

**JOVANI BERNARDINO DE SOUZA PEREIRA**

**TAXONOMIA E CARIOLOGIA DO GÊNERO *ISOETES* L. NAS REGIÕES SUL E SUDESTE  
DO BRASIL**

**Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo  
Programa de Pós-Graduação em Botânica do  
Setor de Ciências Biológicas da Universidade  
Federal do Paraná.**

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Labiak  
Evangelista**

**CURITIBA**

**2012**

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar aqui minha sincera gratidão pelas pessoas e instituições que colaboram de maneira direta e indireta para o desenvolvimento deste trabalho:

- Em primeiro lugar ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Labiak por ter me dado a oportunidade de pesquisar este grupo de planta que adoro e admiro.

- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido durante os dois anos de trabalho.

- Aos membros da banca Prof. Dr. Renato Goldenberg e Dra. Regina Hirai por gentilmente aceitarem o convite e pelos valiosos comentários em minha dissertação.

- À Priscila Izabel Tremarin, Dr. pelo auxilia com as imagens de microscopia eletrônica de varredura (sem ela este trabalho seria muito deficiente), bem como à Profa. Dra. Cleusa Bona e ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR.

- À Profa. Dra. Thelma Veiga Ludwig pela simpatia e por me receber sempre de braços abertos no laboratório de Ficologia da UFPR.

- Ao Instituto Chico Mendes pelas autorizações de coletas e a todos os funcionários dos seguintes parques nacionais; Aparados da Serra, Itatiaia, São Joaquim, Serra Geral e Serra dos Órgãos.

- Aos amigos Fabrício Meyer, Felipe Marinero, Pedro Schwartsburd, Werner Mancinelli pelo companheirismo nas expedições de coleta, bem como ao Rafael Lonzada, Maria Medeiros e Fernanda Karstedt pela parceria rumo a Serra dos Órgãos. A um amigo anônimo que na Serra dos Órgãos me mostrou uma pequena poça d'água onde encontrei uma população de Isoetes.

- Ao Prof. Dr. Willian Rodrigues pelas sinopses em latim e por ter me transmitir um pouco de suas experiências botânicas.

- Aos herbários B, BHCB, COR, HR, ICN, PACA, R, RB e VIC por me receberem em suas instalações e pelo envio dos exemplares botânico.

- Ao UPCB pelo rico acervo de material botânico e a sua funcionária Simone pelo companheirismo e paciência.

- Aos professores doutores do Programa de Pós-Graduação em Botânica pela minha formação e disciplinas oferecidas: Cleusa Bona, Eric de Camargo Smidt, Erika Amaro, Maria Regina T. Boeger, Patrícia Soffiatti, Renato Goldenberg e Viviane Pereira.

- À Profa. Dra. Isabela Galarda Varrassin pela minha prática de docência em biologia de campo.

- Aos amigos botânicos Fernando Matos e Marcelo Reginato por auxiliarem com o envio de artigos e sugestões na dissertação.

- Aos amigos Cássio Michelin, Frederico pelos diálogos, bem como ao grande amigo, estatístico, biólogo, escalador, motoqueiro José Samuel pelas elucidações estatísticas e convívio.

-Aos amigos da Pós-Graduação em Botânica e a Renata, Tigela, Flávio, Diego pelo convívio.

- A Elisabeth Ruth Maier.

- À minha família.

Muito Obrigado!

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	2
CAPÍTULO 1: TAXONOMIA DO GÊNERO <i>ISOETES</i> L. NAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL.....	3
RESUMO.....	4
ABSTRACT.....	4
1 INTRODUÇÃO.....	5
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	6
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	8
3.1 TRATAMENTO TAXONÔMICO.....	8
<i>ISOETES</i> .....	8
CHAVE PARA AS ESPÉCIES DE <i>ISOETES</i> L. NAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL.....	9
<i>ISOETES BACULATA</i> .....	11
<i>ISOETES BRADEI</i> .....	12
<i>ISOETES BRASILIENSIS</i> .....	13
<i>ISOETES GIGANTEA</i> .....	15
<i>ISOETES GOEBELII</i> .....	17
<i>ISOETES MARTII</i> .....	18
<i>ISOETES MAXIMA</i> .....	21
<i>ISOETES MOURABAPTISTAE</i> .....	23
<i>ISOETES ORGANENSIS</i> .....	24
<i>ISOETES QUIRIRIENSIS</i> .....	26
<i>ISOETES RAMBOI</i> .....	28
<i>ISOETES SEHNEMII</i> .....	31
<i>ISOETES SPANNAGELII</i> .....	33
<i>ISOETES ULEI</i> .....	35
<i>ISOETES WEBERI</i> .....	36
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
CAPÍTULO 2: CONTAGEM CROMOSSÔMICA E TAMANHO DE ESPOROS NO GÊNERO <i>ISOETES</i> L. NAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL.....	49
RESUMO.....	50

ABSTRACT.....	50
1 INTRODUÇÃO.....	51
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	52
2.1 CONTAGEM CROMOSSÔMICA.....	52
2.2 NÍVEL DE PLOIDIA E TAMANHO DE ESPOROS.....	53
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
3.1 CONTAGEM CROMOSSÔMICA.....	53
3.2 NÍVEL DE PLOIDIA VERSUS TAMANHO DE ESPOROS.....	56
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
CAPÍTULO 3: <i>ISOETES QUIRIRIENSIS</i> , UMA NOVA ESPÉCIE PARA O SUL DO BRASIL.....	66
RESUMO.....	67
ABSTRACT.....	67
1 INTRODUÇÃO.....	68
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	68
2.1 ANÁLISE DOS ESPOROS.....	69
2.2 ANÁLISE CITOGENÉTICA.....	69
3 TRATAMENTO TAXONÔMICO.....	69
3.1 ETIMOLOGIA.....	71
3.2 DISTRIBUIÇÃO E HÁBITAT.....	71
3.3 COMENTÁRIOS.....	71
3.4 CONSERVAÇÃO.....	72
CHAVE PARA AS ESPÉCIES DE ISOETES COM MEGÁSPORO TUBERCULADO A RUGULADO DAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL.....	72
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
CAPÍTULO 4: <i>ISOETES MOURABAPTISTAE</i> , A NEW SPECIES FROM SOUTHERN BRAZIL.....	79
RESUMO.....	80
ABSTRACT.....	80
1 INTRODUCTION.....	81
2 TAXONOMIC TREATMENT.....	81
2.1 ETYMOLOGY.....	83
2.2 DISTRIBUTION AND ECOLOGY.....	83
2.3 TAXONOMIC NOTES.....	83
2.4 CONSERVATIO STATUS.....	84
3 LITERATURE CITED.....	84

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

1. MEV dos esporos. A, B e E: <i>Isoetes baculata</i> . C, D e F: <i>Isoetes gigantea</i> .....	40
2. MEV dos esporos. A, B e E: <i>Isoetes brasiliensis</i> . C, D e F: <i>Isoetes mourabaptistae</i> .....	41
3. MEV dos esporos. A, B e E: <i>Isoetes goebelii</i> . C, D e F: <i>Isoetes ulei</i> .....	42
4. MEV dos esporos. A, B e E: <i>Isoetes organensis</i> . C, D e F: <i>Isoetes weberi</i> .....	43
5. MEV dos esporos. A, B e E: <i>Isoetes maxima</i> . C, D e F: <i>Isoetes quiririensis</i> .....	44
6. MEV dos esporos. A, B e E: <i>Isoetes spannagelii</i> . C, D e F: <i>Isoetes sehnemii</i> .....	45
7. MEV da variação dos esporos de <i>Isoetes martii</i> .....	46
8. MEV da variação dos esporos de <i>Isoetes ramboi</i> .....	47
9. Distribuição geográfica das espécies de <i>Isoetes</i> nas regiões sul e sudeste do Brasil.....	48

### CAPÍTULO 2

1 e 2. MO dos cromossomos em metáfase mitótica de <i>Isoetes maxima</i> .....	62
3 e 4. MO dos cromossomos em metáfase mitótica de <i>Isoetes organensis</i> .....	62
5 e 6. MO dos cromossomos em metáfase mitótica de <i>Isoetes martii</i> .....	63
7 e 8. MO dos cromossomos em metáfase mitótica de <i>Isoetes goebelii</i> .....	63
9 e 10. MO dos cromossomos em metáfase mitótica de <i>Isoetes spannagelii</i> .....	64
11 e 12. MO dos cromossomos em metáfase mitótica de <i>Isoetes ramboi</i> .....	64
13 e 14. MO dos cromossomos em metáfase mitótica de <i>Isoetes sp.</i> .....	64
15. Diagrama de dispersão com a plotagem do megásporo diâmetro versus micrósporo comprimento para as espécies de <i>Isoetes</i> com número de cromossomos conhecido e a posição de <i>Isoetes ulei</i> .....	65
16. Gráfico de regressão linear do megásporo diâmetro e número de cromossomos.....	65
17. Gráfico de regressão logarítmica do micrósporo comprimento e número de cromossomos.....	65

