
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BIOLOGIA VEGETAL

Morfologia e anatomia de *Paspalum* L. (Poaceae, Poales) e suas implicações taxonômicas

MAYRA TERUYA EICHEMBERG

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal).

Novembro - 2012

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BIOLOGIA VEGETAL

Morfologia e anatomia de *Paspalum* L. (Poaceae, Poales) e suas implicações taxonômicas

MAYRA TERUYA EICHEMBERG

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Scatena

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal).

Novembro - 2012

580 Eichemberg, Mayra Teruya
E34m Morfologia e anatomia de Paspalum L. (Poaceae, Poales) e
suas implicações taxonômicas / Mayra Teruya Eichemberg. -
Rio Claro : [s.n.], 2012
103 f. : il., figs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Vera Lucia Scatena

1. Botânica. 2. Desenvolvimento pós-seminal. 3. Diásporo.
4. Espigueta. 5. Gramineae. 6. Órgãos vegetativos. I. Título.

À Kazuko Teruya Eichenberg,

amada mãe

In memoriam

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade do Estado de Santa Catarina pelo apoio financeiro e logístico para a realização do doutorado.

Ao Departamento de Botânica do Instituto de Biociências, UNESP/Rio Claro, pelo apoio e infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao CNPq pela bolsa de Doutorado Sanduíche do Programa “Ciência sem Fronteira” (202080/2011-0) para a realização do estágio na Alemanha.

Ao Lehrstuhl für Evolution und Biodiversität der Pflanzen, Ruhr Universität Bochum, na pessoa do Dr. Thomas Stützel, pela oportunidade e apoio logístico para o desenvolvimento do estágio na Alemanha.

Agradeço, em especial, à Dra. Vera Lucia Scatena pela orientação, dedicação e oportunidades oferecidas.

Ao Dr. Thomas Stützel pelos ensinamentos, incentivo e supervisão durante meu estágio na Alemanha.

Ao Dr. José Francisco Montenegro Valls pela identificação e fornecimento do material e pelas contribuições que enriqueceram os trabalhos.

Ao Msc Nelson Eduardo Prestes (EPAGRI) pela ajuda na coleta das plantas.

Aos professores do Departamento de Botânica pelo aprendizado, apoio e encorajamento ao longo desses quase quatro anos de convivência.

Aos funcionários do Departamento de Botânica, em especial Célia Maria Hebling (secretária) e Ari Pesce (téc. laboratório), pela ajuda e amizade.

A todos da Lehrstuhl für Evolution und Biodiversität der Pflanzen, em especial Hanno Boeddinghaus (técnico em informática), Petra Lerch (secretária), Sabine Adler (técnica de

laboratório) e Missiani Ciochetta (mestranda) pela ajuda, carinho e paciência. Vocês tornaram minha estada em Bochum muito mais alegre e proveitosa.

Aos colegas Henrique Tozzi pela ajuda técnica em informática e no laboratório de Fisiologia Vegetal, Aline Oriani pela ajuda e apoio durante meu estágio na Alemanha e auxílio no Laboratório de Anatomia, e Fernando Moraes pela ajuda com as análises (cluster, UPGMA) e pelas agradáveis discussões científicas e não científicas.

A todos os colegas do curso de Pós-graduação e do Laboratório de Anatomia Vegetal pelas trocas de experiências, discussões, amizade e companheirismo. Cada um de vocês está no meu coração... eu os levarei comigo, sempre!

Às amigas que estiveram presentes desde o início do doutorado, Camila Kissmann (irmã de coração) e Shirley Martins (amiga querida) pelas inestimáveis ajudas no laboratório, pela parceria e força, fundamentais para a superação dos momentos difíceis, e que contribuíram muito para meu crescimento pessoal e profissional.

Sou especialmente grata à minha família pelo apoio incondicional, confiança e paciência. As conquistas pessoais e profissionais que alcancei, eu devo, em grande parte, a vocês!

*“É preciso ter um caos dentro de si,
para poder dar à luz uma estrela dançante”*

Friedrich Nietzsche

ÍNDICE

	Página
1. RESUMO.....	01
2. ABSTRACT.....	02
3. INTRODUÇÃO GERAL.....	03
4. LITERATURA CITADA.....	06
 <i>CAPÍTULO 1. Morphology and anatomy of the diaspores and post-seminal development of Paspalum (Poaceae, Poales).....</i>	 12
Resumo.....	13
Abstract.....	14
Introdução.....	14
Material e Método.....	16
Resultados.....	17
Discussão.....	19
Referências.....	22
Ilustrações.....	27
 <i>CAPÍTULO 2. Anatomy of leaves and culms of Paspalum (Poaceae, Poales) and its taxonomic importance.....</i>	 32
Resumo.....	33
Abstract.....	34
Introdução.....	34
Material e Método.....	36
Resultados.....	37
Discussão.....	39
Referências.....	44
Tabelas.....	48
Ilustrações.....	51

CAPÍTULO 3. <i>Paspalum barretoii</i> Canto-Dorow, Valls & Longhi-Wagner e <i>P. minus</i> E. Fourn. (Poaceae): caracteres anatômicos na delimitação das espécies.....	60
Resumo.....	61
Introdução.....	62
Material e Método.....	63
Resultados.....	64
Discussão.....	66
Referências.....	67
Ilustrações.....	71
 CAPÍTULO 4. Caracteres micromorfológicos e anatômicos das estruturas reprodutivas do complexo <i>Dilatata</i> (<i>Paspalum</i> , Poaceae) e suas implicações taxonômicas.....	76
Resumo.....	77
Introdução.....	78
Material e Método.....	79
Resultados.....	80
Discussão.....	82
Referências.....	85
Tabelas.....	90
Ilustrações.....	92
 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	103

1. RESUMO

Paspalum L. é um dos maiores gêneros de Poaceae Barnhart que abrange espécies com problemas de delimitação. Com o objetivo de contribuir para a taxonomia do grupo, foram realizados estudos morfológicos de diásporos e antécios, micromorfológicos de glumas, lemas e páleas, e anatômicos de raízes, rizomas, folhas, colmos, ráquis e pedicelos de espécies coletadas em formações campestres da América do Sul. *Paspalum* apresenta forma, número de nervuras e indumento distintivos nos diásporos. A germinação é marcada pela emergência da coleorriza, seguida pelo coleóptilo. O desenvolvimento pós-seminal é igual em espécies cespitosas decumbentes, cespitosas eretas, rizomatosas e estoloníferas, e esse padrão também é encontrado nas demais Poaceae. Anatomicamente, folhas e colmos (cerca de 30 espécies) de *Paspalum* apresentam tricomas e papilas na epiderme, forma da nervura central, da margem e das células buliformes, e presença de costelas e de canais de ar que podem diferenciar as espécies. A presença de canais de mucilagem no colmo é descrita pela primeira vez para *Paspalum*. Verificou-se que *Paspalum barretoii* e *P. minus* têm raízes e rizomas com estruturas semelhantes, mas têm folhas com nervura central de forma diferente, feixes vasculares de tamanho e distribuição distintos, presença ou ausência de canais de ar; e colmo com ou sem fístula, que delimitam as espécies. Os dez táxons do complexo Dilatata podem ser diferenciados por meio do número de nervuras da gluma, da distribuição de tricomas, da presença ou ausência de papilas na gluma e lema, da forma do antécio, do tipo e forma da margem da ala da pálea. Além disso, ráquis com espessamento ou não das paredes das células epidérmicas e corticais e número de feixes vasculares da ala, também contribuem para sua distinção. A estrutura anatômica do pedicelo foi descrita pela primeira vez para o gênero e apresenta potencial taxonômico.

2. ABSTRACT

Paspalum L. is one of the largest genus of Poaceae Barnhart and comprise species with delimitation problems. Aiming to contribute for the taxonomy of the group were performed morphological studies of diaspores and anthechia, micromorphological studies of glumes, lemmas and paleas and anatomical studies of roots, rhizomes, leaves, culms, raquises and pedicels of species collected in South America grasslands. *Paspalum* presents distinctive shapes, number of nerves and indumentum in the diaspores. Germination is marked by the emergence of coleorhiza followed by the coleoptiles. The post-seminal development is similar in cespitose decumbent, cespitose erect, rhizomatous and stoloniferous species, and this pattern is also found in others Poaceae. Anatomically, leaves and culms (about 30 species) of *Paspalum* present trichomes and papillae on the epidermis, shape of the midrib and margin, bulliform cells, presence of ribs and air canals, which can distinguish the species. The presence of mucilage canals in the culm is first described to *Paspalum*. We verified that *Paspalum barretoi* and *P. minus* have roots and rhizomes with similar structures, but leaves with midrib of different shapes, vascular bundles of distinct size and distribution and the presence or absence of air canals; culms with fistula or without it, which delimit the species. The ten taxa of the Dilatata complex can be differentiate by the number of nerves of the glume, distribution of trichomes, presence or absence of papillae on the glume and lemma, anthecial shape, type and margin shape of the palea wing. Moreover, the rachis with or without thick-walled cells in the epidermis and cortex and number of vascular bundles of the wing also contribute to its distinction. The anatomical structure of the pedicel was the first describe to the genus and presents taxonomic potential.

3. INTRODUÇÃO GERAL

Poaceae Barnhart está incluída na ordem Poales, clado “graminédeo” (Linder & Rudall 2005; Givnish et al. 2010), e apresenta, aproximadamente, 793 gêneros e 10.000 espécies, com distribuição cosmopolita (Watson & Dallwitz 1992). A família é monofilética (Bremer 2002; Givnish et al. 2010) e está dividida em 12 subfamílias: Anomochlooideae, Pharoideae, Puelioideae, Bambusoideae, Ehrhartoideae, Pooideae, Aristidoideae, Danthonioideae, Arundinoideae, Chloridoideae, Centothecoideae e Panicoideae (GPWG 2001). Entre os gêneros de maior representatividade está *Paspalum* L., que abrange cerca de 400 espécies distribuídas em regiões de clima tropical e subtropical (Pizarro 2000; Oliveira & Valls 2001), sendo que sua maior diversidade ocorre no Brasil, com 202 espécies (Valls & Oliveira 2010).

O gênero *Paspalum* está incluído na subfamília Panicoideae Link, na tribo Paniceae R. Br. e apresenta quatro subgêneros: *Paspalum* subg. *Anachyris* (Nees) Chase constituído por seis espécies; *P.* subg. *Ceresia* (Pers.) Rchb. com 25 espécies; *P.* subg. *Harpostachys* (Trin.) S. Denham com 39 espécies e *P.* subg. *Paspalum* com cerca de 265 espécies. Este último apresenta 25 grupos informais, conforme proposto por Chase (1929) e modificado por Zuloaga & Morrone (2005) e Denham (2005).

A monofilia de *Paspalum* é bem suportada com a inclusão de *Thrasia* Kunth (Giussani et al. 2001; Denham 2005), mas as relações evolutivas dos grupos informais são incertas (Giussani et al. 2009). Nesse sentido, revisões dos grupos informais para fins taxonômicos (Oliveira & Valls 2002; Morrone et al. 2004; Zuloaga et al. 2004; Denham et al. 2010) e filogenéticos (Aliscioni 2002; Rua & Aliscioni 2002; Denham et al. 2002; Essi & Souza-Chies 2007; Giussani et al. 2009) têm sido realizadas visando melhor circunscrição das espécies.

As espécies de *Paspalum* são caracterizadas morfológicamente por espiguetas de forma plano-convexa, dispostas unilateralmente sobre a ráquis, com o dorso do lema superior em posição adaxial, sendo a primeira gluma ausente ou de tamanho reduzido em comparação com a segunda (Oliveira & Valls 2008). A taxonomia do gênero está baseada principalmente na morfologia das espiguetas, cujos caracteres úteis são: forma, indumento, coloração e convexidade (Chase 1929; Barreto 1974; Oliveira & Rua 2005; Rua et al. 2008). Tipos de inflorescência e formas de crescimento são diversificados em *Paspalum* (Rua & Weberling 1995; Rua & Grótolla 1997) e também têm sido utilizados em estudos taxonômicos. São reconhecidos vários modelos de forma de crescimento para o gênero, agrupados em anuais, perenes com colmos não ramificados, perenes com colmos ramificados e estoloníferos monopodiais (Rua & Grótolla 1997).

Estudos micromorfológicos das estruturas reprodutivas e vegetativas de Poaceae também têm auxiliado na taxonomia e filogenia (Giussani et al. 2001; GPWG 2001; Sajo et al. 2008). Em *Paspalum*, a micromorfologia das espiguetas e dos antécios tem sido utilizada especialmente na delimitação de táxons pertencentes à grupos informais do subgênero *Paspalum* (Morrone et al. 2004; Zuloaga et al. 2004; Denham et al. 2010) e do subgênero *Anachyris* (Zuloaga et al. 2000), bem como na filogenia do subgênero *Ceresia* (Denham et al. 2002) e da seção *Pectinata* (Rua & Aliscioni 2002).

A anatomia dos órgãos vegetativos de Poaceae, em geral, tem sido utilizada para fins taxonômicos e se concentram na folha (Türpe 1966; Alvarez et al. 2005; Guglieri et al. 2008; Oliveira et al. 2008; Pelegrin et al. 2009) e no caule (Brito & Rodella 2002; Silva & Alquini 2003; Machado et al. 2008). Em *Paspalum*, a anatomia foliar é utilizada nas revisões taxonômicas de subgêneros e de grupos informais (Cialdella et al. 1995; Morrone et al. 1995; Denham 2005), além da delimitação de novas espécies (Rua et al. 2008).

A anatomia foliar de *Paspalum* pode ser caracterizada pela presença de células curtas pareadas ou solitárias, silicificadas, dispostas em fileiras, parênquima clorofiliano radiado em torno dos feixes vasculares e bainha do feixe vascular simples (Metcalf 1960; Türpe 1966). O gênero apresenta variabilidade na estrutura anatômica da folha e caracteres como forma da nervura central e da margem, tipo de células buliformes, presença de células Kranz distintivas, ocorrência de parênquima incolor na lâmina e localização de macropelos na epiderme têm potencial taxonômico (Aliscioni 2000; 2002).

Outros estudos anatômicos de folha e colmo de *Paspalum* apresentam enfoque zootécnico e destacam características associadas à digestibilidade e à qualidade nutricional na alimentação animal (Queiroz et al. 2000; Paciullo et al. 2002; Costa & Scheffer-Basso 2003; Scheffer-Basso & Gallo 2008), pois várias espécies são utilizadas como forrageiras (Valls 1994).

Nas últimas décadas, estudos sobre desenvolvimento pós-seminal têm contribuído para a elucidação de relações evolutivas e padronização da terminologia. Foi verificado padrão no desenvolvimento pós-seminal de espécies de Poaceae pertencentes a diferentes subfamílias e também que caracteres de plântulas podem ser comparativos no grupo (Nakamura & Scatena 2009). Estudos ontogenéticos têm fornecido informações relevantes para levantar homologias de embriões e plântulas de Poaceae e demais monocotiledôneas (Cocucci & Astegiano 1978; Shuma & Raju 1991; Tillich 2000; 2007).

Dada a importância de *Paspalum* como um dos maiores gêneros em número de espécies de Poaceae, por sua representatividade nos campos do Brasil e por ser utilizado como plantas forrageiras, estudou-se a morfologia e anatomia de algumas espécies procurando contribuir para a taxonomia do grupo. Dessa forma foram estudados:

- morfologia e anatomia do desenvolvimento pós-seminal de quatro espécies com diferentes formas de crescimento, visando sua caracterização e levantar caracteres para fins taxonômicos;
- anatomia de folhas e colmos, visando levantar caracteres úteis à sua delimitação;
- anatomia de raiz, rizoma, folha e colmo de *Paspalum barretoii* e *P. minus* para verificar se são espécies distintas ou sinônimas;
- micromorfologia e anatomia de estruturas reprodutivas (ráquis, pedicelo, gluma, lema e pálea) do complexo *Dilatata* para levantar caracteres úteis na delimitação dos táxons.

4. LITERATURA CITADA

- Aliscioni, S. S. 2000. Anatomía ecológica de algunas especies del género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). *Darwiniana* 38: 187-207.
- Aliscioni, S. S. 2002. Contribución a la filogenia del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 504-523.
- Alvarez, J. M.; Machado, S. R.; Rocha, J. F. 2005. Estrutura foliar de *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert e *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 28: 23-37.
- Barreto, I. L. 1974. O gênero *Paspalum* (Gramineae) no Rio Grande do Sul. Tese de livre docência, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Bremer, K. 2002. Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). *Evolution* 56: 1374-1387.
- Brito, C. J. F. A.; Rodella, R. A. 2002. Caracterização morfo-anatômica da folha e do caule de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. (Poaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 25: 221-228.

- Chase, A. 1929. The North American species of *Paspalum*. *Contribution from the United States National Herbarium* 28: 1-310.
- Cialdella, A. M.; Morrone, O.; Zuloaga, F. O. 1995. Revisión de las especies del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) grupo Bonplandiana. *Darwiniana* 33: 67-95.
- Cocucci, A. E.; Astegiano, M. E. 1978. Interpretación del embrión de las Poáceas. *Kuntziana* 11: 441-54.
- Costa, D. I.; Scheffer-Basso, S. M. R. 2003. Caracterização Morfofisiológica e Agronômica de *Paspalum dilatatum* Poir. biótipo Virasoro e *Festuca arundinacea* Schreb. *Revista Brasileira de Zootecnia* 32: 1054-1060.
- Denham, S. S. 2005. Revisión sistemática del subgénero Harpostachys de *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 92: 463-532.
- Denham, S. S.; Morrone, O.; Zuloaga, F. O. 2010. Estudios en el género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): *Paspalum denticulatum* y especies afines. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 97: 11-33.
- Denham, S. S.; Zuloaga, F. O.; Morrone, O. 2002. Systematic revision and phylogeny of *Paspalum* subgenus *Ceresia* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89: 337-399.
- Essi, L.; Souza-Chies, T. T. 2007. Phylogeny of Linearia and Notata groups of *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) and related species. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 779-791.
- Giussani, L. M.; Cota-Sánchez, J. H.; Zuloaga, F. O.; Kellogg, E. A. 2001. A molecular phylogeny of the grass subfamily Panicoideae (Poaceae) shows multiple origins of C4 photosynthesis. *American Journal of Botany* 88: 1993-2012.
- Giussani, L. M.; Zuloaga, F. O.; Quarín, C. L.; Cota-Sánchez, J. H.; Ubayasena, K.; Morrone, O. 2009. Phylogenetic relationships in the genus *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae:

- Paniceae): an assessment of the Quadrifaria and Virgata Informal Groups. *Systematic Botany* 34: 32-43.
- Givnish, T. J.; Ames, M.; Mcneal, J. R.; Mckain, M. R.; Steele, P. R.; Pamphilis, C. W.; Graham, S. W.; Pires, J. C.; Stevenson, D. W.; Zomlefer, W. B.; Briggs, B. G.; Duvall, M. R.; Moore, M. J.; Heaney, J. M.; Soltis, D. E.; Soltis, P. S.; Thiele, K.; Leebens-Mack, J. H. 2010. Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 97: 584-616.
- Grass Phylogeny Working Group (GPWG). 2001. Phylogeny and subfamilial classification of grasses (Poaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88: 373-457.
- Guglieri, A.; Longhi-Wagner, H. M.; Zuloaga, F. O. 2008. Anatomia foliar das espécies de *Panicum* L. subg. *Panicum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) ocorrentes no Brasil. *Iheringia* 63: 279-293.
- Linder, H. P.; Rudall, P. J. 2005. Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36: 107-124.
- Machado, A. F. L.; Meira, R. M. S.; Ferreira, L. R.; Ferreira, F. A.; Tuffi Santos, L. D.; Fialho, C. M. T.; Machado, M. S. 2008. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis*. *Planta Daninha* 26: 1-8.
- Metcalf, C. R. 1960. *Anatomy of the monocotyledons I. Gramineae*. Clarendon Press, Oxford.
- Morrone, O.; Denham, S. S.; Zuloaga, F. O. 2004. Revisión taxonómica del género *Paspalum* grupo Eriantha (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 91: 225-246.
- Morrone, O.; Zuloaga, F. O.; Carbonó, E. 1995. Revisión del grupo Racemosa del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 82-116.

- Nakamura, A. T.; Scatena, V. L. 2009. Desenvolvimento pós-seminal de espécies de Poaceae (Poales). *Acta Botanica Brasilica* 23: 212-222.
- Oliveira, R. C.; Rua, G. H. A. 2005. New Species of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae) from Central Brazil. *Systematic Botany* 30: 530-532.
- Oliveira, R. C.; Valls, J. F. M. 2001. *Paspalum* L. In: Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. v. 1. Poaceae. Wanderley, M. G. L.; Shepherd, G. J.; Giulietti, A. M. (eds.). Rima, São Paulo, p. 191-227.
- Oliveira, R. C.; Valls, J. F. M. 2002. Taxonomia de *Paspalum* L., grupo Linearia (Gramineae – Paniceae) do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 25: 371-389.
- Oliveira, R. P.; Longhi-Wagner, H. M.; Leite, K. R. B. 2008. A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia de *Raddia* Bertol. (Poaceae: Bambusoideae). *Acta Botanica Brasilica* 22: 1-19.
- Oliveira, R. C.; Valls, J. F. M. 2008. Novos sinônimos e ocorrências em *Paspalum* L. (Poaceae). *Hoehnea* 35: 289-295.
- Paciullo, D. S. C.; Gomide, J. A.; Silva, E. A. M.; Queiroz, D. S.; Gomide, C. A. M. 2002. Características anatômicas da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia* 31: 890-899.
- Pelegrin, C. M. G.; Longhi-Wagner, H. M.; Oliveira, P. L. 2009. Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de espécies do complexo *Briza* L. (Poaceae: Pooideae: Poaeae). *Acta Botanica Brasilica* 23: 666-680.
- Pizarro, E. A. 2000. Potencial forrajero del *Paspalum*. *Pasturas Tropicales* 22: 38-46.
- Queiroz, D. S.; Gomide, J. A.; Maria, J. 2000. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. *Revista Brasileira de Zootecnia* 29: 61-68.

- Rua, G. H.; Aliscioni, S. S. 2002. A morphology-based cladistic analysis of *Paspalum* sect. *Pectinata* (Poaceae). *Systematic Botany* 27: 489-501.
- Rua, G. H.; Grottola, M. C. 1997. Growth form models within the genus *Paspalum* L. (Poaceae, Paniceae). *Flora* 192: 65-80.
- Rua, G. H.; Weberling, F. 1995. Growth form and inflorescence structure of *Paspalum* L. (Poaceae: Paniceae): a comparative morphological approach. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 69: 363-431.
- Rua, G. H.; Valls, J. F. M.; Graciano-Ribeiro, D.; Oliveira, R. C. 2008. Four new species of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae) from Central Brazil, and resurrection of an old one. *Systematic Botany* 33: 267-276.
- Sajo, M. G.; Longhi-Wagner, H. M.; Rudall, P. J. 2008. Reproductive morphology of the early-divergent grass *Streptochaeta* and its bearing on the homologies of the grass spikelet. *Plant Systematics and Evolution* 275: 245-255.
- Scheffer-Basso, S. M.; Gallo, M. M. 2008. Aspectos morfofisiológicos e bromatológicos de *Paspalum plicatulum*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 37: 1758-1762.
- Shuma, J. M.; Raju, M. V. S. 1991. Is the Wild Oat Embryo Monocotylous? *The Botanical Magazine Tokyo* 104: 15-23.
- Silva, L. M.; Alquini, Y. 2003. Anatomia comparativa de folhas e caules de *Axonopus scoparius* (Flügge) Kuhlms e *Axonopus fissifolius* (Raddi) Kuhlms (Poaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 185-192.
- Tillich, H. J. 2000. Ancestral and derived states in seedlings of monocotyledons: In: Jacobs, S. W. L.; Everett, J. (eds.) Grasses: systematic and evolution. CSIRO, Melbourne, p. 221-228.
- Tillich, H. J. 2007. Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (Monocotyledons). *Annals of Botany* 100: 1-17.

