

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - RIO CLARO



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RENATA CALLEGARI FERRARI

ANATOMIA DE FOLHA E EIXO DA INFLORESCÊNCIA: CONTRIBUIÇÕES À TAXONOMIA DE RAPATEACEAE



RENATA CALLEGARI FERRARI

ANATOMIA DE FOLHA E EIXO DA INFLORESCÊNCIA: CONTRIBUIÇÕES À TAXONOMIA DE RAPATEACEAE

Orientadora: Dra. Aline Oriani

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" -Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas.

Rio Claro 2015

581.4 Ferrari, Renata Callegari

F375a Anatomia de folha e eixo da inflorescência: contribuições à taxonomia de Rapateaceae / Renata Callegari Ferrari. - Rio Claro, 2015

52 f. : il., figs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Ciências Biológicas) -Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro

Orientador: Aline Oriani

1. Anatomia vegetal. 2. Órgãos vegetativos. 3. Escapo. 4. Monotrema. 5. Stegolepis. 6. Saxofridericia. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP Campus de Rio Claro/SP

Aos meus pais e à minha irmã por sempre acreditarem em mim, Ao Vinícius pelo incentivo e pelo apoio, este trabalho é dedicado a vocês.

AGRADECIMENTOS

A tarefa de escrever este texto foi mais difícil e emocional do que eu pensei. Comecei a relembrar alguns dos anos mais incríveis da minha vida e tentei agradecer ao maior número possível de pessoas que contribuíram para isso. A todos os que estiveram presentes direta e indiretamente ao longo destes anos, meus sinceros agradecimentos!

Primeiramente, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas duas bolsas PIBIC concedidas (processos n° 144363/2011-9 e 118600/2012-5) para elaboração deste trabalho. Agradeço também à FAPESP pelo apoio financeiro.

Agradeço imensamente à Professora Dra. Vera Lúcia Scatena pela orientação nos meus primeiros anos de iniciação científica, que muito engrandeceu minha formação. Por compartilhar comigo seus conhecimentos sobre morfologia e anatomia vegetal, por todas as oportunidades oferecidas, pelas viagens de campo, pelas broncas e lições de vida e, principalmente, pelo apoio e incentivo em todas as horas, muitíssimo obrigada! Revelo aqui minha imensa admiração por você e pelo seu trabalho, e desejo sempre o melhor na sua vida.

Muito obrigada à Dra. Aline Oriani pela sua brilhante orientação e apoio, que possibilitaram a elaboração deste trabalho e publicação do mesmo em um artigo científico. Admiro muito você como pessoa e profissional, muito obrigada!

Obrigada ao Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro e ao Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica pela infraestrutura concedida, e a todos os funcionários e amigos deste departamento que de alguma forma me ajudaram durante a realização deste trabalho. Pela ajuda e atenção, obrigada à secretária Célia Hebling, ao técnico Ari Pesce e a todos os professores. Pelos bons momentos no laboratório, as discussões científicas e não científicas, as viagens de campo e toda ajuda que me deram, muito obrigada: Ângela Daltin, Blanca Dugarte, Paula Maldonado, Thales Henrique, Arthur de Lima, Kaire Nardi, Mariana Monteiro, Fernanda Martins, Fernanda Passarini, Letícia Poli e, mais recentemente, Kleber Resende. Agradecimentos especiais à Mayra Eichemberg pela amizade e paciência ao ensinar procedimentos e técnicas para a Ângela e para mim.

Agradeço aos meus amigos pelo divertimento e apoio ao longo dos trabalhos e provas, obrigada Ângela Daltin, Cynthia Ciamarro, Marcos Simões, Ivan Provinciato, Carolina Dias, Guilherme Rodrigues, Diogo Milani e Viviane Lopes. Obrigada também ao pessoal da kit Eduardo Félix, Mayara Sakamoto, Victor Valle e os gêmeos Vinícius e Guilherme Grande por toda a diversão.

Agradecimento especial para o meu melhor amigo e melhor namorado do mundo, Vinícius Gastaldi, que se forma junto comigo. Ao olhar para trás, percebo que foi uma jornada incrível em grande parte graças a você. Pela alegria nos bons momentos e pelo apoio nos momentos difíceis, por tudo o que vivemos aqui e no exterior, por toda a sua ajuda e todo o seu amor, muito obrigada!

Por fim, mas não menos importante (pelo contrário!), obrigada aos melhores pais do mundo, Maria Callegari Ferrari e Otair Ferrari, por todo o amor, dedicação e paciência. Todo o meu sucesso é dedicado a vocês! Obrigada também à melhor irmã do mundo, Elisa Ferrari, que agora alegra todos os meus dias por ter vindo morar comigo. Vocês são meu porto seguro, muito obrigada por tudo.

"'I wish it need not have happened in my time', said Frodo. 'So do I', said Gandalf, 'and so do all who live to see such times. But that is not for them to decide. All we have to decide is what to do with the time that is given us'."

- J. R. R. Tolkien, "A Sociedade do Anel"

RESUMO

A anatomia de folhas e eixos da inflorescência foi estudada em seis espécies de Rapateaceae (quatro espécies de Monotrema, Stegolepis guianensis e Saxofridericia aculeata), visando contribuir com a taxonomia da família. A forma e a estrutura da nervura central da lâmina foliar e a forma do eixo da inflorescência em secção transversal são caracteres diagnósticos para as espécies estudadas. Todas as espécies de *Monotrema* apresentam células da epiderme e da bainha externa dos feixes vasculares com compostos fenólicos em ambos os órgãos estudados; lâmina foliar com parênquima clorofiliano palicádico e esponjoso, parênquima braciforme e lacunas de ar entre os feixes vasculares; bainha foliar com idioblastos com compostos fenólicos no mesofilo; eixo da inflorescência com células epidérmicas tabulares e com lacunas de ar no córtex e na medula. Estas características são úteis na delimitação da tribo Monotremeae e dão suporte à subfamília Monotremoideae. Stegolepis guianensis apresenta células epidérmicas com paredes espessadas e parênquima clorofiliano plicado em ambos os órgãos estudados; lâmina foliar com feixes de fibras subepidérmicos na face abaxial e mesofilo heterogêneo, com parênquima clorofiliano plicado; eixo da inflorescência com células epidérmicas arredondadas, hipoderme com células de paredes parcialmente espessadas e medula com células parenquimáticas isodiamétricas e com feixes vasculares. Saxofridericia aculeata apresenta células epidérmicas papilosas em ambos os órgãos estudados; lâmina foliar com mesofilo isobilateral, com feixes de fibras subepidérmicos em ambas as faces e parênquima clorofiliano regular; bainha foliar com hipoderme em ambas as faces e feixes de fibras dispersos no mesofilo; eixo da inflorescência com córtex indefinido e hipoderme com células de paredes espessadas. As características listadas para Stegolepis guianensis e Saxofridericia aculeata apresentam valor específico e oferecem subsídio ao posicionamento desses gêneros em tribos diferentes.

Palavras-chave: órgãos vegetativos . escapo . Monotrema . Stegolepis . Saxofridericia

ABSTRACT

The anatomy of leaves and inflorescence peduncles was studied in species of Monotrema (4 spp.), Stegolepis (1 sp.) and Saxofridericia (1 sp.), aiming to contribute to the taxonomy of Rapateaceae. The form and structure of leaf blade midrib and the form of the inflorescence peduncle are diagnostic characteristics for the studied species. *Monotrema* is distinguished by: epidermal and vascular bundle outer sheath cells containing phenolic compounds in both organs; leaf blade with palisade and spongy chlorenchyma, arm-parenchyma, and air canals between the vascular bundles; leaf sheath with phenolic idioblasts in the mesophyll; inflorescence peduncle with tabular epidermal cells and air canals in the cortex and pith. Such characteristics support the recognition of Monotremoideae, which includes Monotrema. Stegolepis guianensis is distinguished by thick-walled epidermal cells and a plicate chlorenchyma in both organs; leaf blade with subepidermal fiber strands in abaxial surface and a heterogeneous mesophyll; inflorescence peduncle with rounded epidermal cells, a hypodermis with slightly thick-walled cells, and a pith with isodiametric cells and vascular bundles. Saxofridericia aculeata is distinguished by papillate epidermal cells in both organs; isobilateral leaf blade with subepidermal fiber strands in both surfaces and a regular chlorenchyma; leaf sheath with a hypodermis in both surfaces and fiber bundles in the mesophyll; inflorescence peduncle with an undefined cortex and a hypodermis with thickwalled cells. Stegolepis guianensis shares few characteristics with Saxofridericia aculeata, supporting their placement in different tribes.

Keywords: vegetative organs . scape . Monotrema . Stegolepis . Saxofridericia

SUMÁRIO

9
. 12
13
. 13
. 13
14
. 15
15
17
. 18
20
25
. 29
29
30
31
33
35
. 37
39
40
-

1 INTRODUÇÃO

Poales engloba cerca de 20.000 espécies distribuídas em 16 famílias, o que corresponde a aproximadamente um terço das espécies de monocotiledôneas (LINDER; RUDALL, 2005; APG III, 2009; GIVNISH et al., 2010; BOUCHENAK-KHELLADI et al., 2014). O estudo desta ordem é de grande relevância científica pelo fato de existirem clados com relações filogenéticas ainda incertas e devido à importância econômica e ecológica do grupo como um todo (SOLTIS et al., 2000; BREMER, 2002; DAVIS et al., 2004; LINDER; RUDALL 2005; CHASE et al., 2006; GIVNISH et al., 2010; BOUCHENAK-KHELLADI et al., 2014; HERTWECK et al., 2015).

A posição filogenética de Rapateaceae dentro de Poales é um dos pontos mais controversos nas análises recentes. Essa família foi previamente agrupada com Xyridaceae, Eriocaulaceae, Mayacaceae e Commelinaceae na ordem Commelinales, com base apenas em dados morfológicos (DAHLGREN et al., 1985). Com o advento das análises filogenéticas baseadas em dados moleculares, Rapateaceae foi incluída na ordem Poales, sendo uma das primeiras famílias a divergir, juntamente com Bromeliaceae e Typhaceae (BREMER, 2002; DAVIS et al., 2004; CHASE et al., 2006; GIVNISH et al., 2006, 2010). As demais famílias de Poales aparecem formando quatro clados, denominados: ciperídeo, xyrídeo, restiídeo e graminídeo (LINDER; RUDALL, 2005; CHASE et al., 2006; GIVNISH et al., 2010). Na análise filogenética mais recente e mais abrangente de Poales, que incluiu representantes das 16 famílias, Rapateaceae foi reposicionada dentro do clado ciperídeo, porém com baixo suporte filogenético (BOUCHENAK-KHELLADI et al., 2014). Dada a instabilidade de algumas famílias, como Rapateaceae, ressalta-se a importância de estudos anatômicos com representantes da ordem, buscando-se suporte às diferentes hipóteses filogenéticas apresentadas até o momento.

Rapateaceae é neotropical e teve sua origem há cerca de 65 milhões de anos, em áreas com solos pobres e inundados do Planalto das Guianas (GIVNISH et al., 2000). Posteriormente, invadiu regiões de sub-bosque próximas a rios, campos abertos com solo arenoso, encostas e topos de tepuis no norte da América do Sul (GIVNISH et al., 2000, 2004). Atualmente, distribui-se em dez países sul-americanos, principalmente na região do Planalto das Guianas e da Bacia Amazônica (MAGUIRE, 1958, 1965; STEVENSON et al., 1998; BERRY, 2004), com exceção de *Maschalocephalus*, gênero monotípico e que ocorre na costa oeste do continente africano (STEVENSON et al., 1998; GIVNISH et al., 2000, 2004; BERRY, 2004).

A família inclui 16-17 gêneros e cerca de 100 espécies (MAGUIRE, 1958; STEVENSON et al., 1998; BERRY, 2004). No Brasil ocorrem nove gêneros e cerca de 40 espécies, distribuídas principalmente na região Norte; sendo as únicas exceções *Cephalostemon*, que se distribui também nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, *Rapatea* na região Nordeste, e *Schoenocephalium* na região Centro-Oeste (SOUZA; LORENZI, 2012; MONTEIRO, 2014).

Rapateaceae foi primeiramente dividida em duas subfamílias e quatro tribos com base em caracteres morfológicos reprodutivos: Rapateoideae (com as tribos Rapateeae e Monotremeae) e Saxofridericioideae (com as tribos Saxofridericieae e Schoenocephalieae) (MAGUIRE, 1958; STEVENSON et al., 1998). Contudo, análises filogenéticas baseadas em dados moleculares, morfológicos e anatômicos identificaram a subfamília Rapateoideae e a tribo Saxofridericieae como parafiléticas (GIVNISH et al., 2000). Foi sugerida então uma nova classificação para a família, incluindo três subfamílias e cinco tribos (Tabela 1), o que tornou todos os grupos monofiléticos: Rapateoideae (com a tribo Rapateeae), Monotremoideae (com a tribo Monotremeae) e Saxofridericioideae (com as tribos Saxofridericieae, Schoenocephalieae e Stegolepideae) (GIVNISH et al., 2004).