### CAPÍTULO 3

1. <i>Isoetes quiririensis</i> . A: Hábito. B: Cobertura do velo.....	75
2. MEV dos esporos de <i>Isoetes quiririensis</i> . A-C: Megásporo tuberculado. D-F: Micrósporo com perisporo equinado.....	76
3. MEV dos esporos. A, B: <i>Isoetes maxima</i> . C, D: <i>Isoetes pedersenii</i> . E, F: <i>Isoetes weberi</i> .....	77

4. MO dos cromossomos de <i>Isoetes quiririensis</i> . A. Metáfase mitótica. B. Ilustração do número cromossômico.....	78
5. Distribuição geográfica de <i>Isoetes bradei</i> , <i>Isoetes pedersenii</i> , <i>Isoetes maxima</i> , <i>Isoetes quiririensis</i> e <i>Isoetes weberi</i> .....	78

#### CAPÍTULO 4

1. Holotype of <i>Isoetes mourabaptistae</i> . A: Habit. B: Velum.....	86
2. SEM images of the megaspores A-D: <i>Isoetes mourabaptistae</i> . E: <i>Isoetes sehnemii</i> F: <i>Isoetes spannagelii</i> .....	87
3. SEM of the microspores. A–D: <i>Isoetes mourabaptistae</i> . E: <i>Isoetes sehnemii</i> . F: <i>Isoetes spannagelii</i> .....	88

### LISTA DE TABELAS

#### CAPÍTULO 2

1. Número cromossômico, hábitat, altitude e tamanho dos esporos ( $\mu\text{m}$ ), voucher e localidade das espécies de <i>Isoetes</i> nas regiões sul e sudeste.....	58
---	----

## INTRODUÇÃO GERAL

*Isoetes* L. (Isoetaceae) possui aproximadamente 350 espécies (Hickey et al., 2003), e apresenta distribuição quase cosmopolita, apesar das espécies geralmente apresentarem altas taxas de endemismo (Hickey, 1986; Hickey et al., 2003; Small e Hickey, 2001; Luebke e Budke, 2003; Choi et al., 2008). O gênero é tipicamente aquático, ocorrendo em rios e lagos, embora várias de suas espécies sejam também terrícolas em áreas permanente a sazonalmente inundadas.

Hickey (1990) considera a América do Sul como sendo o centro de diversidade morfológica e taxonômica do gênero. No Brasil, em particular, *Isoetes* é reconhecidamente um dos grupos menos estudados e a maioria das espécies é conhecida de um número bastante limitado de coleções, tornando a distinção dos táxons um desafio. Prado & Sylvestre (2010) citam 14 espécies para o Brasil, 12 das quais seriam endêmicas ao nosso território. No entanto, este número deve ser maior, tendo em vista a notória escassez de material presente nos herbários.

Dessa forma, este trabalho visa preencher o vazio de informações sobre as espécies de *Isoetes* nas regiões sul e sudeste do Brasil, combinando estudos morfológicos e citogenéticos, e realizando coletas mais sistematizadas nos locais de provável ocorrência do gênero.

O corpo desta Dissertação está dividido em quatro capítulos, os quais na sua maioria seguem as normas do periódico "American Fern Journal", com exceção do terceiro capítulo que segue o formato do periódico "Systematic Botany".

No primeiro capítulo é apresentado o estudo taxonômico, com o estabelecimento da riqueza de espécies, suas respectivas distribuições geográficas, habitats preferenciais, e documentação da variação intra e interespecífica. São também apresentados subsídios para identificação dos táxons através de chave de identificação, comentários, ilustrações dos esporos, mapas de distribuição geográfica e o número cromossômico.

No segundo capítulo são apresentadas as análises citogenéticas, com contagens cromossômicas para sete espécies do gênero.

Com base nos estudos presentes nos capítulos 1 e 2, no terceiro capítulo *Isoetes quiririensis* (*Isoetes sp.2*) é descrita como uma espécie nova para a ciência.

No quarto capítulo, da mesma forma, *Isoetes mourabaptistae* (*Isoetes sp.1*) é descrita como uma espécie nova para a ciência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHOI, H.-K., JUNG, J. AND KIM, C. 2008. Two new species of *Isoetes* (Isoetaceae) from Jeju Island, South Korea. *J. Pl. Biol.* 51:354-358.
- HICKEY, R. J. 1986. The Early Evolutionary and Morphological Diversity of *Isöetes*, with Descriptions of Two New Neotropical Species. *Syst. Bot.* 11: 309-321.
- HICKEY, R. J. 1990. Studies of Neotropical *Isoetes* L. I. *Euphyllum*, A New Subgenus. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* 77: 239-245.
- HICKEY, R. J., MACLUF, C. AND TAYLOR, W. C. 2003. A Re-evaluation of *Isoetes savatierii* Franchet in Argentina and Chile. *Amer. Fern J.* 93: 126-136.
- LUEBKE, N. T. AND BUDKE, J. M. 2003. *Isoetes tennesseensis* (Isoetaceae), an Octoploid Quillwort from Tennessee. *Amer. Fern J.* 93: 184-190.
- PRADO, J. E SYLVESTRE, L. 2010. Isoetaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB091271>).
- SMALL, R.L. AND HICKEY, R. J. 2001. Systematics of the Northern Andean *Isoetes karstenii* Complex. *Amer. Fern J.* 91: 41-69.

## **Capítulo 1: Taxonomia do gênero *Isoetes* L. nas regiões sul e sudeste do Brasil**

JOVANI B. PEREIRA

Universidade Federal do Paraná, Depto. de Botânica, C.P. 19031, 81531-980, Curitiba, PR,  
Brazil, e-mail: giovanibio@gmail.com

PAULO H. LABIAK

Universidade Federal do Paraná, Depto. de Botânica, C.P. 19031, 81531-980, Curitiba, PR,  
Brazil, e-mail: plabiak@ufpr.br

RESUMO.— *Isoetes* L. (Isoetaceae) é uma licófito com distribuição quase que cosmopolita, com aproximadamente 350 espécies. Nas regiões sul e sudeste do Brasil a maioria das espécies é conhecida de um número bastante limitado de coleções. No presente trabalho é apresentado o tratamento taxonômico para as espécies desta área. Ao todo foram registradas 15 espécies, 12 delas restritas a área de estudo: *Isoetes bradei*, *I. brasiliensis*, *I. goebelii*, *I. martii*, *I. maxima*, *I. mourabaptistae*, *I. organensis*, *I. quiririensis*, *I. ramboi*, *I. sehnemii*, *I. spannagelii* e *I. ulei*. *Isoetes baculata*, *I. gigantea* e *I. weberi* são as três espécies que também ocorrem em outras áreas do Brasil e América do Sul. São também apresentados chave de identificação, descrições, comentários, ilustrações dos esporos e mapas de distribuição geográfica.

PALAVRAS CHAVE.— Diversidade, esporos, poliploidia, licófitas, plantas aquáticas.

ABSTRACT.— *Isoetes* L. (Isoetaceae) is a nearly cosmopolitan lycophyte, with approximately 350 species. In southern and southeastern Brazil the most of its species are known from a very limited number of collections. In this paper we present a taxonomic treatment for the species of *Isoetes* in those regions, as well as chromosome counting in order to access the ploidy level of some species. Altogether, 15 species were recorded. *Isoetes bradei*, *I. brasiliensis*, *I. goebelii*, *I. martii*, *I. maxima*, *I. mourabaptistae*, *I. organensis*, *I. quiririensis*, *I. ramboi*, *I. sehnemii*, *I. spannagelii*, *I. ulei* are endemic to Brazil, whereas *I. baculata*, *I. gigantea* and *I. weberi* also occur in other areas of Brazil and South America. A key to the species, descriptions, comments, spores illustrations and geographical distribution maps are also presented.

KEY WORDS.— Diversity, spores, polyploidy, lycophytes, aquatic plants.

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Isoetes* L. (Isoetaceae) possui aproximadamente 350 espécies (Hickey et al., 2003), e está presente em quase todo o planeta, embora suas espécies geralmente apresentam altas taxas de endemismo, especialmente em áreas montanhosas dos trópicos (Hickey, 1986b; Hickey et al., 2003; Small e Hickey, 2001; Luebke e Budke, 2003; Choi et al., 2008). *Isoetes* é tipicamente aquático, ocorrendo como planta submersa em rios e lagos, embora várias de suas espécies sejam também terrícolas em áreas permanente a sazonalmente inundadas.

Hickey (1990) considera a América do Sul como sendo o centro de diversidade morfológica e taxonômica do gênero. Entretanto, estudos envolvendo as espécies desta área são proporcionalmente menores e a maior parte das informações sobre o gênero são resultados de estudos com táxons das regiões temperadas do hemisfério Norte. Weber (1922), numa primeira tentativa de entender a diversidade de *Isoetes* na América do Sul, considerou 20 espécies para a região. Outras duas importantes contribuições foram Hickey (1985) e Fuchs-Eckert (1986), que consideraram 47 e 90 espécies para esta área, respectivamente. No Brasil, *Isoetes* é reconhecidamente um dos grupos menos estudados e a maioria das espécies é conhecida de um número bastante limitado de coleções. Prado et al. (2012) citam 21 espécies para o Brasil, 16 das quais seriam endêmicas ao nosso território.

