral, não é muito uniforme; é uniestratificada, mas em alguns pontos pode ser biestratificada, algumas vezes descontínua, com estrias de Caspary na região bem próxima ao

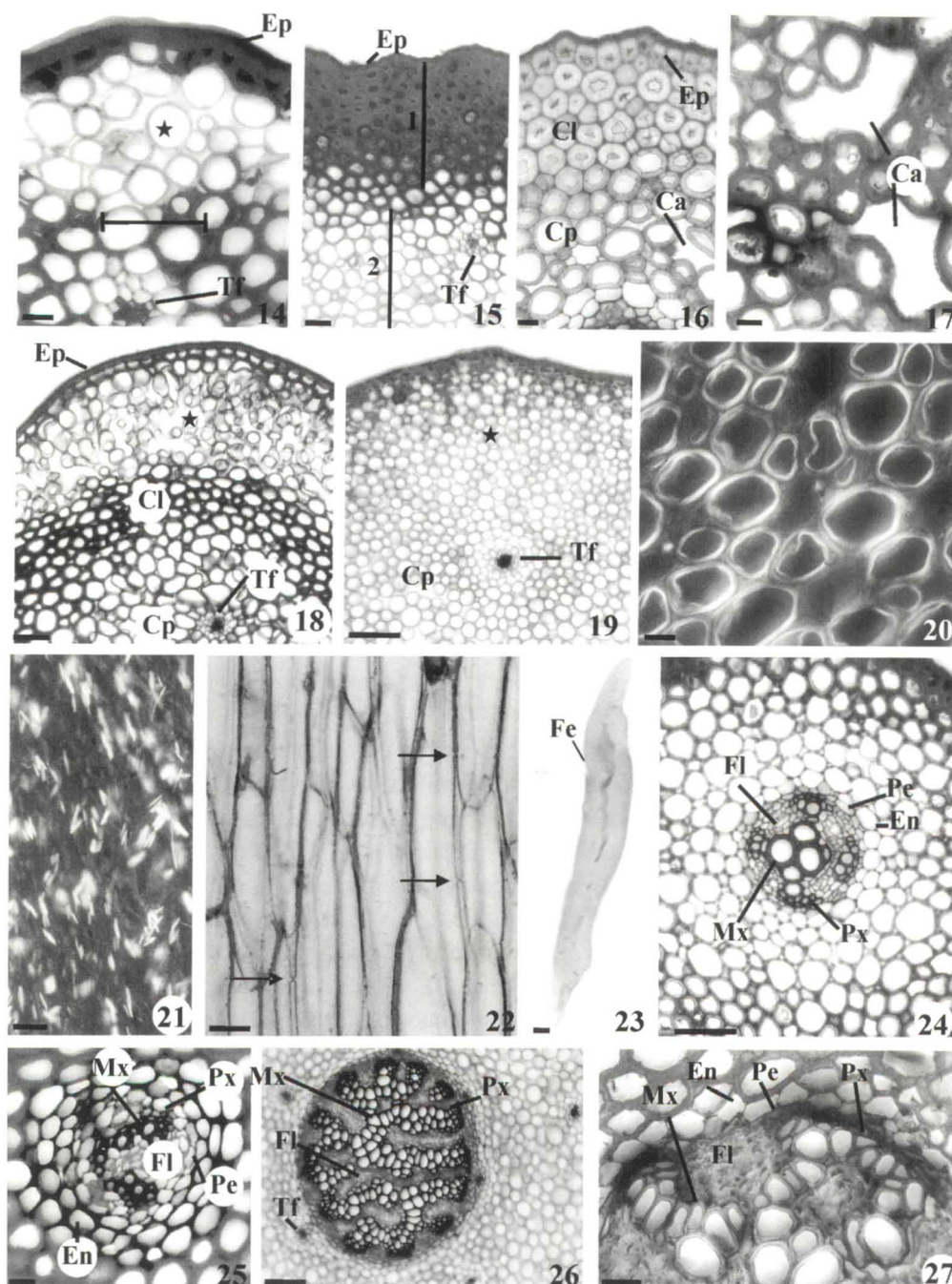
ápice, espessamentos nas paredes anticlinais e/ou um leve espessamento em "U" nas regiões mediana e basal (figuras 24-27).

O periciclo (Pe) é uniestratificado, podendo ser biestratificado e algumas vezes descontínuo (figuras 24-25, 27). A saída do traço foliar não interrompe a continuidade do estelo, ou sistema vascular (Sv), (figuras 24-26), caracterizando-o como do tipo protostelo, na maioria um plectostelo. No entanto, na espécie *Huperzia fontinaloides*, se observa um actinostelo perfeito (figura 24). Em *H. heterocarpon*, no ápice do caule, foi observado que o xilema apresenta disposição em forma de "U", ou de ferradura, como nas raízes (figura 25). Nestes tipos de estelo, plectostelo e actinostelo, o arranjo do xilema varia muito ao longo do caule entre as diferentes espécies (figuras 24-26) e em uma mesma espécie (12, 25).