- Türpe, A. M. 1966. Histotaxonomía de las especies Argentinas del género *Paspalum*. *Lilloa* 32: 1-272.
- Valls, J. F. M. 1994. O potencial de plantas forrageiras tropicais americanas. *Anais do Simpósio Brasileiro de Forrageiras e Pastagens*. CBNA, Campinas, p. 11-24.
- Valls, J. F. M.; Oliveira, R. C. 2010. *Paspalum*. In Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB109304>).
- Watson, L.; Dallwitz, J. M. 1992. *The grass genera of the world*. CAB International, Wallingford.
- Zuloaga, F. O., Morrone, O. 2005. Revisión de las especies de *Paspalum* para América del Sur Austral (Argentina, Bolivia, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monographs in Systematic Botany from Missouri Botanical Garden* 102: 1-297.
- Zuloaga, F. O.; Morrone, O.; Denham, S. 2000. *Paspalum volcanensis*, a new species of subgenus *Anachyris* of *Paspalum* (Poaceae: Paniceae). *Novon* 10: 183-186.
- Zuloaga, F. O.; Pensiero, J.; Morrone, O. 2004. Systematics of *Paspalum* grupo Notata (Poaceae-Panicoideae-Paniceae). *Systematic Botany* 71: 1-75.

CAPÍTULO 1

Morphology and anatomy of the diaspores and post-seminal development of *Paspalum* (Poaceae, Poales)

(Submetido ao periódico *Anais da Academia Brasileira de Ciências*)

Morphology and anatomy of the diaspores and post-seminal development of *Paspalum*
(Poaceae, Poales)

Mayra Teruya Eichemberg – Vera Lucia Scatena

Resumo: O conhecimento envolvendo o diásporo e do desenvolvimento pós-seminal de *Paspalum* L. é importante para a conservação da biodiversidade dos campos, devido sua importância na representatividade e no melhoramento genético de pastagens. A morfologia do diásporo e do desenvolvimento pós-seminal de *Paspalum dilatatum* Poir. (rizomatoso); *P. mandiocanum* Trin. var. *subaequiglume* Barreto (estolonífera), *P. pumilum* Nees. (decumbent caespitose) (cespitosa decumbente) e *P. urvillei* Steud. (cespitosa ereta) foi descrita procurando distinguir as espécies com diferentes formas de crescimento, e levantar características úteis para a taxonomia. *P. dilatatum* se diferencia por apresentar diásporo oval, de maior tamanho que as demais, com cinco nervuras salientes e tricomas; *P. urvillei* por apresentar diásporo com uma nervura central mais desenvolvida e duas laterais e tricomas; *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* por apresentar diásporo com tricomas apenas na margem; e *P. pumilum* por apresentar diásporo glabro. A cariopse envolve a semente que apresenta embrião diferenciado, disposto lateralmente; apresenta hilo elíptico em todas as espécies e rostelo em *P. dilatatum* e *P. mandiocanum* var. *subaequiglume*. O desenvolvimento pós-seminal é semelhante nas quatro espécies, se inicia com a germinação marcada pela emergência da coleoriza, seguida pelo coleóptilo. Essas características são comuns às demais Poaceae já estudadas, indicando um padrão para a família e não diferenciam as formas de crescimento.

Palavras-chave: Cariopse, Embrião, Forrageira, Germinação, Gramineae

Abstract

The knowledge regarding of the diaspore and post-seminal development of *Paspalum* L. is important for grassland biodiversity conservation, based on their importance in the representativeness and genetic improvement of forage. The morphology of the diaspores and the post-seminal development of *Paspalum dilatatum* Poir. (rhizomatous), *P. mandiocanum* Trin. var. *subaequiglume* Barreto (stoloniferous), *P. pumilum* Nees. (decumbent caespitose) and *P. urvillei* Steud. (erect caespitose) was described in attempts to distinguish species with different growth forms and to survey the characters useful for taxonomy. *P. dilatatum* differs by presenting oval diaspores that are larger than the others, with five prominent nerves and trichomes; *P. urvillei* presents diaspores with one central nerve that is more developed than the two laterals nerves and trichomes. *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* presents diaspores with trichomes only in the margin, whereas *P. pumilum* differs by presenting glabrous diaspores. The caryopsis involves the seed that presents the differentiated embryo and disposed laterally, elliptical hilum in all of the studied species and a rostellum in *P. dilatatum* and *P. mandiocanum* var. *subaequiglume*. The post-seminal development is similar in the four species and begins with germination that is marked by the emergence of the coleorhiza, followed by the coleoptile. These characteristics are common to other Poaceae previously studied, indicating a pattern to the family and do not distinguish the growth forms.

Keywords: Caryopsis, Embryo, Forage Plant, Germination, Gramineae

Introduction

Poaceae Barnhart is one of the largest angiosperm families, comprising 17% of its species (Soltis and Soltis 2004, Nardmann et al. 2007). *Paspalum* L. is included in the Panicoideae Link subfamily, tribe Paniceae R. Br., and approximately 400 species are

distributed in the tropics and subtropics (Pizarro 2000, Oliveira and Valls 2001). Brazil is home to approximately 202 species distributed in almost all of the grasslands (Valls and Oliveira 2010). *Paspalum* is distinguished by its representation and forage potential in native Brazilian grasslands and is indicated for pasture improvement in Southern Brazil (Scheffer-Basso et al. 2009).

Paspalum is characterized by presenting plano-convex spikelets that are unilaterally arranged on the rachis (Souza-Chies et al. 2006, Oliveira and Valls 2008, Maciel et al. 2009) and a caryopsis with different forms and colors that is enveloped by protective bracts. The shape of the caryopsis apex, presence of rostellum and trichomes and hilum shape are important characters in the taxonomy of the Poaceae (Reeder 1957, Hoshikawa 1969, Filgueiras 1986), including *Paspalum* (Oliveira and Valls 2001, 2002).

The inflorescence types and growth forms of *Paspalum* are related to the group's taxonomy (Rua and Weberling 1995, Rua and Grótolla 1997), and the morphology and anatomy of the seed and post-seminal development indicate the homogeneity in the family (Hoshikawa 1969, Morita et al. 1987, Nakamura and Scatena 2009).

The embryo of Poaceae present characteristics that are common to other Poales, such as lateral disposition, the presence of a coleoptile, mesocotyl formation and the complete reduction of the primary root (Tillich 2007). Structures of the Poaceae embryo that are characteristics used in the taxonomy of this group include the presence or absence of the scutellum slit, the epiblast, vascularization and the overlap of the plumule margins (Reeder 1957). In *Paspalum*, studies regarding the embryos and seedlings are generally directed for pasture improvement (Pearson and Shah 1981, Marousky and West 1990, Morita et al. 1987, Espinoza et al. 2001).

Because *Paspalum* may be the most well-represented genera of the remnant grasslands of Brazil and has great economic potential, information about the diaspores and seedlings of

its species having different growth forms are important for the taxonomy of the group and may aid in the conservation of its biodiversity. Therefore, the morphology and anatomy of the diaspores of *Paspalum dilatatum* Poir., *P. mandiocanum* Trin. var. *subaequiglume* Barreto, *P. pumilum* Nees. and *P. urvillei* Steud. were described to survey the characters useful for its taxonomy and to verify whether differences in the post-seminal development of the species with different growth forms occur.

Materials and Methods

The species studied were collected in the remnants of the native grasslands of the Plateau of Santa Catarina State, Southern Brazil. The native grasslands comprise 14% of the state area, and they risk being replaced by exotic pasture or crops due to economic pressures (Córdova et al. 2004). Such a region presents extensive livestock as one of the more traditional economic activities sustained by natural pasture, and *Paspalum* is very abundant. We have studied four species with different growth forms that are important as forage potential for Southern Brazil (Valls et al. 2009). The following vouchers have been deposited in the Herbarium of the Department of Botany (HRCB), Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro: *Paspalum dilatatum* Poir. (M.T. Eichemberg 701 & N. Prestes) - rhizomatous; *P. mandiocanum* Trin. var. *subaequiglume* Barreto (M.T. Eichemberg 695 & N. Prestes) - stoloniferous; *P. pumilum* Nees. (M.T. Eichemberg 763) - decumbent caespitose and *P. urvillei* Steud. (M.T. Eichemberg 700 & N. Prestes) - erect caespitose.

The mature diaspores (caryopses with bracts) were placed in concentrated sulfuric acid for five minutes and then washed with water. The caryopses were placed in gerboxes (plastic boxes) on filter paper moistened with distilled water. The 25 caryopses from different individuals of each species of the natural environment were grown in four replicates in a

completely random design and were maintained at 25°C and under uninterrupted white light. The morphological characteristics of the diaspores (n=25) and seedlings (n=15) for each species were surveyed.

The stages of post-development and seedlings were monitored daily. The seedlings of each species at different development stages were fixed in FAA 50 and preserved in 70% alcohol for the anatomical study (Johansen 1940). The samples were dehydrated in n-butyl alcohol (NBA), infiltrated and embedded in historesin (Leica Historesin Embedding Kit) (Feder and O'Brien 1968). Cross and longitudinal sections were cut with a rotative microtome, stained with periodic acid, Schiff's reagent (PAS) and Toluidine Blue (Feder and O'Brien 1968) and mounted in Entellan. Images were captured with the Leica DFC 290 digitalizing system coupled to the Leica DMLB microscope.

Results

The diaspores studied are ovals in *Paspalum dilatatum* (Figs. 1A, 2A) and oval-elliptical in *P. urvillei* (Figs. 1B, 2B), *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* (Figs. 1C, 2D) and *P. pumilum* (Fig. 2C). The diaspores vary in sizes and are larger in *P. dilatatum* ($\bar{x} = 0.24$ cm), followed by *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* ($\bar{x} = 0.20$ cm), *P. pumilum* ($\bar{x} = 0.19$ cm) and *P. urvillei* ($\bar{x} = 0.18$ cm). The diaspores present an upper glume (Fig. 1B), a lower lemma (Fig. 1A) and a fruit-type caryopsis (Fig. 1C–D). *P. dilatatum* has five salient nerves, and trichomes are distributed over the entire surface (Figs. 1A, 2A), whereas *P. urvillei* presents one central nerve that is more developed than other two laterals and trichomes distributed over the entire surface (Figs. 1B, 2B). *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* displays trichomes only in the margin (Fig. 2D), and *P. pumilum* presents glabrous diaspores (Fig. 2C).

The caryopses display a rounded apex (Fig. 1C–D), with a rostellum in *P. dilatatum* (Fig. 1D-arrow) and *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* (Fig. 2G-arrow), the adaxial surface of which is convex and encloses the embryo (Figs. 1C, 2E-arrow). The abaxial surface is flat with an elliptical hilum (Fig. 1D–arrowhead).

The seeds are albuminous, with a starchy endosperm (Fig. 1E) and one aleuron layer in the peripheral region (Fig. 1F-arrow). The embryo is differentiated, lateral, and occupies approximately one-third of the seed (Fig. 1E); the embryo presents a coleorhiza, shoot-born root, mesocotyl, plumule, coleoptile and scutellum (Fig. 1E-G).

The embryos of all of the species present a scutellum slit (Fig. 1F-arrow), and an epiblast is absent (Fig. 1E-G). The lower embryo region presents the shoot-born root with an apical meristem and a coif (Fig. 1F-H) that originates from the mesocotyl and is enveloped by the coleorhiza (Fig. 1F-arrowhead, 1G-H). The cotyledonary node (Fig. 1H-arrow) (mesocotyl) presents procambial cells that will vascularize the rhizome. The vascularization of the embryos is of the “panicoid” type (Fig. 1G-H), that is, a procambial vascular system that diverges for the scutellum and for the embryonic leaf in different internode spots.

The post-seminal development begins with germination that occurs approximately 24 to 48 hours after caryopsis imbibition. The germination is evidenced by the emergence of the coleorhiza (Figs. 1G - arrow, 2F-G), which presents long hairs (Fig. 2F-I). In the seedling, the mesocotyl develops and forms the rhizome of the adult plant, which establishes the vascular connection between the roots and leaves (Fig. 1K). The growth of adventitious roots from the pericycle of the rhizome can be observed (Figs. 1J-arrow, 2J).

The coleoptile elongates and the first leaf (eophyll) emerges (Fig. 2J–K), which is long (Fig. 2L–N), with trichomes distributed throughout the blade in *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* (Fig. 2M) and *P. pumilum* (Fig. 2L). Simultaneously, the development of new

adventitious roots from the rhizome occurs (Figs. 1J, 2L–N), followed by eophyll expansion and the development of the second leaf (Fig. 2O–P).

Discussion

The diaspore morphology differs among the studied *Paspalum* species and can be used for the taxonomy to distinguish the species. The size, shape, presence and localization of trichomes, the number and nerves salience in the diaspore and the presence of the rostellum in the caryopses are characters that allow the classification of the studied species. These characteristics were also used in the taxonomy and phylogeny of *Paspalum* by other authors (Oliveira and Valls 2002, Rua et al. 2008, Denham et al. 2010; Rua et al. 2010).

The post-seminal development is similar among the studied *Paspalum* species, independently of their growth form when adults, and constitutes a pattern for the group and corroborating the observations in other Poaceae (Tillich 2007, Nakamura and Scatena 2009). As far as the rhizomatous habit, the stoloniferous, erect caespitose and decumbent caespitose present similar initial seedling stages, with the rhizome originating from the mesocotyl. These four growth forms are the result of rhizome development variations during the establishment of the plant, which probably occurs due to genetic differentiation, as these species inhabit in the same environment.

The diaspores of the studied *Paspalum* species present only an upper glume and low lemma enveloping the caryopsis, thus, corroborating the description of the genus (Filgueiras 1986, Oliveira and Valls 2001, Boldrini et al. 2005). In most Poaceae, the diaspores are composed of a palea, lemma and glume (caryopsis coat) or they are associated with other parts of the inflorescence (Dalhgren et al. 1985, Boldrini et al. 2005, Souza et al. 2009). For the studied species, the diaspore characteristics survey helps in their identification and corroborates the importance of its use in the taxonomy of the genus.

The presence of a rostellum in the *P. dilatatum* and *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* caryopses was correlated with other Poaceae and can be considered an important character of the infrageneric level (Filgueiras 1986). The studied species present albuminous seeds, an embryo laterally attached to the endosperm, the presence of a coleoptile, mesocotyl and a reduction of the primary root in the seedling, as previously described for other Poaceae (Martin 1946, GPWG 2001, Tillich 2007, Nakamura and Scatena 2009). The “panicoid”-type vascularization in the embryo was verified in other representatives of the tribe Paniceae and, therefore, has taxonomic importance in Poaceae (Reeder 1957).

The elliptical hilum present in all of the studied species was correlated according to the concept of Filgueiras (1986), who defines as the placental region of the caryopsis where the ovule is inserted in the carpel wall but suggested that it is not homologous to the hilum of other angiosperms because it is a structure that involves the pericarp. The hilum shape varies in other *Paspalum* species, which has been used in taxonomic descriptions (Oliveira and Valls 2002, Rua et al. 2008, Denham et al. 2010) and the phylogenetic analysis of the genus (Rua et al. 2010). This feature can also vary in other genera of the Poaceae family (Filgueiras 1986).

The scutellum (cotyledon) is considered a reduced leaf structure due to the presence of vascularization (Shuma and Raju 1991) or can be considered as an embryonic leaf structure (Cocucci and Astegiano 1987). Molecular data of *Zea mays* confirm that the scutellum is an embryonic structure without any corresponding structure in the eudicot embryo (Nardmann et al. 2007) and can be considered an exclusive organ of Poaceae without homology with other Poales (Rudall et al. 2005).

In the studied species of *Paspalum*, the primary root is reduced, remaining as a vestige in the coleorhiza form, as reported also for other Poaceae representatives (Cocucci and Astegiano 1978, Tillich 2007, Nakamura and Scatena 2009). In monocots, the reduction of the primary root occurs along evolution, and its absence is a derivate character (Boyd 1931,

Tillich 2007). Within the Poales, the reduction of the primary root was reported for different taxa that are considered ancestral and derived (Ramaswamy et al. 1981, Scatena et al. 1993, 1996, Scatena et al. 2006, Tillich 2007); thus, it appears to be a character of little use in the phylogeny of the group.

In the studied species, the germination was marked by the emergence of the coleorhiza, followed by the coleoptile. The anatomical structures of the *Paspalum* seedlings studied in this work correspond to those already described for others representatives of the genus (Hoshikawa 1969, Nakamura and Scatena 2009). Characters, such as a well-developed sheath and blade of the first leaf and the absence of an epiblast, are considered to be derivative in Poaceae and corroborate the intermediate position of the genus in the family (GPWG 2001).

The post-seminal development is similar in the studied species of Poaceae, and the changes that occur in the later stages of development to promote the differences in the growth forms, such as rhizomatous, stoloniferous, decumbent caespitose and erect caespitose, must be related to genetic and hormonal responses to the environment.

Acknowledgments

The second author thanks the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 301692/2010-6, 471837/2011-3) and the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2011/18275-0). We thank also Msc. Nelson Eduardo Prestes (EPAGRI-Lages/SC) for aid in collecting plant samples and Dr. José Francisco Montenegro Valls for assistance with species identification.

Literature Cited

- Boldrini II, Longhi-Wagner HM and Boechat SC. 2005. Morfologia e taxonomia de gramíneas sul-riograndenses, Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 96p.
- Boyd L. 1931. Evolution in the monocotyledonous seedling: a new interpretation of the morphology of the grass embryo. Trans. Proc. Bot. Soc. Edinb 30: 286-303.
- Cocucci AE and Astegiano ME. 1978. Interpretación del embrión de las Poáceas. Kurtziana 11: 441-54.
- Córdova UA, Prestes NE, Santos, OV & Zardo VF. Melhoramento e manejo de pastagens naturais no planalto catarinense. Florianópolis: Epagri. 274p.
- Dalhgren RMT, Clifford HT and Yeo PF. 1985. The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy, Berlin: Springer-Verlag.
- Denham SS, Morrone O and Zuloaga FO. 2010. Estudios en el género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): *Paspalum denticulatum* y especies afines. Ann. Mo. Bot. Gard. 97: 11-33.
- Espinoza F, Urbani MH, Martínez EJ and Quarín CL. 2001. The breeding system of three *Paspalum* species with forage potential. Trop. Grasslands 35: 211-217.
- Feder N and O'Brien TP. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. Am. J. Bot. 55: 123-142.
- Filgueiras TS. 1986. O conceito de frutos em gramíneas. Pesqui. Agropecu. Bras. 21: 93-100.
- Grass Phylogeny Working Group (GPWG). 2001. Phylogeny and subfamilial classification of grasses (Poaceae). Ann. Mo. Bot. Gard. 88: 373-457.
- Hoshikawa K. 1969. Underground organs of the seedlings and the systematics of gramineae. Bot. Gaz. 130: 192-203.
- Johansen, D. 1940. Plant microtechnique, New York: McGraw-Hill Book Co. Inc.

- Maciel JR, Oliveira RC and Alves M. 2009. *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) no estado de Pernambuco, Brasil. Acta Bot. Bras. 23: 1145 – 1161.
- Marousky FJ and West SH. 1990. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured mature caryopses of bahiagrass (*Paspalum notatum* Flugge). Plant Cell Tiss. Org. 20: 125-129.
- Martin AC. 1946. The comparative internal morphology of seeds. Am. Midl. Nat. 36: 513-660.
- Morita O, Ehara H and Goto M. 1997. Anchoring function of coleorhiza hairs and seedling establishment of surface-sown forage grasses. Grassland Science 42: 277-282.
- Nakamura AT and Scatena VL. 2009. Desenvolvimento pós-seminal de espécies de Poaceae (Poales). Acta Bot. Bras. 23: 212-222.
- Nardmann J, Zimmermann R, Durantini D, Kranz E and Werr W. 2007. WOX Gene phylogeny in Poaceae: a comparative approach addressing leaf and embryo development. Mol. Biol. Evol. 24: 2474-2484.
- Oliveira RC and Valls JFM. 2001. *Paspalum* L. In Wanderley MGL et al. (Eds), Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo, v 1. Poaceae, São Paulo: HUCITEC.
- Oliveira RC and Valls JFM. 2002. Novos sinônimos e ocorrências em *Paspalum* L. (Poaceae). Hoehnea 35: 289-295.
- Oliveira RC and Valls JFM. 2008. Taxonomia de *Paspalum* L., grupo Linearia (Gramineae - Paniceae) do Brasil. Rev. Bras. Bot. 25: 371-389.
- Pearson CJ and Shah SG. 1981. Effects of temperature on seed production, seed quality and growth of *Paspalum dilatatum*. J. Appl. Ecol. 18: 897-905.
- Pizarro EA. 2000. Potencial forrajero del *Paspalum*. Pasturas Tropicales 22: 38-46.
- Ramaswamy SN, Swamy BGL and Arekal GD. 1981. From zygote to seedling in *Eriocaulon robusto-brownianum* Ruhl. (Eriocaulaceae). Beitr. Biol. Pflanzen 55: 179-188.

- Reeder JR. 1957. The embryo in grass systematics. *Am. J. Bot.* 44: 756-768.
- Rua GH and Grottola MC. 1997. Growth form models within the genus *Paspalum* L. (Poaceae, Paniceae). *Flora* 192: 65-80.
- Rua GH and Weberling F. 1998. Growth form and inflorescence structure of *Paspalum* L. (Poaceae: Paniceae): a comparative morphological approach. *Beitr. Biol. Pflanzen* 69: 363-431.
- Rua GH, Valls JFM, Graciano-Ribeiro D and Oliveira RC. 2008. Four new species of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae) from Central Brazil, and resurrection of an old one. *Syst. Bot.* 33: 267-276.
- Rua GH, Speranza PR, Vaio M and Arakaki M. 2010. A phylogenetic analysis of the genus *Paspalum* (Poaceae) based on cpDNA and morphology. *Plant Syst Evol* 288:227–243.
- Rudall PJ, Stuppy W, Cunniff J, Kellogg EA and Briggs BG. 2005. Evolution of reproductive structures in grasses (Poaceae) inferred by sister group comparison with their putative closest living relatives, Ecteiocoleaceae. *Am. J. Bot.* 92:1432-1443.
- Scatena VL, Lemos Filho JP and Lima AAA. 1996. Morfologia do desenvolvimento pós-seminal de *Syngonanthus elegans* e *S. niveus* (Eriocaulaceae). *Acta Bot. Bras.* 10: 85-91.
- Scatena VL, Menezes NL and Stützel T. 1993. Embryology and seedling development in *Syngonanthus rufipes* Silveira (Eriocaulaceae). *Beitr. Biol. Pflanzen* 67: 333-343.
- Scatena VL, Segecin S and Coan AI. 2006. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campos Gerais”, Paraná, Southern Brazil. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 49: 945-951.
- Scheffer-Basso SM, Baréa K and Jacques AVA. 2009. *Paspalum* e *Adesmia*: importantes forrageiras dos campos sulinos. In Pillar VP et al. (Eds), *Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade*, Brasília: MMA.