No gênero *Isoetes* é notória a dificuldade em identificar as espécies, pelas poucas características morfológicas e pelo alto índice de homoplasia (Taylor & Hickey, 1992) existente entre as espécies. Destacam-se também os frequentes processos de evolução reticulada, sendo que fenômenos de hibridação e poliploidia são bastante comuns no gênero (Moran, 2004) e tornam a identificação das espécies ainda mais difícil.

A taxonomia de *Isoetes* é quase totalmente baseada nas características dos megásporos, sendo estas estruturas imprescindíveis na identificação das espécies (Pfeiffer, 1922; Hickey, 1986a). Contudo, classificação infragenérica com base na ornamentação do

megásporo como a proposta por Pfeiffer (1922), na qual descreve quatro seções (Cristatae, Reticulatae, Tuberculatae, e Echinatae), é inconsistente por apresentar problemas na discriminação e sobreposição dos tipos ornamentais, e pela falta de correlação com outras estruturas da planta (Hickey, 1986a). Por sua vez, Hickey (1990) propõem uma nova classificação baseada em dois subgêneros: *Euphyllum* que apresentaria microfilos completamente alado e possui apenas três espécies; *Isoetes* com microfilos parcialmente alados e onde se insere a maior parte das espécies. Contudo, estas classificações morfológicas se deparam com a alta uniformidade genética de *Isoetes*, que torna a resolução das relações entre as espécies bastante baixa (Hoot e Taylor 2001) e vem se revelando artificiais (Rydin e Winkström, 2002).

Neste contexto, as características dos componentes vegetativos, em combinação com as análises dos megásporos e micrósporos em microscopia eletrônica de varredura, citogenética, ecologia e distribuição geográfica, são fundamentais para uma delimitação mais acurada das espécies do gênero.

Este trabalho pretende apresentar uma contribuição para o estudo do gênero *Isoetes* nas regiões sul e sudeste do Brasil, estabelecendo a riqueza de espécies, suas respectivas distribuições geográficas, habitats preferenciais e documentação da variação intra e interespecífica. Busca-se também elucidar os problemas de delimitação das espécies, fornecendo subsídios para identificação dos táxons através de chave de identificação, comentários e ilustrações dos esporos.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

A área estudada compreende os Estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo, localizados nas regiões sul e sudeste do Brasil (Figura 9).

Para a realização deste trabalho foram consultadas as coleções de *Isoetes* depositadas nos principais herbários brasileiros, como BHCB, HBR, ICN, PACA, RB, UPCB

e VIC. Cabe ressaltar que foram solicitados materiais a mais de 15 herbários nacionais, os quais, no entanto, não possuíam nenhum exemplar de *Isoetes* em suas coleções.

Expedições de coletas foram empreendidas para o Estado do Rio Grande do Sul (Parque Nacional da Serra Geral e P. N. de Aparados da Serra), Santa Catarina (Serra do Quiriri e P. N. de São Joaquim) e Rio de Janeiro (P. N. do Itatiaia e P. N. da Serra dos Órgãos) com o objetivo de acessar o maior número de espécimes e realizar observações ecológicas das plantas em seus habitats. Os materiais coletados estão, na sua maioria, depositados no herbário UPCB. Duplicatas, quando disponíveis, foram também enviadas para os herbários ICN, PACA, RB, SP.

As caracterizações das espécies deram-se pela análise morfológica vegetativa, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia óptica (MO) dos esporos. Os termos utilizados para caracterização morfológica vegetativa estão de acordo com Hickey (1985) e Lellinger (2002).

As descrições das espécies foram feitas com auxílio de escala milimétrica e régua comum.

Na análise dos micrósporos e megásporos, esses foram obtidos dos espécimes depositados nos herbários e dos materiais coletados em campo. As estruturas, sem pré-tratamento químico, foram fixadas em suporte de MEV com fita de cobre dupla face 3M e tiveram suas superfícies recobertas por ouro-paládio. Em seguida, os esporos foram analisados em MEV JEOL modelo JSM 6360 LV. O comprimento e largura dos micrósporos foram obtidos em microscópio óptico. Para tanto, os esporos sem pré-tratamento químico foram misturados a uma gota de glicerina em lâmina, logo em seguida, visualizados em um microscópio OLYMPUS BX40. As imagens das estruturas foram capturadas em câmera de captura OLYMPUS DP071.

As dimensões dos megásporos (diâmetro maior) e micrósporos (comprimento e largura) foram obtidas no programa IMAGEJ, e os cálculos das médias foram estimadas para um mínimo 20 estruturas por espécime, nas diferentes localidades de ocorrência da espécie.

A descrição e classificação dos esporos estão de acordo com Hickey (1986a) e, Lellinger e Taylor (1997). Algumas modificações foram adotadas para descrever a ornamentação secundária dos megásporos, principalmente no que se refere aos termos lesura, cíngulo, crista e muro.

O termo lesura designa uma cicatriz espessada e trirradiada, presente na superfície proximal. Cíngulo é o engrossamento contínuo e sólido da parede do megásporo em disposição equatorial. Crista é uma protuberância estreita e elevada que não forma aréola, e que pode estar adjacente ou sobre a lesura e cíngulo. Os muros são as protuberâncias alongadas que formam aréolas.

A distribuição geográfica e ecologia das espécies são apresentadas com base nos espécimes analisados, observações de campo e consulta à literatura.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na área de estudo foram registradas 15 espécies, 12 das quais são aparentemente endêmicas: *Isoetes bradei* Herter, *I. brasiliensis* H.P. Fuchs, *I. goebelii* U.Weber, *I. martii* A.Braun ex Kuhn, *I. maxima* Hickey et al., *I. mourabaptistae* Pereira et al., *I. organensis* U.Weber, *I. quiririensis* Pereira & Labiak, *I. ramboi* Herter, *I. sehnemii* H.P. Fuchs, *I. spannagelii* H.P. Fuchs, *I. ulei* U.Weber. Enquanto, *I. baculata* Hickey & H.P. Fuchs, *I. gigantea* U.Weber e *I. weberi* Herter também ocorrem em outras áreas do Brasil e América do Sul. *Isoetes baculata* apresenta o seu primeiro registro nestas regiões, e *I. mourabaptistae* e *I. quiririensis* são duas espécies novas para a ciência.

#### 3.1 TRATAMENTO TAXONÔMICO

***Isoetes*** L. Sp. Pl. 2: 1100. 1753. TIPO.— *Isoetes lacustris* L.

Plantas aquáticas ou terrícolas. Cormos eretos a curto-reptantes, bilobados. Raízes síncronas, surgindo na base de uma fossa, conspícuas, dicotomicamente divididas. Microfilos 9-180 por cormo, filiformes a triangulares, eretos a ascendentes, retos ou flexuosos; alas presentes apenas na porção proximal ou sobre toda a extensão do microfilo, membranáceas ou cartáceas, hialinas a castanho-escuras, ápice atenuado a truncado, ou livre; súbulas presentes ou ausentes. Velo rudimentar a ausente, incompleto ou completo. Língulas hialinas a castanho-escuras, ovais a cordadas, aurículas presentes ou ausentes. Lábios presentes ou ausentes. Esporângios basais ou acima da base dos microfilos, arredondados ou ovais a elípticos, concolores ou bicolores, hialinos a castanho-escuros. Megásporos brancos ou cinzas, triletes, baculados, cristados, lisos, rugulados, sacados ou tuberculados; lesura reta ou ondulada, arredondada, ou triangular a laminada, conspícua ou inconspícua, com ou sem cristas adjacentes; cingulo ondulado ou reto, com contorno arredondado a triangular, conspícuo ou inconspícuo, com ou sem cristas ornamentais; vista equatorial globular, vista proximal globular ou subtriangular. Micrósporos cinzas ou castanho-claros, monoletes, perisporo liso, papilado, rugulado, equinado ou tuberculado.