Estudos já realizados em Rapateaceae envolvem análises morfológicas (MAGUIRE, 1958; 1965), palinológica (CARLQUIST, 1961), embriológica (VENTURELLI; BOUMAN, 1988), fisiológica (CRAYN et al., 2001), filogenéticas (GIVNISH et al., 2000; 2004), anatômicas de órgãos vegetativos (CARLQUIST, 1966; 1969; DALTIN et al., 2015) e reprodutivos (ORIANI; SCATENA, 2013). Apesar das divergências taxonômicas em nível infrafamiliar apontadas pelas análises filogenéticas, Givnish e colaboradores (2000) ressaltam que dados morfológicos e anatômicos contribuem para a elucidação das relações em nível de tribo e gênero. Corroborando esta afirmação, o estudo da anatomia floral em representantes das tribos Rapateeae, Monotremeae e Stegolepideae identificou caracteres diagnósticos para as subfamílias, tribos e gêneros, apoiando a atual classificação infrafamiliar (ORIANI; SCATENA, 2013).

Todas as espécies de Rapateaceae apresentam folhas alongadas e achatadas com nervação paralela e arranjo dístico (MAGUIRE, 1958; BERRY, 2004). Apresentam bainhas dobradas com formato de "V" em secção transversal, que são torcidas e paralelas à lâmina foliar (ARBER, 1922, 1925; CARLQUIST, 1969; BERRY, 2004), havendo ocasionalmente um pecíolo (ARBER, 1922, 1925; MAGUIRE, 1958). O pecíolo corresponde a uma constrição do limbo foliar entre a bainha e a lâmina e é comum em espécies de *Saxofridericia* e *Rapatea* (MAGUIRE, 1958).

De acordo com Carlquist (1969), que fez a descrição anatômica da família, as folhas caracterizam-se por apresentar estômatos paracíticos na face abaxial, tricomas unisseriados que produzem mucilagem, parênquima clorofiliano paliçádico e esponjoso, idioblastos taniníferos, células não fotossintetizantes que colapsam na maturidade e feixes vasculares colaterais. O eixo da inflorescência apresenta hipoderme esclerenquimática, idioblastos taniníferos e aerênquima com células braciformes. O autor também relatou a presença de células contendo corpos silicosos associadas ao esclerênquima subepidérmico em ambos os órgãos.

Daltin et al. (2015) analisaram a anatomia de folha e eixo da inflorescência de representantes da tribo Rapateeae e levantaram características úteis na delimitação dos gêneros. Dessa forma, estudos com representantes das demais tribos contribuirão com características úteis para diferenciá-las, possibilitando também inferências sobre suas relações de parentesco.

Subfamília	Tribo	Gêneros
Rapateoideae	Rapateeae	Rapatea, Spathanthus, Cephalostemon, Duckea
Monotremoideae	Monotremeae Monotrema, Potarophytum, Windsori	
	Maschalocephalus	
	Saxofridericieae	Saxofridericia
Saxofridericioideae	Schoenocephalieae	Schoenocephalium, Kunhardtia, Guacamaya
	Stegolepideae	Stegolepis, Amphiphyllum, Epidryos,
		Marahuacaea, Phelpsiella

Tabela 1. Classificação de Rapateaceae de acordo com Givinish et al. (2004)

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo caracterizar anatomicamente folhas e eixos da inflorescência de *Monotrema aemulans*, *Monotrema affine*, *Monotrema bracteatum*, *Monotrema xyridoides* (tribo Monotremeae), *Saxofridericia aculeata* (tribo Saxofridericieae) e *Stegolepis guianensis* (tribo Stegolepideae), buscando identificar características úteis para a taxonomia e filogenia da família. Considerando as informações sobre anatomia de Rapateaceae já disponíveis na literatura, esta análise foi realizada dentro de uma abordagem comparativa, visando dar suporte anatômico à atual classificação infrafamiliar de Rapateaceae.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Espécies estudadas

A anatomia de folhas e eixos da inflorescência foi estudada em seis espécies brasileiras de Rapateaceae, incluídas em três diferentes tribos e representando duas das três subfamílias: MONOTREMOIDEAE – tribo Monotremeae: *Monotrema aemulans* Körn (Lombardi et al. 7551), *Monotrema affine* Maguire (Lombardi et al. 7591), *Monotrema bracteatum* Maguire (Lombardi et al. 7562), *Monotrema xyridoides* Gleason (Lombardi et al. 7529, 7530); SAXOFRIDERICIOIDEAE – tribo Saxofridericieae: *Saxofridericia aculeata* Körn (Lombardi 7620); tribo Stegolepideae: *Stegolepis guianensis* Klotzsch ex Körn (Lombardi et al. 7656).

As espécies de *Monotrema* foram coletadas no Parque Nacional do Viruá (Caracaraí/RR), em áreas de campinaranas na região Amazônica. *Saxofridericia aculeata* foi coletada na Reserva Florestal Adolpho Ducke (Manaus/AM), em sub-bosque da floresta Amazônica, e *Stegolepis guianensis* foi coletada nos tepuis do Parque Nacional do Monte Roraima/RR. Material testemunho encontra-se depositado no Herbário Rioclarense (HRCB) da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) – Câmpus de Rio Claro. Parte do material coletado foi fixada em FAA 50% (formaldeído 37%, ácido acético glacial e etanol 50%, 1:1:18 v/v) (JOHANSEN, 1940) e posteriormente armazenada em etanol 70% para o estudo anatômico. Foram analisados pelos menos três indivíduos de cada espécie.

3.2. Descrição morfológica

As espécies de *Monotrema* atingem até 70cm de altura e apresentam folhas estreitas, com bainha medindo 6–12cm de comprimento e 1–15cm de largura, e lâmina medindo 20–80cm de comprimento e 0.2–1.6cm de largura (MAGUIRE, 1958; BERRY, 2004). *Saxofridericia aculeata* atinge 1,5m de altura e suas folhas são espinescentes, apresentando bainha com 10–40cm de comprimento e 4–10cm de largura, que se contrai em um pecíolo com 5–15cm de comprimento e depois se expande na lâmina foliar com 1–1.5m de comprimento e 4–10cm de largura (BERRY, 2004). *Stegolepis guianensis* atinge até 2m de altura e suas folhas são ensiformes e mais espessas em relação às das demais espécies estudadas, apresentando bainha com 20–25cm de comprimento e 6–9cm de largura, e lâmina com 60–100cm de comprimento e 3.5–5.5cm de largura (BERRY, 2004). Todas as espécies

apresentam caule aéreo curto, com folhas dispostas em roseta. Os eixos da inflorescência surgem nas axilas das folhas e são alongados, medindo cerca de 80–100cm nas espécies de *Monotrema*, 15–60cm em *Saxofridericia aculeata* e 1–1,5m em *Stegolepis guianensis* (BERRY, 2004).

3.3. Metodologia

Secções anatômicas transversais, longitudinais e paradérmicas foram feitas à mão livre, utilizando-se lâminas de barbear, na região mediana da lâmina e bainha foliar, do pecíolo, quando presente, e do eixo da inflorescência. Também foram utilizadas amostras provenientes de material herborizado, as quais foram fervidas em água com glicerina para expansão dos tecidos. As secções foram coradas com fucsina básica e azul de Astra (ROESER, 1972) e montadas em lâminas semipermanentes com gelatina glicerinada. Foram realizados testes histoquímicos usando-se Lugol (solução aquosa de iodeto de potássio) para detecção de grãos de amido e cloreto férrico 10% para detecção de compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940).

Parte do material foi desidratada em série n-butílica, incluída em (2-hidroxietil)metacrilato (Leica Historesin Embedding Kit) (GERRITS; SMID, 1983) e seccionada em micrótomo rotativo (Leica, RM 2245) com 7µm de espessura utilizando-se lâminas de aço descartáveis. As secções foram coradas com azul ácido periódico, reagente de Schiff (PAS) e azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964; FEDER; O'BRIEN, 1968) e montadas em lâminas permanentes com Entellan (Merck).

A documentação dos resultados foi feita por meio de fotomicrografias obtidas em microscópios de luz (Leica, DMLB e DM 4000B) equipados com capturadores de imagem (Leica, DFC 295 e DFC 450), utilizando-se o software LAS (Leica Application Suite V4.0.0).

4 RESULTADOS

4.1. Lâmina foliar

As características anatômicas das folhas que variaram entre as espécies estudadas estão listadas na Tabela 1 (Anexo A). Em vista frontal, a lâmina foliar de todas as espécies estudadas apresenta células epidérmicas curtas com paredes sinuosas e finas nas duas faces (FIG. 1a–b), com exceção de *Stegolepis guianensis* que apresenta células epidérmicas com paredes espessadas (FIG. 1c). Todas as espécies apresentam estômatos tetracíticos distribuídos aleatoriamente (FIG. 1a, c). As células epidérmicas podem apresentar corpos silicosos (FIG. 1b, setas), especialmente quando adjacentes ao tecido de sustentação do mesofilo.

Em secção transversal, a epiderme (*e*) é uniestratificada e composta por células tabulares de mesmo tamanho em ambas as faces, ou maiores na face adaxial (FIG. 1d, e, h–j). *Saxofridericia aculeata* apresenta células epidérmicas papilosas na face abaxial na região da nervura central (FIG. 1f). Nas espécies de *Monotrema*, as células epidérmicas podem conter compostos fenólicos (FIG. 1d, i, 2a–b, d–e, h). Os estômatos estão localizados somente na face abaxial da lâmina em *M. xyridoides* (FIG. 1i), *Saxofridericia aculeata* e *Stegolepis guianensis* (FIG. 1j), e nas duas faces nas demais espécies estudadas (FIG. 1g). *Stegolepis guianensis* apresenta feixes de fibras subepidérmicos (*fs*) na face abaxial da lâmina que interrompem a hipoderme (FIG. 1j), enquanto que *Saxofridericia aculeata* apresenta feixes de fibras em ambas as faces (FIG. 1h).

Hipoderme (*h*) composta por células de paredes espessadas ocorre somente na face adaxial da lâmina de *Monotrema xyridoides* (FIG. 1d, i) e em ambas as faces da lâmina em *Stegolepis guianensis* (FIG. 1e, j). Em *M. xyridoides*, as células da hipoderme podem conter compostos fenólicos (FIG. 1d, asterisco).

A lâmina foliar é dorsiventral nas espécies de *Monotrema*, com mesofilo diferenciado em parênquima clorofiliano paliçádico (*pch*) e esponjoso (*sch*) (FIG. 1i). O mesofilo também apresenta parênquima braciforme (*ap*) e lacunas de ar (*ac*) formadas por células colapsadas entre os feixes vasculares (FIG. 1i).

Em *Stegolepis guianensis*, a lâmina também é dorsiventral, sendo o mesofilo heterogêneo e dividido em diferentes camadas: ocorrem uma a duas camadas subepidérmicas de células de paredes finas contendo compostos fenólicos voltadas à face adaxial (FIG. 1e, j, número 1); seguidas de duas a cinco camadas de células com paredes parcialmente

espessadas, cujo lume é maior em comparação às demais células do mesofilo (FIG. 1e, j, número 2); feixes de fibras ocorrem interrompendo a hipoderme (FIG. 1j, *fb*); e parênquima clorofiliano plicado (FIG. 1j, número 3). Entre os feixes vasculares observa-se parênquima braciforme, que se estende por toda a porção abaxial do mesofilo (FIG. 1j, *ap*).

Em *Saxofridericia aculeata*, a lâmina é isobilateral. O mesofilo é composto por parênquima clorofiliano regular (*rch*), cujas células são alongadas anticlinalmente (FIG. 1h), e por lacunas de ar (*ac*) entre os feixes vasculares, onde podem ser observados resquícios de paredes celulares de células colapsadas (FIG. 1h).

A forma e a estrutura da nervura central da lâmina foliar variaram entre as espécies estudadas. Em *Monotrema aemulans* e *Stegolepis guianensis*, a superfície da lâmina na região da nervura central é reta, sendo a nervura composta por apenas um feixe vascular em *M. aemulans* (FIG. 2a), e por um feixe maior e quatro menores em *S. guianensis* (FIG. 2c, setas). Em *Monotrema affine* (FIG. 2b), *M. xyridoides* (FIG. 2d) e *M. bracteatum* (FIG. 2e) a superfície da lâmina na região da nervura central é curvilínea, sendo a nervura composta por um feixe maior e dois, quatro e cinco feixes menores, respectivamente. Em *Saxofridericia aculeata* (FIG. 2f), a superfície é plano–convexa e a nervura é composta por um feixe vascular grande e numerosos feixes menores dispostos aleatoriamente. Em *Stegolepis guianensis* e *Saxofridericia aculeata*, todos os feixes vasculares da região da nervura central apresentam uma calota de fibras voltada ao floema (FIG. 2c, f).