Em secção longitudinal, verificou-se que tanto as células da epiderme quanto as células do córtex são alongadas (figuras 13, 22), estas com extremidades afiladas, com mais pontoações nas extremidades que nas paredes laterais.

O floema (Fl) ocupa várias posições entre as regiões xilemáticas, como se observa nas figuras 24-26.

No material macerado, tanto na raiz quanto no caule, observou-se que os elementos traqueais são constituídos por traqueídes (Tr), algumas vezes multifacetadas (figuras 28, 31) de extremidades afiladas (figuras 28-29). As traqueídes que constituem o protoxilema são aneladas (figura 28), helicoidais (figura 29), reticuladas e escalariformes (figura 29) e, no metaxilema, apresentam pontoações areoladas reticuladas, escalariformes (figuras 30-33), e opostas (figura 36). Ocorrem fileiras longas e unisseriadas de pontoações escalariformes, que podem se anastomosar (figuras 32, seta; 33, cabeça de seta). Grupos de anastomoses orientados obliquamente ou verticalmente podem ser confluentes, resultando numa área intermitente bisseriada ou trisseriada, fazendo parecer uma transição entre pontoações areoladas escalariformes e opostas. Além disso, as barras podem se dicotomizar uma ou duas vezes. A largura das aberturas pode exceder um pouco a largura das faces (figuras 34-35, seta), onde as pontoações são muito longas e orientadas vertical ou obliquamente. *Huperzia christii* e *H. quadrifariata* apresentam traqueídes ramificadas (figura 34), mas em menor número, também com pontoações longas, orientadas



Figuras 14-27. Seções transversais do caule de espécies de *Huperzia*, com detalhes da periferia (14-16, 18-19) e de regiões internas (17, 20, 24-27); 21-22; seções longitudinais do caule de espécies de *Huperzia*; fibroesclereíde (Fe) do caule de *H. christii* (Brade 3069) (23); 20-21. fotomicrografias em luz polarizada. 14. *H. intermedia* (Soffiatti 39), região mediana, a barra separa as células do córtex do caule (abaixo), sem espaços intercelulares, do mesofilo da folha (acima) na região ainda decorrente a superfície do caule, com espaços entre as células. 15. *H. intermedia* (Soffiatti 39), região basal. 16. *H. fontinaloides* (Rodrigues 72), região mediana. 17. *H. christii* (Brade 3069), região apical. 18. *H. hexasticha* (Prado 778), região mediana. 19. *H. treitubensis* (CESJ27346), região mediana. 20. *H. christii* (Brade 3069), região apical. 21. *H. reflexa* (Melo 13), região apical, detalhe do córtex e dos cristais estilóides e prismáticos em luz polarizada. 22. *H. friburgensis* (Sylvestre 1406b), região apical, detalhe do córtex e dos campos de pontoação primários (setas). 23. Detalhe de um fibroesclereíde. 24. *H. fontinaloides* (Rodrigues 72), região apical. 25. *H. heterocarpon* (Pita 273), região apical. 26. *H. treitubensis* (CESJ27346), região mediana. 27. *H. hemleri* (Leitman 324), região mediana. 1 = córtex, camada externa; 2 = córtex, camada interna; Ca = cavidade aerífera; Cl = córtex lignificado; Cp = córtex parenquimático; En = endoderme; Ep = epiderme; Fl = floema; Mx = metaxilema; Pe = periciclo; Px = protoxilema; Rc = raiz cortical; Sv = sistema vascular; Tf = traço foliar. Escalas: 14 = 20 µm; 15 = 50 µm; 16 = 16,5 µm; 17 = 25 µm; 18 = 125 µm; 19 = 166,5 µm; 20 = 40 µm; 21 = 50 µm; 22 = 31 µm; 23 = 16,5 µm; 24 = 100 µm; 25 = 16,5 µm; 26 = 166,5 µm; 27 = 200 µm.

verticalmente. Somente *Huperzia fontinaloides* apresenta traqueídes só com pontoações areoladas opostas (figura 36), além dos tipos já citados. Os elementos crivados são representados por células crivadas, alongadas, estreitas e de extremidades afiladas (figura 37), com poros (figuras 38-39) de mesmo diâmetro ao longo da célula. Apresentam corpos lipídicos (figura 37, cabeça de seta) e não formam calose nem proteína-P, como foi observado pelos testes citoquímicos.

Pelos testes realizados com cloreto de zinco iodado, floroglucinol acidificado, Steinmetz e violeta cristal, verificou-se a presença de lignina no córtex externo da raiz e no córtex do caule de algumas espécies (com um resultado pouco marcante neste

último), e no xilema de raiz e caule. O floroglucinol acidificado e o Sudam IV reagiram com substâncias presentes no floema da raiz e do caule, sendo que o Sudam IV, especificamente, identificou a presença de substâncias lipídicas. O Sudam IV também identificou a presença de substâncias lipídicas na cutícula do caule e na endoderme da raiz e do caule. O violeta cristal e o Steinmetz também reagiram com substâncias presentes na parede periclinal interna da endoderme da raiz e do caule, sendo que o último detectou a presença de substâncias lipídicas.