#### CHAVE PARA AS ESPÉCIES DE *ISOETES* NAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL

1. Alas presentes em toda extensão do microfilo; súbula ausente
  2. Esporângio acima da base do microfilo; megásporo sacado.....4. *I. gigantea*
  2. Esporângio no limite basal do microfilo; megásporo baculado ou tuberculado
    3. Megásporo baculado..... 1. *I. baculata*
    3. Megásporo tuberculado..... 2. *I. bradei*
1. Alas presentes somente na porção proximal (nunca atingido o ápice do microfilo); súbula presente
  4. Megásporo reticulado ou cristado
    5. Megásporo cristado; micrósporo equinado
      6. Microfilos 30-40 por cormo; alas correspondendo à 12-20% do comprimento do microfilo; megásporo esparsamente cristado, 431-635 ( $\bar{x}$  = 527)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial.....14. *I. ulei*
      6. Microfilos 60-80 por cormo; alas correspondendo à 25-30% do comprimento do microfilo; megásporo densamente cristado, 535-717 ( $\bar{x}$  =626)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial)..... 5. *I. goebelii*

5. Megáspero reticulado; micrósporo liso, liso-rugulado, tuberculado-rugulado ou microequinado
7. Planta da região sul do Brasil (Santa Catarina e Rio Grande do Sul)
  8. Micrósporo microequinado.....8. *I. mourabaptistae*
  8. Micrósporo liso
    9. Microfilos curtos (até 11 cm compr.), filiformes, até 1,2 mm larg. na porção mediana
    10. Velo recobrimdo 76-95% da superfície do esporângio; megáspero regularmente reticulado, 406-583 ( $\bar{x}$  =519)  $\mu$ m diam. equatorial, com lesura conectada diretamente aos muros areolados, sem cristas adjacentes..... 13. *I. spannagelii*
    10. Velo cobrimdo 51-75% da superfície do esporângio; megáspero irregularmente reticulado a cristado, 332-554 ( $\bar{x}$ =423)  $\mu$ m diam. equatorial, com lesura separada dos muros areolados por pequenas cristas adjacentes..... 12. *I. sehnemii*
    9. Microfilos compridos (acima de 15 cm compr.), lineares, acima de 1,5 mm larg. na porção medial (raramente 1,1 mm larg.)
      11. Lábio oblongo; megáspero com o contorno da lesura arredondada, 359-540 ( $\bar{x}$  = 450)  $\mu$ m diam. equatorial..... 3. *I. brasiliensis*
      11. Lábio triangular a verticalmente estreito-retangular; megáspero com o contorno da lesura triangular, 489-807 ( $\bar{x}$ =619)  $\mu$ m diam. equatorial..... 11. *I. ramboi*
7. Planta da região sudeste do Brasil (Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro)
  12. Alas hialinas a cinzas; velo recobrimdo até 25% da superfície do esporângio; micrósporo microequinado..... 9. *I. organensis*
  12. Alas castanhas; velo recobrimdo 26-50% da superfície do esporângio, micrósporo liso-rugulado ou tuberculado-rugulado.....6. *I. martii*
4. Megáspero tuberculado, liso e/ou rugulado
  13. Lábio estreito-oblongo; velo recobrimdo até 25% da superfície do esporângio; esporângio bicolor..... 15. *I. weberi*
  13. Lábio arredondado a triangular; velo recobrimdo acima de 26% da superfície do esporângio; esporângio concolor
    14. Velo recobrimdo 76-95% da superfície do esporângio; megáspero regularmente tuberculado..... 10. *I. quiririensis*
    14. Velo recobrimdo 26-50% da superfície do esporângio; megáspero irregularmente tuberculado (tuberculado-liso e/ou tuberculado-rugulado).....7. *I. maxima*

1. *Isoetes baculata* Hickey & H.P. Fuchs, Syst. Bot. 11: 310, fig. 1. 1986. TIPO.— BRASIL.

**Amazonas** (Uaupés): im fluss auf d. Colombianisches Seite, 28 Nov 1916, *Luetzelburg* 23785 (Holótipo: M n.v.; Isótipo: R). **Figs. 1A, B e E; 9C.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, 0,4-0,7 cm diam. Microfilos 30-60 por corno, lineares, eretos, flexuosos, membranáceos, verde-claros, 11-22 cm compr., 2,7-3 mm larg. na porção mediana, 5-7 mm larg. na porção basal, ápice atenuado; alas presentes em toda a extensão do microfilo, 1,5-1,8 mm larg. no esporângio, membranáceas, verde-claras, ápice atenuado; súbulas ausentes. Velo ausente a rudimentar. Lígulas 1,3-1,5 mm compr., 1,4-1,6 mm larg., castanhas, deltóides a cordadas, auriculadas. Lábios ausentes. Esporângios basais, elípticos, 3,2-4 mm compr., 1,8-2,5 mm larg., concolores, castanho-claros a hialinos. Megásporos cinzas, triletes, 388-434 ( $\bar{x}$  = 412)  $\mu$ m diam. equatorial, superfícies distal e proximal baculadas; lesura reta, com contorno triangular, conspícua, sem cristas adjacentes; cingulo ondulado a reto, com contorno estreitamente triangular, conspícuos, sem cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 27-32 ( $\bar{x}$  = 30)  $\mu$ m compr., 18-23 ( $\bar{x}$  = 20)  $\mu$ m larg., perisporo equinado a tuberculado. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie ocorre no Estado do Amazonas (próximo a fronteira com a Colômbia) e em Minas Gerais (Fig. 9C). Pode ser encontrada como aquática submersa em rios e lagos, até 1200 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Minas Gerais.** Santana do Riacho: Vilarejo de Lapinha da Serra, Lagoa da Lapinha, próximo às pinturas rupestres, ca. 5 m da margem, 22 Jun 2010, *Ribeiro et al. 01* (BHCB, UPCB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes baculata* se caracteriza pelos megásporos cinzas, baculados (Fig. 1A, B), microfilos completamente alados (sem súbula na porção distal), flexuosos, verde-claros e velo rudimentar a ausente.

De acordo com Hickey (1990), *Isoetes panamensis* Maxon & C.V.Morton é bastante semelhante a *I. baculata* pelos megásporos baculados, micrósporos equinados e velo rudimentar. No entanto, *I. panamensis* distingue-se pelos microfilos com alas apenas na porção proximal e súbula na porção distal.

CONSERVAÇÃO. — Esta espécie é conhecida de apenas três coleções, em duas localidades bastante disjuntas, sugerindo que esta seja uma espécie bastante rara. Contudo, baseado em nosso conhecimento atual sobre o tamanho da população e distribuição geográfica, a categoria da IUCN (2010) em que *I. baculata* melhor se encaixa é Dado Deficiente (DD).

**2. *Isoetes bradei*** Herter, Revista Sudamer. Bot. 8: 19. 1949. TIPO.— BRASIL. **São Paulo:** Vila Emma, Rio Mooca, 1921, *Brade 8119* (Holótipo: G n.v.; Isótipo: AAU n.v., S n.v., UC n.v., US n.v.). **Fig. 9C.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, ca. 0,2 cm diam. Microfilos 40-100 por cormo, lineares, eretos, flexuosos, cartáceos a membranáceos, verde-claros a verde-escuros, até 71 cm compr., ca. 5 mm larg. na porção mediana, ca. 6 mm larg. na porção basal, ápice atenuado; alas presentes em toda a extensão do microfilo, ca. 4 mm larg. no esporângio, membranáceas, hialinas a castanho-claras, ápice atenuado; súbulas ausentes. Velo ausente a rudimentar. Lígula não observada. Lábios ovais, até 2 mm compr. e até 2,2 mm larg. Esporângios basais, elípticos, 0,8 mm compr., 4 mm larg., concolores, castanho-claros. Megásporos cinzas, triletes, 500-660 ( $\bar{x}$  = 609)  $\mu$ m diam. equatorial, superfícies distal e proximal tuberculadas; lesura não observada; cingulo ondulado, com contorno triangular, conspícuo, sem cristas ornamentais; vista equatorial globular, vista proximal não observada.

Micrósporos cinzas, monoletes, 40-51,3 ( $\bar{x}$  = 45)  $\mu\text{m}$  compr., 32,5-38,8 ( $\bar{x}$  = 35)  $\mu\text{m}$  larg., perisporo equinado. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é conhecida por apenas duas coletas, realizadas por Brade em 1921 no Rio Mooca, Vila Ema, na cidade de São Paulo (Fig. 9C). Segundo os dados destas coletas, esta planta ocorria como aquática submersa, a cerca de 700 m altitude.

COMENTÁRIO.— A descrição de *Isoetes bradei*, aqui apresentado, baseia-se na fotografia do tipo e nas imagens dos esporos publicadas por Hickey (1990). As exsicatas não foram acessadas pelos autores devido à raridade das coleções botânicas e ausência dos espécimes nos herbários do Brasil. Contudo, *I. bradei* é aparentemente um táxon legítimo e bastante distinto das demais espécies presentes na região.

De acordo com Hickey (1990), esta espécie pode ser caracterizada pelos microfilos amplamente alados, com as alas atingindo o ápice do microfilo, súbula ausente, velo ausente a rudimentar, micrósporo equinado e megásporo tuberculado.

*Isoetes bradei*, *I. gigantea* e *I. baculata* formam um conjunto de espécies que apresenta microfilo completamente alado. Tal característica é aparentemente plesiomórfica, com base em achados fósseis de seus ancestrais *Isoëtites* e o grupo irmão Selaginellaceae (Hickey 1990). Contudo, *I. bradei* distingue-se das demais espécies deste grupo pelo megásporo tuberculado.

CONSERVAÇÃO.— Conhecido apenas de sua localidade tipo, em área de intensa ocupação urbana, este táxon é considerado extinto da flora brasileira (IBAMA, 2008; IUCN, 2010).