Todas as espécies estudadas apresentam feixes vasculares colaterais de tamanhos variados envoltos por uma bainha dupla. A bainha externa (*os*) é parenquimática, constituída por células de paredes finas e que podem conter compostos fenólicos nas espécies de *Monotrema* (FIG. 2a, b, d–e). A bainha interna (*is*) é esclerenquimática, composta por células de paredes espessadas (FIG. 1h–j, 2a–h,). Os feixes vasculares maiores apresentam extensão de bainha em todas as espécies estudadas (FIG. 2a–e), exceto em *Saxofridericia aculeata* (FIG. 1h, 2f). Estas extensões são formadas por células de paredes espessadas e podem ser conectadas às duas faces da lâmina, como ocorre na maioria das espécies de *Monotrema* (FIG. 2a–b, d), ou conectadas somente à face abaxial, como em *M. bracteatum* (FIG. 2e) e *Stegolepis guianensis* (FIG. 2c).

A margem foliar é aguda em *Monotrema aemulans* e *Stegolepis guianensis* (FIG. 2g) e obtusa nas demais espécies estudadas (FIG. 2h). *Monotrema aemulans, Stegolepis guianensis* e *Saxofridericia aculeata* apresentam células de paredes espessadas (*scl*) logo abaixo da epiderme na margem foliar (FIG. 2g), enquanto as demais espécies apresentam parênquima clorofiliano (*chl*) (FIG. 2h).

4.2. Bainha foliar

A Tabela 2 lista as características da bainha foliar que variaram entre as espécies estudadas (Anexo B). Em vista frontal, todas as espécies apresentam células epidérmicas alongadas com paredes retas (FIG. 3a) e tricomas unisseriados e multicelulares (FIG. 3b–c). Os tricomas ocorrem exclusivamente na face adaxial e são formados por três a seis células (FIG. 3c), que podem conter compostos fenólicos em *Saxofridericia aculeata*.

Em secção transversal, a bainha foliar de todas as espécies estudadas apresenta células epidérmicas (*e*) de paredes finas (FIG. 3d–j) com formato arredondado ou tabular, exceto na face abaxial de *Saxofridericia aculeata*, em que as células são papilosas (FIG. 3d, j). As células epidérmicas da face adaxial apresentam lume maior em relação às células da face abaxial (FIG. 3f–g, i–j). Nas espécies de *Monotrema*, as células epidérmicas podem conter compostos fenólicos (FIG. 3f–h). *Monotrema bracteatum* apresenta feixes de fibras subepidérmicos (*fs*) voltados à face abaxial (FIG. 3f).

A hipoderme (*h*) pode ser composta por uma ou numerosas camadas de células de paredes espessadas voltadas às duas faces em *Saxofridericia aculeata* (FIG. 3d, i–j), ou apenas à face abaxial, como nas demais espécies estudadas (FIG. 3e, g). *Monotrema bracteatum* não apresenta hipoderme na bainha foliar (FIG. 3f).

Em todas as espécies estudadas, o mesofilo da bainha foliar é isobilateral, composto por células parenquimáticas isodiamétricas nas camadas subepidérmicas e por parênquima braciforme (*ap*) com lacunas de ar (*ac*) na região central (FIG. 3f–g, i–j). Idioblastos contendo grãos de amido (*sg*) também podem estar presentes (FIG. 3f–g). Além disso, todas as espécies de *Monotrema* apresentam idioblastos contendo compostos fenólicos (*i*) distribuídos aleatoriamente no mesofilo (FIG. 3f–g). *Stegolepis guianensis* apresenta três a quatro camadas de células parcialmente espessadas adjacentes à hipoderme na face abaxial (FIG. 3e), e *Saxofridericia aculeata* apresenta feixes de fibras (*fb*) distribuídos aleatoriamente no mesofilo (FIG. 3i–j).

Os feixes vasculares são colaterais, variam em tamanho e são envolvidos por duas bainhas, sendo a externa parenquimática e a interna esclerenquimática (FIG. 3f–g, i–j). Nas espécies de *Monotrema*, as células da bainha parenquimática podem conter compostos fenólicos. Nos feixes vasculares de *Stegolepis guianensis* e *Saxofridericia aculeata* observa-se uma calota de fibras sobre o floema (FIG. 3i–j). Os feixes vasculares têm distribuição linear em *Monotrema affine* e *M. xyridoides* (FIG. 3g), e aleatória nas demais espécies estudadas (FIG. 3f, i, k).

A margem da bainha foliar é formada pelo prolongamento da epiderme em todas as espécies estudadas (FIG. 3h).

Saxofridericia aculeata é a única espécie que apresenta constrição da lâmina foliar antes da bainha, formando um pecíolo (FIG. 3k). O pecíolo possui formato circular em secção transversal e apresenta configuração anatômica semelhante à da bainha (FIG. 3i–j).

4.3. Eixo da inflorescência

As características do eixo da inflorescência que diferiram entre as espécies estudadas estão listadas na Tabela 3 (Anexo C). Em vista frontal, todas as espécies apresentam estômatos tetracíticos distribuídos aleatoriamente. A epiderme do eixo da inflorescência é similar à epiderme da lâmina foliar, sendo constituída por células de paredes finas, exceto em *Stegolepis guianensis*, cujas células epidérmicas apresentam paredes espessadas (FIG. 1a–c).

Em secção transversal, a forma do eixo da inflorescência variou entre as espécies estudadas, sendo circular e alada em *Monotrema aemulans* (FIG. 4a), circular em *M. xyridoides* (FIG. 4b), pentagonal em *M. bracteatum* (FIG. 4c) e *M. affine* (FIG. 4d), elíptica em *Stegolepis guianensis* (FIG. 4e), e deltoide em *Saxofridericia aculeata* (FIG. 4f).

Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada (FIG. 4g–k) e apresenta células tabulares nas espécies de *Monotrema* (FIG. 4i–j), arredondadas em *Stegolepis guianensis* (FIG. 4h) e papilosas em *Saxofridericia aculeata* (FIG. 4k). Nas espécies de *Monotrema* as células epidérmicas podem conter compostos fenólicos (FIG. 4j, seta). Em todas as espécies estudadas as células epidérmicas podem conter corpos silicosos, principalmente quando adjacentes aos feixes de fibras subepidérmicos (FIG. 4k, cabeça de seta).

Nas espécies de *Monotrema* e em *Stegolepis guianensis*, o córtex do eixo da inflorescência é definido e constituído por parênquima clorofiliano (FIG. 4a–e). Os feixes vasculares distribuem-se cilindricamente e cordões de fibras subepidérmicos podem estar conectados à bainha esclerenquimática dos feixes vasculares maiores (FIG. 4a–e). Nas espécies de *Monotrema*, tanto o córtex quanto a medula apresentam células braciformes (*ap*) e lacunas de ar (*ac*) formadas a partir de células colapsadas (FIG. 4a–d, i). *Monotrema aemulans* (FIG. 4j) e *Stegolepis guianensis* (FIG. 4h) apresentam vários feixes de fibras subepidérmicos (*fs*).

Em Stegolepis guianensis as células do parênquima clorofiliano (plc) são plicadas e podem conter idioblastos fenólicos (i) (FIG. 4e). A hipoderme (h) é distinta,

multiestratificada, sendo constituída por células de paredes parcialmente espessadas e interrompida por feixes de fibras (FIG. 4h). Ainda nesta espécie, a medula é formada por células parenquimáticas isodiamétricas, apresenta lacunas de ar bem definidas constituindo aerênquima (*ae*) e feixes vasculares simples dispersos aleatoriamente (FIG. 4m).

Em *Saxofridericia aculeata* o córtex é indefinido (FIG. 4f). Observa-se hipoderme constituída por células de paredes espessadas, parênquima braciforme (*ap*) (FIG. 4g, k) e feixes vasculares distribuídos aleatoriamente (FIG. 4f, g). Idioblastos com compostos fenólicos (*i*) podem estar presentes no parênquima braciforme (FIG. 4k).

Em todas as espécies estudadas os feixes vasculares são colaterais, envoltos por duas bainhas assim como nas folhas, e podem ser simples ou compostos (FIG. 4a–i). As células da bainha externa, que são parenquimáticas, podem conter compostos fenólicos nas espécies de *Monotrema* (FIG. 4a–d, i).

5 DISCUSSÃO

As espécies estudadas pertencem a diferentes subfamílias e tribos de Rapateaceae e todas compartilham as seguintes características: folhas e eixos da inflorescência com epiderme uniestratificada, células epidérmicas com corpos silicosos, estômatos tetracíticos aleatoriamente distribuídos e feixes vasculares colaterais de tamanhos variados envoltos por bainha dupla; bainha foliar com tricomas unisseriados na face adaxial; e eixo da inflorescência com parênquima braciforme e feixes vasculares colaterais simples e compostos. Essas características também foram citadas por Carlquist (1969) em sua descrição anatômica da família, em estudo envolvendo representantes de todas as tribos.

Algumas características de folhas e eixos da inflorescência de Rapateaceae encontradas neste trabalho corroboram o encontrado por Daltin et al. (2015), em estudo de folhas e eixos da inflorescência de seis espécies da tribo Rapateeae (subfamília Rapateoideae). Estas características são: lâmina foliar e eixo da inflorescência com células epidérmicas de paredes sinuosas em vista frontal; bainha foliar isobilateral com células epidérmicas de paredes retas, mesofilo composto por parênquima braciforme que delimita lacunas de ar e por células parenquimáticas isodiamétricas, e margem formada pelo prolongamento da epiderme.

Nossos resultados também permitiram identificar características que diferenciam gêneros e espécies, como destacado nas Tabelas 1, 2 e 3. Dentre essas características, a forma e estrutura da nervura central da lâmina foliar e a forma do eixo da inflorescência em secção transversal mostraram-se mais importantes para a identificação das espécies. Daltin e colaboradores (2015) verificaram que a forma do eixo da inflorescência em secção transversal diferencia os gêneros *Spathanthus, Rapatea, Cephalostemon* e *Duckea* entre si, enquanto a estrutura da nervura central da lâmina foliar apresenta valor específico para espécies da tribo Rapateeae.

Carlquist (1969) descreveu a ocorrência de estômatos paracíticos apenas na face abaxial das folhas como uma característica da família. Entretanto, no presente trabalho foram observados estômatos tetracíticos em todas as espécies estudadas. Além disso, a maioria das espécies de *Monotrema* apresenta folhas anfiestomáticas, com mesofilo dorsiventral. Ressaltase que a maioria das famílias de Poales apresenta folhas com estômatos paracíticos, exceto Bromeliaceae (SMITH; TILL, 1998). Esta família apresenta estômatos com pelo menos um par de células laterais e um par de células acessórias, como observado aqui para Rapateaceae e também por Daltin et al. (2015) em outros representantes da família. Deste modo, a ocorrência de estômatos tetracíticos é um caráter que suporta a proximidade filogenética entre Rapateaceae e Bromeliaceae, como indicado na maioria das análises filogenéticas (GIVNISH et al., 1999, 2006, 2010; CHASE et al., 2006; HERTWECK et al., 2015).

Carlquist (1969) também indicou a presença de células não fotossintéticas colapsadas nas folhas maduras. Aparentemente, isso pode estar relacionado à formação de lacunas de ar, que foram observadas em todos os órgãos estudados no presente trabalho, para as espécies de *Monotrema* e *Saxofridericia aculeata*. Considerando que estas espécies ocorrem em áreas bastante úmidas, como as campinaranas ou o sub-bosque da Floresta Amazônica (MONTEIRO 2014), a presença de lacunas de ar pode estar relacionada com maior aeração dos tecidos (CUTTER, 2002).

Dentre as cinco espécies existentes de *Monotrema* (STEVENSON et al., 1998; BERRY, 2004), quatro foram estudadas no presente trabalho. As características a seguir foram consideradas diagnósticas do gênero: folhas e eixos da inflorescência com compostos fenólicos nas células epidérmicas e nas células da bainha externa dos feixes vasculares; lâmina foliar com parênquima clorofiliano paliçádico e esponjoso e parênquima braciforme delimitando lacunas de ar entre os feixes vasculares; bainha foliar com idioblastos contendo compostos fenólicos aleatoriamente distribuídos no mesofilo; eixo da inflorescência com células epidérmicas tabulares, córtex definido e lacunas de ar no córtex e na medula. Embora Carlquist (1969) tenha considerado que as folhas de Rapateaceae comumente apresentam parênquima clorofiliano paliçádico e esponjoso, esta característica não foi observada no estudo de Daltin et al. (2015), podendo ser considerada exclusiva do gênero *Monotrema*.

Ressalta-se que a tribo Monotremeae foi previamente incluída na subfamília Rapateoideae, juntamente com a tribo Rapateeae (MAGUIRE, 1958), porém atualmente compõe a subfamília Monotremoideae e inclui apenas o gênero *Monotrema* (GIVNISH et al., 2004). De maneira geral, Rapateeae apresenta lâminas foliares com feixes de fibras subepidérmicos nas duas faces, parênquima clorofiliano regular ou plicado e parênquima braciforme; eixos da inflorescência com córtex indefinido, feixes de fibras subepidérmicos e idioblastos com compostos fenólicos (DALTIN et al., 2015). Tais características não estão presentes em Monotremeae, o que corrobora o posicionamento atual dessas tribos em subfamílias distintas.