- Shuma JM and Raju MVS. 1991. Is the wild oat embryo monocotylous? Bot. Mag. Tokyo 104: 15-23.
- Soltis PS and Soltis DE. 2004. The origin and diversification in angiosperms. Am. J. Bot. 91: 1614-1626.
- Souza LA, Moscheta IS, Mourão KSM, Albiero ALM, Montanher DR and Paoli AAS. 2009. Morfologia da plântula e do tirodendro. In. Souza LA (Org), Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação, Ponta Grossa: Toda Palavra.
- Souza-Chies TT, Essi L, Rua GH, Valls JFM and Miz RB. 2006. A preliminary approach to the phylogeny of the genus *Paspalum* (Poaceae). Genetica 126: 15-32.
- Tillich HJ. 2007. Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (Monocotyledons). Ann. Bot-London 100: 1-17.
- Valls JFM, Boldrini II, Longhi-Wagner HM and Miotto STS. 2009. O patrimonio florístico dos campos: potencialidades de uso e a conservação de seus recursos genéticos. In Pillar VP et al. (Eds), Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade, Brasília: MMA.
- Valls JFM and Oliveira RC. 2010. *Paspalum*. In Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB109304>).

ILUSTRAÇÕES

Fig. 1. Morphology and anatomy of the diaspore, caryopsis and initial seedling stages of *Paspalum*. A-B. Diaspores of *P. dilatatum* and *P. urvillei*, respectively. C-D. Caryopses of *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* (arrow = embryonic region) and *P. dilatatum* (arrow = rostellum, arrowhead = hilum), respectively. E-J. Longitudinal sections of the caryopsis, embryo and seedling. E-F. Caryopsis of *P. urvillei* - detail of the embryo (arrow = scutellum slit, arrowhead = coleorhiza). G-H. Embryo of *P. dilatatum*. I. Seedling of *P. pumilum* in the stage of coleoptile expansion. J. Seedling of *P. dilatatum* with an adventitious root and eophyll. K. Cross section of *P. pumilum* seedling. Bars = 600 μm (A); 500 μm (B); 200 μm (C, D, I); 180 μm (E, G); 140 μm (J); 100 μm (F); 90 μm (H) 70 μm (K).

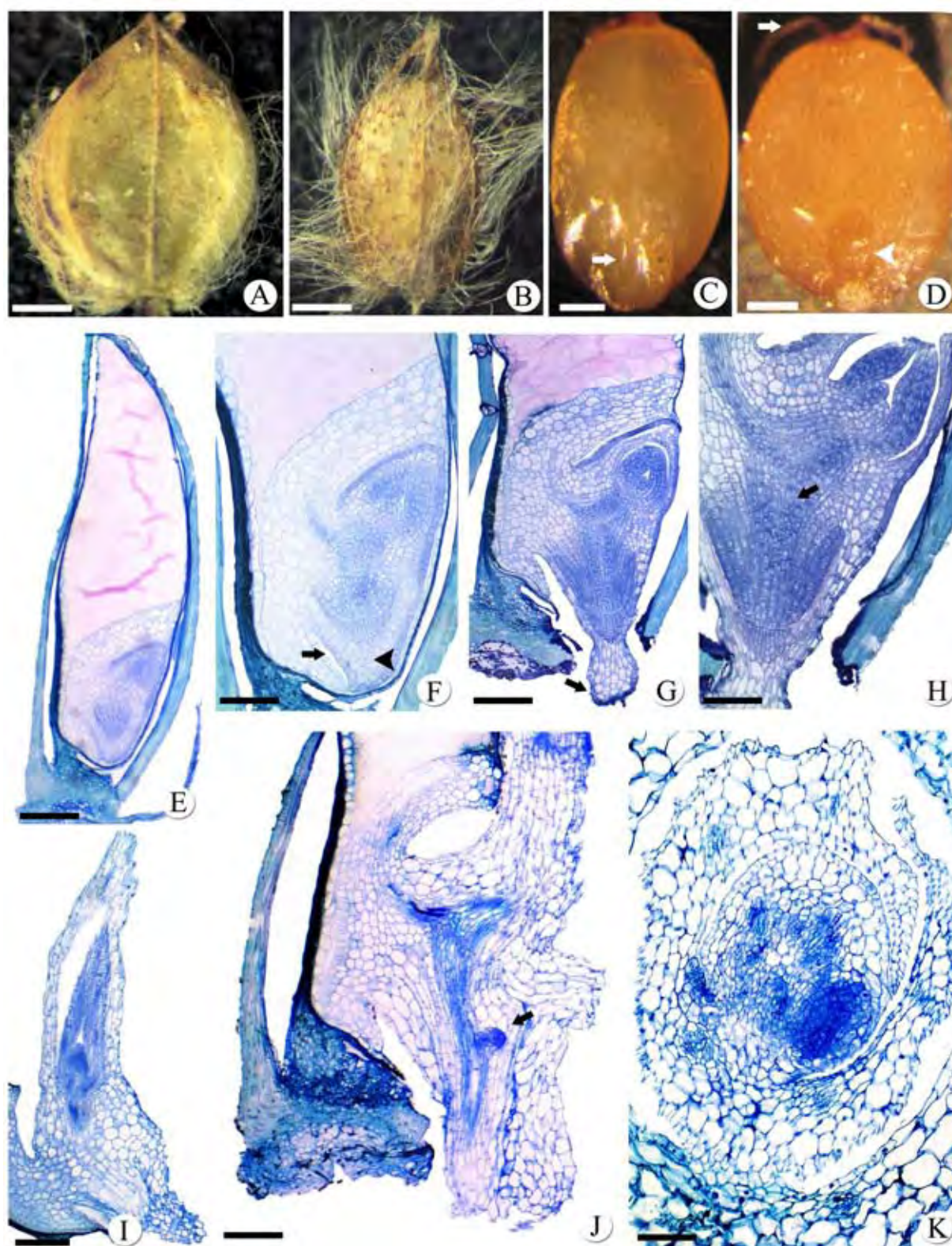
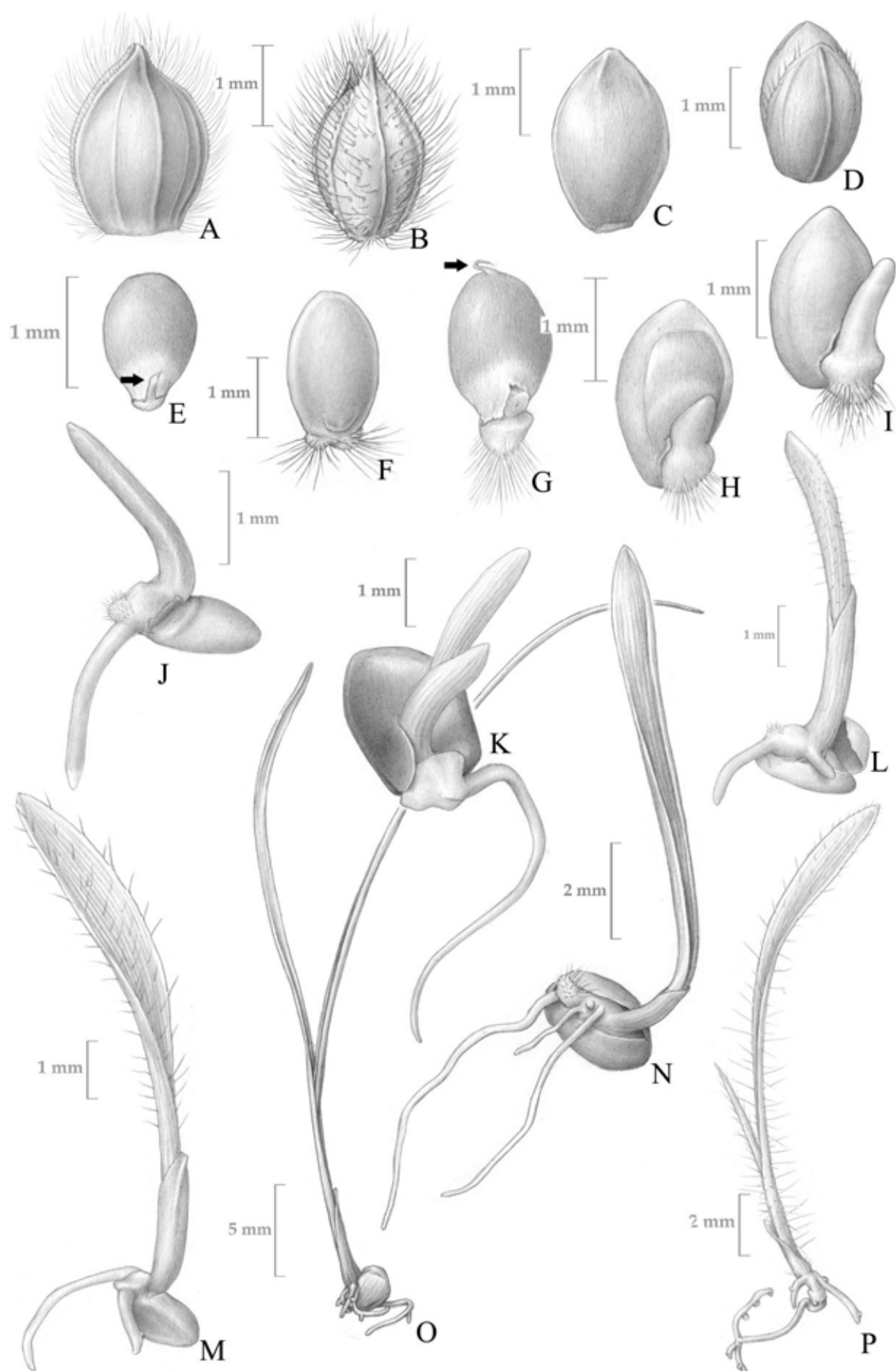


Fig. 2. Morphology of the diaspore, caryopsis and post-seminal development and initial seedling stages of *Paspalum dilatatum* (A, K, N, O), *P. urvillei* (B, F), *P. pumilum* (C, H, I, J, L), and *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* (D, E, G, M, P). A – D. Frontal view of the diaspore. E – G. Frontal view of the caryopsis and coleorhiza emergence. H - I. Emergence of the coleoptile. J. Disruption of the coleorhiza and expansion of the adventitious root. K. Expansion of the eophyll and disruption of the coleorhiza with the posterior development of the adventitious root. L - N. Formation of new adventitious roots and eophyll stretching. O - P. Development of the second leaf and adventitious root.



CAPÍTULO 2

Anatomy of leaves and culms of *Paspalum* (Poaceae, Poales) and its taxonomic importance

(Submetido ao periódico *Annals of the Missouri Botanical Garden*)

Anatomy of leaves and culms of *Paspalum* (Poaceae, Poales) and its taxonomic importance

Mayra Teruya Eichemberg – Vera Lucia Scatena

Resumo: *Paspalum* L. é um dos gêneros de Poaceae Barnhart de maior representatividade nas formações campestres brasileiras, com espécies de importante potencial forrageiro. A anatomia de folhas e colmos de 30 espécies de *Paspalum* foi estudada visando levantar características úteis para a taxonomia do grupo. As folhas de *Paspalum* apresentam epiderme uniestratificada com células longas e curtas, em vista frontal, estômatos paracíticos nas duas faces da epiderme e feixes vasculares colaterais envolvidos por uma bainha e parênquima clorofiliano radiado. Os colmos apresentam epiderme uniestratificada, córtex estreito ou amplo, feixes vasculares colaterais, endoderme uniestratificada e periciclo multiestratificado. Vários caracteres foliares mostraram-se úteis na identificação das espécies, entre eles: forma das células buliformes, da nervura central e da margem da lâmina; a presença de costelas no limbo; presença de macropelos, tricomas em forma de gancho e papilas na epiderme; presença de canais de ar na bainha e de esclerênquima abaixo da epiderme na margem da folha. A presença de canal de mucilagem no colmo é caráter diagnóstico de *Paspalum maculosum* e é descrito pela primeira vez para o gênero. A presença de esclerênquima abaixo da epiderme na margem da bainha foliar é diagnóstica de *P. urvillei* Steud. A análise de agrupamento (UPGMA) mostrou alta similaridade entre as espécies por meio da comparação entre os caracteres anatômicos.

Palavras-chave: Anatomia, Campos, Gramíneas, Órgãos Vegetativos

Abstract

Paspalum L. is one of Poaceae's most well-represented genera in the grasslands and includes several species of important forage potential. The anatomy of the leaves and culms of 30 *Paspalum* species was studied to survey useful characters for group taxonomy. The *Paspalum* leaves present a unistratified epidermis with long and short cells in surface view, paracytic stomata on both surfaces of the leaf epidermis and collateral vascular bundles surrounded by a sheath and radiate chlorenchyma. The culms present a unistratified epidermis, a narrow or broad cortex, collateral vascular bundles, unistratified endodermis and a multistratified pericycle. Several leaf characters proved useful for species identification, such as: the shape of the bulliform cells, the midrib and the margin of the leaf blade; the presence of ribs, macro-hairs, trichomes and papillae on the epidermis; and the presence of air canals in the leaf sheath and sclerenchyma at the margin. The presence of a mucilage canal in the culm serves as a diagnostic character for *Paspalum maculosum* Trin., and is first described for the genus. The presence of sclerenchyma in the leaf sheath margin is diagnostic for *P. urvillei* Steud. The cluster analysis (UPGMA) showed high similarity among the species through comparison of the anatomical characters.

Keywords: Anatomy, Grass, Grasslands, Vegetative Organs.

Introduction

Poaceae Barnhart comprise approximately 793 genera and 10,000 species with a cosmopolitan distribution (Watson & Dallwitz, 1992). In grasslands, the family stands out due to its high number of species and their environmental dominance (Valls, 1994).

Paspalum L. is included in Paniceae, Panicoideae Link and is one of the largest genera of the family with 400 tropical and subtropical species displaying great morphological variation (Chase, 1929; Aliscioni, 2002; Oliveira & Valls, 2008). In Brazil, there are 202

species distributed among different habitats (Valls & Oliveira, 2010), and many have potential uses in native pastures (Valls, 1994; Oliveira & Valls, 2008). Circumscription of *Paspalum* is problematic (Duvall et al., 2001; Aliscioni, 2002) and the genus is actually compounded by the subgenera *Ceresia* (Pers.) Rchb., *Harpostachys* (Trin.) S. Denham, *Anachyris* (Nees) Chase and *Paspalum* (Denham, 2005; Denham et al., 2010). The subgenus *Paspalum* contains 265 species distributed in 25 informal groups (Denham, 2005) with no clear evolutionary relationships that require revisions (Vaio et al., 2005).

Anatomical characters of the vegetative organs of Poaceae representatives have been used to assist taxonomy, principally in groups whose morphology patterns are similar (Alvarez et al., 2005; Oliveira et al., 2008; Pelegrin et al., 2009). The majority of studies focuses on leaf anatomy and describes features of the epidermis, the chloroplast and the vascular bundle sheath (Metcalf, 1960; Brown, 1977; Ellis, 1979; Aliscioni, 2000, 2002; Alvarez et al., 2005; Guglieri et al., 2008; Oliveira et al., 2008; Pelegrin et al., 2009). Some of these studies point to the importance of the anatomical characteristics of Poaceae for zootechny and are associated with digestibility as forage plants (Queiroz et al., 2000; Paciullo et al., 2002; Costa & Scheffer-Basso, 2003).

The leaf anatomy of *Paspalum* representatives from Argentina (Türpe, 1966) showed that there is homogeneity within the genus and that some characters are associated with environmental conditions. Furthermore, the leaf anatomy of informal groups of *Paspalum*, also from Argentina, indicates differences between species (Aliscioni, 2000).

Given the importance of anatomical structures for the taxonomy of Poaceae, this work aims to survey the anatomical characters of the leaves and culms of 30 species of *Paspalum*.

Materials and Methods

The studied species (Table 1) were collected from different Brazilian grasslands formations and belong to the subgenera *Ceresia*, *Harpostachys* and *Paspalum*. The choice of species was based on their representation in the grasslands. Key species from the informal groups of *Paspalum* subg. *Paspalum* were also included. The vouchers are deposited in the Herbarium of the Department of Botany (HRCB), Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo. Leaves and culms of at least three different individuals from each population were fixed in FAA 50 (37% formaldehyde, acetic acid, 50% ethanol, 1:1:18) and preserved in 70% alcohol for the anatomical study (Johansen, 1940). We also used herbarium material from specimens from Cenargen Herbarium (CEN). The parts of specimens were boiled in distilled water with glycerin for tissue expansion and then preserved in 70% alcohol.

Samples from the middle portions of the blade and sheath leaf as well as from the first basal internode of the culm supporting the mature inflorescence were sectioned by hand with a razor blade. Some sections were stained with basic fuchsin and astra blue (Roeser, 1972) and mounted in glycerin gelatin. Other samples were dehydrated in n-butyl alcohol (NBA) and infiltrated and embedded in historesin (Leica Historesin Embedding Kit) (Feder & O'Brien, 1968). Cross and longitudinal sections were cut with a rotative microtome (Leica RM2245), stained with periodic acid, Schiff reagent (PAS) and toluidine blue (Feder & O'Brien, 1968) and mounted on permanent slides with Entellan (Merck). The leaf epidermis was dissociated by the Jeffrey method (Johansen, 1940), stained with basic fuchsin and astra blue (Roeser, 1972) and mounted on semipermanent slides with glycerin gelatin. Images were captured with a Leica DFC 290 digitalizing system coupled to a Leica DMLB microscope.

The anatomical characteristics of the 30 studied species were compared using a presence/absence matrix (Table 2). For the similarity analysis, was performed the cluster analysis (UPGMA) based on the Jaccard's coefficient using the MVSP 3.13 program.

Results

The anatomical characteristics that vary among the species are presented in Table 2. In the surface view, the leaf epidermis presents long and short cells on both surfaces and paracytic stomata (Fig. 1A - D). The short cells present silica incrustations (Fig. 1C - D - arrowhead) or suberin (Fig. 1B - D - arrows) and occur with cross-shaped (Fig. 1B - arrow), dumb-bell-shaped (Fig. 1C - arrow, D - arrowhead), crenate (Fig. 1C - arrowhead), or sinuous walls (Fig. 1D - arrow). The long cells present sinuous walls (Fig. 1C - D) that are either straight (Fig. 1E) or papillose (Fig. 1F - arrowhead, H). The epidermis may also present unicellular macro-hairs (Fig. 1E - F - arrows) and/or trichome-type hooks (Fig. 1G - arrow, I).

In the cross-sections, the limb may have ribs on the adaxial (Figs. 1J, M, 2F) or abaxial surfaces (Fig. 1K). The epidermis is made up of flat or rounded cells (Figs. 1J-M, 2A-G) with thin walls, as observed in most species (Figs. 1K-M, 2A, C-D), or they may have periclinal external walls that are thicker than the internal walls (Figs. 1J, 2F). Some species present epidermal cells with phenolic content (Fig. 2A, C). The adaxial epidermis of the leaf in all species present bulliform cells (Bc) that may be one of three types: "Zea", which are especially large cells that are inflated and teardrop-shaped (Figs. 1K, 2C); irregular, which have variable shape and size (Fig. 1L); or fan, which are smaller on the sides and larger in the center (Fig. 1J, M). Colorless cells (Cc) are associated with the bulliform cells in some species (Fig. 1K). Stomata occur on both epidermal surfaces and are located at the same level as (Fig. 1J-K, M, arrows) or just above (Fig. 1L-arrows) the other epidermal cells.

All species possess a mesophyll with chlorenchyma radiating around a vascular bundle sheath, constituting Kranz anatomy (Figs. 1J–M, 2A–G). The majority of the species have bundles of sclerenchyma fibers (Bf) located just below the epidermis (Fig. 1K). The vascular bundles are collateral and have different sizes, with the bigger ones in the first order, intermediaries in the second order and smaller ones in the third order (Figs. 1J–M, 2C). Bundle sheath extensions occur in the vascular bundles of first and second orders (Fig. 2C–D) except in *P. foliiforme*, *P. maculosum* and *P. notatum*, which do not possess second order bundle sheath extensions.

The midrib presents different shapes: keel-shaped (Fig. 2B), extended (Fig. 2C), curved (Fig. 2D), rounded (Fig. 2E), circular (Fig. 2F) and semicircular (Fig. 2G). In this region, all species present hypodermis (Fig. 2B–G) and bundles of subepidermal fibers (Sf) (Fig. 2C–G). The margin may be acute, with sclerenchyma located just below the epidermis (Fig. 2H), or obtuse (Fig. 2I).

The leaf sheaths show an anatomical structure similar to the blade (Fig. 2J–K) except for the presence of air canals (Ac) alternating with vascular bundles (Fig. 2J–K) in some species. The sheath margin is formed only by epidermal prolongation (Fig. 2L), except in *P. urvillei*, whose margins have sclerenchyma located just below the epidermis (Fig. 2M).

In cross-sections, the culms are oval-shaped (Fig. 3A–B) and have a smooth surface (Fig. 3A–B, D–H). The epidermis is unistratified, with round or tabulate cells (Fig. 3C–F). The stomata are located at the same level as the other epidermal cells (Fig. 3C–arrow). The cortex is parenchymatous and is composed of one or many layers of cells (Fig. 3D–H), which may vary within the same species and may also display air canals (Ac) (Fig. 3H). Mucilage canals were observed only in *P. maculosum* (Fig. 3I–arrow). The endodermis (En) is unistratified, the pericycle (P) is multistratified and is composed of thick-walled cells that form a continuous string that may include the collateral vascular bundles (Fig. 3D–H). The

culm can be fistulose (Fig. 3A) or not (Fig. 3B) and may vary within the same species. The pit consists of thin-walled parenchymatous cells (Fig. 3B).

The result of the cluster analysis with Jaccard's coefficient is shown in Figure 4. The dendrogram depicts high similarity among the studied species with cluster formation with short intervals, where values closed to one indicate greater similarity among species. In the dendrogram, three principal groups were distinguishable: the first one includes *Paspalum minarum*, *P. hyalinum*, *P. umbrosum*, *P. polyphyllum* and *P. clavuliferum*; the second includes *P. dilatatum*, *P. pumilum*, *P. plicatum*, *Paspalum* sp., *P. multicaule*, *P. juergensii*, *P. gardnerianum*, *P. urvillei*, *P. foliiforme*, *P. distichum*, *P. jesuiticum*, *P. denticulatum*, *P. pauciciliatum*, *P. leptum* and *P. compressifolium*, *P. scalare*, *P. notatum*, *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* and *P. guttatum*; and the third includes *P. rhodopedum*, *P. glaucescens*, *P. erianthum*, *P. maculosum* and *P. barretoii*.

The characters that support the formation of these groups are as follows: the presence of macro-hairs on the epidermis, obtuse blade margins and leaf sheaths with vascular bundles of three orders, in the first group; colorless cells associated with bulliform cells and leaf sheaths with vascular bundles of two orders, in the second group; type "Zea" bulliform cells, acute blade margins and leaf sheaths with air canals and with vascular bundles of three orders, in the third group; and ribs on the adaxial surface, fan-shaped bulliform cells, second order vascular bundle extensions and acute blade margins in the fourth group.