**3. *Isoetes brasiliensis*** H.P.Fuchs, Fl. Illustr. Catar. 1 (Isoetácea): 27. Est. 2, figs. e-h. 1986.

TIPO.— BRASIL. **Rio Grande do Sul**: São Leopoldo, imersa na água de brejo, 10 m,

1940, *Reitz s.n.* (Holótipo: US n.v.; Isótipo: BM n.v., G n.v., U n.v.). **Figs. 2A, B e E; 9D.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, 0,9-2,2 cm diam. Microfilos 20-90 por corno, lineares, eretos, retos, membranáceos, verde-claros, 27-31 cm compr., 1,3-2,5 mm larg. na porção mediana, 7-9 mm larg. na porção basal, ápice atenuado; alas presentes na porção proximal, 6,5-9,5 cm compr. (correspondendo a 24-38% do comprimento do microfilo), 1,7-2,3 mm larg. no esporângio, membranáceas, castanhas a castanho-escuras, ápice atenuado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 25-50% da superfície do esporângio. Língulas 3,5-4 mm compr., 0,6-0,8 mm larg., castanhas, lanceoladas, não auriculadas. Lábios oblongos, 0,3-0,4 mm compr., 0,1-0,3 mm larg. Esporângios basais, ovais a elípticos, 3,5-7 mm compr., 2,2-3,5 mm larg., concolores, castanho-claros. Megásporos brancos, triletos, 359-540 ( $\bar{x} = 450$ )  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal reticuladas; lesura e cingulo retos, com contornos arredondados, conspícuos, conectados diretamente aos muros areolados, sem cristas adjacentes; vista equatorial e proximal globular. Micrósporos cinzas, monoletos, 24-29 ( $\bar{x} = 26$ )  $\mu\text{m}$  compr., 15-22 ( $\bar{x} = 18$ )  $\mu\text{m}$  larg., perisporo liso. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— De acordo com Fuchs-Eckert (1986), esta espécie ocorre na porção nordeste do Rio Grande do Sul e leste de Santa Catarina (Fig. 9D). Pode ser encontrada como aquática submersa em campos sazonal a permanentemente inundados, lagos e rios em áreas baixas de até 100 m de altitude.

MATERIA EXAMINADO.— **Rio Grande do Sul.** São Leopoldo: sine die, s. d. *Rohr s.n.* (PACA); Campo dos Padres, 1941, *Reitz 652* (PACA, RB); Capão da Lagoa, 30 m de altitude, 20 Mai 1941, *Reitz 910* (PACA); Capão da Lagoa, 30 m altitude, 25 Mai 1941, *Reitz 128* (PACA, RB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes brasiliensis* se caracteriza pelos megásporos regularmente reticulados, lesura com contorno arredondado e pela ausência de cristas adjacentes separando a lesura dos muros areolados (Fig. 2A, B).

De acordo com Fuchs-Eckert (1986), *Isoetes brasiliensis* é bastante similar a *I. martii* pelo tamanho e número dos microfilos. No entanto, *I. brasiliensis* possui megásporo com 359-540 ( $\bar{x}$  = 450)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, lesura contorno arredondado e área de distribuição no extremo sul do Brasil, enquanto, *I. martii* apresenta megásporo com (534)640-913 ( $\bar{x}$  = 705)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, lesura com contorno triangular e distribuição geográfica no sudeste do Brasil.

CONSERVAÇÃO.— Esta espécie é conhecida de poucas coleções, em apenas duas localidades de intensa ocupação humana. Fuchs-Eckert (1986) relata o desaparecimento deste táxon de sua localidade tipo devido ao despejo de herbicidas e inseticidas utilizados pela agricultura nos rios da região. Portanto, baseado em nosso conhecimento atual sobre distribuição geográfica e declínio das populações, a categoria da IUCN (2010) em que *I. brasiliensis* melhor se encaixa é de Ameaçada (EN).

**4. *Isoetes gigantea*** U. Weber, Hedwigia 63: 245, figs. 8, 9. 1922. TIPO.— BRASIL. **Rio de Janeiro:** Serra dos Orgãos, Morro Açu, Hochmoor bei Isabellocca, 2000 m, 1915, *Luetzelburg* 6438 (Lectótipo designado por Hickey 1990: M n.v.; Isolectótipo: M n.v.).  
**Figs. 1C, D e F; 9C.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, 1,3-1,5 cm diam. Microfilos 150-180 por corno, lineares, eretos, flexuosos, cartáceos, verde-escuros, 23-35 cm compr., 1,5-2,8 mm larg. na porção mediana, 9-10 mm na porção basal, ápice atenuado; alas presentes em toda extensão do microfilo, 2,9-3,2 mm larg. no esporângio, cartáceas, hialinas a verdes claras;

súbulas ausentes. Velo ausente a rudimentar. Lígulas 3,5-4 mm compr., 2-3 mm larg., castanhas, triangulares, auriculadas. Lábios oval-lanceolados, 1,8-2 mm compr., 0,9-1,3 mm larg. Esporângios acima da base dos microfilos, elípticos, 3,3-4 mm compr., 1,8-2,2 mm larg., concolores, castanhos. Megásporos cinzas, triletes, 583-684 ( $\bar{x}$  = 635)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal sacadas (raramente tuberculadas); lesura reta, estreitamente triangular a laminar, conspícua, não conectada diretamente às projeções bulbosas; cingulo ondulado, arredondado, conspícuo, conectado diretamente às projeções bulbosas; vista equatorial globular, vista proximal triangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 34-41 ( $\bar{x}$  = 39)  $\mu\text{m}$  compr., 25-29 ( $\bar{x}$  = 27)  $\mu\text{m}$  larg., perisporo papilado. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— De acordo com Hickey (1990), *Isoetes gigantea* ocorre nas regiões sudeste e nordeste do Brasil, mais precisamente nos estados da Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Pode ser encontrada como aquática submersa em lagos acima de 1000 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Minas Gerais.** Joaquim Felício: Serra do Cabral, 17°43'40``S, 40°10'50``W, 1054 m, 15 Set 2007, *Viana & Teles 3305* (BHCB, UPCB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes gigantea* se caracteriza pelo microfilo completamente alado, esporângio acima da base do microfilo, velo ausente a rudimentar, megásporo cinza, sacado, lesura estreitamente triangular a laminada (Fig, 1C, D).

De acordo com Hickey (1990), *Isoetes gigantea* é semelhante a *I. baculata* e *I. bradei* principalmente pelo microfilo completamente alado, velo ausente a rudimentar e lábio bastante largo. No entanto, distingue-se pela posição do esporângio na base do microfilo e pela ornamentação do megásporo.

CONSERVAÇÃO.— Esta espécie é conhecida para várias localidades nas regiões sudeste e nordeste do Brasil. Contudo, os poucos espécimes nas coleções dos herbários sugerem que este táxon apresenta ocorrência bastante rara, portanto, cuidados deve ser tomados para proteger suas populações. Com base em nosso conhecimento sobre o tamanho destas populações e sua distribuição geográfica, a categoria da IUCN (2010) em que *I. gigantea* melhor se encaixa é Dado Deficiente (DD).

**5. *Isoetes goebelii*** U. Weber, Hedwigia 63: 247, figs. 16, 17. 1922. TIPO.— BRASIL. Rio de Janeiro: Monte Itatiaia, *Goebel s.n.* (Holótipo: M n.v.). **Figs. 3A, B e E; 9B.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, 1,5-2 cm diam. Microfilos 60-80 por corno, lineares, eretos a ascendentes, retos, cartáceos, verde-escuros, 21-30 cm compr., 1,5-1,8 mm larg. na porção mediana, 1,2-1,6 cm larg. na porção basal, ápice agudo; alas presentes na porção proximal, 7-7,5 cm compr. (correspondendo a 25-30 % do comprimento do microfilo), 2-2,5 mm larg. no esporângio, cartáceas, castanho-escuras, ápice atenuado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo até 25% da superfície do esporângio. Língulas 2,8-3,2 mm compr., 2,5-2,7 mm larg., castanho-escuras, ovais, não auriculadas. Lábios deltóides, 1,1-1,3 mm larg., 1,3-1,5 mm compr. Esporângios basais, elípticos, 8-9 mm compr., 3,5-4 mm larg., concolores, hialinos a castanho-claros. Megásporos brancos, triletes, 535-717 ( $\bar{x}$  = 626)  $\mu$ m diam. equatorial, superfícies distal e proximal densamente cristadas; lesura e cingulo retos, com contornos triangulares a arredondados, inconspícuos, separados das cristas centrais maiores por pequenas cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 30-36 ( $\bar{x}$  = 34)  $\mu$ m compr., 21-28 ( $\bar{x}$  = 25)  $\mu$ m larg., perisporo equinado. Número cromossômico  $2n = 33$ .

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é aparentemente restrita aos campos de altitude da Serra do Itatiaia, no Estado do Rio de Janeiro (Fig. 9B). Pode ser encontrada como aquática submersa em lagos e rios a 2300-2500 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— Rio de Janeiro. Itatiaia: Abrigo Rebouças, Dez 2006, *Sylvestre et al.* 1896 (RB, UPCB); Rebouças, 22°23'01"S, 44°40'11"W, 2300-2400 m, 8 Jan 2011, *Pereira & Schwartsburd* 643 (UPCB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes goebelii* se caracteriza pelo megásporo densamente cristado, 535-717 ( $\bar{x}$  = 626)  $\mu$ m diam. equatorial (Fig. 3A, B) e número cromossômico  $2n = 33$ . O número cromossômico indica origem híbrida a partir do cruzamento de um parental diplóide com outro tetraplóide (Small & Hickey, 2001).