De acordo com Maguire (1958) e Berry (2004), *Monotrema affine* é um híbrido que ocorre em simpatria com populações de *M. xyridoides* e *M. bracteatum* e apresenta características morfológicas florais e foliares intermediárias às das espécies parentais. No presente trabalho foi demonstrado que *M. affine* de fato compartilha características anatômicas com ambas as espécies parentais, sendo elas: a superfície da nervura central foliar

curvilínea e a margem da lâmina foliar composta por parênquima clorofiliano logo abaixo da epiderme. Em relação aos caracteres compartilhados com apenas uma espécie parental, *M. affine* e *M. xyridoides* compartilham: lâmina foliar com extensão de bainha dos feixes vasculares voltadas a ambas as faces e bainha foliar com hipoderme na face abaxial e feixes vasculares distribuídos linearmente. *Monotrema affine* compartilha com *M. bracteatum*: ausência de hipoderme na lâmina foliar e forma pentagonal do eixo da inflorescência em corte transversal.

Stegolepis inclui aproximadamente 35 espécies, sendo o maior gênero de Rapateaceae (STEVENSON et al., 1998; BERRY, 2004). Espécies deste gênero são frequentemente endêmicas, ocorrendo em vários tepuis próximos ou em apenas um único tepui da América do Sul, e podem ter sofrido pressão seletiva de incêndios ocasionais, o que teria as levado a desenvolver bases foliares robustas (GIVNISH. ET AL, 2004). O elevado número de caracteres exclusivos de *Stegolepis guianensis* observado nas folhas e eixos da inflorescência neste trabalho, e também nas flores por Oriani e Scatena (2013), pode ter ligação com processos de isolamento e especiação relacionados à conquista do ambiente de altitude elevada há cerca de 15 milhões anos (GIVNISH et al., 2004). Em particular, células epidérmicas e hipodérmicas de paredes espessadas observadas em ambos os órgãos estudados podem representar respostas adaptativas à radiação solar intensa, ação de ventos e do fogo.

O parênquima clorofiliano plicado, descrito no mesofilo das folhas e córtex do eixo da inflorescência de *Stegolepis guianensis*, foi associado à descrição feita por CARLQUIST (1969) de células do parênquima clorofiliano paliçádico com paredes enrugadas ("*infolding palisade walls*"). Este tipo de parênquima também ocorre no mesofilo de *Spathanthus bicolor* e *S. unilateralis* (DALTIN et al., 2015).

Saxofridericia inclui onze espécies distribuídas em ambientes úmidos e sombreados da América do Sul (BERRY, 2004). A anatomia do pecíolo de *Saxofridericia aculeata* é descrita aqui pela primeira vez e assemelha-se à da bainha foliar. A presença de pecíolo pode ser uma resposta adaptativa às inundações, visando manter a lâmina foliar acima do nível da água, visto que esta espécie ocorre em ambientes inundados periodicamente (GIVNISH et al., 2000). Neste caso, as lacunas de ar do pecíolo também podem ser uma resposta adaptativa ao ambiente.

A presença de feixes de fibras subepidérmicos em ambas as faces das folhas e de córtex indefinido nos eixos de inflorescência de *Saxofridericia aculeata* são características compartilhadas com espécies da subfamília Rapateoideae (DALTIN et al., 2015). Isto pode representar uma convergência adaptativa, uma vez que estas espécies pertencem a subfamílias

diferentes, mas ocorrem em ambientes úmidos e sombreados, estando submetidas a pressões seletivas semelhantes.

O pequeno número de características anatômicas compartilhadas entre *Saxofridericia aculeata* e *Stegolepis guianensis* está de acordo com o posicionamento de *Stegolepis* em Stegolepideae ao invés de Saxofridericieae, como proposto na atual classificação (GIVNISH et al., 2004).

As células epidérmicas com corpos silicosos nas folhas e eixos de inflorescência das espécies aqui estudadas ocorrem também no caule (CARLQUIST, 1966) e nas peças florais (ORIANI; SCATENA, 2013) de Rapatecaeae. Apesar da quantidade de sílica acumulada estar associada à disponibilidade ambiental, a capacidade de acumular sílica é controlada geneticamente (PRYCHID et al., 2003). Assim, a presença de células epidérmicas com corpos silicosos pode representar uma sinapomorfia de Poales, pois é uma característica compartilhada entre as famílias desta ordem (PRYCHID et al., 2003). Suas funções podem ser reduzir a transpiração e ajudar na sustentação dos órgãos em que ocorrem, visto que a ocorrência de células com corpos silicosos em Rapateaceae está geralmente associada à presença de camadas de esclerênquima subepidérmico (CARLQUIST, 1969; PRYCHID et al., 2003).

Os compostos fenólicos observados nos órgãos vegetativos e no eixo da inflorescência de Rapateaceae foram associados a taninos por Carlquist (1969) devido ao seu aspecto escuro. No presente trabalho, células com conteúdo fenólico apresentaram lume corado de verde escuro, o que representa uma reação metacromática dos compostos que contêm grupos fenóis com o reagente azul de Toluidina (RAMALINGAN; RAVINDRANATH, 1970). A produção de compostos fenólicos nas plantas é geralmente relacionada à: defesa contra herbivoria, tornando a planta impalatável (LEVIN, 1971; SWAIN, 1977; STRACK, 1997); respostas defensivas contra patógenos (SWAIN, 1977; NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992) e proteção contra radiação ultravioleta (HARBORNE, 1993). Como demonstrado aqui e em outros trabalhos envolvendo representantes de Rapateaceae (CARLQUIST, 1966, 1969; ORIANI; SCATENA, 2013), a distribuição das células com compostos fenólicos e com corpos silicosos nos diferentes órgãos e tecidos é uma característica importante para a taxonomia da família.

Ressalta-se que nossos resultados mostraram-se bastante úteis taxonomicamente, contribuindo com a caracterização das espécies, dos gêneros e das tribos estudadas. As semelhanças apontadas refletem as relações filogenéticas, em concordância com a atual

classificação infrafamiliar proposta por Givnish e colaboradores (2004). Estudos futuros com amostragem mais ampla e com base nos dados aqui obtidos poderão contribuir com a diferenciação das subfamílias e com o entendimento da evolução dos caracteres vegetativos em Rapateaceae, que resultou na grande diversidade hoje encontrada na família.

REFERÊNCIAS

APG III. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 161, p. 105-121, 2009.

ARBER, A. Leaves of the Farinosae. Botanical Gazette, Chicago, v. 74, p. 80-94, 1922.

ARBER, A. **Monocotyledons - a morphological study**. Cambridge: The University Press, 1925.

BERRY, P. E. Rapateaceae, p. 413-472. In STEYERMARK, J. A.; BERRY, P. E.; YATSKIEVYCH, K.; HOLST, B. K. (Eds.) Flora of the Venezuelan Guayana, vol 8: Poaceae-Rubiaceae. Saint Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2004.

BOUCHENAK-KHELLADI, Y.; MUASYA, A. M.; LINDER, H. P. A revised evolutionary history of Poales: origins and diversification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 175, p. 4-16, 2014.

BREMER, K. Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). **Evolution**, Lancaster, v. 56, n. 7, p. 1374-1387, 2002.

CARLQUIST, S. Pollen morphology of Rapateaceae. Aliso, Claremont, v. 5, p. 39-66, 1961.

CARLQUIST, S. Anatomy of Rapateaceae - roots and stems. **Phytomorphology**, Nova Deli, v. 16, p. 17-38, 1966.

CARLQUIST, S. Rapateaceae, p.128-145. In TOMLINSON, P. B. (Ed.) Anatomy of the monocotyledons, Commelinales - Zingiberales. Londres: Oxford University Press, 1969.

CHASE, M. W.; FAY, M. F.; DEVEY, D. S.; MAURIN, O.; RØNSTED, N.; DAVIES, T. J.; PILLON, Y.; PETERSEN, G.; SEBERG, O.; TAMURA, M. N.; ASMUSSEN, C. B.; HILU, K.; BORSCH, T.; DAVIS, J. I.; STEVENSON, D. W.; PIRES, J. C.; GIVNISH, T. J.; SYTSMA, K. J.; MCPHERSON, M. A.; GRAHAM, S. W.; RAI, H. S. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. **Aliso**, Claremont, v. 23, p. 62-74, 2006.

CRAYN, D. M.; SMITH, A. C.; WINTER, K. Carbon-Isotope ratios and photosynthetic pathways in the neotropical family Rapateaceae. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 3, p. 569-576, 2001.

CUTTER, E. G. Anatomia vegetal - segunda edição. São Paulo: Roca, 2002.

DALTIN, A. L.; SCATENA, V. L.; ORIANI, A. Leaf and inflorescence axis anatomy of Brazilian species of Rapateoideae (Rapateaceae, Poales). Anais da Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, v. 87, n. 1, p. 157-171, 2015.

DAHLGREN, R. M. T; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocotyledons**. Nova Iorque: Springer, 1985.

DAVIS, J. I.; STEVENSON, D. W.; PETERSEN, G.; SEBERG, O.; CAMPBELL, L. M.; FREUDENSTEIN, J. V.; GOLDMAN, D. H.; HARDY, C. R.; MICHELANGELI, F. A.; SIMMONS, M. P.; SPECHT, C. D.; VERGARA-SILVA, F.; GANDOLFO, M. Phylogeny of the monocots, as inferred from *rbcL* and *atpA* sequence variation, and a comparison of methods for calculating jackknife and bootstrap Value. **Systematic Botany**, Kent, v. 29, n. 3, p. 467-510, 2004.

FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 55, p. 123-142, 1968.

GERRITS, P. O.; SMID, L. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, Oxford, v. 132, p. 81-85, 1983.

GIVNISH, T. J.; EVANS, T. M.; PIRES, J. C.; SYTSMA, K. J. Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: evidence from *rbc*L sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v. 12, p. 360-385, 1999.

GIVNISH, T. J.; EVANS, T. M.; ZJHRA, M. L.; PATTERSON, T. B.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndh*F sequences and morphology. **Evolution**, Lancaster, v. 54, p. 1915-1937, 2000.

GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; EVANS, T. M.; HALL, J. C.; PIRES, J. C.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndh*F sequence data. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 165, n. 4, p. 35-54, 2004.

GIVNISH, T. J.; PIRES, J. C.; GRAHAM, S. W.; MCPHERSON, M. A.; PRINCE, L. M.; PATTERSON, T. B.; RAI, H. S.; ROALSON, E. H.; EVANS, T. M.; HAHN, W. J.; MILLAM, K. C.; MEEROW, A. W.; MOLVRAY, M.; KORES, P. J.; O'BRIEN, H. E.; HALL, J. C.; KRESS, W. J.; SYTSMA, A. K. J. Phylogenetic relationships of monocots based on the highly informative plastid gene ndhF: evidence for widespread concerted convergence. **Aliso**, Claremont, v. 22, p. 28-51, 2006.

GIVNISH, T. J.; AMES, M.; MCNEAL, J. R.; MCKAIN, M. R.; STEELE, P. R.; DEPAMPHILIS, 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. Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. **Annals of the Missouri Botanic Garden**, Saint Louis, v. 97, p. 584-616, 2010.

HARBORNE, J. Introduction to ecological biochemistry. Londres: Academic Press, 1993.

HERTWECK, K. L.; KINNEY, M. S.; STUART, S. A.; MAURIN, O.; MATHEWS, S.; CHASE, M. W.; GANDOLFO, M. A.; PIRES, J. C. Phylogenetics, divergence times and diversification from three genomic partitions in monocots. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 178, n. 3, p. 375–393, 2015.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. New York: Mc-Graw-Hill Book Company, 1940.

LEVIN, D. A. Plant phenolics: an ecological perspective. **The American Naturalist**, Chicago, v. 105, n. 942, p. 157-181, 1971.

LINDER, H. P.; RUDALL, P. J. Evolutionary history of Poales. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, Palo Alto, v. 36, p. 107-124, 2005.

MAGUIRE, B. Rapateaceae, p. 19-49. In MAGUIRE, B.; WURDACK, J. J. et al. (Eds.) The botany of the Guayana Highland - Part III. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, Nova Iorque, v. 10, n. 1, 1958.

MAGUIRE, B. Rapateaceae, p. 69-102. In MAGUIRE, B. (Ed.) The botany of the Guayana Highland - Part VI, **Memoirs of the New York Botanical Garden**, Nova Iorque, v. 12, n. 3, 1965.

MONTEIRO, R.F. Rapateaceae em Lista de Espécies da Flora do Brasil, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014. Apresenta a lista de espécies da flora do Brasil e sua distribuição. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB205. Acesso em: 29/08/2015.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, Nova Iorque, v. 59, p. 368-373, 1964.

ORIANI, A.; SCATENA, V. L. The taxonomic value of floral characters in Rapateaceae (Poales-Monocotyledons). **Plant Systematics and Evolution**, Nova Iorque, v. 299, p. 291-303, 2013.

PRYCHID, C. J.; RUDALL, P. J.; GREGORY, M. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. **The Botanical Review**, Nova Iorque, v. 69, n. 4, p. 377-440, 2004.

RAMALINGAN, K.; RAVINDRANATH, M. H. Histochemical significance of green metachromasia to Toluidine Blue. **Histochemie**, Berlim, v. 24, p. 322-327, 1970.