Discussion

Diagnostic anatomical characters were found for *Paspalum maculosum*, which possesses a mucilage canal in the culm, and *P. urvillei*, whose sheath margins are constituted by sclerenchyma situated just below the epidermis. The *Paspalum* leaves studied exhibit anatomical structures, such as the presence of ribs on the blade surface, the type of bulliform

cells, the presence of macro-hairs and epidermal papillous cells, the size of vascular bundles, the presence of air canals in the sheath and the shape of the margin and midrib, which allow groupings to be made among species. Most of these structures are not subject to some environmental variation and can be applied to the taxonomy of the genus. It is possible to distinguish species that are morphologically similar in their vegetative structures, such as *P. dilatatum* and *P. pauciciliatum*, *P. barretoii* and *P. pumilum*. In other *Paspalum* species, anatomical characters have also been used in taxonomic descriptions (Rua et al., 2008). For the family, anatomical characters were used to delimit species complex (Denham & Aliscioni, 2010) and also to segregate genera (Sede et al., 2009). The anatomical structures surveyed in this work can also be used with molecular and cytogenetic data to aid in the genus circumscription.

The high similarity among the studied species, as verified by UPGMA analyses, can be attributed to the following characters: paracytic stomata located at the same level as the other epidermal cells, the presence of hook-type trichomes, mesophyll constituted by vascular bundles of three orders, first and second order vascular bundle extensions, and the shape of the leaf margin, and leaf sheaths constituted by vascular bundles of three orders. Despite the high similarity among the species could be clustered into three distinct groups. These groupings do not reflect the anatomical patterns that distinguish subgenera or informal groups. For example, *Paspalum barretoii* and *P. notatum* belong to the informal group Notata but are in different groups. Similarly, *P. clavuliferum*, *P. hyalinum* and *P. minarum* form a cluster while belonging to different informal groups (Parviflora, Paniculata) and subgenera (Ceresia).

The clusters of the species correspond to neither the phylogenetic relationships of the genus (Essi & Souza-Chies, 2007; Giussani et al., 2009; Rua et al., 2010) nor the environment which they occupy, as verified for species that occur in the same region, such as *Paspalum*

barretoii and *P. pauciciliatum*, which are in different groups. Similarly, species collected from different habitats, such as *P. minarum*, *P. polyphyllum* and *P. clavuliferum*, can be in the same group. Thus, we can infer that the anatomical characters are genetically preserved and that each one is important for the determination of a specific level.

The presence of ribs on the leaf blade is one of the characters used in this work to group species and was also used as the basis for the group phylogeny (Aliscioni, 2002). According to Metcalfe (1960), the presence of ribs and a furrow in the leaf is a useful character to differentiate species of Poaceae in general. In other representatives of the family, the presence and furrow depth of ribs were used to delineate sections within the *Panicum* subg. *Panicum* (Guglieri et al., 2008) and to compare taxa within the complex *Briza* (Pelegri et al., 2009).

Epidermal silicified short cells were paired or solitary and cross-shaped or dumbbell-shaped and corroborate the descriptions of the genus (Metcalfe, 1960; Türpe, 1966; Aliscioni, 2000). They also occur in other representatives of Panicoideae (Silva & Alquini, 2003; Alvarez et al., 2005). In monocotyledons in general, these cells are diagnostic characteristics (Metcalfe, 1960; Prychid et al., 2004), particularly in Cyperaceae (Honaine et al., 2009).

Hook-type trichomes were found in most of the studied species and were also used in the characterization of the *Paspalum* species that occur in Argentina (Türpe, 1966). This character can be considered important for grouping or separating species within the genus.

The presence of macro-hairs is a character that is considered common in *Paspalum* (Metcalfe, 1960; Aliscioni, 2000, 2002) and, in this work, was used to aggregate species. Phylogenetic studies using this character have demonstrated it to be polymorphic because it varies among individuals (Aliscioni, 2002). This variation was not observed either in the studied species or the Argentinian species of the genus (Türpe, 1966).

Epidermal papillae occurred in most of the studied species and were considered important for differentiating species, as in the case of the *Paspalum* studied by Türpe (1966) and by Aliscioni (2002). In other genera of the family, such as the *Panicum* subg. *Panicum*, the presence of epidermal papillae was important for the inclusion of species within a section of *Dichotomiflora* (Guglieri et al., 2008) and to aid in the taxonomy of *Raddia* (Oliveira et al., 2008). This feature normally occurs in grasses that live in dry environments (Metcalf, 1960) or saline environments (Ellis, 1979) and can aid in the absorption of air humidity (Türpe, 1966). In *Paspalum*, however, it is a common trait and does not necessarily represent an adaptation to dry weather, as it was also found in species that grow in aquatic environments, such as marshes or floodplains (Aliscioni, 2000).

Bulliform cells of different shapes were distributed along the leaf blade or grouped. These characteristics and the colorless cells associated with them were used here in the identification of some species and have also been used in both taxonomic studies (Metcalf, 1960; Türpe, 1966) and a phylogenetic study of *Paspalum* (Aliscioni, 2002). These cells are present in all the studied species, contrary to the Cyperaceae, and were thus useful for differentiating taxa that have similar morphology (Hefler & Longhi-Wagner, 2010).

The mesophyll of the studied species presents a Kranz anatomy common to other *Paspalum* species (Metcalf, 1960; Türpe, 1966; Aliscioni, 2000; Aliscioni & Denham, 2009). The size of the vascular bundles (orders) proved to be an important character for distinguishing species, as shown in other species of Poaceae (Alvarez et al., 2005).

The midrib shape is an important character for distinguishing the studied species as well as for species of *Raddia* (Oliveira et al., 2008). Other features of the leaf, such as shape and the presence or absence of sclerenchyma at the margin, were used for identification of *Raddia* species (Oliveira et al., 2008) and *Briza* (Pelegri et al., 2009) in Poaceae and also in

other representatives of Poales, such as *Cyperus* (Cyperaceae) (Hefler & Longhi-Wagner, 2010).

In general, the presence of air canals is related to high soil water availability. In most studied species, they are present in the leaf sheath and culm, but these species occur in nonflooded grasslands. Thus, we may infer that the presence of air canals is not directly related to soil water conditions and may have value as a taxonomic character, as has been shown for some species of *Paspalum* (Fabbri et al., 2005).

Among the surveyed character, the presence of mucilage canals in the culm stands out as a character first described for *Paspalum*. These structures are not common in culms of Poaceae and in this study served to diagnose *Paspalum maculosum*. The mucilage can perform different functions in plants, such as water retention and assist in the ion exchange (Esau 1977). Other characters were also important in the identification of the species, even in groups in which the morphology and anatomy are similar.

Acknowledgments

The second author thanks the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 301692/2010-6, 471837/2011-3) and the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2011/18275-0). We thank also Msc. Nelson Eduardo Prestes (EPAGRI-Lages/SC) for aid in collecting plant samples and Dr. José Francisco Montenegro Valls for assistance with species identification.

Literature Cited

- Aliscioni, S. S. 2000. Anatomía ecológica de algunas especies del género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). *Darwiniana* 38: 187–207.
- Aliscioni, S. S. 2002. Contribución a la filogenia del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Ann. Mo. Bot. Gard.* 89: 504–523.
- Aliscioni, S. S & S. S. Denham. 2009. Atypical foliar anatomy related to Kranz syndrome in *Paspalum inaequivale* and *Paspalum microstachyum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Flora* 204: 718-729.
- Alvarez, J. M., S. R. Machado & J. F. Rocha. 2005. Estrutura foliar de *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert e *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae). *Rev. Bras. Bot.* 28: 23-37.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* 161: 105-121.
- Brown, W. V. 1977. The Kranz syndrome and its subtypes in grass systematics. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* 23: 1–97.
- Chase, A. 1929. The North American species of *Paspalum*. *Contribution from the United States National Herbarium* 28: 1-310.
- Costa, D. I., S. M. R. Scheffer-Basso. 2003. Caracterização morfofisiológica e agronômica de *Paspalum dilatatum* Poir. biótipo Virasoro e *Festuca arundinacea* Schreb. *Rev. Bras. Zootecn.* 32: 1054-1060.
- Denham, S. S. 2005. Revisión sistemática del subgénero *Harpostachys* de *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Ann. Mo. Bot. Gard.* 92: 463–532.

- Denham, S. S., O. Morrone & F. O. Zuloaga. 2010. Estudios en el género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): *Paspalum denticulatum* y especies afines. Ann. Mo. Bot. Gard. 97: 11–33.
- Denham, S. S. & S. S. Aliscioni. 2010. Species delimitation in the *Sporobolus aeneus* complex (Zoysieae, Chloridoideae, Poaceae) using the phylogenetic species concept. Taxon 59: 1765–1782.
- Duvall, M. R., J. D., J. D. Noll & A. H. Minn. 2001. Phylogenetics of Paniceae (Poaceae). Am. J. Bot. 88: 1988–1992.
- Ellis, R. P. 1979. A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae. II. The epidermis as seen in surface view. Bothalia 12: 65–109.
- Esau, K. 1977. Anatomy of seed plants. 2 ed. John Wiley & Sons, New York.
- Essi, L. & T. T. Souza-Chies. 2007. Phylogeny of Linearia and Notata groups of *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) and related species. Genet Resour Crop Ev 54: 779–791.
- Fabbri, L., G. Rua & N. Bartoloni. 2005. Different patterns of aerenchyma formation in two hygrophytic species of *Paspalum* (Poaceae) as response to flooding. Flora 200: 354–360.
- Feder, N. & T.P. O'Brien. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. Am. J. Bot. 55: 123–142.
- Giussani, L. M., F. O. Zuloaga, C. L. Quarín, J. H. Cota-Sánchez, K. Ubayasena & O. Morrone. 2009. Phylogenetic relationships in the genus *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): an assessment of the Quadrifaria and Virgata Informal Groups. Syst Bot 34: 32–43.
- Guglieri, A., H. M. Longhi-Wagner & F. O. Zuloaga. 2008. Anatomia foliar das espécies de *Panicum* L. subg. *Panicum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) ocorrentes no Brasil. Iheringia 63: 279–293.

- Hefler, S. M. & H. M. Longhi-Wagner. 2010. A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia das espécies de *Cyperus* L. subg. *Cyperus* (Cyperaceae) ocorrentes no sul do Brasil. *Acta Bot. Bras.* 24: 708–717.
- Honaine, M. F., A. F. Zucol & M. L. Osterrieth. 2009. Phytolith analysis of Cyperaceae from the Pampean region, Argentina. *Aust. J. Bot.* 57: 512–523.
- Johansen, D. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Co. Inc, New York.
- Metcalf, C. R. 1960. Anatomy of the monocotyledons I. Gramineae. Clarendon Press, Oxford.
- Oliveira, R. C. & J. F. M. Valls. 2008. Novos sinônimos e ocorrências em *Paspalum* L. (Poaceae). *Hoehnea* 35: 289-295.
- Oliveira, R. P., H. M. Longhi-Wagner & K. R. B. Leite. 2008. A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia de *Raddia* Bertol. (Poaceae: Bambusoideae). *Acta Bot. Bras.* 22: 1–19.
- Paciullo, D. S. C., J. A. Gomide, E. A. M. Silva, D. S. Queiroz & C. A. M. Gomide. 2002. Características anatômicas da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento. *Rev. Bras. Zootecn.* 31: 890-899.
- Pelegrin, C. M. G., H. M. Longhi-Wagner & P. L. Oliveira. 2009. Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de espécies do complexo *Briza* L. (Poaceae: Pooideae: Poaeae). *Acta Bot. Bras.* 23: 666–680.
- Prychid, C. J., P. J. Rudall & M. Gregory. 2004. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. *Bot. Rev.* 69: 377-440.
- Queiroz, D. S., J. A. Gomide & J. Maria. 2000. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. *Rev. Bras. Zootecn.* 29: 61-68.

- Roeser, K. R. 1972. Die nadel der schwarzkiefer massen produkt und keinstwerk der natur. *Mikrokosmos* 61: 33-36.
- Rua, G. H., J. F. M. Valls, D. Graciano-Ribeiro & R. C. Oliveira. 2008. Four new species of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae) from Central Brazil, and resurrection of an old one. *Syst. Bot.* 33: 267–276.
- Rua G. H, P. R. Speranza, M. Vaio & M. Arakaki. 2010. A phylogenetic analysis of the genus *Paspalum* (Poaceae) based on cpDNA and morphology. *Plant Syst Evol* 288:227-243.
- Sede, S. M., O. Morrone, S. S. Aliscioni, L. M. Giussani & F. O. Zuloaga. 2009. *Oncorachis* and *Sclerochlamys*, two new segregated genera from *Streptostachys* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): a revision based on molecular, morphological and anatomical characters. *Taxon* 58: 365–374.
- Silva, L. M. & Y. Alquini. 2003. Anatomia comparativa de folhas e caules de *Axonopus scoparius* (Flügge) Kuhlmeier e *Axonopus fissifolius* (Raddi) Kuhlmeier (Poaceae). *Rev. Bras. Bot.* 26: 185-192.
- Türpe, A. M. 1966. Histotaxonomía de las especies Argentinas del género *Paspalum*. *Lilloa* 32: 1-272.
- Vaio, M., P. Speranza, J. F. M. Valls & M. Guerra. 2005. Localization of the 5S and 45S rDNA sites and cpDNA sequence analysis in species of the Quadrifaria group of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae). *Ann. Bot-London* 96: 191-200.
- Valls, J. F. M. 1994. O potencial de plantas forrageiras tropicais americanas. *Anais do Simpósio Brasileiro de Forrageiras e Pastagens*. CBNA, Campinas, Brasil.
- Valls, J. F. M. & R. C. Oliveira. 2010. *Paspalum*. In *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB109304>).
- Watson, L. & J. M. Dallwitz. 1992. The grass genera of the world. CAB International.

Table 1. Species studied and voucher used in the anatomy of leaves and culms of *Paspalum*

Species (subgenus and informal group)	Locality and Collection
<i>Paspalum barretoii</i> Canto-Dorow, Valls & Longhi-Wagner (subg. <i>Paspalum</i> - Notata)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 758 & Prestes</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim: <i>Eichemberg 736</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim, <i>Valls et al. 15527</i> (CEN).
<i>P. carinatum</i> Hum. & Bonpl. ex Flüge (subg. <i>Ceresia</i>)	BRASIL. Minas Gerais: Diamantina, <i>Eichemberg et al. 779</i> (HRCB); BRASIL. Goiás, <i>Arbo et al. 3476</i> (HRCB).
<i>P. clavuliferum</i> C.Wright (subg. <i>Paspalum</i> - Parviflora)	BRASIL. Goiás: Flores de Goiás, <i>Valls et al. 15380</i> (CEN)
<i>P. compressifolium</i> Swallen (subg. <i>Paspalum</i> - Plicatula)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 715</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim, <i>Eichemberg 736</i> (HRCB).
<i>P. denticulatum</i> Trin. (subg. <i>Paspalum</i> - Linearia)	BRASIL. Rio Grande do Sul: Uruguaiana, <i>Valls et al. 9781</i> (HRCB).
<i>P. dilatatum</i> Poir (subg. <i>Paspalum</i> - Dilatata)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 701 & Prestes</i> (HRCB).
<i>P. distichum</i> L. (subg. <i>Paspalum</i> - Disticha)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 772</i> (HRCB)
<i>P. erianthum</i> Nees ex Trin. (subg. <i>Paspalum</i> - Eriantha)	BRASIL. Mato Grosso do Sul: Sidrolândia, <i>Valls et al. 15482</i> (CEN).
<i>P. foliiforme</i> S.Denham (subg. <i>Harpostachys</i>)	BRASIL. Goiás: Pirenópolis, <i>Valls 15369</i> (CEN).
<i>P. gardnerianum</i> Nees (subg. <i>Paspalum</i> - Gardneriana)	BRASIL. Goiás: Vila Boa, <i>Valls et al. 15392</i> (HRCB).
<i>P. glaucescens</i> Hack. (subg. <i>Paspalum</i> - Plicatula)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 699 & Prestes</i> (HRCB).
<i>P. guttatum</i> Trin. (subg. <i>Paspalum</i> - Eriantha)	BRASIL. Minas Gerais: Diamantina, <i>Eichemberg et al. 778</i> (HRCB).
<i>P. hyalinum</i> Nees ex Trin. (subg. <i>Paspalum</i> - Paniculata)	BRASIL. Minas Gerais: Diamantina, <i>Eichemberg et al. 776</i> (HRCB); BRASIL. Minas Gerais: Serra do Cipó, <i>Coan 25</i> (HRCB).
<i>P. jesuiticum</i> Parodi. (subg. <i>Paspalum</i> - Livida)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 696 & Prestes</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: Correia Pinto, <i>Eichemberg 759</i> (HRCB).
<i>P. juergensii</i> Hack (subg. <i>Paspalum</i> - Paniculata)	BRASIL. Santa Catarina: Bom Jardim da Serra, <i>Eichemberg 729</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim, <i>Eichemberg 766</i> (HRCB).
<i>P. lepton</i> Schult (subg. <i>Paspalum</i> - Plicatula)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 707</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: Bom Jardim da Serra, <i>Eichemberg 726</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim, <i>Eichemberg 765</i> (HRCB).
<i>P. maculosum</i> Trin. (subg. <i>Paspalum</i> - Maculosa)	BRASIL. Santa Catarina: Bom Jardim da Serra, <i>Eichemberg 725</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: Correia Pinto, <i>Eichemberg 752</i> (HRCB).
<i>P. mandiocanum</i> Trin. var. <i>subaequiglume</i> Barreto (subg. <i>Paspalum</i> - Corcovadensia)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 695 & Prestes</i> (HRCB).
<i>P. minarum</i> Hack. (subg. <i>Paspalum</i> - Parviflora)	BRASIL. Minas Gerais: Diamantina, <i>Eichemberg et al. 780</i> (HRCB).
<i>P. multicaule</i> Poir. (subg. <i>Paspalum</i> - Parviflora)	BRASIL. Minas Gerais: Diamantina, <i>Eichemberg et al. 781</i> (HRCB).
<i>P. notatum</i> Flüge (subg. <i>Paspalum</i> - Notata)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 737</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim, <i>Eichemberg 768</i> (HRCB).
<i>P. pauciciliatum</i> (Parodi) Herter (subg. <i>Paspalum</i> - Dilatata)	BRASIL. Santa Catarina: Alfredo-Wagner, <i>Valls et al. 12006</i> (CEN).
<i>P. plicatulum</i> Michx. (subg. <i>Paspalum</i> - Plicatula)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 694 & Prestes</i> (HRCB).
<i>P. polyphyllum</i> Nees ex Trin. (subg. <i>Ceresia</i>)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg 698 & Prestes</i> (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim,

<i>P. pumilum</i> Nees. (subg. <i>Paspalum</i> - Notata)	<i>Eichemberg</i> 764 (HRCB). BRASIL. Santa Catarina: Bom Jardim da Serra, <i>Eichemberg</i> 722 (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim, <i>Eichemberg</i> 763 (HRCB).
<i>P. rhodopedum</i> L. B. Sm & Wassh. (subg. <i>Paspalum</i> - Plicatula)	BRASIL. Santa Catarina: São Joaquim, <i>Eichemberg</i> 770 (HRCB).
<i>P. scalare</i> Trin. (subg. <i>Paspalum</i> - Parviflora)	BRASIL. Minas Gerais: Diamantina, <i>Eichemberg</i> et al. 782 (HRCB).
<i>P. umbrosum</i> Trin. (subg. <i>Paspalum</i> - Paniculata)	BRASIL. Santa Catarina: Correia Pinto, <i>Eichemberg</i> 747 (HRCB).
<i>P. urvillei</i> Steud. (subg. <i>Paspalum</i> - Dilatata)	BRASIL. Santa Catarina: Lages, <i>Eichemberg</i> 700 & Prestes (HRCB); BRASIL. Santa Catarina: Correia Pinto, <i>Eichemberg</i> 748 (HRCB).
<i>Paspalum</i> sp.	BRASIL. Rio Grande do Sul: São Luiz Gonzaga, Valls et al. 15546 (CEN).

Table 2. Anatomical characteristics of leaves and culms of *Paspalum* species: a. *Paspalum barrettoi*; b. *P. carinatum*; c. *P. clavuliferum*; d. *P. compressifolium*; e. *P. denticulatum*; f. *P. dilatatum*; g. *P. distichum*; h. *P. erianthum*; i. *P. foliiforme*; j. *P. gardnerianum*; k. *P. glaucescens*; l. *P. guttatum*; m. *P. hyalinum*; n. *P. jesuiticum*; o. *P. juergensii*; p. *P. leptum*; q. *P. maculosum*; r. *P. mandiocanum*; s. *P. minarum*; t. *P. multicaule*; u. *P. notatum*; v. *P. pauciciliatum*; w. *P. plicatulum*; x. *P. polyphyllum*; y. *P. pumilum*; z. *P. rhodopedum*; A. *P. scalare*; B. *P. umbrosum*; C. *P. urvillei*; D. *Paspalum* sp.(1 = presence; 0 = absence)

Anatomical characteristics	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u	v	w	x	y	z	A	B	C	D	
Epidermical papillous cells on both surfaces of the leaf	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Epidermical papillous cells on the adaxial surface	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Epidermical papillous cells on the abaxial surface	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	
Stomata situated just above of the level of other epidermal cells	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Phenolic compounds in the leaf	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	
Macro-hairs on the blade	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	
Trichome-type hooks on the blade	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
Ribs on the adaxial surface of the leaf	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	
Ribs on the abaxial surface of the leaf	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
Bulliform cells of the “Zea” type	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Bulliform cells of the irregular type	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	
Bulliform cells of the teardrop-shaped type	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
Colorless cells associated with the bulliform cells	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	
Bundle sheath extensions in the vascular bundles of second orders	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Midrib keel-shaped	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
Midrib extended	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Midrib curved	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
Midrib circular	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Midrib rounded	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	
Midrib semicircular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Acute margin of the blade	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	
Obtuse margin of the blade	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
Leaf sheath with air canals	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	
Leaf sheath with vascular bundles of two orders	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	
Leaf sheath with vascular bundles of three orders	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	
Culm with air canals in the cortex	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0

ILUSTRAÇÕES

Figure 1. Anatomical aspects of *Paspalum* leaves: leaf epidermis in surface view: A - B. Adaxial surface of *P. dilatatum* (arrow = short cell, cross-shaped). C. Abaxial surface of *P. dilatatum* (arrow = short cell, dumbbell-shaped; arrowhead = short cell, crenate). D. Adaxial surface of *mandiocanum* var. *subaequiglume* (arrow = short cell with suberin incrustation, arrowhead = short cell with silica encrustation). E. Adaxial surface of *P. glaucescens* (arrow = macro-hair). F. Adaxial surface of *P. carinatum* (arrow = macro-hair; arrowhead = papillae). G. Abaxial surface of *P. carinatum* (arrow = hook-type trichome). H. Abaxial surface of *P. pumilum* (papillae). I. *P. maculosum* with hook-type trichome. Mesophyll in cross-sections: J. *P. mandiocanum* var. *subaequiglume* (arrow = stomata). K. *P. urvillei*. L. *P. jesuiticum*. M. *P. maculosum*. (Bc = bulliform cells; Sf = bundle of subepidermical fibers; Cc = colorless cells).