*Isoetes goebelii* é semelhante a *I. ulei* U.Weber, espécies que apresenta a mesma distribuição geográfica e megásporo também cristado (3C, D). No entanto, *Isoetes goebelii* é distinto de *I. ulei* pelas características presente na chave como ornamentação e tamanho do megásporo, número de microfilo por corno, e na proporção ala/microfilo.

CONSERVAÇÃO.— Esta espécie é conhecida de poucos espécimes, todos oriundos de apenas uma localidade. Isto sugere que *I. goebelii* é rara e apresenta distribuição geográfica restrita. Baseado em nosso conhecimento sobre o tamanho da população e distribuição geográfica, a categoria da IUCN (2010) em que *I. goebelii* melhor se encaixa é Vulnerável (VU).

**6. *Isoetes martii*** A.Braun ex Kuhn, Fl. Bras. 1(2): 646-647, tab. 78. 1884. TIPO.— BRASIL.

**Minas Gerais**, in rivulo ad Caldas, 1884, *Regnel III 1506* (Sintipo: WU n.v.; Isossintipo: BR n.v., MO n.v.). **Figs. 7A-H; 9D.**

Plantas aquáticas ou terrícolas. Cormos eretos, 0,5-2 cm diam. Microfilos 10-65 por cormo, lineares a filiformes, eretos, retos, cartáceos, verde-escuros, 6-32 cm compr., 0,8-1,9 mm larg. na porção mediana, 5,5-11 mm larg. na porção basal, ápice agudo a atenuado; alas presentes na porção proximal, 2-7,5(10) cm compr. (correspondendo a 20-37% do comprimento do microfilo), 1-2,5 mm larg. no esporângio, membranáceas, castanhas, ápice atenuado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 25-50% da superfície do esporângio. Língulas 2-5 mm compr., 1,5-3 mm larg., castanhas, oval-lanceoladas, auriculadas. Lábios retangulares a arredondados, 0,1-0,2 mm compr., 0,3-0,4 mm larg. Esporângios basais, elípticos, 2,3-7 mm compr., 2,3-3,5 mm larg., concolores, castanhos. Megásporos brancos, triletos, (534)640-913 ( $\bar{x}$  = 705)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal reticuladas; lesura e cingulo retos, com contornos triangulares, conspícuos, separados dos muros areolares por pequenas cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos castanho-claros, monoletes, 29-35(42) ( $\bar{x}$  = 33)  $\mu\text{m}$  compr., 18-26(28) ( $\bar{x}$  = 23)  $\mu\text{m}$  larg., perisporo liso-rugulado ou tuberculado-rugulado. Número cromossômico  $2n = 44$ .

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é amplamente distribuída nos campos de altitude da região sudeste do Brasil, nos Estados do Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Fig. 9D). Pode ser encontrada como aquática submersa em lagos e rios, ou terrícola em campos periodicamente inundados, geralmente acima de 2000 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Espírito Santo.** Parque Nacional da Serra do Caparaó, lago próximo Pico da Bandeira, 2400-2600 m, 29 Set 1977, *Krieger et al. s.n.* (VIC). **Minas Gerais.** Serra do Caparaó, estrada de Minas Gerais, 2000 m, 9 Set 1941, *Brade 16868* (RB); Serra do Caparaó, 2400 m, 29 Set 1977, *Krieger s.n.* (PACA). **Rio de Janeiro.** Itatiaia: Estrada Nova Km 15, 2500 m, *Brade 20292, 20293* (RB); Rio das Flores, 2300 m, Mar 1937, *Brade 15571* (RB); Parque Nacional do Itatiaia, Represa Rebouças, 2400 m, 03

Abr 2005, *Condack 348* (RB); Rio Campo Belo, próximo a Pedra do Eco, 2350 m, 21 Ago 2005, *Condack 434* (RB); Subida para Agulhas Negras, 2350 m, 11 Jan 2008, *Labiak et al. 4451* (UPCB); Trilha Pedra do Altar, 22°22'36"S, 44°40'12"W, 2500-2600 m, 8 Jan 2011, *Pereira & Schwartsburd 639* (RB, UPCB); Trilha Agulha Negras, 22°22'44"S, 44°40'12"W, 8 Jan 2011, 2400-2450 m, *Pereira & Schwartsburd 640* (RB, UPCB); Trilha Agulhas Negras, próximo Abrigo Rebouças, 22°23'01"S, 44°40'11"W, 2300 m, 8 Jan 2011, *Pereira & Schwartsburd 641, 642* (RB, UPCB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes martii* apresenta grande variação morfológica ao longo de sua área de distribuição, principalmente no número e tamanho dos microfílos, e tamanho dos micrósporos e megásporos (Fig. 7). Segundo Cox e Hickey (1984) e Hickey (1985), as dimensões dos esporos podem estar relacionadas às qualidades de nutrientes disponibilizados pelo ambiente e também ao número cromossômico, enquanto que o tamanho dos microfílos tem relação com o hábitat e a fase de crescimento da planta. Tendo em vista que as populações apresentam-se constantes para as demais características que são importantes para esta espécie, atribuímos às diferenças observadas entre as populações aos diferentes ambientes onde esta espécie ocorre.

De acordo com Hickey (1985) e Hickey et al. (2009), as espécies de *Isoetes* com megásporo reticulado e micrósporo liso do sul da América do Sul formam um grupo de táxons com excepcional dificuldade taxonômica, necessitando de urgente revisão. Neste trabalho, *I. martii* distingue-se das demais espécies deste grupo pela distribuição geográfica e por um conjunto de características como ornamentação dos micrósporos, cobertura do velo sobre o esporângio e alas castanhas. No entanto, estudos adicionais são ainda necessários para a clara delimitação das espécies, bem como das diferentes populações de *I. martii*.

CONSERVAÇÃO.— Esta espécie é conhecida de várias localidades onde, aparentemente, ocorre com abundância. Contudo, estas áreas atravessam todos os anos período de seca e

os frequentes incêndios que incidem sobre estas localidades, causam impactos negativos sobre o tamanho das populações. Dessa forma, baseado em nosso conhecimento atual de distribuição geográfica e declínio da população, a categoria da IUCN (2010) em que *I. martii* melhor se encaixa é Vulnerável (VU).

**7. *Isoetes maxima*** Hickey et al., Amer. Fern J. 99: 194-199, figs. 1-14. 2010. TIPO.—

BRASIL. **Rio Grande do Sul**: Cambará, Fortaleza, Aparados, in aqua rivi in campo, 1200 m, 2 Mai 1970, *Sehnem 10960* (Holótipo: PACA; Isótipo: FHS n.v.). **Figs. 5A, B e E; 9C.**

Plantas aquáticas ou raramente terrícolas. Cormos eretos, 1,5-3 cm diam. Microfilos (9)23-95 por cormo, lineares a linear-triangulares, eretos a ascendentes, retos, cartáceos, verde-escuros, 15-42 cm compr., 0,8-2,2 mm larg. na porção mediana, 0,9-1,6 cm na porção basal, ápice agudo; alas presentes na porção proximal, 2,5-14 cm compr., (correspondendo a 15-30% do microfilo), 1-2,5 mm no esporângio, cartáceas, castanhas a castanha-escuras, ápice agudo a truncado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 25-50% da superfície do esporângio. Lígulas 2-2,5 mm compr., 1,3-2 mm larg., castanho-escuras, triangulares, auriculadas. Lábios arredondados a triangulares, 0,4-1,7 mm compr., 0,4-1,1 mm larg. Esporângios basais, elípticos, 0,5-1,2 cm compr. 0,35-0,6 cm larg., concolores, hialinos a castanho-claros. Megásporos brancos, triletes, 515-670 ( $\bar{x}$  = 589)  $\mu$ m diam. equatorial, superfície distal rugulada a tuberculada ou lisa a tuberculada, superfície proximal lisa a tuberculada; lesura e cingulo retos, com contornos amplamente triangulares a arredondados, conspícuos, sem cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 23-34 ( $\bar{x}$  = 29)  $\mu$ m compr., 15-24 ( $\bar{x}$  = 20)  $\mu$ m larg., perisporo densamente equinado. Número cromossômico  $2n = 22$ .

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é conhecida apenas na porção nordeste do estado do Rio Grande do Sul (Fig. 9C). Pode ser encontrada como aquática submersa em rios e lagos a 900-1200 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Rio Grande do Sul.** Cambará do Sul: 18 Nov 2004, *Windisch 9924* (PACA); 15 Fev 2005, *Wunder et al s. n.* (PACA); 22 Abr 2005, *Nervo 47* (PACA); 22 Abr 2005, *Nervo 48* (PACA); 23 Ago 2005, *Windisch 10053* (PACA); Fortaleza, 1000 m, 2 Mai 1970, *Sehnem 10960* (PACA); Fortaleza, 1000 m, 10 Jan 1973, *Sehnem 12362* (PACA); Parque Nacional Aparados da Serra, 1000 m, 20 Out 2007, *Silva s.n.* (PACA); Parque Nacional da Serra Geral, Canyon Fortaleza, 29°04'36"S, 49°59'06"W, 900-1000 m, 14 Jul 2010, *Pereira et al. 631* (PACA, UPCB), *632* (PACA, RB, SP, UPCB), *633* (PACA, UPCB). São Francisco de Paula: Itaimbezinho, 900 m, 24 Dez 1980, *Sehnem 17148* (PACA).