ROESER, K.R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Masenprodukt und Keinstwert der Natur. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, n.2, p.33-36, 1962.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; CHASE, M. W.; MORT, M. E.; ALBACH, D. C.; ZANIS, M.; SAVOLAINEN, V.; HAHN, W. H.; HOOT, S. B.; FAY, M. F.; AXTELL, M.; SWENSEN, S. M.; PRINCE, L. M.; KRESS, W. J.; NIXON, K. C.; FARRIS, J. S. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 133, p. 381-461, 2000.

SMITH, L. B.; TILL, W. Bromeliaceae, p. 74-99. In: KUBITZKI, K. (ed) **The families and genera of vascular plants, vol IV - Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae).** Nova Iorque: Springer, 1998. SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

STEVENSON, D. W.; COLLELA, M.; BOOM, B. Rapateaceae, p. 415-424. In KUBITZKI, K. (Ed.) **The families and genera of vascular plants, vol IV - Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)**. Nova Iorque: Springer, 1998.

STRACK, D. Phenolic Metabolism, p. 387-390. In DEY, P. M.; HARBORE, J. B. (Eds) **Plant Biochemistry**. San Diego: Academic press, 1997.

SWAIN, T. Secondary compounds as protective agents. Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, v. 28, p. 479-501, 1977.

VENTURELLI, M.; BOUMAN, F. Development of ovule and seed in Rapateaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 97, p. 267-294, 1988.

APÊNDICES

Apêndice A – Tabela 2

Tabela 1 – Características anatômicas da lâmina foliar com valor diagnóstico para as espécies de Rapateaceae estudadas

			-			-
Características	1	2	3	4	5	6
Células epidérmicas com paredes parcialmente espessadas	-	-	-	-	4	-
Células epidérmicas com compostos fenólicos	+	+	+	+	- I	-
Células epidérmicas papilosas na face abaxial na região da nervura central	-	-	-	-	-	4
Feixes de fibras subepidérmicos voltados à face abaxial	-	-	-	-	4	-
Feixes de fibras subepidérmicos voltados às duas faces	-	-	-	-	-	\mathbf{A}
Mesofilo isobilateral	-	-	-	-	-	4
Parênquima clorofiliano paliçádico e esponjoso	+	+	+	+	- I	-
Parênquima clorofiliano plicado	-	-	-	-	4	-
Parênquima clorofiliano regular	-	-	-	-	-	\mathbf{A}
Nervura central reta com um feixe vascular	+	-	-	-	-	-
Nervura central reta com um feixe vascular maior e 4 feixes menores	-	-	-	-	\mathbf{A}	-
Nervura central curvilínea com um feixe vascular maior e 2 menores	-	-	-	4	-	-
Nervura central curvilínea com um feixe vascular maior e 4 menores	-	4	-	-	-	-
Nervura central curvilínea com um feixe vascular maior e 5 menores	-	-	4	-	-	-
Nervura central plano-convexa com um feixe vascular maior e	_	_	_	_	_	A
numerosos feixes menores		_	_	_		
Células da bainha externa do feixe vascular com compostos fenólicos	+	+	+	+	-	-
Fonte: elaborado pela autora						

1. *Monotrema aemulans*, 2. *M. xyridoides*, 3. *M. bracteatum*, 4. *M. affine*, 5. *Stegolepis guianensis*, 6. *Saxofridericia aculeata*, (+) = presente. (-) = ausente. Hachura clara = Subfamília Monotremoideae, Hachura escura = Subfamília Saxofridericioideae.

Tabela 2 – Características anatômicas da bainha foliar com valor diagnóstico para as espécies de Rapateaceae estudadas

Características	1	2	3	4	5	6
Células epidérmicas papilosas	-	-	-	-	-	4
Células epidérmicas com compostos fenólicos	+	+	+	+	-	-
Feixes de fibras subepidérmicos voltados à face abaxial	-	-	+	-	-	-
Hipoderme em ambas as faces	-	-	-	-	-	
Idioblastos com compostos fenólicos no mesofilo	+	+	+	+	-	-
Feixes de fibras dispersos aleatoriamente no mesofilo	-	-	-	-	-	4
Mesofilo com camadas de células subepidérmicas de paredes						
parcialmente espessadas	-	-	-	-	-	-
Células da bainha externa do feixe vascular com compostos fenólicos	+	+	+	+	-	-
Fonte: elaborado pela autora						

1. Monotrema aemulans, 2. M. xyridoides, 3. M. bracteatum, 4. M. affine, 5. Stegolepis guianensis, 6. Saxofridericia aculeata, (+) = presente. (-) = ausente. Hachura clara = Subfamília Monotremoideae, Hachura escura = Subfamília Saxofridericioideae.

Tabela 3 – Características anatômicas do eixo da inflorescência com valor diagnóstico para as espécies de Rapateaceae estudadas

Características	1	2	3	4	5	6
Eixo da inflorescência com forma circular alada	+	-	-	-	-	-
Eixo da inflorescência com forma circular	-	+	-	-	-	-
Eixo da inflorescência com forma pentagonal	-	-	+	+	-	-
Eixo da inflorescência com forma elíptica	-	-	-	-		-
Eixo da inflorescência com forma deltoide	-	-	-	-	-	
Células epidérmicas com paredes espessadas	-	-	-	-		-
Células epidérmicas tabulares	+	+	+	+	-	-
Células epidérmicas arredondadas	-	-	-	-		-
Células epidérmicas papilosas	-	-	-	-	-	
Células epidérmicas com compostos fenólicos	+	+	+	+	- 1	-
Córtex e medula com lacunas de ar	+	+	+	+	-	-
Células hipodérmicas com paredes parcialmente espessadas	-	-	-	-	4	-
Células hipodérmicas com paredes espessadas	-	-	-	-	-	
Parênquima clorofiliano plicado	-	-	-	-		-
Córtex indefinido com feixes vasculares distribuídos aleatoriamente	-	-	-	-	-	
Células da bainha externa do feixe vascular com compostos fenólicos	+	+	+	+	-	-
Medula com células isodiamétricas e feixes vasculares	-	-	-	-		-
Fonte: elaborado pela autora						

1. *Monotrema aemulans*, 2. *M. xyridoides*, 3. *M. bracteatum*, 4. *M. affine*, 5. *Stegolepis guianensis*, 6. *Saxofridericia aculeata*, (+) = presente. (-) = ausente. Hachura clara = Subfamília Monotremoideae, Hachura escura = Subfamília Saxofridericioideae.

Apêndice D – Figura 1

FIG. 1. Aspectos anatômicos da lâmina foliar de Rapateaceae. a–c Vista frontal da epiderme: *Monotrema aemulans*, face abaxial (a), *Saxofridericia aculeata*, face adaxial (b), e *Stegolepis guianensis*, face abaxial (c). d–g Secções transversais da lâmina foliar, mostrando detalhes da epiderme e camadas subepidérmicas: *Monotrema xyridoides*, face adaxial (d), *Stegolepis guianensis*, face adaxial (e), *Saxofridericia aculeata*, detalhe das células epidérmicas papilosas na face abaxial, na região da nervura central (f), *Monotrema bracteatum*, face adaxial (g). h–j Secções transversais da lâmina foliar, mostrando aspecto geral do mesofilo: *Saxofridericia aculeata* (h), *Monotrema xyridoides* (i) e *Stegolepis guianensis* (j).

Barras: (a–c, f) 25µm; (d, g) 10µm; (e, h, i) 50µm; (j) 100µm.

(*ac*) lacunas de ar, (*ap*) parênquima braciforme, (*e*) epiderme, (*fs*) feixes de fibras subepidérmicos, (*h*) hipoderme, (*is*) bainha interna do feixe vascular, (*os*) bainha externa do feixe vascular, (*pch*) parênquima clorofiliano paliçádico, (*rch*) parênquima clorofiliano regular, (*sch*) parênquima clorofiliano esponjoso, (*1*) células subepidérmicas de paredes finas contendo compostos fenólicos, (*2*) camadas de células com paredes pouco espessadas, (*3*) parênquima clorofiliano plicado, (*setas*) corpos silicosos, (*asterisco*) compostos fenólicos.



Fonte: elaborado pela autora

FIG. 2. Aspectos anatômicos da nervura central e da margem na lâmina foliar de Rapateaceae.
a-f Secções transversais da nervura central foliar: *Monotrema aemulans* (a), *Monotrema affine* (b), *Stegolepis guianensis* (c), *Monotrema xyridoides* (d), *Monotrema bracteatum* (e), e *Saxofridericia aculeata* (f). g-h Secções transversais da margem foliar: *Stegolepis guianensis* (g) e *Monotrema bracteatum* (h).

Barras: (a, g) 50µm; (b, d, e, f, h) 100µm; (c) 200µm.

(chl) parênquima clorofiliano, *(is)* bainha interna do feixe vascular, *(os)* bainha externa do feixe vascular, *(scl)* esclerênquima, *(setas)* feixes vasculares menores.



Fonte: elaborado pela autora

Apêndice F – Figura 3

FIG. 3. Aspectos anatômicos da bainha foliar (a–j) e do pecíolo (k) de Rapateaceae. a–c Vista frontal da epiderme de: *Monotrema affine*, face abaxial (a), *Stegolepis guianensis* (b) e *Saxofridericia aculeata* (c), face adaxial, mostrando detalhe do tricoma unisseriado. d, e Secções transversais da bainha foliar, mostrando detalhes da epiderme e camadas subepidérmicas na face abaxial: *Saxofridericia aculeata* (d), *Stegolepis guianensis* (e). f–g Seções transversais da bainha foliar, mostrando aspecto geral do mesofilo: *Monotrema bracteatum* (f), *Monotrema affine* (g). h Secção transversal da margem da bainha foliar de *Monotrema xyridoides*. i–j Secções transversais da bainha foliar do pecíolo de *Saxofridericia aculeata*, mostrando a face adaxial (i) e abaxial (j). k Secção transversal do pecíolo de *Saxofridericia aculeata*.

Barras: (a–d) 50µm; (e–j) 100µm. (k) 200µm.

(*ac*) lacunas de ar, (*ap*) parênquima braciforme, (*e*) epiderme, (*fb*) feixes de fibras, (*fs*) feixes de fibras subepidérmicos, (*h*) hipoderme, (*i*) idioblastos com compostos fenólicos, (*m*) mucilagem, (*sg*) grãos de amido, (*t*) tricomas.



Fonte: elaborado pela autora

Apêndice G – Figura 4

FIG. 4. Aspectos anatômicos do eixo da inflorescência de Rapateaceae. a-f Secções transversais do eixo da inflorescência, mostrando aspecto geral: *Monotrema aemulans* (a), *Monotrema xyridoides* (b), *Monotrema bracteatum* (c), *Monotrema affine* (d), *Stegolepis guianensis* (e), *Saxofridericia aculeata* (f). g Secção transversal do eixo da inflorescência de *Saxofridericia aculeata*, mostrando detalhe do córtex indefinido, com feixes vasculares distribuídos aleatoriamente. h-k Secções transversais mostrando detalhes da região cortical: *Stegolepis guianensis* (h), *Monotrema bracteatum* (i), *Monotrema aemulans* (j), *Saxofridericia aculeata* (k). 1, m Secções transversais mostrando detalhes da medula: *Monotrema bracteatum* (l), *Stegolepis guianensis* (m).

Barras: (a–d, g) 200µm; (e) 500µm; (f) 750µm; (h, i) 100µm; (j–l) 50µm; (m) 25µm.

(*ac*) lacunas de ar, (*ae*) aerênquima, (*ap*) parênquima braciforme, (*vb*) feixes vasculares, (*fb*) cordões de fibras subepidérmicos conectados aos feixes vasculares maiores, (*fs*) feixes de fibras subepidérmicos, (*h*) hipoderme, (*i*) idioblastos com compostos fenólicos, (*plc*) parênquima clorofiliano plicado, (*seta*) células epidérmicas com compostos fenólicos, (*cabeça de seta*) corpos silicosos.



Fonte: elaborado pela autora

Apêndice H – Artigo publicado

ORIGINAL ARTICLE

Leaf and inflorescence peduncle anatomy: a contribution to the taxonomy of Rapateaceae

Renata Callegari Ferrari · Vera Lucia Scatena · Aline Oriani

Received: 3 August 2013/Accepted: 8 January 2014/Published online: 19 February 2014 © Springer-Verlag Wien 2014

Abstract The anatomy of leaves and inflorescence peduncles was studied in species of Monotrema (4), Stegolepis (1) and Saxofridericia (1), aiming to contribute to the taxonomy of Rapateaceae. The form and structure of leaf blade midrib and the form of the inflorescence peduncle are diagnostic characteristics for the studied species. Monotrema is distinguished by: epidermal and vascular bundle outer sheath cells containing phenolic compounds in both organs; leaf blade with palisade and spongy chlorenchyma, arm-parenchyma, and air canals between the vascular bundles; leaf sheath with phenolic idioblasts in the mesophyll; inflorescence peduncle with tabular epidermal cells and air canals in the cortex and pith. Such characteristics support the recognition of Monotremoideae, which includes Monotrema. Stegolepis guianensis is distinguished by thick-walled epidermal cells and a plicate chlorenchyma in both organs; leaf blade with subepidermal fiber strands in abaxial surface and a heterogeneous mesophyll; inflorescence peduncle with rounded epidermal cells, a hypodermis with slightly thick-walled cells, and a pith with isodiametric cells and vascular bundles. Saxofridericia aculeata is distinguished by papillate epidermal cells in both organs; unifacial leaf blade with subepidermal fiber strands in both surfaces and a regular chlorenchyma; leaf sheath with a hypodermis in both surfaces and fiber bundles in the mesophyll; inflorescence peduncle with an undefined cortex and a hypodermis with thick-walled cells. S. guianensis shares few characteristics with S. aculeata, supporting their placement in different tribes.