Estas características foram relacionadas em uma chave dicotômica, que resume as principais diferenças e similaridades entre os grupos e as espécies estudadas.

Chave de identificação baseada em características morfológicas do caule das espécies estudadas dos grupos de *Huperzia reflexa* e subgrupo de *H. quadrifariata*

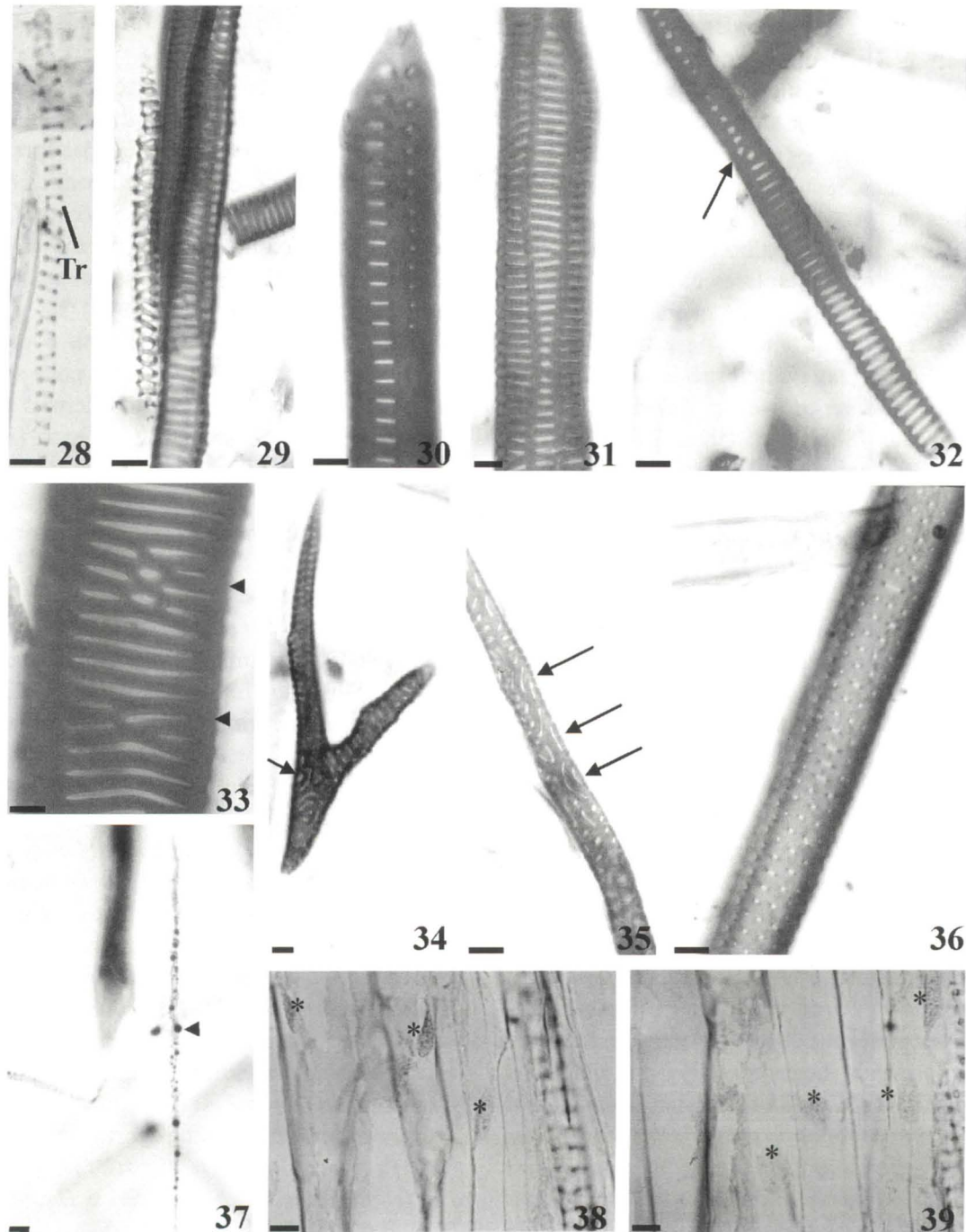
1. Traços foliares dispostos no córtex do caule (secção transversal) em pares, equidistantes do sistema vascular, indicando filotaxia oposta (figura 7); raízes corticais que se originam na região basal do caule
 2. Células do córtex do caule não lignificadas ao longo do corpo da planta, com presença de parede primária apenas; presença de traqueídes ramificadas (figura 34) *H. quadrifariata*
 2. Células do córtex do caule lignificadas a partir da região mediana, com presença de parede secundária (figura 16); ausência de traqueídes ramificadas
 3. Presença de traqueídes do metaxilema do caule com pontoações areoladas reticuladas, escalariformes e opostas (figura 36) *H. fontinaloides*
 3. Traqueídes do metaxilema do caule com pontoações areoladas reticuladas e escalariformes, mas não opostas *H. hexasticha*
1. Traços foliares dispostos no córtex do caule (secção transversal) em espiral, indicando filotaxia helicoidal (figuras 8); raízes corticais que se originam a partir da região apical do caule
 4. Presença de parede secundária nas células corticais do caule (figura 17)
 5. Células do córtex do caule lignificadas a partir da região apical, raízes corticais que se originam da região apical, mediana e basal do caule *H. christii*
 5. Células do córtex lignificadas na região basal (figura 15), raízes corticais que se originam da região mediana e/ou basal do caule
 6. Raízes corticais que se originam na região mediana e basal do caule *H. friburgensis*
 6. Raízes corticais que se originam na região basal do caule *H. intermedia*
 4. Presença de parede primária apenas, nas células corticais do caule (figura 27)
 7. Raízes corticais que se originam a partir da região mediana e basal do caule *H. hemleri*
 7. Raízes corticais que se originam da região basal do caule *H. reflexa*