COMENTÁRIO.— *Isoetes maxima* se caracteriza pelos megásporos rugulados a tuberculados ou lisos a tuberculados, micrósporos densamente equinados, velo recobrimdo 25-50% da superfície do esporângio e número cromossômico  $2n = 22$ .

De acordo com Hickey et al. (2009), *Isoetes weberi* é uma espécie semelhante pelo megásporo rugulado a tuberculado, micrósporo equinado (Fig. 4C, D e F) e cobertura do velo sobre o esporângio. No entanto, apresenta megásporo 385-490(535) ( $\bar{x} = 442$ )  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, lábio estreitamente oblongo, esporângio bicolor e ocorrência em altitudes baixas (10-20 m de altitude) no sul do Rio Grande do Sul, enquanto, *I. maxima* possui megásporo 515-670 ( $\bar{x} = 589$ )  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, lábio triangular, sendo encontrada em altitudes elevadas (acima de 900 m de altitude) no nordeste do Rio Grande do Sul.

CONSERVAÇÃO.— *Isoetes maxima* é conhecida de poucas coleções em seu local de ocorrência. Isto sugere que esta espécie é localmente rara e apresenta distribuição geográfica restrita. Portanto, baseado no nosso conhecimento atual de distribuição

geográfica e tamanho da população, a categoria da IUCN (2010) em que *I. maxima* melhor se encaixa é Vulnerável (VU).

**8. *Isoetes mourabaptistae*** J.B.S. Pereira et al. Amer. Fern J. TIPO.— BRASIL. Rio Grande do Sul, São Francisco de Paula, Rio Tainhas, 1 Out. 2005, *Windisch 10056* (Holótipo: PACA 107431). **Figs. 2C-D e F; 9B.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, 0,3-1 cm diam., bilobados. Raízes síncronas, surgindo na base de uma fossa, conspícuas, dicotomicamente divididas. Microfilos 10-35 por corno, estreitamente lanceolados, ascendentes, retos, cartáceos, verde-escuros, 6-11 cm compr., 1-2,5 mm larg. na porção mediana, 4-6 mm larg. na porção basal, ápice atenuado; alas presentes na porção proximal, 1,4-2,3 cm compr. (correspondendo a 20-25% do comprimento do microfilo), 0,5-0,8 mm larg. no esporângio, membranáceas, castanhas, ápice truncado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 25-50% da superfície do esporângio. Lígulas 2,2-2,5 mm compr., 1,4-1,8 mm larg., hialinas, deltóide-lanceoladas, auriculadas. Lábios ausentes. Esporângios basais, elípticos, 3,1-3,4 mm compr., 1,9-2,4 mm larg., concolores, hialinos. Megásporos brancos, triletos, 604-756 ( $\bar{x}$  = 669)  $\mu$ m diam. equatorial, superfície distal irregularmente reticulada a densamente cristada, superfície proximal irregularmente reticulada; lesura e cingulo retos, com contornos triangulares, conspícuos, separados dos muros areolares por pequenas cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal arredondada a subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 30-38 ( $\bar{x}$  = 34)  $\mu$ m compr. e 23-28 ( $\bar{x}$  = 25)  $\mu$ m larg., perisporo microequinado. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— *Isoetes mourabaptistae* é conhecida apenas de duas localidades no nordeste do Rio Grande do Sul (Fig. 9B). Embora seja aparentemente abundante no Rio Tainhas, grande parte deste material encontra-se estéril. Esta espécie

crece sobre rochas submersas, geralmente em locais de correnteza e com lâmina d'água rasa, em altitude média de 900 m.

MATERIAL EXAMINADO.— **Rio Grande do Sul:** São Francisco de Paula, 1 Out 2005, *Windisch 10056* (PACA); São José dos Ausentes, Silveira, 9 Dez, *Bueno 4471* (ICN).

COMENTÁRIO.— Caracteriza-se pelos microfilos estreitamente lanceolados, curtos (6-11 cm compr.), micrósporos microequinados, megásporos 604-756 ( $\bar{x}$  = 669)  $\mu$ m diam. equatorial, com a lesura separada dos muros areolares por pequenas cristas adjacentes (Fig. 2B, D e F).

Esta espécie pode ser confundida com *Isoetes sehnemii* e *I. spannagelii* pelo tamanho dos microfilos e habitats semelhantes. No entanto, *I. sehnemii* apresenta micrósporo liso, megásporo muito menores, 332-554 ( $\bar{x}$  = 423)  $\mu$ m diam. equatorial (Fig. 6C, D e F), e *I. spannagelii* possui micrósporos lisos, megásporo 406-583 ( $\bar{x}$  = 519)  $\mu$ m em diam. equatorial, com a lesura conectada diretamente aos muros areolares adjacentes (Fig. 6A, B e E).

CONSERVAÇÃO.— *Isoetes mourabaptistae* é conhecida unicamente de duas coleções em dois rios diferentes. Isto sugere que esta espécie é localmente rara, com distribuição geográfica restrita. Entretanto, baseado em nosso atual conhecimento do tamanho da população e distribuição geográfica, e de acordo com as categorias da IUCN (2010), esta espécie é aqui categorizada como Dados Deficientes (DD).

**9. *Isoetes organensis*** U. Weber, *Estud. Bot. Nordeste* 3: 256. 1923. TIPO.— BRASIL. **Rio de Janeiro:** Serra dos Órgãos, Morro Açu, Isabellocca, 2000 m, Mar 1916, *Luetzelburg 12003* (Holótipo: M n.v.). **Figs. 4A, B e E; 9D.**

Plantas aquáticas ou terrícolas. Cormos eretos, 0,7-1,5 cm diam. Microfilos 24-70 por cormo, lineares, eretos a ascendentes, retos, membranáceos, verde-escuros, 14-28 cm compr., 1,4-1,8 mm larg. na porção mediana, 7-13 mm larg. na porção basal, ápice atenuado; alas presentes na porção proximal, 3-5,5 cm compr. (correspondendo a 20-25% do comprimento do microfilo), 1,5-3 mm larg. no esporângio, membranáceas, hialinas a cinzas, ápice truncado a atenuado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo até 25% da superfície do esporângio. Lígulas 2,8-3,5 mm compr., 1,5-2,5 mm larg., castanhas, triangulares, auriculadas. Lábios arredondados a triangulares (raramente lanceolados), 0,2-0,3 mm compr., 0,2-0,4 mm larg. Esporângios basais, elípticos, 4-4,7 mm compr., 2,7-3,8 mm larg, concolores, castanhos. Megásporos brancos, triletes, 786-927 ( $\bar{x} = 849$ )  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal irregularmente reticuladas; lesura e cingulo retos, com contornos estreitamente triangulares, conspícuos, separados dos muros areolares por pequenas cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos castanho-claros, monoletes, 31-40 ( $\bar{x} = 36$ )  $\mu\text{m}$  compr., 22-26 ( $\bar{x} = 24$ )  $\mu\text{m}$  larg., perisporo microequinado. Número cromossômico  $2n = 66$ .

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é aparentemente restrita aos campos de altitude da Serra dos Órgãos, no Estado do Rio de Janeiro (Fig. 9D). Pode ser encontrada como aquática em lâminas d'água rasas, ou como terrícola à beira de pequenos lagos em altitudes superiores a 2000 m.

MATERIAL EXAMINADO.— **Rio de Janeiro**. Petrópolis: Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Morro Açu, 2100-2150 m, 7 Jan 2011, *Pereira et al.* 637 (RB, SP, UPCB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes organensis* se caracteriza pelo velo recobrimdo até 25% da superfície do esporângio, alas hialinas a cinzas, megásporos reticulados, 786-927 ( $\bar{x} = 849$ )  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, micrósporos microequinados e número cromossômico  $2n = 66$ .

Esta espécie pode ser confundida com *Isoetes martii* pela ornamentação do megásporo, e pelo tamanho e número de microfilos. Além disso, a grande variação morfológica de *I. martii* constitui um mosaico de caracteres que vêm gerando muitas dificuldades na taxonomia das espécies com megásporo reticulado nas regiões sul e sudeste do Brasil. No entanto, *Isoetes organensis* possui alas hialinas a cinzas, velo recobrimdo até 25% da superfície do esporângio e número cromossômico  $2n=66$ . Por outro lado, *I. martii* apresenta alas castanhas, velo recobrimdo 25-50% da superfície do esporângio e número cromossômico  $2n = 44$ .

CONSERVAÇÃO.— *Isoetes organensis* é conhecida apenas de uma pequena população no Morro Açu (Serra dos Órgãos). O local é bastante frequentado por turistas e as frequentes visitas na área geram impactos negativos sobre o tamanho da população. Dessa forma, baseado no nosso conhecimento atual de distribuição geográfica e tamanho de população, a categoria da IUCN (2010) em que *I. organensis* melhor se encaixa é Ameaçada (EN).