Keywords Leaves · Inflorescence peduncle · Scape · Rapateaceae · *Monotrema* · *Stegolepis* · *Saxofridericia*

Introduction

Rapateaceae comprise 16–17 genera and approximately 100 species that occur mostly in the Guayana Shield and in the Amazon Basin (Maguire 1958; Stevenson et al. 1998; Berry 2004). The only exception is the monotypic *Maschalocephalus*, which occurs in western Africa (Maguire 1958; Stevenson et al. 1998). In Brazil, there are nine genera and about 39 species (Monteiro 2012) distributed mainly in the Amazon region (Souza and Lorenzi 2012).

Based on morphological data, Rapateaceae were grouped with Xyridaceae, Eriocaulaceae, Mayacaceae, and Commelinaceae into the order Commelinales (Dahlgren et al. 1985). However molecular phylogenies revealed a close relationship between Bromeliaceae, Typhaceae, and Rapateaceae, placing Rapateaceae in the order Poales (Givnish et al. 1999, 2006, 2010; Chase et al. 2000, 2006). These three families are considered the earliest divergent in Poales and they appear as successive sister lineages to all other members of the order in the most recent phylogenetic analyses for the monocotyledons (Givnish et al. 2010).

Studies on Rapateaceae morphology (Maguire 1958, 1965), anatomy (Carlquist 1966, 1969; Oriani and Scatena 2013), embryology (Venturelli and Bouman 1988), and palynology (Carlquist 1961) have contributed to the taxonomy of the family. The family was formerly divided into two subfamilies based on reproductive morphological characteristics: Rapateoideae, comprising the tribes Rapateeae and Monotremeae; and Saxofridericioideae, comprising Saxofridericieae and Schoenocephalieae (Maguire 1958; Stevenson et al. 1998).

R. C. Ferrari (⊠) · V. L. Scatena · A. Oriani Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, C. Postal 199, Rio Claro, SP 13506-900, Brazil e-mail: renata.callefe@gmail.com

However, Givnish et al. (2000) reported the subfamily Rapateoideae and the tribe Saxofridericieae as paraphyletic. These authors also pointed some of the former characteristics used to infer the infrafamiliar relations as homoplasious. Indeed, they indicated that morphological and anatomical data are considered diagnostic only at tribe level and below, because the results presented are compatible with the molecular analysis (Givnish et al. 2000).

Thus, a new classification of Rapateaceae based on *ndh*F sequences was presented by Givnish et al. (2004). This classification includes three subfamilies: Rapateoideae, comprising the tribe Rapateeae, which is the earliest divergent and sister group of the remaining Rapateaceae; Monotremoideae, comprising Monotremeae, the sister group of Saxofridericioideae; and Saxofridericioideae, comprising Saxofridericieae, Schoenocephalieae, and Stegolepideae. Thereby the genus *Monotrema*, previously included in the subfamily Rapateoideae, was moved to Monotremoideae, and *Stegolepis*, previously included in the tribe Saxofridericieae, was positioned in Stegolepideae (Givnish et al. 2004).

Previous anatomical descriptions of the roots and stems (Carlquist 1966, 1969) have attributed characteristics to each of the subfamilies and tribes. The leaves of Rapateaceae are lanceolate or linear (Carlquist 1969) and present sheath, blade, and occasionally a petiole (Arber 1922, 1925; Maguire 1958). The sheath is sharply folded into two halves, forming a conduplicated "V-shaped" structure (Arber 1922, 1925; Maguire 1958; Carlquist 1969). It presents characteristically fibrous strands and non-photosynthetic parenchyma cells (Carlquist 1969). The petiole is common in Saxofridericia and Rapatea species, and interrupts the sheath leading to an expanded blade tissue (Maguire 1958). The blade is inserted with 90° rotation in the sheath and can be unifacial or bifacial (Carlquist 1969; Stevenson et al. 1998). The leaves usually present paracytic stomata in the abaxial surface, uniseriate mucilage-producing trichomes, palisade and spongy chlorenchyma (the former with cells presenting infolding walls), tannin-like idioblasts, non-photosynthetic collapsing cells, and collateral double sheathed vascular bundles (Carlquist 1969).

The inflorescence peduncles were briefly described by Carlquist (1969) as presenting hypodermal fibers, tanninlike idioblasts, arm-parenchyma or spherical cells, aerenchyma, and bigger and smaller vascular bundles containing fibrous sheaths. Both leaves and inflorescence peduncles present epidermal cells with silica bodies associated with hypodermal sclerenchyma (Carlquist 1969).

In this context, this study aimed to characterize the anatomy of leaves and inflorescence peduncles of six Brazilian species of Rapateaceae to contribute to the taxonomy of the family. The analysis investigated characteristics to provide comparative information between genera and species using both pickled and herbarium material.

Materials and methods

Leaf and inflorescence peduncle anatomy was studied in: Monotremoideae—Monotrema aemulans Körn. (Lombardi et al. 7551), Monotrema affine Maguire (Lombardi et al. 7591), Monotrema bracteatum Maguire (Lombardi et al. 7562), Monotrema xyridoides Gleason (Lombardi et al. 7529, 7530); Saxofridericioideae—Saxofridericia aculeata Körn. (Lombardi 7620) and Stegolepis guianensis Klotzsch ex Körn. (Lombardi et al. 7656).

The *Monotrema* species were collected from the Parque Nacional do Viruá (Caracaraí, Roraima State, Brazil), in an area with grassland vegetation (*campinaranas*) in the Amazon region. *S. aculeata* was collected from the Reserva Florestal Adolpho Ducke (Manaus, Amazonas State, Brazil), in the Amazonian forest understory. *S. guianensis* was collected from the Parque Nacional do Monte Roraima (Roraima State, Brazil), in the tepuis.

Vouchers were deposited in the Herbarium Rioclarense (HRCB) at Universidade Estadual Paulista–UNESP. We analyzed at least two individuals from each species and checked the populations for homogeneity when the material was collected. The material was fixed in FAA 50 (37 % formaldehyde, glacial acetic acid, 50 % ethanol, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940) and then transferred into 70 % ethanol.

All of the species of *Monotrema* present narrowly linear leaves, which are composed of a sheath 6–12 cm long and 1–1.5 cm wide, and a blade 20–80 cm long and 0.2–1.6 cm wide (Maguire 1958; Berry 2004). *S. aculeata* presents leaves composed of a sheath 10–40 cm long and 4–10 cm wide, a petiole 5–15 cm long, and a blade 1–1.5 m long and 4–10 cm wide, usually abruptly widened above the petiole (Berry 2004). *S. guianensis* presents ensiform leaves composed of a sheath 20–25 cm long and 6–9 cm wide, and a blade 60–100 cm long and 3.5–5.5 cm wide (Berry 2004). Also the leaves of *S. guianensis* are thicker in comparison to the leaves of *Monotrema* species and *S. aculeata*.

Cross, longitudinal, and paradermal sections were handmade in the median region of the leaf blade, the leaf sheath, the petiole (only in *S. aculeata*), and the inflorescence peduncle (scape) using razor blades. Herbarium material was also used after boiling in water with glycerin to expand the tissues. The sections were stained with Fucsin and Astra Blue (Roeser 1972) and mounted on slides with glycerin jelly. Histochemical tests were performed using IKI for starch (Sass 1940) and aqueous FeCl₃ for phenolic compounds (Johansen 1940). In addition, part of the material was dehydrated in a n-butyl alcohol series, embedded in (2-hydroxyethyl)-methacrylate (Leica Historesin Embedding Kit) (Feder and O'Brien 1968), and sectioned at 7 μ m on a microtome (Leica, RM 2245). These sections were stained with periodic acid—Schiff's reagent (PAS) and toluidine blue (Feder and O'Brien 1968) and mounted on slides using Entellan (Merck).

The images were obtained with microscopes (Leica, DMLB and DM 4000B) equipped with cameras (Leica, DFC 295 and DFC 450) using the software LAS (Leica Application Suite V4.0.0).

Results

Leaf blade

The characteristics that varied among the studied species are shown in Table 1. In surface view, all studied species have short epidermal cells with thin sinuous walls on both surfaces (Fig. 1a, b), except for *S. guianensis*, which presents cells with slightly thickened sinuous walls (Fig. 1c). All species present randomly distributed tetracytic stomata (Fig. 1a, c). Epidermal cells may present silica bodies (Fig. 1b, arrows), especially those facing the subepidermal sclerenchyma.

In cross section, the epidermis is single layered and has tabular cells of the same size on both surfaces, or slightly larger on the adaxial surface (Fig. 1d, e, h–j). However, *S. aculeata* presents papillate cells on the abaxial epidermis of the midrib (Fig. 1f). In *Monotrema* species, most epidermal cells present phenolic compounds (Figs. 1d, i, 2a, b, d, e, h). Stomata are located only on the abaxial surface in *M. xyridoides* (Fig. 1i), *S. aculeata*, and *S. guianensis* (Fig. 1j), and on both surfaces in the remaining species (Fig. 1g). Subepidermal fiber strands are present on the abaxial surface of *S. guianensis* (Fig. 1j) and in both leaf surfaces in *S. aculeata* (Fig. 1h).

A hypodermis occurs only in the adaxial blade surface of *M. xyridoides* (Fig. 1d, i) and *S. guianensis* (Fig. 1e, j), where it is composed of thick-walled cells. Hypodermal cells may contain phenolic idioblasts in *M. xyridoides* (Fig. 1d, asterisk).

In *Monotrema* species the blade is bifacial, with the mesophyll differentiated into palisade and spongy chlorenchyma (Fig. 1i). The mesophyll also has arm-parenchyma and air canals formed by collapsed cells between the vascular bundles. In *S. guianensis* the blade is also bifacial, but the mesophyll is heterogeneous, presenting several different layers: one to two layers of subhypodermal thin-walled cells

Table 1 Leaf blade characteristics with diagnostic value for the studied species

Characteristics	1	2	3	4	5	6
Epidermal cells with slightly thickened walls	_	_	_	_	+	_
Epidermal cells with phenolic compounds	+	+	+	+	_	_
Papillate cells on abaxial epidermis of midrib	_	_	-	-	-	+
Subepidermal fiber strands on abaxial surface	_	_	-	-	+	_
Subepidermal fiber strands on both surfaces	-	-	-	-	-	+
Palisade and spongy chlorenchyma	+	+	+	+	_	_
Mesophyll with arm-parenchyma and air canals between vascular bundles	+	+	+	+	-	-
Mesophyll with thin-walled cells containing phenolic compounds	-	-	-	-	+	-
Mesophyll with layers of slightly thick- walled cells	-	-	-	-	+	_
Mesophyll with fiber bundles	_	_	_	_	+	_
Plicate chlorenchyma	_	_	_	_	+	_
Regular chlorenchyma	_	_	_	_	_	+
Leaf blade, unifacial	_	_	_	_	_	+
Midrib, straight, composed of one vascular bundle	+	-	-	_	-	-
Midrib, straight, composed of one larger and 4 smaller vascular bundles	-	-	-	-	+	_
Midrib, curvilinear, composed of one larger and 2 smaller vascular bundles	-	-	-	+	-	-
Midrib, curvilinear, composed of one larger and 4 smaller vascular bundles	-	+	-	-	-	-
Midrib, curvilinear, composed of one larger and 5 smaller vascular bundles	-	-	+	-	-	-
Midrib, straight-convex, composed of one larger and numerous smaller vascular bundles	_	_	_	_	_	+
Cells of the vascular bundles outer sheath with phenolic compounds	+	+	+	+	-	_

1, M. aemulans, 2, M. xyridoides, 3, M. bracteatum, 4, M. affine, 5, S. guianensis, 6, S. aculeata, +, present, -, absent

containing phenolic compounds on the adaxial surface (Fig. 1e, j, number 1); two to five layers of slightly thickwalled cells on the adaxial surface, which have a much larger lumen compared to the remaining mesophyll cells (Fig. 1j, number 2); fiber bundles (Fig. 1j, fb); plicate chlorenchyma facing the adaxial surface (Fig. 1j, number 3; and armparenchyma facing the abaxial surface (Fig. 1j, ap). In *S. aculeata* the mesophyll is composed of regular chlorenchyma with anticlinally elongated cells and air canals formed by collapsed cells between the vascular bundles (Fig. 1h). In this species the blade is unifacial.