Discussão

As características anatômicas das raízes, que foram estudadas no presente trabalho são semelhantes às de Lycopodiaceae de uma maneira geral.

Uma característica bastante peculiar de *Huperzia*, que auxilia na caracterização do gênero, é

a ocorrência de raízes que percorrem o córtex paralelamente ao estelo e emergem em um tufo basal (Øllgaard & Windisch 1987). Em *Lycopodium* e *Lycopodiella*, as raízes emergem do córtex do caule em intervalos variáveis, fazendo um ângulo reto com o estelo deste (Øllgaard & Windisch 1987). *Phylloglossum* apresenta no máximo três raízes, que



Figuras 26-39. Elementos traqueais (26-36) e crivados (37-39) de *Huperzia*, em material macerado (26,37) e em secção longitudinal (38-39); raiz (37), caule (26-36, 38-39). 26, 30, 33-35. *H. quadrifariata* (Klein 3526). 27, 31-32, 37. *H. treitubensis* (CESJ27346). 36. *H. fontinaloides* (Rodrigues 72). 38-39. *H. heterocarpon* (Pita 273). * = áreas crivadas; cabeças de seta = fileiras de pontoações escalariformes, que se anastomosam; setas = pontoações longas e orientadas verticalmente; Tr = traqueíde. 26 = 16,5 μm ; 27, 32 = 20 μm ; 30 = 12,5 μm ; 31, 35 = 20 μm ; 33 = 4,2 μm ; 34, 38-39 = 10 μm ; 36-37 = 14 μm .

são formadas depois do primeiro ou segundo ano de vida da planta (Hackney 1950). Neste período, a planta apresenta rizóides, que desempenham as funções das raízes (Hackney 1950).

A ocorrência de raízes no córtex do caule foi citada pela primeira vez por Strasburger (1873 *apud* Stokey 1907) e foram denominadas de raízes internas. Neste trabalho, são chamadas de porções corticais da raiz, por ser um termo mais preciso, considerando a sua localização. De acordo com Stokey (1907), as porções corticais das raízes estão associadas ao hábito ereto destas plantas, tanto terrestres quanto epífitas, auxiliando na sustentação.

Verificou-se neste trabalho que a epiderme da raiz apresenta pêlos unicelulares únicos ou duplos. Sporne (1966) já havia relatado que a formação de pêlos duplos é comum na família. A ocorrência destas estruturas foi citada para outras espécies de *Huperzia*, como em *Lycopodium pithyoides* Schldl. & Cham. (= *H. pithyoides* (Schldl. & Cham.) Holub), por Stokey (1907) e em outro gênero, *Lycopodiella*, *Lycopodium carolinianum* L. (= *Lycopodiella caroliniana* (L.) Pic.-Serm.) por Bruce (1976b).

Segundo Stokey (1907) e Bruce (1976b), a formação dos pêlos radiculares duplos, com uma célula basal comum, ocorre por divisão longitudinal dos tricoblastos. Como quase toda célula epidérmica corresponde a um tricoblasto, os pêlos são abundantes e uniformemente distribuídos (Stokey 1907). Os tricoblastos se dividem tanto nas raízes corticais quanto nas externas, mas produzem tricomas apenas nas externas (Stokey 1907).

O córtex das raízes de Lycopodiaceae apresenta variações quanto à constituição da parede de suas células, que Rollerli (1972) diferenciou em dois tipos: a) córtex mecânico, que é totalmente lignificado, típico das espécies epífitas; e b) córtex misto, com duas regiões, sendo a externa lignificada e formada por células parenquimáticas de paredes muito espessadas e a interna por células de paredes delgadas, típico das espécies terrestres e saxícolas. Estas relações não corroboram os resultados do presente trabalho, pois o córtex das espécies epífitas apresenta uma textura mista, de acordo com a terminologia proposta por Rollerli (1972). Segundo Stokey (1907), essa organização (mista) é típica das espécies que apresentam raízes corticais, ou seja, as espécies de *Huperzia*. Segundo Stokey (1907), Toursarkissian (1971), Ogura (1972) e Bruce (1976b), ainda existem variações quanto ao córtex misto, verificadas nas

espécies por eles analisadas.