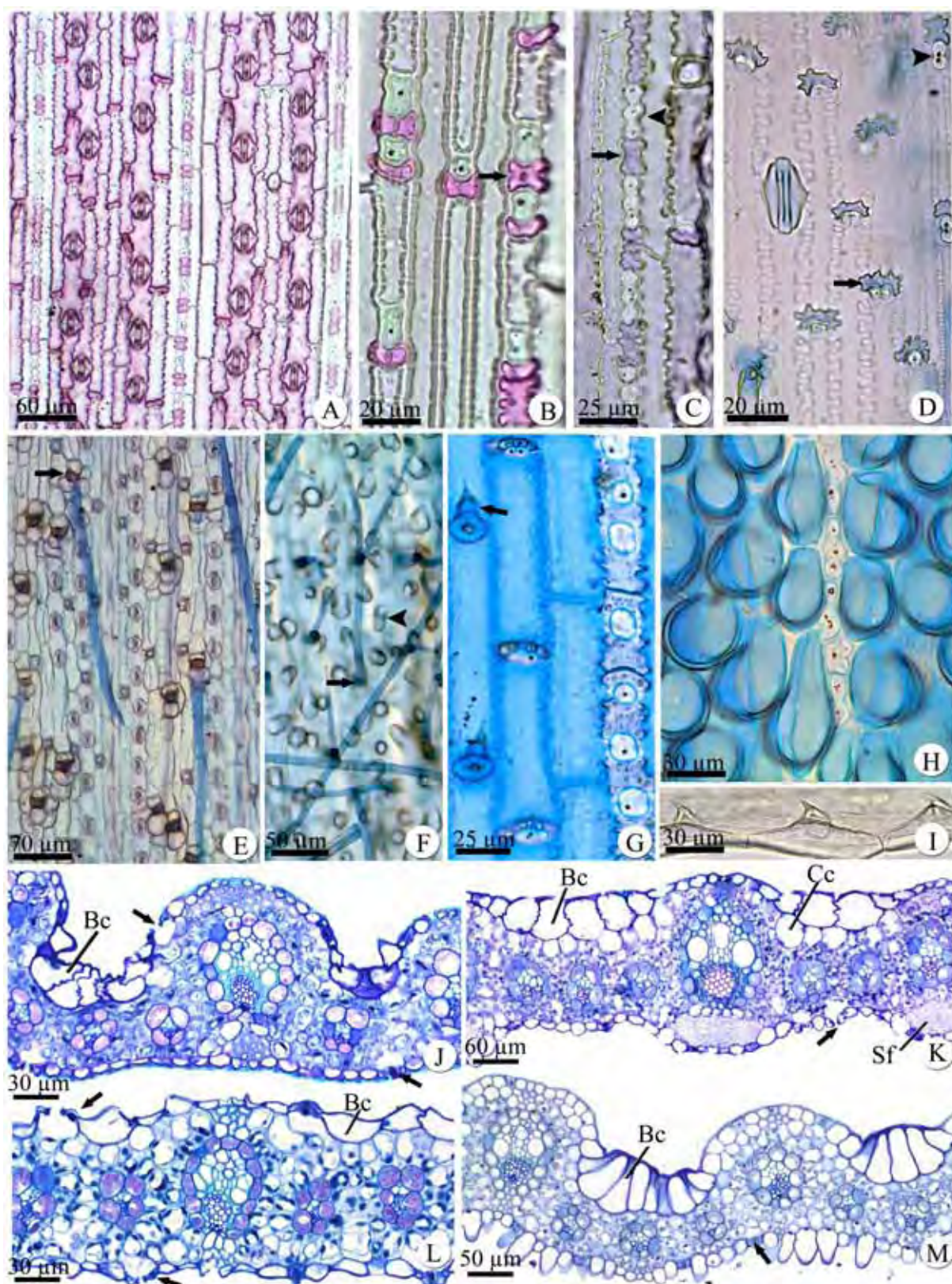


Figure 2. Anatomical aspects of *Paspalum* leaves in cross-sections: Mesophyll: A. *P. glaucescens*. Midrib: B. *P. jesuiticum*. C. *P. gardnerianum*. D. *P. pumilum*. E. *P. umbrosum*. F. *P. carinatum*. G. *P. maculosum*. Blade margin: H. *P. notatum*. I. *P. carinatum*. Leaf sheath: J. *P. notatum* with air canals and stomata (arrows). K. *P. juergensii*. Margin of the leaf sheath: L. *P. pumilum*. M. *P. urvillei*. (Bc = bulliform cells; Sf = bundle of subepidermical fibers; Ac = air canal).

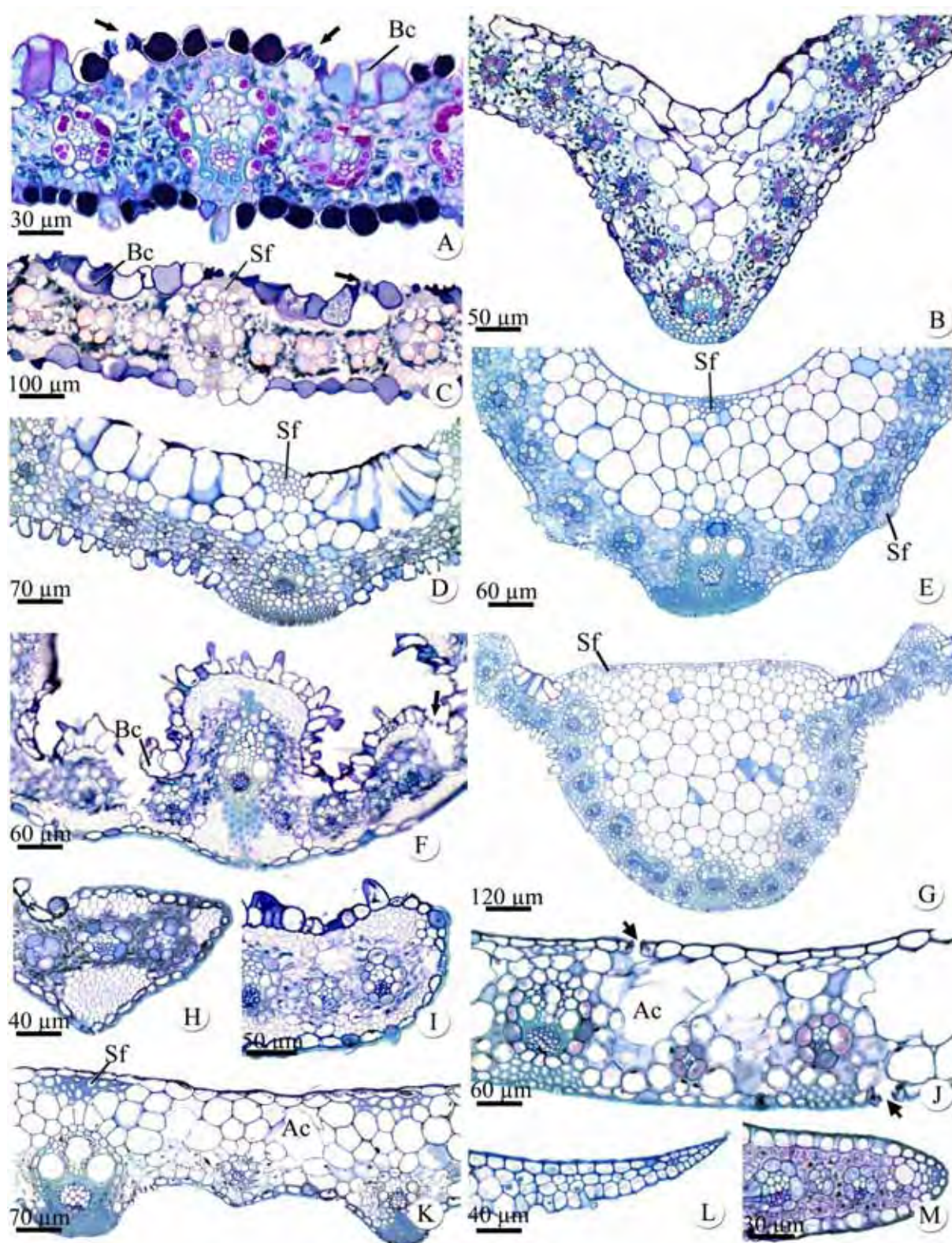


Figure 3. Anatomical aspects of *Paspalum* culms in cross-sections. General aspect: A. *P. plicatulum*. B. *P. glaucescens*. Detail of the epidermis and cortex: C. Stomata (arrow) detail of *P. jesuiticum*. D. *P. barretoii*. E. *P. pumilum*. F. *P. polyphyllum*. G. *P. jesuiticum*. H. *P. leptum*. (Ac = air canal). I. *P. maculosum* (arrow indicates mucilage canal). (C = cortex; En = endodermis; P = pericycle).

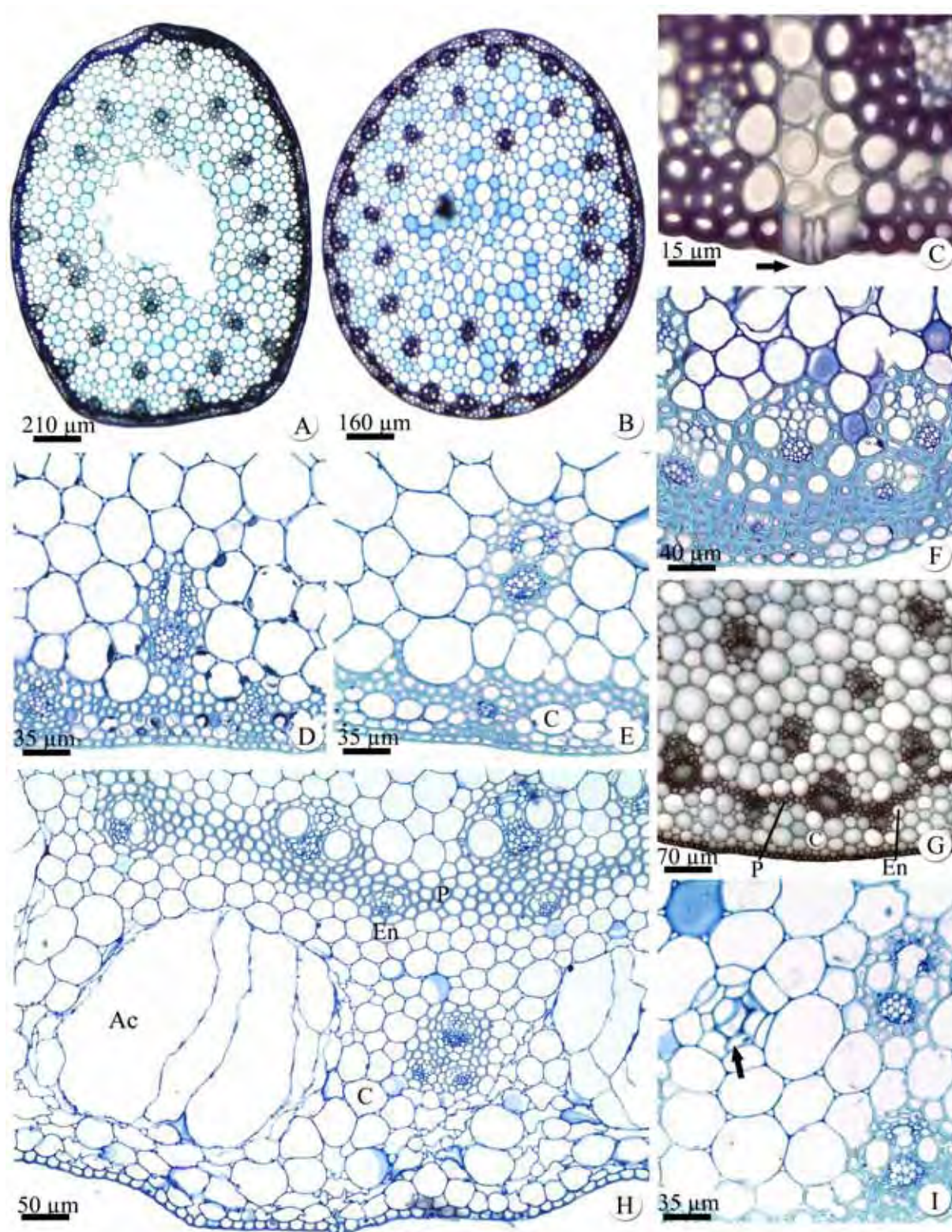
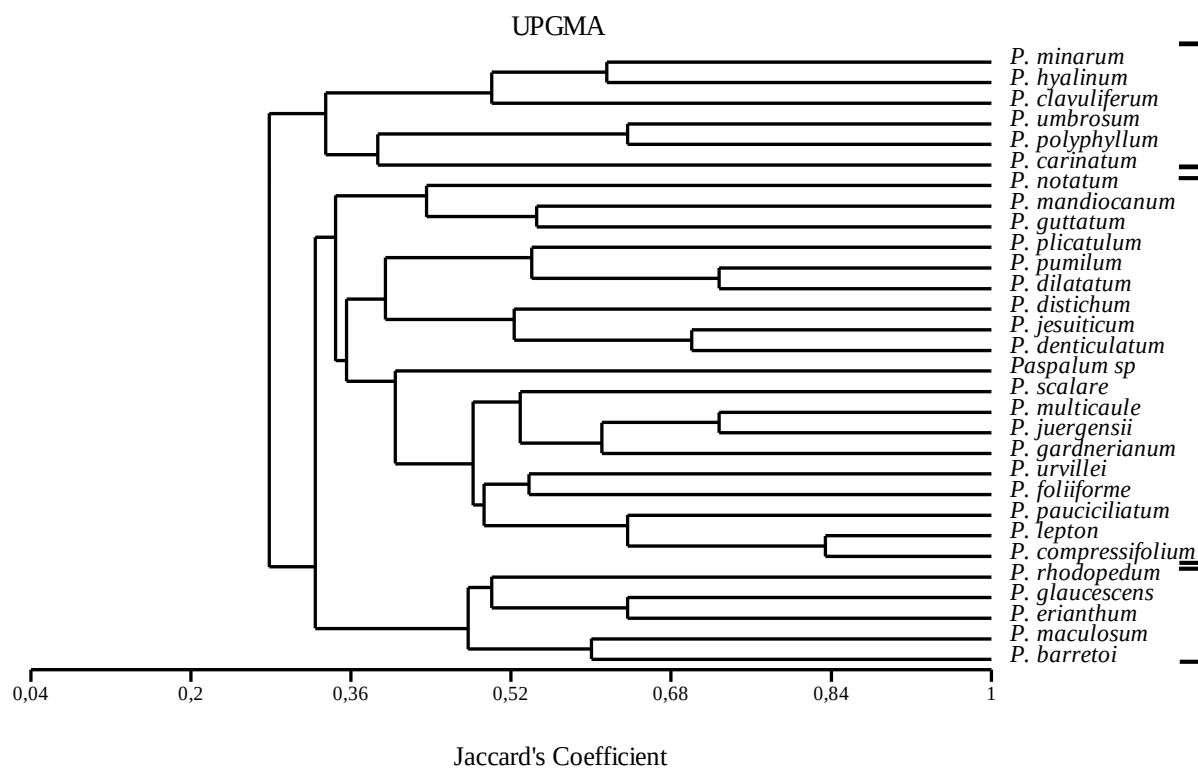


Figure 4. Cluster analysis (UPGMA) of *Paspalum* species by Jaccard's coefficient.



CAPÍTULO 3

***Paspalum barretoii* Canto-Dorow, Valls & Longhi-Wagner e *P. minus* E. Fourn.**

(Poaceae): caracteres anatômicos na delimitação das espécies

(Segundo normas do periódico *Flora*)

***Paspalum barretoii* Canto-Dorow, Valls & Longhi-Wagner e *P. minus* E. Fourn.**

(Poaceae): caracteres anatômicos na delimitação das espécies

Mayra Teruya Eichemberg – José Francisco Montenegro Valls - Vera Lucia Scatena

Resumo: *Paspalum* L. é um dos gêneros de Poaceae Barnhart de maior representatividade nas formações campestres brasileiras, e inclui diversas espécies com potencial forrageiro, de grande valor na conservação da biodiversidade. O gênero apresenta problemas de circunscrição e delimitação de táxons, onde *Paspalum barretoii* Canto-Dorow, Valls & Longhi-Wagner e *P. minus* E. Fourn. já foram descritas como espécies distintas e também já foram sinonimizadas. Com o objetivo de verificar se são espécies distintas foi estudada anatomia dos órgãos vegetativos das duas espécies. Foram feitas secções à mão livre e com micrótomo da região mediana de raiz, rizoma, colmo, lâmina e bainha foliar, coradas e montadas em lâminas semipermanentes e permanentes. *Paspalum barretoii* e *P. minus* apresentam raízes e rizomas com epiderme, córtex e cilindro vascular, de estrutura semelhante nas duas espécies. Caracteres como: presença de macropelos nas duas faces da epiderme foliar, lâmina de maior tamanho, presença de maior número de feixes vasculares, sem padrão de distribuição definido na lâmina e de três tamanhos distintos na bainha, com nervura central quilhada e colmo não fistuloso são exclusivos de *P. barretoii*. Por outro lado, lâmina foliar de menor tamanho, presença de feixes vasculares com padrão de distribuição na lâmina e de dois tamanhos distintos na bainha, presença de canais de ar, com nervura central curvada e colmo fistuloso são diagnósticos de *P. minus*. Esses resultados corroboram a distinção das espécies que pertencem ao grupo informal Notata.

Palavras-chave: Gramíneas, Órgãos Vegetativos, Taxonomia

Introdução

Paspalum L. é um dos gêneros de Poaceae Barnhart de grande importância econômica que domina campos abertos, ocorrendo também em bordas de florestas, ambientes salinos e campos de altitudes (Zuloaga et al. 2004). Seus representantes são nativos de regiões tropicais e subtropicais das Américas, contribuindo em grande parte com a biodiversidade dos campos, principalmente na América do Sul (Peñaloza et al. 2008).

Inicialmente o gênero foi classificado com base nas características morfológicas e foi subdividido em dois subgêneros, com mais de vinte grupos informais (Chase 1929; Barreto 1974). Atualmente *Paspalum* apresenta os subgêneros: *Ceresia* (Pers.) Rchb, *Harpostachys* (Trin.) S. Denham, *Anachyris* (Nees) Chase e *Paspalum* (Denham 2005; Denham et al. 2010). Este último, com 265 espécies distribuídas em 25 grupos informais (Denham 2005).

O grupo informal Notata apresenta 21 espécies com alguns táxons mal delimitados e relações pouco definidas. Neste, *Paspalum barretoii* Canto-Dorow, Valls & Longhi-Wagner e *P. minus* E. Fourn. apresentam similaridade morfológica e colocam em dúvida suas delimitações (Zuloaga et al. 2004). Segundo os autores, na sistemática do grupo Notata foi analisado o material tipo das duas espécies, juntamente com materiais de coleções do Brasil e de outros países, e observado que os caracteres representam um continuum. Dessa forma, *P. barretoii* foi considerada sinonímia de *P. minus* (Zuloaga et al. 2003, 2004).

Paspalum barretoii foi reconhecida como espécie baseada nas características das inflorescências, geralmente com ramificações invertidas, e das espiguetas elipsóides (Canto Dorow et al. 1995, 1996). É uma espécie nativa e endêmica do Brasil, com distribuição restrita à região Sul (Valls & Oliveira 2010). *Paspalum minus* apresenta inflorescências ascendentes e espiguetas de elipsóides a obovóides. É uma espécie nativa, mas não endêmica do Brasil e ocorre na América do Norte, Antilhas, Paraguai e Bolívia. No Brasil ocorre em alguns estados do Norte e Centro-Oeste (Valls & Oliveira 2010).

Estudos citogenéticos mostram que *Paspalum barretoii* apresenta número diplóide $2n=20$ (Pozzobon et al. 2008) e *P. minus* $2n=50$ (Davidse & Pohl 1978; Normann et al 1994; Bonilla & Quarín 1997; Pozzobon et al. 2008). Também dados moleculares obtidos de fragmentos do DNAr e do genoma do cloroplasto corroboram a distinção de *Paspalum barretoii* e *P. minus* (Ferreira & Souza-Chies 2005).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho é levantar caracteres anatômicos de raiz, rizoma, folha e colmo de *Paspalum barretoii* e *P. minus* que possam contribuir para a delimitação das espécies.

Material e Método

As espécies coletadas no campo foram fixadas em FAA 50 e conservadas em álcool 70% para o estudo anatômico (Johansen 1940). Peças de materiais herborizados foram fervidos em água destilada com glicerina para expansão dos tecidos e, em seguida, conservados em álcool 70%. O material testemunho encontra-se depositado no Herbário Rioclarense (HRCB), do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro (SP): *Paspalum barretoii* Canto-Dorow, Valls & Longhi-Wagner (M.T. Eichemberg 758 & N. Prestes; M.T. Eichemberg 771; V 15527); *Paspalum minus* E. Fourn. (V. 15229; V. 15484).

Amostras da região mediana de raiz, rizoma, lâmina, bainha foliar e colmo foram seccionadas à mão livre, com auxílio de lâmina de barbear, coradas com fucsina básica e azul de astra (Roeser 1972) e montadas em lâminas semipermanentes com gelatina glicerinada. Outras amostras foram desidratadas em série n-butílica (álcool normal butílico – NBA) e infiltradas com historresina (Leica Historesin Embedding Kit), seguida pela inclusão (Feder & O'Brien 1968). Foram realizadas secções transversais com micrótomo rotativo, submetidas à coloração com ácido periódico, reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina (Feder & O'Brien

1968) e montadas em Entellan. A epiderme foliar foi dissociada pelo método de Jeffrey (Johansen 1940), corada com azul de astra e fucsina básica (Roeser 1972) e montada em lâminas semipermanentes com gelatina glicerizada. As pranchas fotográficas foram montadas a partir do sistema de digitalização Leica DFC 290 acoplado ao microscópio Leica DMLB.

Resultados

As raízes de *Paspalum barretoii* e *P. minus* são semelhantes e apresentam córtex diferenciado (Figs. 1-3). A epiderme é unisseriada (Figs. 1-2). A exoderme, que constitui o córtex externo, apresenta de três a seis camadas de células de paredes espessadas (Figs. 1-2). O córtex mediano apresenta aerênquima e o córtex interno apresenta três a quatro camadas de células menores e endoderme com células de paredes espessadas em “U”. O cilindro vascular é formado por vários elementos de metaxilema e a medula apresenta células de paredes espessadas (Fig. 3). O rizoma, nas duas espécies, é semelhante e apresenta epiderme unisseriada, córtex com feixes vasculares corticais, e endoderme com células de paredes finas (Fig. 4). O cilindro vascular apresenta periciclo cilíndrico, com cinco a sete camadas de células de paredes espessadas e com feixes vasculares colaterais (Fig. 4).

Paspalum barretoii e *P. minus* apresentam epiderme foliar, em vista frontal, com células longas de paredes sinuosas intermediadas por células curtas em ambas as faces (Figs. 5-10). As células curtas possuem incrustações de sílica (Fig. 10 - seta) ou suberina (Fig. 10 - cabeça de seta) em forma de halter (Figs. 6, 10), crenada (Figs. 6-7, 10), retangular (Fig. 7) e estreita com parede sinuosa (Figs. 7, 10). Apenas *Paspalum barretoii* apresenta macropelos unicelulares (Fig. 5 - seta), com maior frequência na superfície adaxial.

As folhas de *Paspalum barretoii* e *P. minus*, em secção transversal, apresentam epiderme constituída por células arredondadas e/ou achatadas (Figs. 11-17), com estômatos

nas duas faces (Figs. 13-14 - setas) e papilas na face abaxial (Figs. 11, 13-14). A face adaxial da epiderme das duas espécies apresenta células buliformes (Bc) (Figs. 13-14).