The midrib of the studied species presents different forms and structures. In *M. aemulans* and *S. guianensis*, it is straight and composed of only one vascular bundle in the



◄ Fig. 1 Anatomical aspects of the leaf blades of Rapateaceae. a– c Epidermis on surface view of: *M. aemulans*, abaxial surface (a), *S.* aculeata, adaxial surface (b), and S. guianensis, abaxial surface (c). **d-g** Leaf blade cross sections showing details of the epidermis and subepidermal layers of: *M. xyridoides*, showing adaxial epidermis (d), S. guianensis, showing adaxial epidermis (e), S. aculeata, showing papillate cells in the abaxial epidermis of the midrib region (\mathbf{f}), M. bracteaum, showing adaxial epidermis (g). h-j Mesophyll cross sections of: S. aculeata (h), M. xyridoides (i), and S. guianensis (j). Scale bars 25 µm in a-c, f; 10 µm in d, g; 50 µm in e, h, i; 100 µm in j. ac air canals, ap arm-parenchyma, e epidermis, fs fiber strands, h hypodermis, is vascular bundle inner sheath, os vascular bundle outer sheath, *pch* palisade chlorenchyma, *rch* regular chlorenchyma, sch spongy chlorenchyma, 1 subhypodermal thin-walled cells containing phenolic compounds, 2 layers of slightly thick-walled cells, 3 plicate chlorenchyma, arrows silica bodies, asterisk phenolic compounds

former species (Fig. 2a), and by one larger and four smaller vascular bundles in the latter (Fig. 2c, arrows). In *M. affine* (Fig. 2b), *M. xyridoides* (Fig. 2d), and *M. bracteatum* (Fig. 2e) the midrib is curvilinear with one larger vascular bundle and two, four, and five smaller ones, respectively. In *S. aculeata* (Fig. 2f), the midrib is straight-convex with a large vascular bundle and numerous smaller ones.

All studied species have collateral vascular bundles of different sizes surrounded by a double sheath (Figs. 1h-j, 2a-h). The outer sheath is composed of thin-walled cells that may contain phenolic compounds in the Monotrema species (Fig. 2a, b, d, e) and may be discontinuous in S. guianensis (Figs. 1j, 2g) and S. aculeata (Figs. 1h, 2f). The inner sheath is composed of thick-walled cells. In S. guianensis and S. aculeata all the vascular bundles in the midrib region present a conspicuous fiber sheath facing the phloem (Fig. 2c, f). Most of the studied species present sheath extensions in the larger vascular bundles (Fig. 2ae), except for S. aculeata (Figs. 1h, 2f). Such extensions are formed by thick-walled cells. They may be connected with both leaf surfaces, as in most of the Monotrema species (Fig. 2a, b, d), or connected only to the abaxial surface, as in M. bracteatum (Fig. 2e) and S. guianensis (Fig. 2c).

The leaf margins are acute in *M. aemulans* and *S. guianensis* (Fig. 2g) and obtuse in the remaining species (Fig. 2h). *M. aemulans*, *S. guianensis* and *S. aculeata* have a subepidermal sclerenchyma in the margin (Fig. 2g), while the remaining species have a chlorenchyma (Fig. 2h).

Leaf sheath

The characteristics that varied among the studied species are shown in Table 2. In surface view, all studied species have elongated epidermal cells with straight walls (Fig. 3a) and uniseriate trichomes formed by three to six cells (Fig. 3b, c). The trichomes occur only on the adaxial surface and may contain phenolic compounds (Fig. 3c).

In cross section, all studied species have an epidermis with thin-walled cells (Fig. 3d–j). The epidermal cells are rounded to tabular, except for the abaxial sheath surface of *S. aculeata*, in which they are papillate (Fig. 3d, j). The cells of adaxial epidermis have a larger lumen than those of the abaxial epidermis (Fig. 3f, g, i, j). In *Monotrema* species, the epidermal cells may contain phenolic compounds (Fig. 3f–h). *M. bracteatum* has subepidermal fiber strands facing the abaxial epidermis (Fig. 3f).

The hypodermis is either absent, as in *M. bracteatum* (Fig. 3f), or composed of one to several layers of thick-walled cells, facing both surfaces in *S. aculeata* (Fig. 3d, i, j) and only the abaxial surface in the remaining species (Fig. 3e, g).

In all studied species the mesophyll presents armparenchyma delimiting air canals, isodiametric thin-walled cells facing the epidermis (Fig. 3f, g, i, j), and idioblasts with starch grains (Fig. 3f, g). Overall, it comprises a unifacial leaf sheath.

All of the *Monotrema* species have phenolic idioblasts randomly distributed in the mesophyll (Fig. 3f, g). *S. guianensis* has three to four layers of slightly thick-walled cells on the abaxial surface, adjacent to the epidermis (Fig. 3e). *S. aculeata* has fiber bundles randomly distributed in the mesophyll (Fig. 3i, j).

The vascular bundles are collateral, present different sizes, and are surrounded by a double sheath (Fig. 3f, g, i, j). The outer sheath is composed of thin-walled cells, which may contain phenolic compounds in the *Monotrema* species (Fig. 3f, g), whereas the inner sheath is composed of thick-walled cells (Fig. 3f, g, i, j). *S. guianensis* and *S. aculeata* both present a fiber sheath surrounding the phloem (Fig. 3i, j). The vascular bundles have a linear distribution in *M. affine* and *M. xyridoides* (Fig. 3g) and are randomly distributed in the remaining species (Fig. 3f, i, k).

The margin of the leaf sheath is formed by the epidermis extension in all studied species (Fig. 3h).

Saxofridericia aculeata is the only species that presents a petiole (Fig. 3k). This structure is circular shaped and anatomically similar to the sheath (Fig. 3i, j).

Inflorescence peduncle

The characteristics that varied among the studied species are shown in Table 3. The inflorescence peduncle of the studied species present different forms in cross section: they are circular and winged in *M. aemulans* (Fig. 4a), circular in *M. xyridoides* (Fig. 4b), pentagonal in *M.*



Fig. 2 Anatomical aspects of the leaf blade midrib and margin of Rapateaceae. a-f Midrib cross sections of: *M. aemulans* (a), *M. affine* (b), *S. guianensis* (c), *M. xyridoides* (d), *M. bracteatum* (e), and *S. aculeata* (f). g-h Margin cross sections of: *S. guianensis* (g) and *M. bracteatum* (h). *Scale bars* 50 µm in a, g; 100 µm in b, d, e, f, h; 200 µm in c. *chl* chlorenchyma, *is* vascular bundle inner sheath, *os* vascular bundle outer sheath, *scl* sclerenchyma, *arrows* smaller vascular bundles

 Table 2 Leaf sheath characteristics with diagnostic value for the studied species

Characteristics	1	2	3	4	5	6
Papillate epidermal cells	_	_	_	_	_	+
Epidermal cells with phenolic compounds	+	+	+	+	_	_
Subepidermal fiber strands on abaxial surface	-	-	+	-	_	_
Hypodermis on both surfaces	_	_	_	_	_	+
Phenolic idioblasts in the mesophyll	+	+	+	+	_	_
Fiber bundles in the mesophyll	_	_	_	_	_	+
Mesophyll with layers of slightly thick- walled cells	-	-	_	—	+	-
Cells of the vascular bundles outer sheath cells with phenolic compounds	+	+	+	+	—	_

1, M. aemulans, 2, M. xyridoides, 3, M. bracteatum, 4, M. affine, 5, S. guianensis, 6, S. aculeata, +, present, -, absent

bracteatum (Fig. 4c) and *M. affine* (Fig. 4d), elliptical in *S. guianensis* (Fig. 4e), and deltoid in *S. aculeata* (Fig. 4f).

On surface view, all studied species present epidermis similar to that of the leaf blade and tetracytic stomata randomly distributed. The epidermal cells have sinuous thin walls, except for *S. guianensis*, in which they are thickened.

In cross section, the epidermis is single layered (Fig. 4g-k) and presents tabular cells in *Monotrema* species (Fig. 4i–j), rounded cells in *S. guianensis* (Fig. 4h), and papillate cells in *S. aculeata* (Fig. 4k). The *Monotrema* species may present phenolic idioblasts in the epidermis (Fig. 4j, arrow). Epidermal cells may contain silica bodies in all studied species (Fig. 4k, arrowhead), mainly when facing the subepidermal sclerenchyma.

In *Monotrema* species and *S. guianensis*, the inflorescence peduncle has a defined cortex and cylindrically distributed vascular bundles (Fig. 4a–e). The cortex is formed by arm-parenchyma and subepidermal fiber bundles facing the larger vascular bundles. Such fiber bundles may be connected to the vascular bundles sheath (Fig. 4a–e). In *Monotrema* species, the cortex presents air canals formed by collapsed cells (Fig. 4a–c, i). *M. aemulans* also has subepidermal fiber strands in the cortex (Fig. 4j). *S. guianensis* has a hypodermis formed by slightly thick-walled cells, which is interrupted by fiber strands. The cortex in this species also presents phenolic idioblasts and a plicate chlorenchyma (Fig. 4h).

In *S. aculeata* the cortex is undefined and the inflorescence peduncles are composed of a hypodermis with thickwalled cells, an arm-parenchyma (Fig. 4k), and randomly distributed vascular bundles (Fig. 4f, g). Phenolic idioblasts are also present in the arm-parenchyma (Fig. 4k).

The vascular bundles may be simple or compound. They are collateral and surrounded by a double sheath in all studied species (Fig. 4a–i). The outer sheath is composed of thin-walled cells (Fig. 4a–i), which may present a phenolic content in all *Monotrema* species (Fig. 4a–d, i). The inner sheath is composed of thick-walled cells (Fig. 4a–i). The vascular bundles of *S. guianensis* (Fig. 4e, h) and *S. aculeata* (Fig. 4f, g) have a conspicuous fiber sheath surrounding the phloem.

In *Monotrema* species, the pith is composed of isodiametric cells and presents air canals formed by collapsed cells (Fig. 4a–c, 1). In *S. guianensis*, the pith is composed of isodiametric cells with conspicuous intercellular spaces forming the aerenchyma, besides small and simple vascular bundles (Fig. 4m).

Discussion

The studied species are placed in different subfamilies and tribes of Rapateaceae and all share the following features: leaves and inflorescence peduncles with a single-layered epidermis, epidermal cells with silica bodies, stomata randomly distributed, and vascular bundles of different sizes surrounded by a double sheath; leaf sheath with uniseriate trichomes on the adaxial surface; and inflorescence peduncle with arm-parenchyma and simple and compound vascular bundles. These features were used to characterize the family by Carlquist (1969), who also analyzed additional genera representing all tribes of Rapateaceae.

The following characteristics of leaf and inflorescence peduncle are newly reported for Rapateaceae: leaf blade and inflorescence peduncle with sinuous-walled epidermal cells, leaf sheath unifacial, with straight-walled epidermal cells, mesophyll composed of arm-parenchyma delimiting air canals and isodiametric thin-walled cells, and margin formed by the epidermis extension.

Our data enabled identification of anatomical characteristics with generic and specific value, as highlighted in Tables 1, 2, and 3. The structure of the midrib in the leaf blade and the form of the inflorescence peduncle were the most important characteristics for the identification of the taxa.

Carlquist (1969) described paracytic stomata occurring only on the abaxial surface of the leaves as a characteristic of the family. However, we observed tetracytic stomata in



Fig. 3 Anatomical aspects of the leaf sheaths (a-j) and petiole (k) of Rapateaceae. a-c Epidermis in surface view of: *M. affine*, abaxial surface (a), *S. guianensis* adaxial surface, showing a uniseriate trichome (b), and *S. aculeata* adaxial surface, also showing a trichome (c). d, e Leaf sheath cross sections showing details of the abaxial epidermis and subepidermal layers of: *S. aculeata* (d), *S. guianensis* (e). f-g Leaf sheath cross sections of: *M. bracteatum* (f), *M. affine* (g). h Margin cross section of *M. xyridoides*. i-j Leaf sheath cross sections of *S. aculeata* in the adaxial (i) and abaxial regions (j). k Petiole cross section of *S. aculeata*. *Scale bars* 50 μm in a-d; 100 μm in ej. 200 μm in k. ac air canals, ap arm-parenchyma, e epidermis, fb fiber bundles, fs fiber strands, h hypodermis, i phenolic idioblast, m mucilage, sg starch grains, t trichome

 Table 3 Inflorescence peduncle characteristics with diagnostic value for the studied species

Characteristics	1	2	3	4	5	6
Circular inflorescence peduncle with wings	+	_	_	_	_	_
Circular inflorescence peduncle without wings	_	+	_	-	_	_
Pentagonal inflorescence peduncle	-	-	+	+	_	-
Elliptical inflorescence peduncle	_	_	_	_	+	_
Deltoid inflorescence peduncle	_	_	_	_	_	+
Epidermal cells with thickened walls	_	_	_	_	+	_
Epidermal cells, tabular	+	+	+	+	_	_
Epidermal cells, rounded	_	_	_	_	+	_
Epidermal cells, papillate	_	_	_	_	_	+
Epidermal cells with phenolic compounds	+	+	+	+	_	_
Air canals in the cortex and pith	+	+	+	+	_	_
Hypodermis with slightly thick-walled cells	—	-	_	—	+	-
Hypodermis with thick-walled cells	_	_	_	_	_	+
Plicate chlorenchyma	_	_	_	_	+	_
Cortex undefined, with randomly distributed vascular bundles	-	-	-	-	-	+
Cells of the vascular bundles outer sheath with phenolic compounds	+	+	+	+	-	_
Pith with isodiametric cells and vascular bundles	-	-	_	-	+	-

1, *M. aemulans*; 2, *M. xyridoides*; 3, *M. bracteatum*; 4, *M. affine*; 5, *S. guianensis*; 6, *S. aculeata*, +, present, -, absent

all of the studied species and amphistomatic leaves in most of the *Monotrema* species. These leaves were interpreted to be bifacial, since the mesophyll is dorsiventral.