A ocorrência da endoderme é um tanto controversa, segundo alguns autores. Enquanto alguns afirmam sua presença (Stokey 1907, Hackney 1950, Toursarkissian 1971, Rollerli 1972), outros não a observaram (Ogura 1972) e outros, ainda, não a distinguiram de outras camadas do córtex (Toursarkissian 1971).

Embora Rollerli (1972) tenha descrito vários padrões de endoderme para *Lycopodium*, todas as espécies de *Huperzia* aqui analisadas apresentam um mesmo padrão de espessamento das células, que poderia ser assim descrito: pontos de Caspary na região bem próxima ao ápice, faixas de caspary na região mediana e com espessamentos em "U" próximo à região basal.

A diferenciação do xilema é exarca. Em *Phylloglossum drumondii* Kunze, pode ser monarca ou diarca (Hackney 1950) e nas demais espécies da família, segundo Sporne (1966) e Ogura (1972), pode ser diarca, com xilema em forma de "U" ou "C" (crescente), envolvendo o floema, como foi verificado no presente trabalho, ou pode apresentar mais pólos de protoxilema.

Como visto neste trabalho, a base e/ou região mediana das folhas são decorrentes na superfície do caule. Por isso, o limite do caule e da base foliar nem sempre é distinto (Toursarkissian 1971, Ogura 1972); e, caule e folha formam um *continuum* de estruturas e tecidos.

Nas espécies de *Huperzia* analisadas, o córtex do caule apresenta variações quanto à morfologia das células que o compõe. Estas variações dizem respeito à presença ou ausência de parede secundária e à presença ou ausência de lignina da parede. Quanto à presença de parede secundária, esta foi verificada em *H. christii*, a partir da região apical, em *H. fontinaloides* e *H. heterocarpon*, a partir da região mediana e em *H. friburgensis*, *H. hexasticha* e *H. intermedia* somente na região basal. Já a presença de lignina foi identificada nas células do córtex externo das porções corticais das raízes e no córtex do caule de *H. christii*, *H. fontinaloides*, *H. friburgensis*, *H. hexasticha* e *H. intermedia*.

Em secção longitudinal, tanto as células parenquimáticas quanto as células lignificadas do córtex são alongadas e com extremidades afiladas. Em *H. hemleri*, *H. quadrifariata*, *H. reflexa* e *H. treitubensis*, a estrutura destas células assemelha-se com a das células do colênquima, que também pode

lignificar-se posteriormente, como descrito por Wardrop (1969), Chafe (1970), Fahn (1974) e Metcalfe & Chalk (1983). Nas demais espécies estudadas, devido a presença de parede secundária, lignificada ou não, optou-se por denominar as células do tecido cortical de fibroesclereídes. Ogura (1972) descreve a ocorrência de colênquima no caule de *Tmesipteris* (Psilotaceae) e no pecíolo de Marattiaceae, sendo que neste último, também aparece esclerênquima na parte superior, que é substituído gradualmente por colênquima em direção à base.

Lignificação nas células corticais do caule de Lycopodiaceae também foi observada por Sporne (1966), Tourssarkissian (1971), Ogura (1972), Rolleri (1972) e Øllgaard (1979), mas somente em *Lycopodiella* e *Lycopodium*; nas espécies de *Huperzia* por eles analisadas, o córtex é formado totalmente por células parenquimáticas, portadoras de paredes primárias. Em um estudo filogenético de Lycopodiaceae, Kenrick & Crane (1997) utilizaram a ausência de lignificação das células corticais, entre outras características, para delimitar *Huperzia*. Entretanto, como demonstrado no presente trabalho, esta característica não delimita o gênero, pois dentre as espécies que foram estudadas, cinco possuem córtex lignificado. Como a anatomia destas cinco espécies não foi analisada anteriormente, sendo quatro endêmicas do Brasil, esta característica ainda não havia sido citada como ocorrente em *Huperzia*.

Em relação à sustentação, Stokey (1907) e Øllgaard (1979) acreditam que a presença das porções corticais de raiz e a turgidez das células do córtex estão associadas ao hábito ereto das espécies de *Huperzia*. Neste trabalho, além destas características, verificou-se que a lignificação do córtex e o tecido “colenquimatoso” também estão associados à sustentação nas espécies terrestres, de hábito ereto a recurvado. Entretanto, nem sempre há relação direta entre a presença destes tecidos e o hábito destas plantas. As espécies epífitas estudadas são todas pendentes, porém, possuem tecido “colenquimatoso” além de lignificação nas camadas externas do córtex em *H. fontinaloides* e *H. hexasticha*.