O mesofilo de *Paspalum barretoii* e *P. minus* apresenta parênquima clorofiliano distribuído radialmente ao redor da bainha parenquimática dos feixes vasculares, que constitui a anatomia Kranz (Figs. 13-14). Os feixes vasculares são colaterais, de quatro tamanhos diferentes (1ª, 2ª, 3ª e 4ª ordens) (Figs. 11-14). Em *P. barretoii* o número de feixes vasculares é quase o dobro de *P. minus*. Todos os feixes vasculares de primeira ordem em ambas as espécies apresentam extensões de bainha (Figs. 13-14).

A nervura central é quilhada em *Paspalum barretoii* (Fig. 11) e curvada em *P. minus* (Fig. 12), com hipoderme e feixes de fibras subepidérmicos (Figs. 11-12). A margem das folhas é aguda com esclerênquima situado logo abaixo da epiderme (Fig. 15).

A bainha foliar de *Paspalum barretoii* apresenta feixes vasculares de 1ª, 2ª e 3ª ordens (Fig. 18). Em *P. minus* ocorrem canais de ar (Ac) alternados com feixes vasculares de 1ª e 2ª ordens (Fig. 17). Ambas as espécies possuem margem constituída apenas por prolongamento da epiderme (Fig. 16).

Os colmos, em secções transversais, são ovais e/ou arredondados (Figs. 19-20), e apresentam epiderme unisseriada, com células arredondadas e/ou tabulares (Figs. 21-22). O córtex é parenquimático e é estreito com células de paredes levemente espessadas em *P. barretoii* (Fig. 21) e estreito com células de paredes espessadas em *P. minus* (Fig. 22). Os feixes vasculares são colaterais e os menores estão distribuídos na periferia do cilindro (Figs. 19-20). A medula do colmo de *P. barretoii* não apresenta fístula (Fig. 19) e a de *P. minus* apresenta (Fig. 20).

Discussão

Paspalum barretoii e *P. minus* apresentam anatomia de raízes e rizomas semelhantes. Por outro lado, apresentam caracteres anatômicos de folhas e colmos que distinguem as espécies, corroborando os resultados de estudo citogenético (Pozzobon et al. 2008) e moleculares (Ferreira & Souza-Chies 2005; Essi & Souza-Chies 2007).

Caracteres anatômicos da folha como presença de macropelos na epiderme, padrão de distribuição dos feixes vasculares no mesofilo, tamanho dos feixes vasculares e presença de canais de ar são utilizados na taxonomia de *Paspalum* como diagnósticos (Türpe 1966; Rua et al. 2008) e também são utilizados na filogenia do grupo (Aliscioni 2002). A anatomia foliar de Poaceae tem sido utilizada para delimitar espécies que formam complexos (Denham & Aliscioni 2010) que são grupos de táxons morfológicamente distintos, porém com afinidades genéticas, além de segregar gêneros (Sede et al. 2009), dada sua importância na taxonomia.

A presença de macropelos na epiderme de *Paspalum barretoii* chama a atenção como caráter importante para identificar a espécie. Variações desse caráter como forma, tamanho e frequência, geralmente apresenta valor diagnóstico para Poaceae em geral (Metcalf 1960), embora ocorra em vários representantes do gênero (Aliscioni 2000, 2002).

O tamanho dos feixes vasculares e sua distribuição no mesofilo diferem nas duas espécies. Como essas características são pouco sujeitas às variações ambientais, demonstram utilidade na taxonomia. Em *Paspalum*, essa característica foi utilizada em trabalhos taxonômicos (Türpe 1960; Aliscioni 2000; Rua et al. 2008) e filogenético (Aliscioni 2002).

A forma da nervura central é um caráter que diferencia *Paspalum barretoii* de *P. minus*. A nervura quilhada ou triangular de *P. barretoii* pode estar associada à sustentação da lâmina que é mais larga do que em *P. minus*. Esse caráter também foi utilizado na taxonomia de *Paspalum* para separar outras espécies (Türpe 1960) e também outros gêneros de Poaceae (Oliveira et al. 2008).

A presença de canais de ar na bainha foliar de *Paspalum minus* é um caráter que a separa de *P. barretoii*, mas não revela necessariamente a condição hídrica do ambiente, conforme discutido para outras espécies de *Paspalum* por Aliscioni (2000). Acredita-se que sua presença pode ser conservada geneticamente e estar presente em espécies sob condições hídricas diversas. Como exemplo, podemos citar *Paspalum modestum* e *P. wrightii*, espécies submetidas à ambientes alagados e não alagados, e que respondem igualmente desenvolvendo canais de ar na raiz e na bainha foliar (Fabbri et al. 2005).

A fístula do colmo e o espessamento das células do córtex são características exclusivas de *Paspalum minus*. A presença de fístula em ráquis de representantes de *Paspalum* foi utilizada para agrupar espécies (Aliscioni & Denham 2008). A presença de córtex constituído por células de paredes espessadas geralmente está associada à espécie de maior tamanho, que produz mais tecido de sustentação (Queiroz et al. 2000).

Agradecimentos

A última autora agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 301692/2010-6, 471837/2011-3) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2011/18275-0). Nós também agradecemos ao Msc. Nelson Eduardo Prestes (EPAGRI-Lages/SC) pela ajuda na coleta das plantas.

Referências Bibliográficas

- Aliscioni, S.S. 2000. Anatomía ecológica de algunas especies del género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). Darwiniana 38: 187--207.
- Aliscioni, S.S. 2002. Contribución a la filogenia del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). Annals of the Missouri Botanical Garden 89: 504--523.

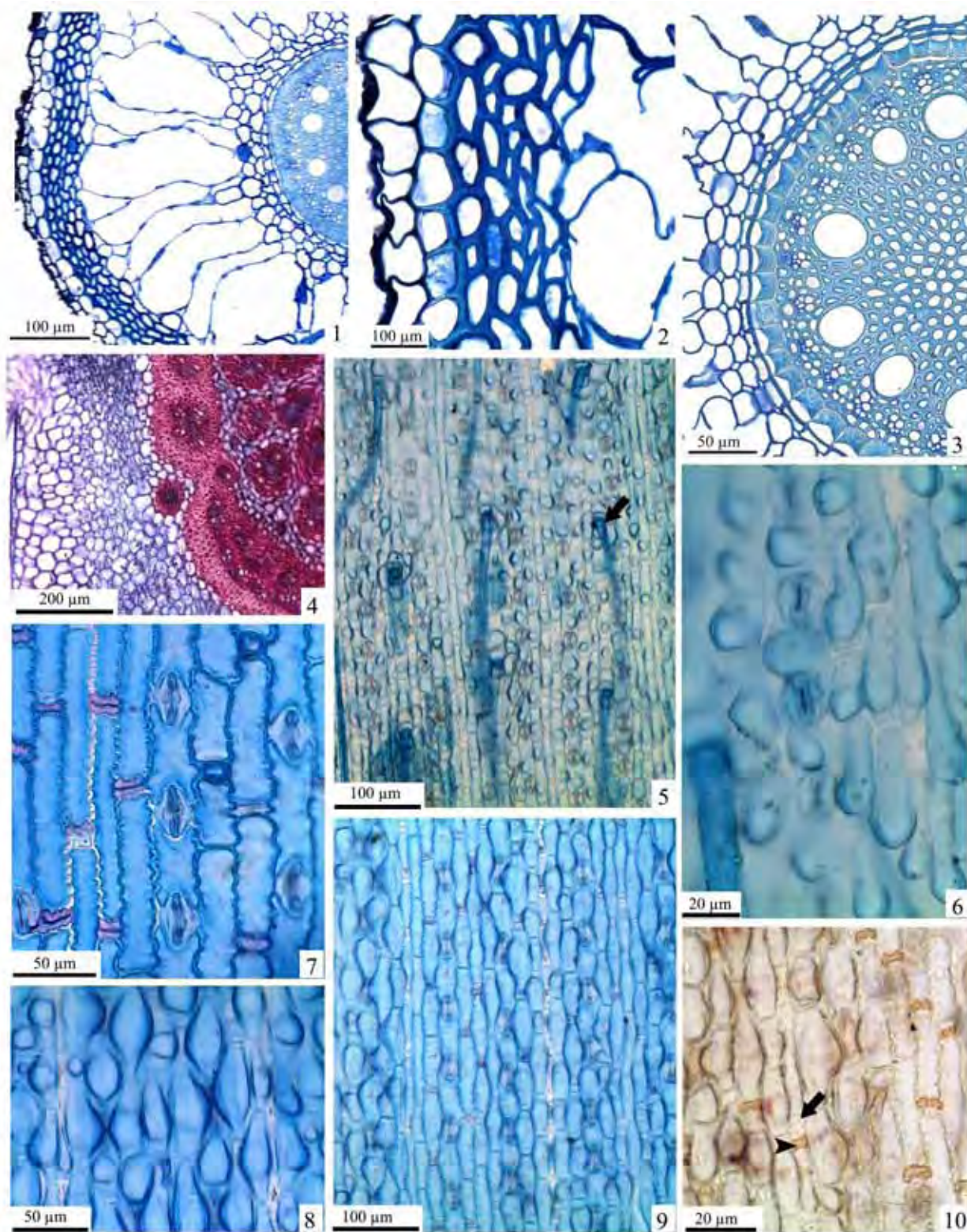
- Aliscioni, S.S. & Denham, S.S. 2008. Rachis of the genus *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): anatomy and taxonomic significance of the primary branches of the inflorescences. *Flora* 203: 60--76.
- Barreto, I.L. 1974. O gênero *Paspalum* (Gramineae) no Rio Grande do Sul. Tese (Livro Docência) -Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Bonilla, J.R. & Quarin, C.L. 1997. Diplosporous and aposporous apomixis in a pentaploid race of *Paspalum minus*. *Plant Science* 127: 97--104.
- Canto-Dorow, T.S.; Valls, J.F.M.; Longhi-Wagner, H.M. 1995. Espécies novas de *Paspalum* L. (Poaceae) do Sul do Brasil. *Bradea* 6: 331--337.
- Canto-Dorow, T.S.; Longhi-Wagner, H.M. & Valls, J.F.M. 1996. Revisão Taxonômica das espécies de *Paspalum* L. grupo Notata (Poaceae – Paniceae). *Iheringia* 47: 3--44.
- Chase, A. 1929. The North American species of *Paspalum*. Contribution from the United States National Herbarium 28: 1--310.
- Davidse, G. & Pohl, R.W. 1978. Numbers of Tropical American Grasses (Gramineae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 65(2): 637--649.
- Denham, S.S. 2005. Revisión sistemática del subgénero *Harpostachys* de *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 92: 463--532.
- Denham, S.S. & Aliscioni, S.S. 2010. Species delimitation in the *Sporobolus aeneus* complex (Zoysieae, Chloridoideae, Poaceae) using the phylogenetic species concept. [Taxon](#) 59: 1765--1782.
- Denham, S.S.; Morrone, O. & Zuloaga, F.O. 2010. Estudios en el género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): *Paspalum denticulatum* y especies afines. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 97: 11--33.

- Essi, L. & Souza-Chies, T.T. 2007. Phylogeny of Linearia and Notata groups of *Paspalum* L. (Poaceae, Panicoideae, Paniceae) and related species. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 779--791.
- Fabbri, L.; Rua, G. & Bartoloni, N. 2005. Different patterns of aerenchyma formation in two hygrophytic species of *Paspalum* (Poaceae) as response to flooding. *Flora* 200(4): 354--360.
- Feder N. & O'Brien, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55:123--142.
- Ferreira, T.F. & Souza-Chies, T.T. 2005. Genetic diversity among *Paspalum* L. species (Poaceae) belonging to the Notata and Linearia groups based on restriction fragment length polymorphism analyses. *Genetica* 125:133--140.
- Johansen, D. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Co. Inc, New York.
- Metcalf, C. R. 1960. *Anatomy of the monocotyledons I. Gramineae*. Clarendon Press, Oxford.
- Norrmann, G.A.; Quarin, C. L. & Killeen, T.J. 1994. Chromosome Numbers in Bolivian Grasses (Gramineae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81(4): 768--774.
- Oliveira, R.P.; Longhi-Wagner, H.M. & Leite, K.R.B. 2008. A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia de *Raddia* Bertol. (Poaceae: Bambusoideae). *Acta Botanica Brasilica* 22(1): 1--19.
- Peñaloza, A.P.S.; Côrtes, A.L.; Pozzobon, M.T.; Santos, S.; Rua, G.H. & Valls, J.F.M. 2008. Unusual chromosome numbers in *Paspalum* L. (Poaceae: Paniceae) from Brazil. *Genetics and Molecular Research* 7 (2): 399--406.
- Pozzobon, M.T.; Machado, A.C.C.; Vaio, M.; Valls, J.F.M.; Peñaloza, A.P.S.; Santos, S.; Côrtes, A.L. & Rua, G.H. 2008. Cytogenetic analyses in *Paspalum* L. reveal new diploid species and accessions. *Ciência Rural* 38(5): 1292--1299.

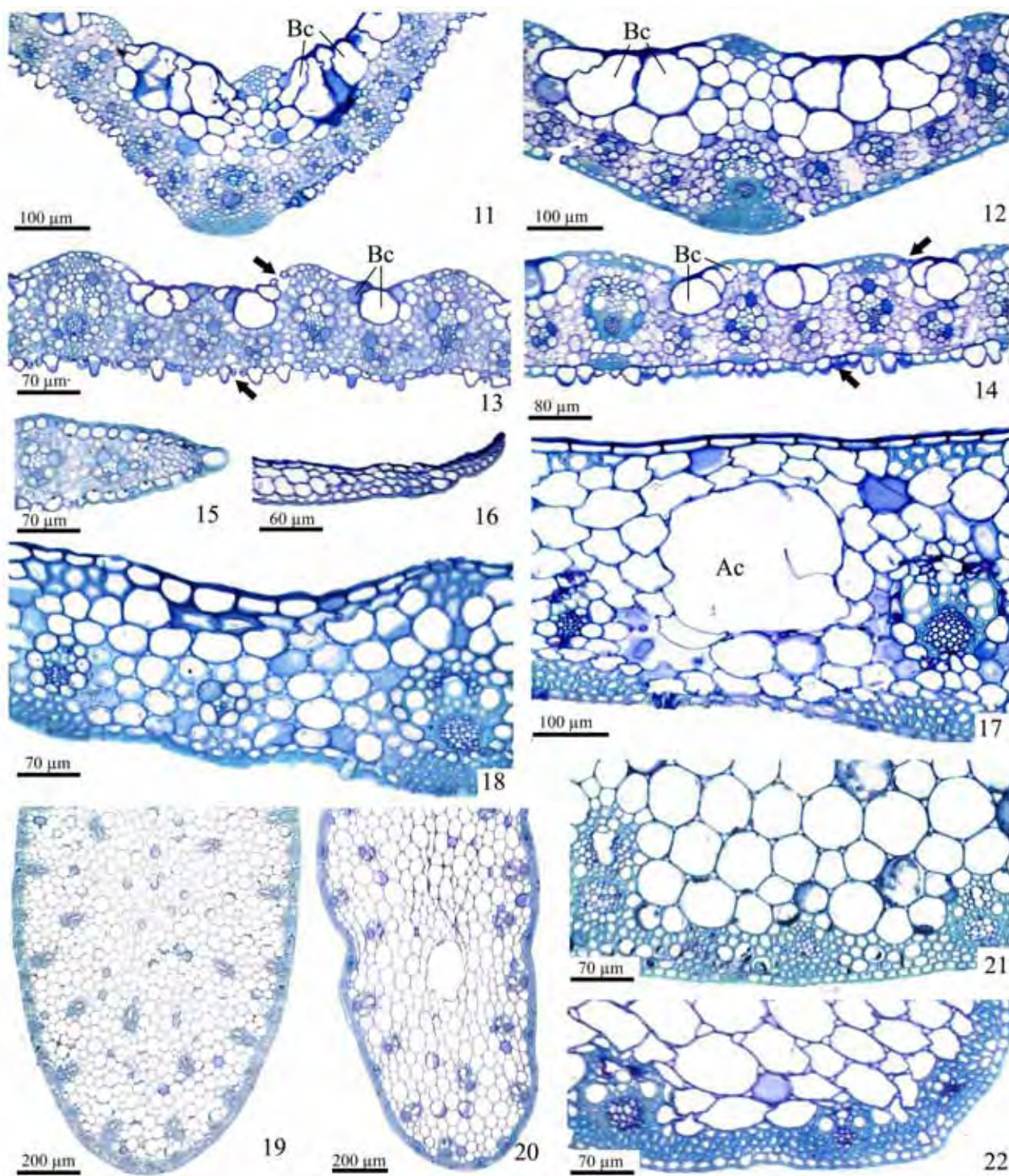
- Queiroz, D.S.; Gomide, J.A. & MARIA, J. 2000. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. *Revista Brasileira de Zootecnia* 29(1): 61--68.
- Roeser, K. R. 1972. Die nadel der schwarzkiefer massen produkt und keinstwerk der natur. *Mikrokosmos* 61: 33--36.
- Rua, G.H.; Valls, J.F.M.; Graciano-Ribeiro, D. & Oliveira, R.C. 2008. Four new species of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae) from Central Brazil, and resurrection of an old one. *Systematic Botany* 33(2): 267--276.
- Sede, S.M.; Morrone, O.; Aliscioni, S.S.; Giussani, L.M. & Zuloaga, F.O. 2009. *Oncorachis* and *Sclerochlamys*, two new segregated genera from *Streptostachys* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): a revision based on molecular, morphological and anatomical characters. *Taxon* 58(2): 365--374.
- Türpe, A.M. 1966. Histotaxonomía de las especies Argentinas del género *Paspalum*. *Lilloa* 32: 1--272.
- Valls, J.F.M. & Oliveira, R.C. 2010. *Paspalum*. In Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB109304>).
- Zuloaga, F.O.; Morrone, O.; Davidse, G.; Filgueiras, T.S.; Peterson, P.M.; Soreng, R.J. & Judziewicz, E.J. 2003. Catalogue of New World Grasses (Poaceae): III. Subfamilies Panicoideae, Aristidoideae, Arundinoideae, and Danthonioideae. National Museum of Natural History, Washington.
- Zuloaga, F.O.; Pensiero, J. & Morrone, O. 2004. Systematics of *Paspalum* Group Notata (Poaceae-Panicoideae-Paniceae). *Systematic Botany Monographs* 71: 1--75.

ILUSTRAÇÕES

Figuras 1 - 10. Aspectos anatômicos de raiz, rizoma e folha de *Paspalum barretoii* e *P. minus*. 1 - 4. Secções transversais de raiz e rizoma. 1 - 2. Aspecto geral da raiz e detalhe da epiderme e exoderme de *P. barretoii*, respectivamente. 3. Detalhe do córtex interno e cilindro vascular da raiz de *P. minus*. 4. Aspecto geral do rizoma de *P. barretoii*. 5 - 10. Vista frontal da face abaxial da epiderme foliar. 5 - 6. *P. barretoii* (seta = macropelo). 7 - 10. *P. minus* (seta = célula curta silicificada, cabeça de seta = célula curta suberificada).



Figuras 11 - 22. Aspectos anatômicos de folha e colmo de *Paspalum barretoii* (11, 13, 15, 18, 19, 21) e *P. minus* (12, 14, 16, 17, 20, 22), em secção transversal. 11 - 12. Nervura central. 13 - 14. Mesofilo. 15. Margem da lâmina foliar. 16 - 18. Bainha foliar. 19 - 20. Aspecto geral do colmo. 21 - 22. Detalhe da epiderme e córtex do colmo. (Bc = células buliformes; Ac = canal de ar).



CAPÍTULO 4

Caracteres micromorfológicos e anatômicos de estruturas reprodutivas do complexo

Dilatata (*Paspalum*, Poaceae) e suas implicações taxonômicas

(Segundo normas do periódico *Plant Systematics and Evolution*)

Caracteres micromorfológicos e anatômicos de estruturas reprodutivas do complexo

Dilatata (*Paspalum*, Poaceae) e suas implicações taxonômicas

Mayra Teruya Eichemberg – Thomas Stützel – José Francisco Montenegro Valls – Vera Lucia Scatena

Resumo: O complexo Dilatata é constituído por dez táxons morfológicamente distintos que apresentam afinidades e divergências genéticas. *Paspalum dilatatum* Poir. é o representante-chave, com duas subespécies e cinco formas adicionais, reconhecidas como biótipos, as quais, juntamente com *P. dasypleurum* Kunze ex Desv., *P. pauciciliatum* (Parodi) Herter e *P. urvillei* Steud., formam o complexo. Como as delimitações desses táxons não são claras, foram levantados caracteres micromorfológicos de gluma, lema e pálea e anatômicos de ráquis e pedicelo, visando auxiliar a taxonomia do grupo. Caracteres diagnósticos foram levantados para *Paspalum dasypleurum*, *P. dilatatum* biótipo Chirú, *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana, *P. dilatatum* biótipo Vacaria, *P. dilatatum* biótipo Virasoro e *P. urvillei* além de caracteres associados que diferenciam *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*, *P. dilatatum* subsp. *flavescens*, *P. dilatatum* biótipo Torres e *P. pauciciliatum*. Caracteres micromorfológicos da gluma superior e lema inferior, como presença e tipo de tricomas associados à caracteres anatômicos de ráquis e pedicelo, como espessamento das células epidérmicas, número de feixes vasculares e tamanho das alas do pedicelo podem ser utilizados para diferenciar os táxons do complexo Dilatata. Esses resultados indicam a possibilidade de reconhecimento de outros táxons do complexo em nível específico.

Palavras-chaves Antécio, Espigueta, Gramínea, Pedicelo, Ráquis

Introdução

Poaceae Barnhart apresenta aproximadamente 793 gêneros e 10.000 espécies com distribuição cosmopolita (Watson & Dallwitz 1992). No Brasil, estão descritas a presença de 210 gêneros e 1.418 espécies da família (Filgueiras et al. 2012), que ocorrem em vários biomas. Nas formações campestres, Poaceae destaca-se em função do elevado número de espécies e de sua dominância (Oliveira and Valls 2008). *Paspalum* L. está incluído na subfamília Panicoideae Link, na tribo Paniceae R. Br. (GPWG 2001), cujas espécies são caracterizadas por apresentar espiguetas de forma plano-convexa, dispostas unilateralmente sobre a ráquis, com o dorso do lema superior em posição adaxial, sendo a primeira gluma ausente ou de tamanho reduzido em comparação com o da segunda gluma (Oliveira and Valls 2008; Maciel et al. 2009).

Análises cladísticas revelam que *Paspalum* apresenta problemas de circunscrição (Aliscioni 2002; Duvall et al. 2001; Morrone et al. 2012). Atualmente, o gênero apresenta os subgêneros: *Ceresia* (Pers.) Rchb., *Harpostachys* (Trin.) S. Denham, *Anachyris* (Nees) Chase e *Paspalum* (Denham 2005). Neste último, as espécies têm sido reunidas em grupos informais, conforme proposto por Chase (1929) e corroborado por Zuloaga and Morrone (2005). Esses grupos informais apresentam diversos complexos, como são conhecidos grupos de táxons morfológicamente distintos, com afinidades genéticas, mas sem relações evolutivas claras, demonstrando necessidade de revisões (Vaio et al. 2005; Valls 2005; Rua 2006; Giussani et al. 2009).