In Poales, most of the families present paracytic stomata in the leaves, except Bromeliaceae. This family presents stomata characterized by the presence of at least one lateral and one polar pair of accessory cells (Tomlinson 1969; Smith and Till 1998), which was also observed in Rapateaceae. The occurrence of tetracytic stomata is, thus, a feature that supports the close relationship between Rapateaceae and Bromeliaceae, as indicated in the phylogenetic analyses (Givnish et al. 1999, 2006, 2010; Chase et al. 2000, 2006). Carlquist (1969) also presented non-photosynthetic spheroidal cells collapsing at maturity in the leaves. This might be apparently correlated with the formation of air canals. In the present work, such air canals were observed in both the leaf blade and sheath and in the inflorescence peduncle of *Monotrema* species and *S. aculeata*. Since these individuals occur in wet and low areas (Monteiro 2012), the role of these air canals may be to promote the aeration of the tissues (Cutter 2002).

Monotrema comprises five species (Stevenson et al. 1998; Berry 2004), four of which were studied. The following characteristics were considered diagnostic for the genus: leaves and inflorescence peduncles with cells containing phenolic compounds in the epidermis and in the vascular bundle outer sheath; leaf blade with palisade and spongy chlorenchyma and arm-parenchyma delimiting air canals between the vascular bundles; leaf sheath with phenolic idioblasts randomly distributed in the mesophyll; inflorescence peduncle with tabular epidermal cells, a defined cortex, and air canals in the cortex and pith. Although Carlquist (1969) indicated that the leaves of Rapateaceae usually present palisade and spongy chlorenchyma, this characteristic was only observed in *Monotrema* during the present work.

The tribe Monotremeae, which includes *Monotrema*, was previously placed in the subfamily Rapateoideae, along with the tribe Rapateeae. Rapateeae is characterized by: leaves with subepidermal fiber strands on both surfaces and regular, plicate or arm-chlorenchyma in the mesophyll; and inflorescence peduncles usually with an undefined cortex, subepidermal fiber strands, and phenolic idioblasts (Daltin et al.—unpubl. data). The few characteristics shared between *Monotrema* and the genera of Rapateeae support their actual placement in different subfamilies.

According to Maguire (1958) and Berry (2004), *M. affine* is a hybrid only found in sympatric populations of *M. xyridoides* and *M. bracteatum*, thus exhibiting intermediate floral and foliar characteristics. In the present work, we observed that *M. affine* shares with both parental species the presence of a curvilinear leaf blade midrib and the margin of the leaf blade composed of chlorenchyma. This species shares the following characteristics with *M. xyridoides*: leaf blade presenting vascular bundle sheath extensions connected to both surfaces, and leaf sheath with a hypodermis in the abaxial surface and linear distributed vascular bundles. At the same time, *M. affine* shares with *M. bracteatum* the absence of a hypodermis in the leaf blade and the pentagonal form of the inflorescence peduncle.

Stegolepis comprises approximately 35 species and is the largest genus of Rapateaceae (Stevenson et al. 1998; Berry 2004). The diversity of distinctive characteristics in *S. guianensis* may be correlated to the isolation and



Fig. 4 Anatomical aspects of the inflorescence peduncles of Rapateaceae. a–f Inflorescence peduncle cross sections of: *M. aemulans* (a), *M. xyridoides* (b), *M. bracteatum* (c), *M. affine* (d), *S. guianensis* (e), *S. aculeata* (f). g Cross section of *S. aculeata* showing an undefined cortex and randomly distributed vascular bundles. h–k Cross sections of cortical region of: *S. guianensis* (h), *M. bracteatum* (i), *M. aemulans* (j), *S. aculeata* (k). I, m Cross sections showing a detail of the pith of: *M. bracteatum* (l), *S. guianensis* (m). *Scale bars* 200 µm in a–d, g; 500 µm in e; 750 µm in f; 100 µm in h, i; 50 µm in j–l; 25 µm in m. ac air canals, ae aerenchyma, ap arm-parenchyma, fb fiber bundle, fs fiber strand, h hypodermis, i phenolic idioblast, plc plicate chlorenchyma, vb vascular bundle, arrow epidermal cells with phenolic compounds, arrowhead silica bodies

speciation processes in this genus, as it was also observed in relation to the floral anatomy (Oriani and Scatena 2013). The plicate chlorenchyma observed in *S. guianensis* was associated with the palisade cells with anticlinal infolding walls described by Carlquist (1969). This characteristic was also observed by Daltin et al. (unpubl. data) for *Spathanthus bicolor* and *S. unilateralis*. The presence of thickwalled epidermal and hypodermal cells in *S. guianensis* may represent an adaptive response to the intense solar radiation and the wind action. Further analysis may reveal that these characteristics may have contributed to the process of invading higher altitudes, which occurred about 15 Mya when the tribe Stegolepidae probably arose (Givnish et al. 2004).

Saxofridericia comprises nine species (Stevenson et al. 1998; Berry 2004). The presence of a differentiated petiole in the leaves is one of the diagnostic characteristics of the genus and the anatomy of this structure is firstly reported here. Givnish et al. (2000) related the presence of the petiole as an adaptive response to keep the leaf blade above the water, since *S. aculeata* occurs in lowland swamps with seasonal floods.

As revealed by the present study, there are few anatomical features shared by *S. guianensis* and *S. aculeata*. This is in agreement with the placement of *Stegolepis* in Stegolepideae instead of Saxofridericieae, as proposed by Givnish et al. (2004).

Inflorescence peduncles with an undefined cortex, as in *S. aculeata*, are a common characteristic in *Duckea squarrosa*, *Rapatea paludosa*, *R. ulei*, *Spathanthus bicolor*, and *S. unilateralis* (species included in the subfamily Rapateoideae) (Daltin et al., unpubl. data). *S. aculeata* also shares with Rapateoideae species the presence of subepidermal fiber strands in both leaf blade surfaces (Daltin et al., unpubl. data). Such similarities might be interpreted as an adaptive convergence, since the species occur in similar habitats (in wet and shaded areas), but belong to different subfamilies of Rapateaceae.

The presence of silica cells in the leaves and inflorescence peduncles, as well as in the stems (Carlquist 1966) and flowers (Oriani and Scatena 2013), is a characteristic of Rapateaceae shared with other monocotyledons families and may represent a synapomorphy of Poales (Prychid et al. 2003). The role of silica bodies in Rapateaceae may be to decrease transpiration and help sustain these organs, as observed for other monocotyledons (Prychid et al. 2003).

The nature of the phenolic compounds observed in the vegetative organs and in the inflorescence peduncles of Rapateaceae was described by Carlquist (1969) as tanninlike, due to its dark color. Despite that the identity of this substance has not been determined yet, its function may be to avoid herbivory and to protect the plant from ultraviolet radiation (Harborne 1993). As demonstrated here, and in agreement with previous authors (Carlquist 1966, 1969; Oriani and Scatena 2013), the distribution of the phenolic idioblasts and silica cells in the different organs and tissues of Rapateaceae is an important characteristic to the taxonomy.

We emphasize that the anatomical data analyzed in the present work is not only useful to characterize the species, but also to corroborate the classification of Rapateaceae by Givnish et al. (2004). However, further studies including more species of different genera are necessary to better understand the diversity of characteristics inside the family.

Acknowledgments The authors thank the CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (process numbers: 144363/2011–9, 117640/2012–3, 301692/2010–6 and 471837/2011–3); the FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (process numbers: 2011/18275-0 and 2011/11536-3); and the PROPe, Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Estadual Paulista for financial support. We also thank Angela de Lima Daltin for sharing unpublished data and the two anonymous referees for their critical comments that improved the manuscript.

References

Arber A (1922) Leaves of the Farinosae. Bot Gaz 74:80-94

- Arber A (1925) Monocotyledons—a morphological study. The University Press, Cambridge
- Berry PE (2004) Rapateaceae. In: Steyermark JA, Berry PE, Yatskievych K, Holst BK (eds) Flora of the Venezuelan Guayana, vol 8: Poaceae-Rubiaceae. Missouri Botanical Garden Press, St Louis
- Carlquist S (1961) Pollen morphology of Rapateaceae. Aliso 5:39-66
- Carlquist S (1966) Anatomy of Rapateaceae—roots and stems. Phytomorphology 16:17–38
- Carlquist S (1969) Rapateaceae. In: Tomlinson PB (ed) Anatomy of the monocotyledons, Commelinales—Zingiberales. Oxford University Press, London
- Chase MW, Soltis DE, Soltis PS, Rudall PJ, Fay MF, Hahn WH, Sullivan S, Joseph J, Molvray M, Kores PJ, Givnish TJ, Sytsma KJ, Pires JC (2000) Higher-level systematics of the monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification. In: Wilson KL, Morrison DA (eds) Monocots: systematics and evolution. CSIRO, Melbourne, pp 3–16

- Chase MW, Fay MF, Devey DS, Maurin O, Rønsted N, Davies TJ, Pillon Y, Petersen G, Seberg O, Tamura MN, Asmussen CB, Hilu K, Borsch T, Davis JI, Stevenson DW, Pires JC, Givnish TJ, Sytsma KJ, McPherson MA, Graham SW, Rai HS (2006) Multigene analyses of monocot relationships: a summary. Aliso 23:62–74
- Cutter EG (2002) Anatomia vegetal, 2nd edn. Roca, São Paulo
- Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF (1985) The families of the monocotyledons. Springer, New York
- Feder N, O'Brien TP (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. Amer J Bot 55:123–142
- Givnish TJ, Evans TM, Pires JC, Sytsma KJ (1999) Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: evidence from rbc L sequence data. Mol Phyl Evol 12:360–385
- Givnish TJ, Evans TM, Zjhra ML, Patterson TB, Berry PE, Sytsma KJ (2000) Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndh*F sequences and morphology. Evolution 54:1915–1937
- Givnish TJ, Millam KC, Evans TM, Hall JC, Pires JC, Berry PE, Sytsma KJ (2004) Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndh*F sequence data. Int J Plant Sci 165(4 Suppl):35–54
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW, Mcpherson MA, Prince LM, Patterson TB, Rai HS, Roalson EH, Evans TM, Hahn WJ, Millam KC, Meerow AW, Molvray M, Kores PJ, O'brien HE, Hall JC, Kress WJ, Sytsma AKJ (2006) Phylogenetic relationships of monocots based on the highly informative plastid gene *ndh*F: evidence for widespread concerted convergence. Aliso 22:28–51
- Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, dePamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Duvall MR, Moore MJ, Heaney JM, Soltis DE, Soltis PS, Thiele K, Leebens-Mack JH (2010) Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence

phylogeny and evolution of Poales. Ann Missouri Bot Gard 97:584-616

- Harborne J (1993) Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, London
- Johansen DA (1940) Plant microtechnique. Mc Graw-Hill Book Co, New York
- Maguire B (1958) Rapateaceae. In: Maguire B, Wurdack JJ et al (eds) The botany of the Guayana Highland. Part III. Mem N Y Bot Gard 10(1):19–49
- Maguire B (1965) Rapateaceae. In: Maguire B (ed) The botany of the Guayana Highland. Part VI. Mem N Y Bot Gard 12(3):69–102
- Monteiro RF (2012) Rapateaceae. Lista de espécies da flora do Brasil—Jardim Botânico do Rio de Janeiro. http://floradobrasil. jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB205. Accessed 14 Nov 2013
- Oriani A, Scatena VL (2013) The taxonomic value of floral characters in Rapateaceae (Poales-Monocotyledons). Plant Syst Evol 299:291–303
- Prychid CJ, Rudall PJ, Gregory M (2003) Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. Bot Rev 69:377–440
- Roeser KR (1972) Die Nadel der Schwarzkiefer Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. Mikrokosmos 61:33–36
- Sass JE (1940) Elements of botanical microtechnique. McGraw-Hill Book Company, New York
- Smith LB, Till W (1998) Rapateaceae. In: Kubitzki K (ed) The families and genera of vascular plants, vol IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae). Springer, New York
- Souza VC, Lorenzi H (2012) Botânica sistemática. Instituto Plantarum, Nova Odessa
- Stevenson DW, Collela M, Boom B (1998) Rapateaceae. In: Kubitzki K (ed) The families and genera of vascular plants, vol IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae). Springer, New York
- Tomlinson PB (1969) Commelinales-Zingiberales. In: Metcalfe CR (ed) Anatomy of the monocotyledons. Clarendon Press, Oxford
- Venturelli M, Bouman F (1988) Development of ovule and seed in Rapateaceae. Bot J Linn Soc 97:267–294