Bruce (1976a) observou cavidades aeríferas no córtex do caule de *Lycopodium lucidulum* Michx. (= *H. lucidula* (Michx.) Trevis.) e *L. selago* L. (= *H. selago* (L.) Bernh, ex Schrank & C.F.P. Martius), que se formam durante o desenvolvimento da planta, quando a folha se torna reflexa, ou fazendo

um ângulo aproximado de 90° (ou mais), separando as células e formando as cavidades. Todas as espécies estudadas neste trabalho apresentam estas cavidades, tanto aquelas com folhas reflexas quanto as que não as possuem.

Na região do ápice caulinar, foram observados cristais estilóides e prismáticos em grande quantidade. Segundo Metcalfe & Chalk (1983), a ocorrência destes cristais protege a planta contra o ataque de animais.

No córtex, foram observados traços foliares, que indicam a filotaxia que as espécies apresentam, como por exemplo, em *Huperzia quadrifariata*, que é oposta, e em *H. treitubensis*, que é helicoidal.

Como já foi comentado para as raízes, a opinião dos autores quanto à identificação da endoderme no caule também é controversa. Segundo Sporne (1966) e Ogura (1972), em geral, não se observa a endoderme, mas em caules mais jovens pode-se traçá-la até alguma extensão pelo seu arranjo regular. Em alguns, as estrias de Caspary são observadas, mas no caule adulto esta característica se perde, sendo raramente distinguida dos tecidos ao redor, principalmente quando a região interna do córtex é lignificada (Sporne 1966, Ogura 1972).

O estelo das lycopodiáceas é protostélico, sendo o actinostelo e o plectostelo os tipos mais característicos da família (Ogura 1972).

Ogura (1972) organizou as descrições de diversos autores quanto a estrutura do estelo. De acordo com este autor, o estelo das espécies de *Huperzia* estudadas pode ser classificado da seguinte maneira: *Huperzia fontinaloides* apresenta o “tipo radial”, em que o metaxilema e o metafloema estão arranjos radialmente em direção ao centro, como numa raiz padrão de forma estrelada (“stellate”), com os elementos de metaxilema interconectados na porção central. As demais espécies enquadram-se no “tipo em forma de bandas paralelas”, em que o desenvolvimento do metaxilema apresenta uma organização paralela em algumas bandas, e o metafloema está situado entre estas bandas. Nas espécies de *Huperzia* estudadas, o floema também pode ocupar uma posição central. No ápice do caule de *H. heterocarpon*, foi verificada, também, a “forma de arco” com os elementos de protoxilema separados pelo floema.

A diferenciação do xilema, nas espécies estudadas neste trabalho, é exarca. Entretanto, Wilder (1970) verificou que a diferenciação também pode ser mesarca.

Nas espécies analisadas, o metaxilema é constituído por traqueídes com pontoações areoladas escalariformes ou uma transição entre pontoações reticuladas e opostas. Nas espécies estudadas por Wilder (1970) e Toursarkissian (1971) e na revisão feita por Ogura (1972), os resultados encontrados foram similares aos do presente trabalho. Diferente destes resultados, nos espécimens de *Huperzia fontinaloides* analisados foram encontradas traqueídes com pontoações areoladas opostas em toda a parede das células, além dos outros tipos já citados.

Em Pteridophyta, no floema, ocorre a formação de corpos lipídicos, característicos deste grande grupo (Burr & Evert 1973, Evert & Eichorn 1974). E, como nas outras plantas vasculares, também ocorre a formação de calose e proteína-P. Entretanto, nas espécies estudadas, foram verificadas a presença de corpos lipídicos, mas não foi verificada a presença de calose, corroborando com a análise feita por Warmbrodt & Evert (1974a, b) em *Lycopodium lucidulum* (= *Huperzia lucidula*).

Na análise das características morfológicas e anatômicas das espécies estudadas, não foram encontradas estratégias adaptativas para os ambientes terrestres e epifíticos. De acordo com os estudos filogenéticos de Wikström *et al.* (1999), as espécies do grupo de *Huperzia reflexa* sofreram reversão secundária para o ambiente terrestre, pois estão no mesmo clado que outros grupos de espécies epifitas Neotropicais.

O presente estudo trouxe informações sobre a delimitação do grupo de *Huperzia reflexa* e do subgrupo de *H. quadrifariata*, pertencente ao grupo de *H. phlegmaria*. Na chave de identificação, estes grupos foram separados pela posição das unidades vasculares no córtex do caule, que indica a filotaxia, e a região do caule de onde se formam as raízes corticais. Com base nestas características, as espécies que foram utilizadas para fins de comparação, *H. heterocarpon* e *H. treitubensis*, não se incluíam no subgrupo de *H. quadrifariata*, mas se incluíam no grupo de *H. reflexa*.

A filotaxia helicoidal, uma das características que o grupo de *Huperzia reflexa* compartilha com as espécies *Huperzia heterocarpon* e *Huperzia treitubensis*, também está presente no grupo de *Huperzia selago*, que foi considerado basal nos estudos morfológicos e filogenéticos de Sporne (1966), Øllgaard (1987), Wikström *et al.* (1999) e Wikström

(2001). Por isso, pode ser interpretada como uma característica pleisiomórfica do gênero. Isto significa que a similaridade de *H. heterocarpon* e *H. treitubensis* com o grupo de *H. reflexa* não indica, necessariamente, uma relação entre as espécies deste grupo, mas apenas a retenção de uma característica em comum, pleisiomórfica.