O grupo informal Dilatata recebe esse nome em função de seu principal componente, *Paspalum dilatatum* Poir., que apresenta duas subespécies e cinco biótipos (Burson 1991; Burson et al. 1991; Casa et al 2002; Machado et al. 2005) reconhecidos como plantas com características morfológicas, citogenéticas e reprodutivas distintas. Esses sete táxons, juntamente com *P. dasyleurum* Kunze ex Desv., *P. pauciciliatum* (Parodi) Herter e *P.*

urvillei Steud., formam o complexo *Dilatata*. Os táxons são originários da América do Sul, com maior concentração no Brasil, envolvendo indivíduos sexuais, apomíticos e híbridos naturais (Speranza 2009). Dentro desse grupo, os biótipos de *P. dilatatum* não estão bem delimitados taxonomicamente (Machado et al. 2005), e estudos citogenéticos (Speranza 2009) e moleculares (Miz and Souza-Chies 2006) evidenciam afinidades e diferenças entre elas.

Por apresentar problemas na circunscrição dos táxons do complexo *Dilatata*, foram levantados caracteres micromorfológicos de gluma, lema, pálea e anatômicos de ráquis e pedicelo, visando sua melhor delimitação.

Material e Método

As espécies estudadas, incluindo subespécies e biótipos, foram coletadas, fixadas em FAA 50 e conservadas em álcool 70% (Johansen 1940). Peças de materiais herborizados foram fervidas em água destilada com glicerina, para expansão dos tecidos, e, em seguida, conservadas em álcool 70%. Foram estudados pelo menos três indivíduos de cada táxon discriminados na Tabela 1. O material testemunho está depositado no Herbário Rioclarense (HRCB) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro (SP).

Para estudos de microscopia eletrônica de varredura (Zeiss, DSM 950), pedicelos, glumas, lemas e páleas de espiguetas maduras foram desidratados em etanol 70% e imersos em FDA (formaldeído-dimetilacetato) (Gerstberger and Leins 1978), e posteriormente submetidos ao ponto crítico (Balzers CPD 030) e metalizados em ouro (Bal-Tec SCD 050). Os resultados foram documentados a partir do sistema de digitalização de imagens DIPS – Leipzig.

Para estudos de microscopia de luz, espiguetas maduras foram retiradas da região mediana do ramo basal da inflorescência. Segmentos da região mediana de ráquis e basal de pedicelos foram desidratadas em série n-butílica (álcool normal butílico – NBA) e infiltradas

com historresina (Leica Historesin Embedding Kit), seguida pela inclusão (Feder and O'Brien 1968). Secções transversais e longitudinais foram realizadas com micrótomo rotativo, submetidas à coloração com ácido periódico, reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina (Feder and O'Brien 1968) e montadas em Entellan (Merck). As lâminas foram observadas em microscópio de luz e de fluorescência e o registro fotográfico foi realizado a partir do sistema de digitalização Leica DFC 290 acoplado ao microscópio Leica DMLB.

Resultados

Os táxons estudados apresentam espiguetas articuladas pelo pedicelo e distribuídas ao longo da ráquis (Fig. 1A). As espiguetas são constituídas por gluma superior, lema inferior e antécio (Fig. 1B). O antécio é composto pelo lema superior e pálea e abriga uma flor bissexuada (Fig. 1B) com duas lodículas (Fig. 3H - seta). A gluma inferior está presente apenas em *Paspalum dasypleurum* e é reduzida (Fig. 2A, Tab. 2).

Em vista frontal, a gluma superior apresenta de três a cinco nervuras salientes na maioria dos táxons (Fig. 2B, Tab. 2), exceto em *P. dilatatum* biótipo Virasoro, com mais de cinco (Fig. 2C, Tab. 2). A gluma apresenta células epidérmicas de paredes sinuosas (Fig. 2E), com tricomas longos e micropelos (Fig. 2E-F), na maioria dos táxons. Em *Paspalum dilatatum* biótipo Vacaria, os tricomas estão localizados apenas na margem (Fig. 2D). As células basais do tricoma são proeminentes em relação às demais células epidérmicas (Fig. 2E-F), sendo conspícuas em *P. dilatatum* subsp. *flavescens* (Fig. 2E). Papilas são encontradas apenas em *P. dilatatum* biótipo Chirú (Fig. 2F - seta).

O lema inferior, em vista frontal, apresenta células epidérmicas de forma semelhante às da gluma (Fig. 2G-H), com tricomas longos em toda superfície, na maioria dos táxons (Fig. 2H-I, Tab. 2). Tricomas em forma de gancho ocorrem em toda a superfície do lema (Fig. 2J), com maior concentração na região apical. Estômatos ocorrem apenas no ápice de *P. dilatatum*

subsp. *dilatatum*, *P. dilatatum* subsp. *flavescens* e *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana (Fig. 2J), e papilas apenas em *P. dilatatum* biótipo Chirú (Fig. 2K, Tab. 2).

O antécio varia de oval a elíptico em *Paspalum dasypleurum*, *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana, *P. pauciciliatum* e *P. urvillei* (Fig. 3A, Tab. 2), e de oval a arredondado nos demais táxons (Fig. 3B, Tab. 2). O lema superior apresenta ápice acuminado na maioria dos táxons (Fig. 3B, Tab. 2) e arredondado em *P. dilatatum* biótipo Chirú, *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana e *P. urvillei* (Fig. 3A, Tab. 2). Sua epiderme, em vista frontal, apresenta células de paredes sinuosas acentuadas (Fig. 3D) ou tênues (Fig. 3E-F), com papilas em todos os táxons (Fig. 3D-F).

A pálea, na região anterior, apresenta duas alas laterais que protegem a flor (Fig. 3H-J - seta). Na região posterior (Fig. 3C), sua estrutura é semelhante ao lema superior e, em vista frontal, apresenta células epidérmicas de paredes sinuosas com papilas (Fig. 3G). As alas da pálea podem ser abertas (Fig. 3I, Tab. 2) ou fechadas (Fig. 3J, Tab. 2) com margem aguda (Fig. 3I, Tab. 2) ou obtusa (Fig. 3H, J, Tab. 2).

A ráquis, em secção transversal, apresenta a porção central, denominada quilha, com contorno triangular (Fig. 4A, C, E-F) e duas alas laterais (Fig. 4A, C). A epiderme é uniestratificada, com células de paredes levemente espessadas na maioria dos táxons (Fig. 4B, Tab. 2), exceto *Paspalum dilatatum* biótipo Uruguaiana, cujas paredes são finas (Fig. 4D, Tab. 2). A maioria dos táxons apresenta córtex com anel esclerenquimático (Fig. 4A-C, E) que se estende até os feixes vasculares colaterais, com exceção de *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana, que apresenta córtex com células de paredes pouco espessadas (Fig. 4F). Alguns táxons apresentam projeção na região inferior da quilha (Fig. 4A, E, G, Tab. 2). A ala também apresenta epiderme, córtex e feixes vasculares colaterais (Fig. 4H). Na maioria dos táxons ocorrem tricomas em ambas as faces da epiderme (Fig. 4I).

O pedicelo, em vista frontal, apresenta células epidérmicas de paredes levemente sinuosas e dispostas longitudinalmente (Fig. 5A-B), com tricomas em forma de gancho (Fig. 5A, Tab. 2), que são escassos em *Paspalum dasypleurum* e *P. urvillei* (Fig. 5B). Em secção transversal, o pedicelo apresenta epiderme, córtex e cilindro vascular (Fig. 5C-G), com contorno triangular (Fig. 5C-D, Tab. 2) ou semicircular (Fig. 5E-G, Tab. 2). Apresenta duas alas (porções laterais) de mesmo tamanho (Fig. 5E, Tab. 2), ou de tamanho diferente (Fig. 5G, Tab. 2). A epiderme é uniestratificada, com células arredondadas de paredes finas (Fig. 5K) e estômatos localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas (Fig. 5D - setas). O córtex é constituído por uma camada de células parenquimáticas, disposta ao redor do anel esclerenquimático que envolve os feixes vasculares colaterais maiores (Fig. 5C-J). Na maioria das espécies, o anel tem de quatro a sete camadas de células (Fig. 5H, Tab. 2), exceto *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana (Fig. 5I, Tab. 2), cujas células não apresentam paredes totalmente espessadas e *P. urvillei* (Fig. 5J, Tab. 2) que apresenta até três camadas de células. Feixes vasculares de menor calibre localizam-se na região periférica da ala (Fig. 5E-G).

Discussão

Os dados micromorfológicos e anatômicos podem diferenciar os táxons do complexo *Dilatata*. Foram encontrados vários caracteres diagnósticos: *Paspalum dasypleurum* apresenta gluma inferior reduzida; *P. dilatatum* biótipo Chirú apresenta papilas na gluma e no lema inferior; ráquis com córtex constituído por células de paredes pouco espessadas ocorre apenas em *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana; tricomas apenas na margem da gluma são exclusivos de *P. dilatatum* biótipo Vacaria; gluma com cinco ou mais nervuras proeminentes é caráter diagnóstico de *P. dilatatum* biótipo Virasoro; anel esclerenquimático com até três camadas de células no córtex distingue *P. urvillei* dos demais táxons. Esses caracteres associados a outros

dados como os moleculares (Miz and Souza-Chies 2006) poderão ser utilizados no futuro em estudos taxonômicos do complexo *Dilatata*.

Além dos caracteres diagnósticos descritos acima verifica-se que *Paspalum dilatatum* subsp. *dilatatum*, *P. dilatatum* subsp. *flavescens*, *P. dilatatum* biótipo Torres e *P. pauciciliatum* formam um grupo cujos táxons se diferenciam por meio de vários caracteres. *Paspalum dilatatum* subsp. *dilatatum* apresenta ráquis com seis feixes vasculares na ala, pedicelo com alas do mesmo tamanho, forma arredondada do antécio e ala da pálea com margem aguda. *P. dilatatum* subsp. *flavescens* apresenta ráquis sem tricomas, com nove feixes vasculares na ala, pedicelo com alas de tamanhos diferentes, antécio elíptico e ala da pálea com margem obtusa. *P. dilatatum* biótipo Torres apresenta ráquis sem tricomas, com dez feixes vasculares, pedicelo com alas de tamanhos diferentes, antécio arredondado, lema inferior com tricomas apenas na margem e ala da pálea com margem aguda. *P. pauciciliatum* se diferencia dos demais táxons do complexo por apresentar ráquis com tricomas, com cinco feixes vasculares na ala, pedicelo com alas de tamanhos diferentes e ala da pálea com margem aguda. Com isso, a anatomia contribui com a separação dos táxons do complexo *Dilatata*, mesmo naqueles considerados geneticamente próximos como *P. dilatatum* subsp. *dilatatum* e *P. dilatatum* biótipo Torres.

Neste estudo, observa-se que as características micromorfológicas da gluma superior e do lema inferior foram mais importantes para a diferenciação dos táxons, quando comparadas às características do lema superior e da pálea, usualmente utilizadas em estudos taxonômicos de *Paspalum* (Morrone et al. 1995; Cialdella et al. 1995; Denham et al. 2002) e também de outros gêneros de Poaceae (Shaw and Webster 1983; Morrone and Zuloaga 1989; Thompson et al. 1990; Mejia-Saules and Bisby 2003). Também o número de nervuras da gluma superior e a presença de tricomas no lema inferior são caracteres utilizados para diagnosticar *Paspalum dilatatum* biótipo Virasoro e para diferenciar táxons morfológicamente semelhantes, como *P.*

dilatatum subsp. *dilatatum* e *P. dilatatum* biótipo Torres. Esses caracteres são considerados importantes para a taxonomia e filogenia de *Paspalum* (Aliscioni 2002, Denham et al. 2002, Verloove and Reinders 2007) e de Poaceae em geral (Rudall et al. 2005).

A presença de tricoma em forma de gancho em glumas e lemas inferiores nos táxons do complexo Dilatata é um caráter comum e, assim, sua distribuição pode ser considerada caráter importante para agrupar ou separar espécies dentro do gênero (Türpe 1966, Denham et al. 2010). A presença de papilas epidérmicas na gluma superior e no lema inferior é caráter diagnóstico de *Paspalum dilatatum* biótipo Chirú. Sabe-se que a forma, a distribuição e a localização das papilas nos antécios têm utilidade taxonômica no gênero (Zuloaga et al. 2000, Denham et al. 2002, Oliveira and Valls 2008, Rua et al. 2008, Denham et al. 2010), assim como, na filogenia do subgênero *Ceresia* (Denham et al. 2002). Em antécios de outros gêneros de Poaceae, esse caráter tem sido utilizado para diagnosticar espécies (Shaw and Smeins 1981; Mejia-Saules and Bisby 2003). No complexo Dilatata, a forma e a distribuição das papilas são relativamente uniformes, exceto em *Paspalum dilatatum* biótipo Uruguiana que apresenta variações entre os indivíduos, razão pela qual aqui neste trabalho esse caráter não foi utilizado na distinção dos táxons.

Normalmente, caracteres da ala da pálea são pouco abordados em estudos taxonômicos, mas neste trabalho mostram-se importantes na distinção dos táxons. Assim, esta é uma abordagem que poderia ser utilizada em futuros estudos taxonômicos de *Paspalum* e de outros grupos da família.

Dados anatômicos da ráquis se mostram úteis para separar os táxons estudados. Também foram úteis para representantes de todos os subgêneros e de grupos informais de *Paspalum*, incluindo duas espécies do complexo Dilatata (Aliscioni and Denham 2008). Os autores propõe um padrão anatômico para o grupo Dilatata, no entanto, nossos resultados não corroboram esse padrão, talvez pelo maior número de táxons por nós analisados.

O estudo anatômico do pedicelo de *Paspalum* traz resultados inéditos e mostra-se útil na distinção dos táxons do complexo Dilatata. O número de camadas de células do anel esclerenquimático do córtex e o espessamento das paredes de suas células são utilizados para diagnosticar *P. urvillei* e *Paspalum dilatatum* biótipo Uruguaiana. Os caracteres anatômicos do pedicelo associados aos caracteres anatômicos da ráquis, diferenciam táxons.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio (processo 2011/18275-0), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo auxílio e bolsa (CNPq 301692/2010-6, 471837/2011-3) e pela bolsa de Doutorado Sanduíche – SWE (202080/2011-0).

Referências Bibliográficas

- Aliscioni SS (2002) Contribución a la filogenia del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). Ann Mo Bot Gard 89:504-523
- Aliscioni SS, Denham SS (2008) Rachis of the genus *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): anatomy and taxonomic significance of the primary branches of the inflorescences. Flora 203:60-76
- Burson BL (1991) Genome relationships between tetraploid and hexaploid biotypes of Dallisgrass, *Paspalum dilatatum*. Bot Gaz 152:219-223
- Burson BL, Voigt PW, Evers GW (1991) Cytology, reproductive behavior and forage potential of hexaploid Dallisgrass biotypes. Crop Sci 31:636-641
- Casa AM, Mitchell SE, Lopes CR, Valls JFM (2002) RAPD analysis reveals genetic variability among sexual and apomictic *Paspalum dilatatum* Poiret biotypes. J Hered 93:300-302

- Chase A (1929) The North American species of *Paspalum*. Contribution from the United States National Herbarium 28:1-310
- Cialdella AM, Morrone O, Zuloaga FO (1995) Revisión de las especies del género *Paspalum* (Poaceae: Paniceae), grupo Bonplandiana. Darwiniana 33:67-95
- Denham SS (2005). Revisión sistemática del subgénero Harpostachys de *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). Ann Mo Bot Gard 92: 463-532.
- Denham SS, Zuloaga FO, Morrone O (2002) Systematic Revision and Phylogeny of *Paspalum* Subgenus Ceresia (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). Ann Mo Bot Gard 89:337-399
- Denham SS, Morrone O, Zuloaga FO (2010) Estudios en el género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae): *Paspalum denticulatum* y especies afines. Ann Mo Bot Gard 97:11-33
- Duvall MR, Noll JD, Minn AH (2001) Phylogenetics of Paniceae (Poaceae). Am J Bot 88:1988-1992
- Filgueiras TS, Longhi-Wagner HM, Viana PL, Zanin A, Guglieri A, Oliveira RC, Canto-Dorow TS, Shirasuna RT, Valls JFM, Oliveira RP, Rodrigues RS, Santos-Gonçalves AP, Welker, CAD (2012). Poaceae In Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000193>)
- Feder N, O'Brien TP (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. Am J Bot 55:123-142
- Giussani LM, Zuloaga FO, Quarín CL, Cota-Sánchez JH, Ubayasena K, Morrone O (2009). Phylogenetic relationships in the genus *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): an assessment of the Quadrifaria and Virgata Informal Groups. Syst Bot 34: 32-43.
- Grass Phylogeny Working Group (GPWG) (2001) Phylogeny and subfamilial classification of grasses (Poaceae). Ann Mo Bot Gard 88:373-457

- Johansen D (1940) Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Co. Inc, New York
- Machado ACC, Valls JFM, Peñaloza APS, Santos A (2005) Novos biótipos pentaplóides do grupo *Dilatata* de *Paspalum* L. (Graminae) no Sul do Brasil. Cienc Rural 35:56-61
- Maciel JR, Oliveira RC, Alves M (2009) *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) no estado de Pernambuco, Brasil. Acta Bot Bras 23:1145-1161
- Mejia-Saules T, Bisby FA (2003) Silica bodies and hooked papillae in lemmas of *Melica* species (Gramineae:Pooideae). J Linn Soc 141:447-463
- Miz RB, Souza-Chies TT (2006) Genetic relationships and variation among biotypes of dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) and related species using random amplified polymorphic DNA markers. Gen Resour Crop Ev 53:541-552
- Morrone O, Aagesen L, Scataglini MA, Salariato, DL, Denham SS, Chemisquy MA, Sede SM, Giussani LM, Kellogg EA, Zuloaga FO (2012) Phylogeny of the Paniceae (Poaceae: Panicoideae): integrating plastid DNA sequences and morphology into a new classification. Cladistics 28:333–356
- Morrone O, Zuloaga FO (1989) Sobre la posición sistemática de *Brachiaria glabrinodis* (Poaceae: Paniceae). Darwiniana 29:261-268
- Morrone O, Zuloaga FO, Carbonó E (1995) Revisión del grupo *Racemosa* del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). Ann Mo Bot Gard 82:82-116
- Oliveira RC, Valls JFM (2008) Novos sinônimos e ocorrências em *Paspalum* L. (Poaceae). Hoehnea 35:289-295
- Rua GH (2006) Estudos filogenéticos em Paniceae: os casos de *Paspalum* e *Digitaria*. In: Mariath JEA, Santos RP (orgs.) Os avanços da botânica no início do século XXI: morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética. Sociedade Botânica do Brasil, Porto Alegre

- Rua GH, Valls JFM, Graciano-Ribeiro D, Oliveira RC (2008) Four new species of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae) from Central Brazil, and resurrection of an old one. *Syst Bot* 33:267-276
- Rudall PJ, Stuppy W, Cunniff J, Kellogg EA, Briggs BG (2005) Evolution of reproductive structures in grasses (Poaceae) inferred by sistergroup comparison with their putative closest living relatives, *Ecdeiocoleaceae*. *Am J Bot* 92:1432-1443
- Shaw RB, Smeins FE (1981). Some anatomical and morphological characteristics of the North American species of *Eriochloa* (Poaceae: Paniceae). *Bot. Gaz.* 142:534-544.
- Shaw RB, Webster D (1983) Characteristics of the upper antheria of *Ichnanthus* (Poaceae: Paniceae). *Bot Gaz* 144:363-370
- Speranza PR (2009) Evolutionary patterns in the Dilatata group (*Paspalum*, Poaceae). *Plant Syst Evol* 282:43-56
- Thompson RA, Tyrl RJ, Estes JR (1990) Anatomy of the Spikelet Callus of *Eriochloa*, *Brachiaria*, and *Urochloa* (Poaceae:Paniceae: Setariineae). *Am J Bot.* 77: 1463-1468
- Türpe AM (1966) Histotaxonomía de las especies Argentinas del género *Paspalum*. *Lilloa* 32:1-272
- Vaio M, Speranza P, Valls JFM, Guerra M (2005) Localization of the 5S and 45S rDNA sites and cpDNA sequence analysis in species of the Quadrifaria group of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae). *Ann Bot-London* 96:191-200
- Valls JFM (2005) Caracterização do germoplasma de espécies de *Paspalum* coletado no Sul do Brasil. Disponível em: <http://www.inta.gov.ar/mercedes/grupocampos/XI/VALLS.pdf>
- Verloove F, Reynders M (2007) Studies in the genus *Paspalum* (Paniceae, Poaceae) in Europe – 2. The Quadrifaria group. *Willdenowia* 37:423-430
- Watson L, Dallwitz JM (1992). The grass genera of the world. CAB International, Wallingford.

- Zuloaga FO, Morrone O, Denham S (2000) *Paspalum volcanensis*, a new species of subgenus *Anachyris* of *Paspalum* (Poaceae: Paniceae). *Novon* 10:183-186
- Zuloaga FO, Morrone O (2005) Revisión de las especies de *Paspalum* para América del Sur Austral (Argentina, Bolivia, Sur de Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay). *Monogr Syst Mo Bot Gard* 102:1-297

Tabela 1. Táxons do complexo *Dilatata* utilizados no estudo micromorfológico e anatômico

Espécie, subespécie ou biótipo	Coletor(es) e número	Local de coleta*
<i>Paspalum dilatatum</i> subsp. <i>dilatatum</i> = biótipo Comum	Valls et al. 11188	Brasil, RS
<i>P. dilatatum</i> subsp. <i>flavescens</i>	Quarín and Caponio 3952	Uruguai
<i>P. dilatatum</i> biótipo Vacaria	Valls et al. 11974	Brasil, SC
<i>P. dilatatum</i> biótipo Virasoro	Valls et al. 12066	Brasil, RS
<i>P. dilatatum</i> biótipo Torres	Valls et al. 10168	Brasil, SC
<i>P. dilatatum</i> biótipo Uruguaiana	Valls et al. 14928	Brasil, RS
<i>P. dilatatum</i> biótipo Chirú	Quarín 4081	Uruguai
<i>P. dasyleurum</i>	Valls 12115	Chile
<i>P. pauciciliatum</i>	Valls et al. 12006	Brasil, RS
<i>P. urvillei</i>	Eichemberg 700 and Prestes	Brasil, SC

* Estados brasileiros: PR=Paraná, RS=Rio Grande do Sul, SC=Santa Catarina

Tabela 2. Características micromorfológicas e anatômicas de estruturas reprodutivas de *Paspalum* complexo Dilatata: 1. *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*; 2. *P. dilatatum* biótipo Torres; 3. *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana; 4. *P. dilatatum* biótipo Vacaria; 5. *P. dilatatum* biótipo Virasoro; 6. *P. pauciciliatum*; 7. *P. urvillei*; 8. *P. dasypleurum*; 9. *P. dilatatum* subsp. *flavescens*; 10. *P. dilatatum* biótipo Chirú. (+ = presente; - = ausente)

Características	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gluma inferior reduzida	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Gluma superior										
Três a cinco nervuras proeminentes	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Cinco ou mais nervuras proeminentes	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Tricomas longos em toda a superfície	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Papilas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Lema inferior										
Tricomas longos em toda a superfície	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Papilas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Antécio de oval a arredondado	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
Antécio de oval a elíptico	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
Lema superior com ápice acuminado	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-
Lema superior com ápice arredondado	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
Pálea com alas abertas	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Pálea com alas fechadas	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
Margem aguda da ala	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
Margem obtusa da ala	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+
Ráquis										
Células epid. com paredes espessadas	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Tricomas	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
Córtex com anel esclerenquimático	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Projeção inferior da quilha	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
Número de feixes vasculares da ala	6	10	4/5	5/6	4/5	9	6	6/7	5	6/7
Pedicelo										
Tricomas abundantes	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Contorno triangular em secção transversal	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Contorno semicircular em secção transversal	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Alas de mesmo tamanho	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Alas de tamanhos diferentes	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Anel esclerenquimático com até três camadas de células	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Anel esclerenquimático com células de paredes pouco espessadas	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema do tipo mais comum de inflorescência (A) e espiguetas (B) de *Paspalum* complexo *Dilatata*. rc = ráquis, pe = pedicelo, lg = gluma inferior, ug = gluma superior, ll = lema inferior, ul = lema superior, pa = pálea, fl = flor.

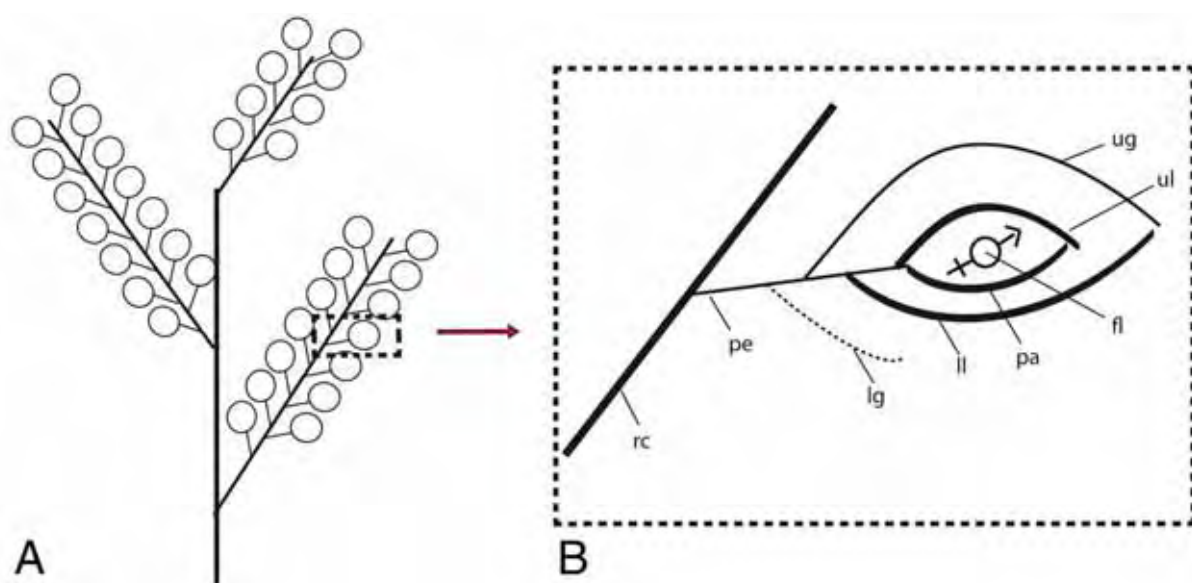


Figura 2. Aspectos micromorfológicos de estruturas reprodutivas de *Paspalum* complexo Dilatata. A. Gluma inferior. B – F. Gluma superior. G – K. Lema inferior. A. *P. dasypleurum*. B. *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*. C. *P. dilatatum* biótipo Virasoro. D. *P. dilatatum* biótipo Vacaria. E. Células epidérmicas com tricomas de *P. dilatatum* subsp. *flavescens*. F. Papilas epidérmicas de *P. dilatatum* biótipo Chirú. G. *P. dasypleurum*. H. *P. dilatatum* subsp. *flavescens*. I. Detalhe de células basais de tricoma de *P. pauciciliatum*. J. Estômato de *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana. K. Papilas epidérmicas de *P. dilatatum* biótipo Chirú. Barras = 600 μm (C), 500 μm (D); 400 μm (B); 120 μm (A); 80 μm (H); 40 μm (E); 25 μm (F); 20 μm (G, I, K); 15 μm (J).

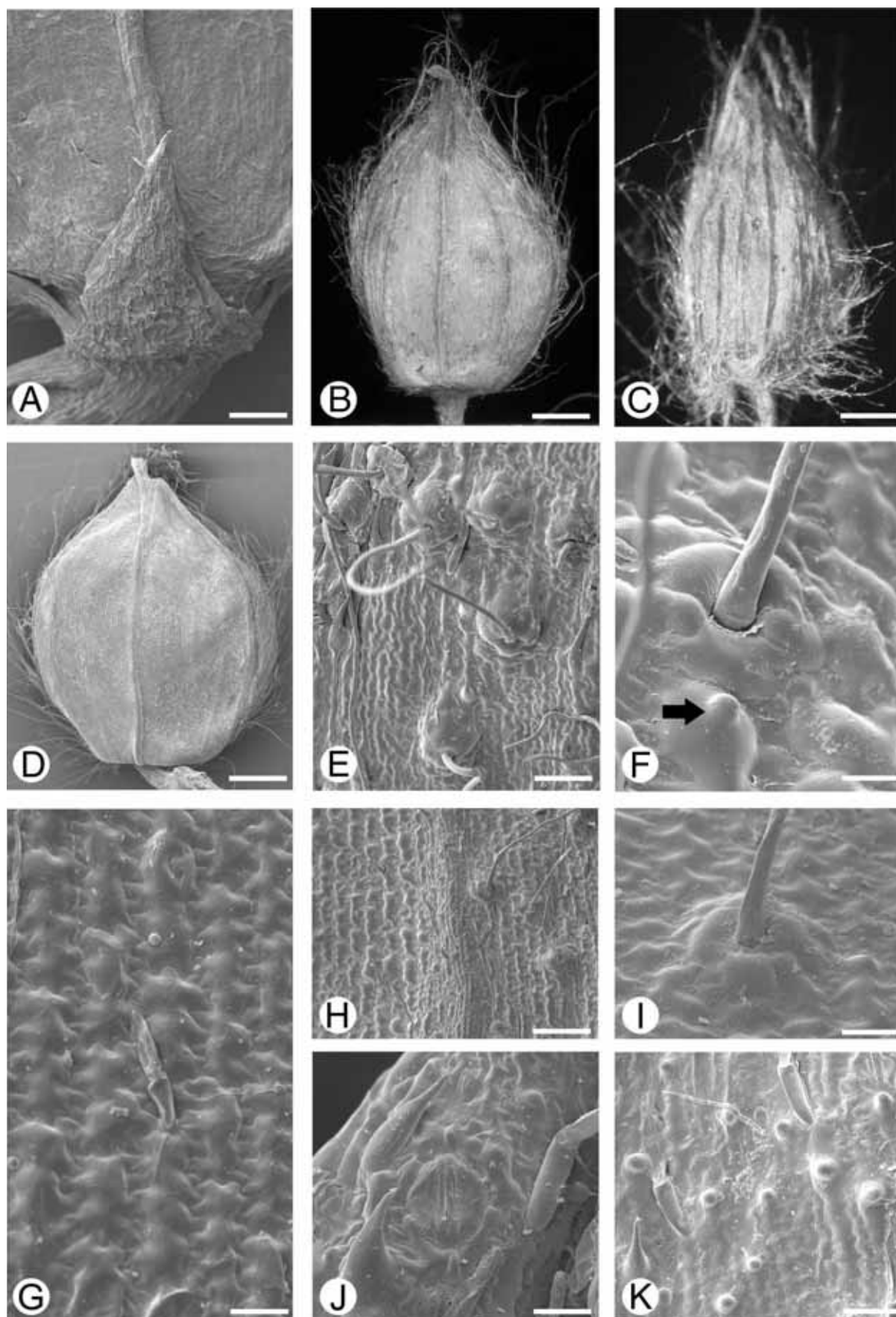


Figura 3. Aspectos morfológicos e micromorfológicos do antécio de *Paspalum* complexo Dilatata. A. *P. urvillei*. B. *P. dilatatum* biótipo Vacaria. C. Região posterior de *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*. D-F. Células epidérmicas com papilas do lema superior. D. *P. dilatatum* subsp. *flavescens*. E. *P. dilatatum* biótipo Virasoro. F. *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana. G. Células epidérmicas com papilas da pálea de *P. dilatatum* subsp. *flavescens*. H. Aspecto geral da região anterior da pálea de *P. urvillei*. I-J. Ala da pálea. I. *P. dilatatum* biótipo Vacaria. J. *P. dilatatum* biótipo Chirú. Barras = 440 μm (B, C), 290 μm (A); 270 μm (H); 135 μm (I, J); 20 μm (D); 10 μm (E, F, G).

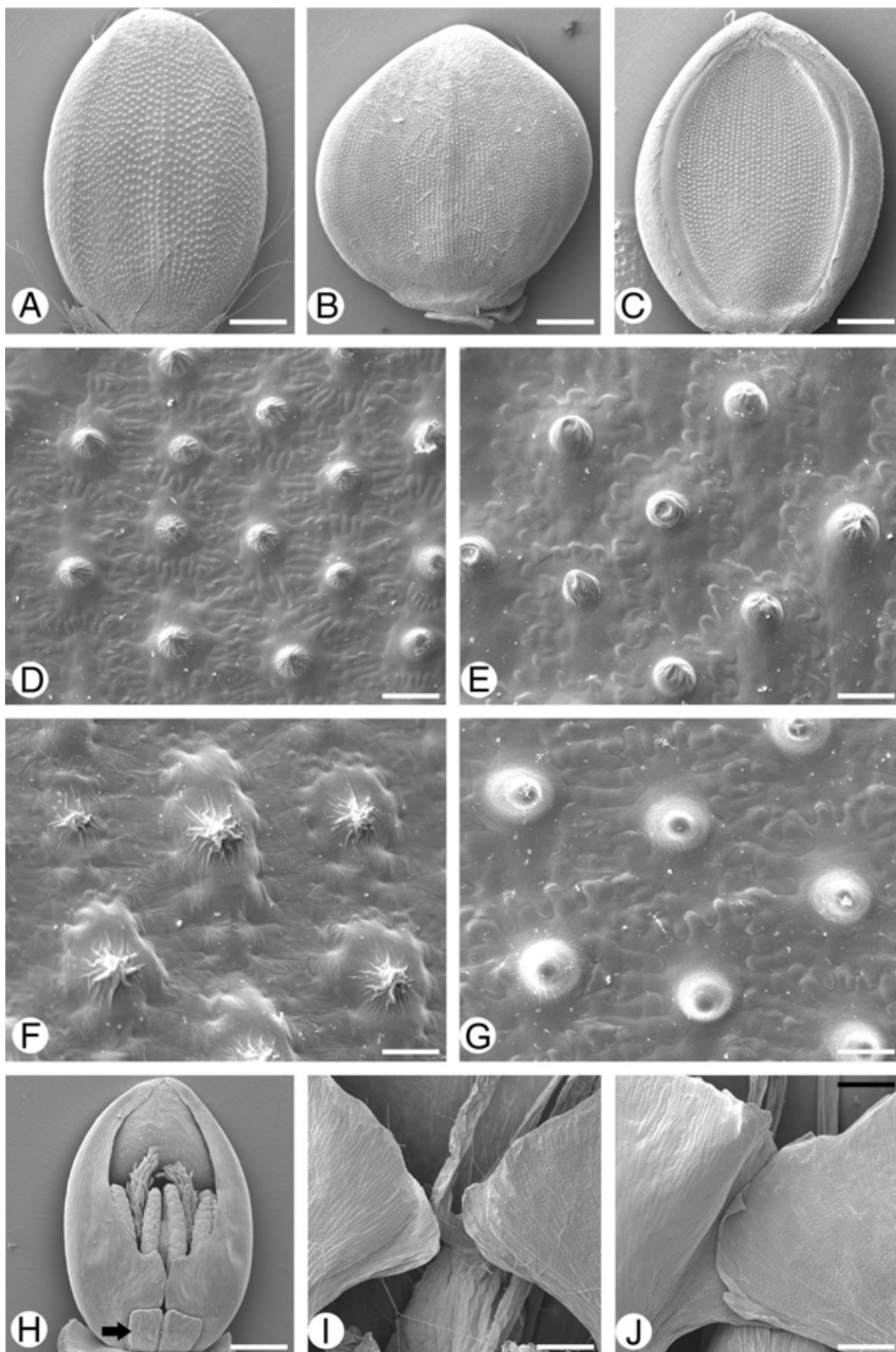


Figura 4. Aspectos anatômicos de ráquis de *Paspalum* complexo Dilatata. A. *P. dilatatum* subsp. *flavescens*. B. Detalhe da epiderme de *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*. C. *P. dilatatum* biótipo Virasoro. D. Detalhe da epiderme de *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana. E. *P. pauciciliatum*. F. *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana. G. Projeção inferior da quilha de *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*. H. Detalhe da ala lateral de *P. urvillei*. I. Detalhe da ala lateral de *P. dilatatum* subsp. *flavescens*. Barras = 220 μm (A); 215 μm (C); 135 μm (E, F); 85 μm (H, I); 55 μm (G); 40 μm (B); 25 μm (D).

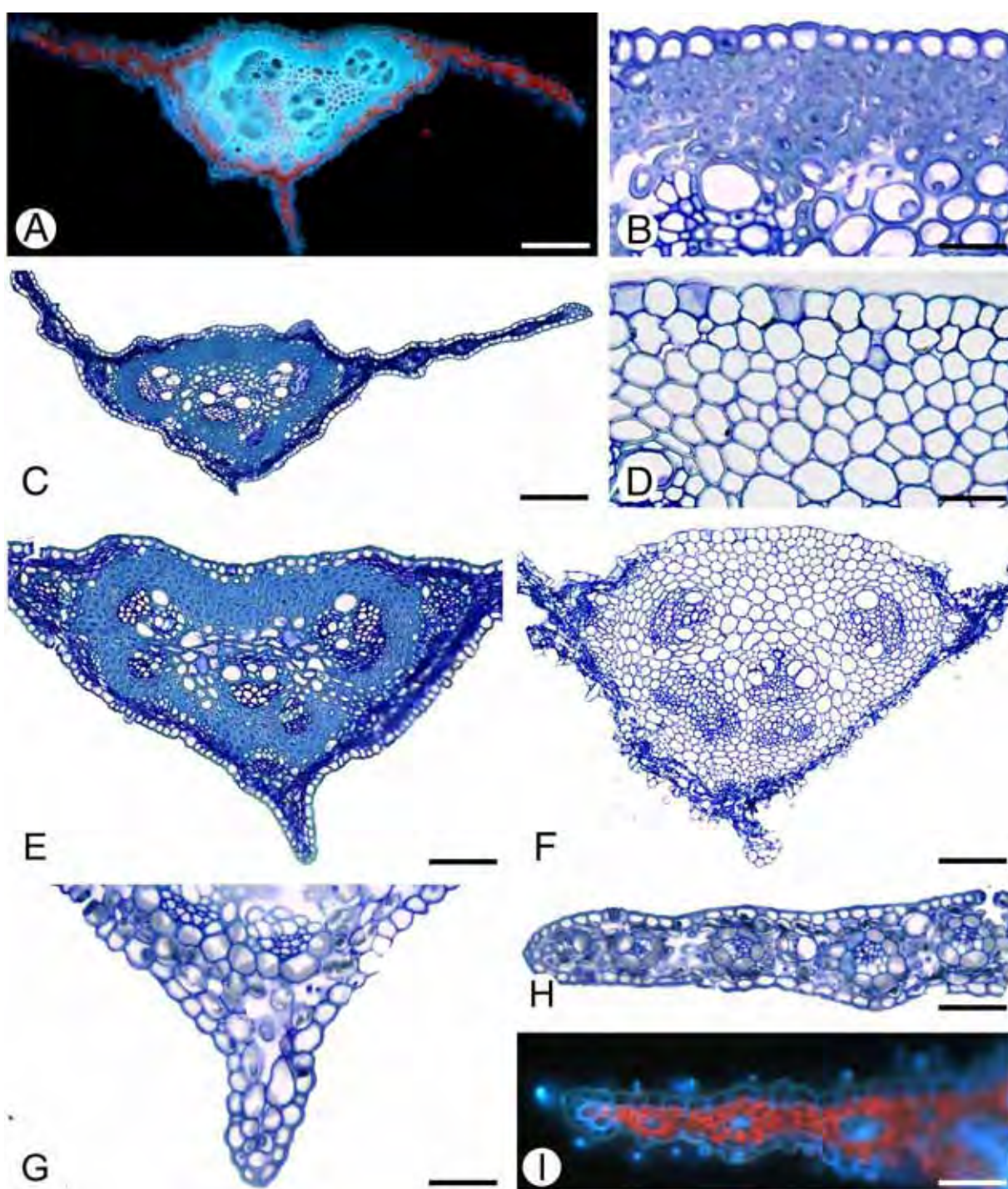
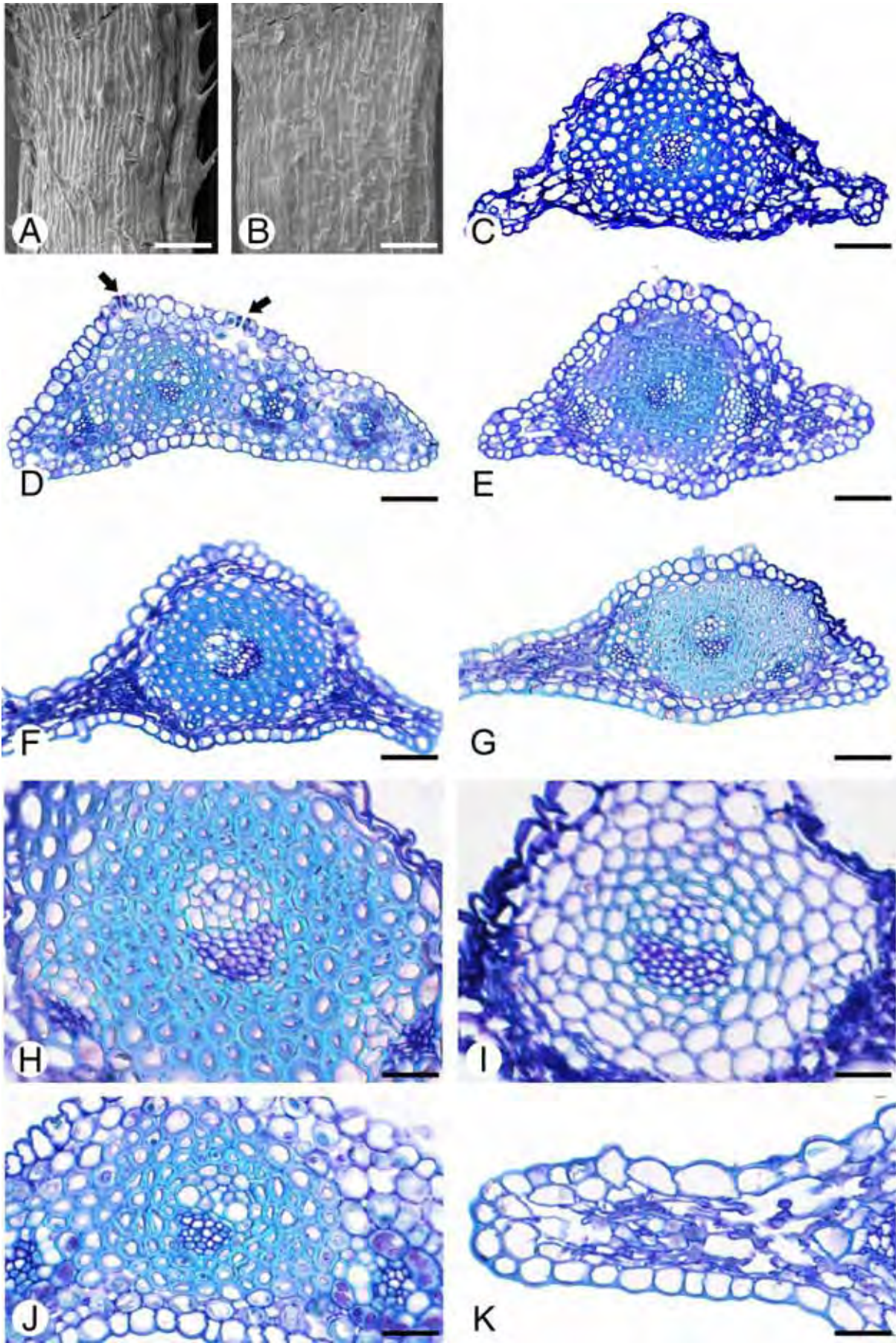


Figura 5. Aspectos micromorfológicos e anatômicos de pedicelo de *Paspalum* complexo Dilatata. A-B. Vista frontal. A. *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*. B. *P. dasypleurum*. C - K. Secções transversais da região basal: C. *P. dasypleurum*. D. *P. urvillei*. E. *P. dilatatum* subsp. *dilatatum*. F. *P. dilatatum* biótipo Vacaria. G. *P. dilatatum* biótipo Virasoro. H. *P. pauciciliatum*. I. *P. dilatatum* biótipo Vacaria. J. *P. urvillei*. K. *P. dilatatum* biótipo Uruguaiana. Barras = 100 μm (C); 80 μm (A, B); 50 μm (E); 40 μm (D, F, G); 18 μm (H, I, J, K).



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As características morfológicas e anatômicas levantadas neste trabalho mostraram-se úteis à taxonomia de *Paspalum* L.

Caracteres morfológicos dos diásporos de *Paspalum* revelam importância na identificação de espécies. A germinação ocorre com a emergência da coleoriza, seguida pelo coleóptilo. No desenvolvimento pós-seminal o mesocótilo se desenvolve em rizoma que faz a conexão vascular entre as raízes adventícias e as folhas. O eofilo emerge após a expansão do coleóptilo. Esse padrão coincide com aquele reportado para a família presente na literatura e indica que as diferenças na forma de crescimento das espécies devem ocorrer nos estágios posteriores.

A anatomia de folhas e colmos foi útil para a identificação das espécies de *Paspalum*. Na folha, a presença de macropelos na epiderme, a forma da nervura central e da margem, o tipo de células buliformes, a presença de costelas e de canais de ar foram os caracteres mais importantes para diferenciar as espécies. Caracteres anatômicos de colmo também apresentam potencial taxonômico e quando associados com os da folha, permitem melhor delimitação das espécies. A presença de canais de mucilagem no colmo é descrita pela primeira vez para o gênero.

Dentre os caracteres de órgãos vegetativos e de colmos, aqueles das folhas e dos colmos são úteis para a delimitação de *Paspalum barretoii* e *P. minus*, consideradas por alguns autores como sinônimas. As diferenças anatômicas encontradas entre as duas espécies mostram que mesmo táxons morfológicamente semelhantes podem ser diferenciados.

Com relação aos órgãos reprodutivos, alguns caracteres da inflorescência e espiguetas como os micromorfológicos de gluma, lema e pálea, e anatômicos de ráquis e de pedicelo, também apresentam valor taxonômico na distinção dos dez táxons do complexo *Dilatata*. A

anatomia do pedicelo, analisada pela primeira vez para exemplares do gênero, tem potencial taxonômico como: contorno e tamanho das alas, número de camadas de células que constituem o anel esclerenquimático e nível de espessamento das paredes das suas células.

Os resultados aqui apresentados demonstram que caracteres morfológicos e anatômicos de órgãos vegetativos, bem como de órgãos reprodutivos (inflorescência e espiguetas) são informativos e importantes para a relação taxonômica de *Paspalum*.