Com os resultados do presente trabalho e adicionados ao fato das espécies ocorrerem exclusivamente no Brasil, na região Sudeste, poder-se inferir que o subgrupo de *Huperzia quadrifariata* seja um táxon infragenérico, corroborando Øllgaard (1987). Quanto ao grupo de *H. reflexa*, não foram encontradas características que o delimitassem, pois, ainda que sejam comuns a todas as espécies do grupo, não são exclusivas do mesmo, pois estão presentes também em *H. heterocarpon* e *H. treitubensis*.

A análise de Wikström *et al.* (1999), baseada em dados macromoleculares, corroboraria com estas conclusões, pois as espécies paleotropicals do grupo de *H. phlegmaria*, o qual inclui o subgrupo de *H. quadrifariata*, foi considerado monofilético, e o grupo de *H. reflexa* formou um clado monofilético, porém pouco sustentado.

Quanto à delimitação das espécies, estas apresentam características muito peculiares. Quanto à parede das células do córtex do caule, as espécies são bastante distintas entre si. Além disto, *Huperzia fontinaloides* é a única espécie com traqueídes com pontoação areolada oposta e *H. christii* é a única espécie que apresenta lignificação das células do córtex a partir da região apical, além da formação de porções corticais de raiz nesta região. Portanto, a anatomia do caule e raiz apresenta um grande potencial para a delimitação específica no gênero *Huperzia*, especialmente para o grupo de *H. reflexa*, onde as espécies são muito semelhantes (Øllgaard 1992).

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa à primeira autora; aos curadores do Herbário do Instituto de Botânica (SP), do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo (SPF), Leopoldo Krieger (CESJ), por terem cedido material para o presente estudo; ao curador do Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB), pelo empréstimo de exsicatas e por ter cedido material para o presente estudo.

Literatura citada

- Bruce, J.G.** 1976a. Development and distribution of mucilage canals in *Lycopodium*. American Journal of Botany 63: 481-491.
- Bruce, J.G.** 1976b. Comparative studies in the biology of *Lycopodium carolinianum*. American Fern Journal 66: 125-137.
- Burr, F.A. & Evert, R.F.** 1973. Some aspects of sieve-element structure and development in *Selaginella kraussiana*. Protoplasma 78: 81-97.
- Chafe, S.C.** 1970. The fine structure of the collenchyma cell wall. Planta (Berl.) 90: 12-21.
- Cheadle, V.I., Gifford, E.M.Jr. & Esau, K.** 1953. A staining combination for phloem and contiguous tissues. Stain Technology 28: 49-53.
- Chu, M.C.** 1974. A comparative study of foliar anatomy of *Lycopodium* species. American Journal of Botany 61: 681-692.
- Costa, A.F.** 1970. Farmacognosia. vol. 3. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- Deutscher, M.P.** 1990. Methods in enzymology. Academic Press, San Diego.
- Fahn, A.** 1974. Plant Anatomy. 2 ed. Pergamon Press, Oxford.
- Evert, R.F. & Eichorn, S.E.** 1974. Sieve-element ultrastructure in *Platyserium bifurcatum* and some others polypodiaceous ferns: the refractive spherules. Planta 119: 319-334.
- Foster, A.S.** 1949. Practical plant anatomy. D. van Nostrand Company Inc, Princetown.
- Hackney, F.M.V.** 1950. A review of and contribution to knowledge of *Phylloglossum drumondii* Kunze. Proceedings of the Linnean Society New South Wales 75: 133-152.
- Hill, J.B.** 1914. The anatomy of six epiphytic species of *Lycopodium*. Botanical Gazette 58: 61-85.
- Jensen, W.A.** 1962. Botanical histochemistry, principles and practice. W.H. Freeman, San Francisco.
- Johansen, D.A.** 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Co. Inc, New York.
- Kenrick, P. & Crane, P.R.** 1997. The origin and early diversification of land plants: a cladistic study. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Kraus, J.E. & Arduin, M.** 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. EDUR, Rio de Janeiro.
- Kraus, J.E., Sousa, H.C., Rezende, M.H., Castro, N.M., Vecchi C. & Luque, R.** 1998. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. Biotechnic & Histochemistry 73: 235-243.
- Lersten, N.R. & Curtis, J.D.** 1988. Secretory reservoirs (ducts) of two kinds in giant ragweed (*Ambrosia trifida*; Asteraceae). American Journal of Botany 75: 1313-1323.
- Ma, Y., Sawhney, V.K. & Steeves, T.A.** 1993. Staining of paraffin-embedded plant material in safranin and fast green without prior removal of the paraffin. Canadian Journal of Botany 71: 996-999.
- Metcalfe, C.R. & Chalk, L.** 1983. Anatomy of dicotyledons. Clarendon Press, Oxford.
- O'Brien, T.P., Feder, N. & McCully, M.E.** 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59: 368-373.
- Ogura, Y.** 1972. Comparative anatomy of vegetative organs of the Pteridophytes. Gebrüder Bornträger, Berlin.
- Øllgaard, B.** 1975. Studies in Lycopodiaceae, I. Observations on the structure of the sporangium wall. American Fern Journal 65: 19-27.
- Øllgaard, B.** 1979. *Lycopodium* in Ecuador-habits and habitats. In: K. Larsen & L.B. Holm-Nielsen (eds.). Tropical Botany. Academic Press, London, pp. 381-395.
- Øllgaard, B.** 1987. A revised classification of the Lycopodiaceae *sen. lat.* Opera Botanica 92: 153-178.
- Øllgaard, B.** 1992. Neotropical Lycopodiaceae-an overview. Annals of the Missouri Botanical Garden 79: 687-717.
- Øllgaard, B.** 1996. Neotropical *Huperzia* (Lycopodiaceae)-distribution of species richness. In: J.M. Camus, M. Gibby & R.J. Johns (eds.). Pteridology in Perspective. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 93-100.
- Øllgaard, B. & Windisch, P.G.** 1987. Sinopse das licopodiáceas do Brasil. Bradea 5: 1-43.
- Roberts, E.A. & Herty, S.D.** 1934. *Lycopodium complanatum* var. *flabelliforme* Fernald: its anatomy and a method of vegetative propagation. American Journal of Botany 21: 688-697.
- Rolleri, C.** 1971. Morfologia comparada de las especies de "*Lycopodium*" (Pteridophyta-Lycopodiaceae) para el Noroeste argentino. Revista del Museo de la Plata 12: 223-317.
- Rolleri, C.** 1972. Morfologia comparada de las especies de "*Lycopodium*" (Pteridophyta-Lycopodiaceae) para el Noroeste argentino. Revista del Museo de La Plata 12: 223-317.
- Rolleri, C.** 1975. A new species of *Lycopodium* from Peruvian Andes. American Fern Journal 65: 3-9.
- Rolleri, C.** 1978. Dos nuevas especies de *Lycopodium* para los Andes Tropicales. Hickenia 26: 141-146.
- Spessard, E.A.** 1928. Anatomy of *Lycopodium* sporeling. Botanical Gazette 85: 323-333.
- Sporne, K.R.** 1966. The morphology of Pteridophytes, the structure of ferns and allied plants. 2 ed. Hutchinson University Library, London.
- Stokey, A.G.** 1907. The roots of *Lycopodium pithyoides*. Botanical Gazette 44: 57-61.
- Toursarkissian, M.** 1971. Las Lycopodiaceae del Noroeste de Argentina-estudio sistemático y anatómico. Anais da Academia Brasileira de Ciências 43: 191-207.

- Tryon, A.F. & Lugardon, B.** 1991. Spores of the pteridophyta: surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies. Springer-Verlag, Berlin.
- Wardrop, A.B.** 1969. The structure of the cell wall in lignified collenchyma of *Eryngium* sp. (Umbelliferae). Australian Journal of Botany 17: 229-240.
- Warmbrodt, R.D. & Evert, R.F.** 1974a. Structure and development in the stem of *Lycopodium lucidulum*. American Journal of Botany 61: 267-277.
- Warmbrodt, R.D. & Evert, R.F.** 1974b. Structure of the vascular parenchyma in the stem of *Lycopodium lucidulum*. American Journal of Botany 61: 437-443.
- Wikström, N.** 2001. Diversification and relationships of extant homosporous lycopods. American Fern Journal 91: 150-165.
- Wikström, N. & Kenrick, P.** 1997. Phylogeny of Lycopodiaceae (Lycopsida) and the relationships of *Phylloglossum drummondii* Kunze based on rbcL sequences. International Journal of Plant Science 158: 862-871.
- Wikström, N. & Kenrick, P.** 2000. Relationships *Lycopodium* and *Lycopodiella* based on combined plastid rbcL gene and trnL intron sequence data. Systematic Botany 25:495-510.
- Wikström, N. & Kenrick, P.** 2001. Evolution of Lycopodiaceae (Lycopsida): estimating divergence times from rbcL gene sequences by use of nonparametric rate smoothing. Molecular Phylogenetics and Evolution 19: 177-186.
- Wikström, N., Kenrick, P. & Chase, M.** 1999. Epiphytism and terrestrialization in tropical *Huperzia* (Lycopodiaceae). Plant Systematics and Evolution 218: 221-243.
- Wilder, G.J.** 1970. Structure of tracheids in three species of *Lycopodium*. American Journal of Botany 57: 1093-1107.
- Windisch, P.G.** 1996. Towards assaying biodiversity in brazilian pteridophytes. In: C.E.M. Bicudo & N.A. Menezes. (eds.). Biodiversity in Brazil- a first approach. CNPq, São Paulo, pp. 109-117.