**10. *Isoetes quiririensis* J.B.S. Pereira & Labiak *sp. nov. ined.* TIPO.— BRASIL. Santa**

**Catarina:** Mun. Garuva, Serra do Quiriri, 26°07'36"S. 49°03'13"W, 1050 m, 04 Nov. 2010, *Pereira et al.* 635 (Holótipo: UPCB; Isótipo: M, NY, SP). **Figs. 5C, D e F; 9C.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, 1-2 cm diam. Microfilos 25-60 por cormo, lineares, eretos, retos, cartáceos, verde-escuros, 25-41 cm compr., 1,8-2,3 mm larg. na porção mediana, 5-9 mm larg. na porção basal, ápice agudo; alas presentes na porção proximal, 7,5-15 cm compr. (correspondendo a 30-40% do comprimento do microfilo), 1-2 mm larg. no esporângio, cartáceas, castanhas a hialinas, ápice agudo; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 75-95% da superfície do esporângio (menos frequentemente completo). Língulas 3,5-4 mm compr., 1,8-2,3 mm larg., castanhas, deltóide-lanceoladas, auriculadas. Lábios triangulares a arredondados, 0,4-0,7 mm compr., 0,6-0,9 mm larg. Esporângios basais, elípticos, 5-9 mm compr., 2,5-4 mm larg., concolores, castanho-claros.

Megásporos brancos, triletes, 477-670 ( $\bar{x}$  = 567)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal tuberculadas; lesura e cingulo retos, com contornos triangulares, conspícuos, sem cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 26-30 ( $\bar{x}$  = 28)  $\mu\text{m}$  compr., 18-21 ( $\bar{x}$  = 19)  $\mu\text{m}$  larg., perisporo equinado. Número cromossômico  $2n = 22$ .

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é conhecida apenas nos campos de altitude da Serra do Quiriri, na porção nordeste do Estado de Santa Catarina, próximo à divisa com o Estado do Paraná (Fig. 9C). Pode ser encontrada como aquática submersa em rios de correntezas, a 1000-1100 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Santa Catarina.** Garuva. Serra do Quiriri, 26°07'36``S, 49°03'13``W, 1000-1100 m, 4 Mai 2010, *Pereira et al.* 635 (M, NY, SP, UPCB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes quiririensis* se caracteriza pelos microfilos retos, compridos (acima de 25 cm compr.), velo recobrimdo 75-95% da superfície do esporângio, megásporos tuberculados, 477-670 ( $\bar{x}$  = 567)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial e micrósporos equinados (Fig. 5C, D e F).

*Isoetes pedersenii* H.P.Fuchs ex Meza T. e Macluf é uma espécie bastante semelhante a *Isoetes quiririensis* pelo megásporo tuberculado e micrósporo equinado. Contudo, *I. pedersenii* apresenta velo ausente a rudimentar, e megásporos com 380-450 ( $\bar{x}$  = 400)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial. Além disso, *I. pedersenii* ocorre no norte da Argentina e no Centro-Oeste do Brasil (Estado do Mato Grosso do Sul).

CONSERVAÇÃO.— Os espécimes de *Isoetes quiririensis* foram encontrados em apenas um dos rios da Serra do Quiriri. Esta localidade, no passado bastante explorado pela pecuária, agricultura e mineração, apresenta problemas de assoreamento e eutrofização dos rios.

Recentemente, parte da Serra do Quiriri converteu-se em área de proteção ambiental (APA), como estratégia para proteger as nascentes dos rios que ocorrem na área, contudo, não assegura a sobrevivência das populações de *I. quiririensis*. Desta forma, a categoria na qual esta espécie melhor se encaixa é Ameaçada (EN).

**11. *Isoetes ramboi*** Herter, Revista Sudamer. Bot. 8: 19. 1949. TIPO.— BRASIL. **Rio Grande do Sul:** Bom Jesus, Fazenda Bernardo Velho, fluitans in rivuli aquis frigidis, celeriter fluentibus, in fissuris rupium melaphyricorum radicans, 1000 m, 12 Jan 1947, *Rambo s.n.* (Holótipo: PACA; Isótipo: FHS n.v.). **Figs. 8A I; 9D.**

*Isoetes fuscomarginata* H.P.Fuchs, Fl. Illustr. Catar. 1 (Isoetáceas): 12. Est. 1, figs. a-d. 1986. TIPO.— BRASIL. **Rio Grande do Sul:** São Francisco de Paula, in paludoso loco, 900 m de altitude, 8 Dez 1949, *Sehnem 4122* (Holótipo: PACA).

*Isoetes smithii* H.P.Fuchs, Fl. Illustr. Catar. 1 (Isoetáceas): 16. Est. 1, figs. e-h. 1986. TIPO.— BRASIL. **Santa Catarina:** Bom Retiro, Fazenda Campo dos Padres, Campo dos Padres, em riacho, banhado, 1650 m, 17-19 Nov 1956, *Smith et al.* 7713 (Holótipo: US n.v.; Isótipo: BR n.v., MICH n.v., MO n.v., NY n.v., PACA, RB, UC n.v.).

Plantas aquáticas ou terrícolas. Cormos eretos a curto-reptantes, 0,5-3,5 cm diam. Microfilos 14-160 por corno, lineares, eretos a ascendentes, retos, cartáceos, verde-escuros (raramente, verde-claros), 15-35 cm compr., (0,6)1,5-2,5 mm larg. na porção mediana, 6-15 mm larg. na porção basal, ápice atenuado; alas presentes na porção proximal, 4-13 cm compr. (correspondendo a 20-43% do comprimento do microfilo), 1,5-4 mm larg. no esporângio, membranáceas, hialinas a castanhas, ápice agudo a atenuado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 25-95% da superfície do esporângio. Língulas 2,5-6 mm compr., 1,2-3,5 mm larg., castanho-claras a castanho-escuras, oval-lanceoladas a trianguladas, auriculadas. Lábios triangulares a verticalmente estreito-retangulares, 0,5-1,5

mm compr., 0,5-1,1 mm larg. Esporângios basais, ovais a elípticos, 2,5-8 mm compr., 1,5-4,5 mm larg., concolores a bicolores, hialinos a castanhos. Megásporos brancos, triletes, 489-807 ( $\bar{x}$  = 619)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal reticuladas; lesura e cingulo retos, com contornos triangulares, conspícuos, conectados diretamente aos muros areolares, ou separados destes por pequenas cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 27-38 ( $\bar{x}$  = 33)  $\mu\text{m}$  compr., 21-26 ( $\bar{x}$  = 23)  $\mu\text{m}$  larg., perisporo liso. Número cromossômico  $2n = 44$ .

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é conhecida do Campos de Cima da Serra, no sudeste de Santa Catarina e nordeste do Rio Grande do Sul (Fig. 9D). Pode ser encontrada como aquática submersa em lagos, rios, ou como terrícola em campos sazonal a periodicamente inundados a 900-1700 m altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Rio Grande do Sul.** Bom Jesus: Faxinal Preto, 1000 m, 23-29 Jan 1950, *Reitz 3305* (PACA, RB). Cambará do Sul. Parque Nacional Aparados da Serra. Canyon Itaimbezinho: 29°04'36" S e 49°59'06" W, 800-900 m, 13 Jul 2010, *Pereira et al. 630* (NY, PACA, SP, UPCB); 29°04'36" S e 49°59'06" W, 850-950 m, 14 Jul 2010, *Pereira et al. 634* (UPCB). São Francisco de Paula: Fazenda Engert, 900 m, 2 Jan 1954, *Sehnem 6524* (PACA); 900 m, 18 Jan 1949, *Sehnem 4122* (PACA). São José dos Ausentes: Estrada Bom Jardim da Serra – Cambará do Sul, 28°29'02" S, 49°43'24"W, 1100-1200 m, 13 Jul 2010, *Pereira et al. 627* (ICN, SP, UPCB). **Santa Catarina.** Bom Retiro: Campo dos Padres, 1600 m, 17 Jan 1957, *Sehnem 6960* (PACA); Campo dos Padres, Fazenda Santo Antônio, 1650 m, *Smith & Reitz 10368* (PACA); Fazenda Campo dos Padres, 1650 m, 17-19 Nov 1956, *Smith et al. 7713* (PACA). São Joaquim: Passo das Contas, 1000 m, 22-29 Jan 1950, *Reitz 3326* (PACA). Urubici. Parque Nacional de São Joaquim. Estrada Vila Vacas Gordas – Bom Jardim da Serra: 28°09'56" S, 49°36'11" W, 1600-1700 m, 10 Jul 2010, *Pereira et al. 611* (PACA, UPCB); 28°10'23" S, 49°34'20" W, 1300-1400 m, 10 Jul 2011, *Pereira et al. 612*

(ICN, UPCB); 28°11'31" S, 49°34'42" W, 1300-1400 m, 10 Jul 2010, *Pereira et al.* 615 (PACA, UPCB); 28°12'59" S, 49°35'19" W, 1300-1400 m, *Pereira et al.* 645 (ICN, UPCB); 28°08'31" S, 49°37'22" W, 1300-1400 m, 11 Jul 2010, *Pereira et al.* 618 (PACA, UPCB); 28°16'51"S, 49°36'45"W, 1350-1450 m, 11 Jul 2010, *Pereira et al.* 620 (ICN, UPCB). Urubici. Parque Nacional de São Joaquim, Morro da Igreja: 28°06'36" S, 49°30'30" W, 1500-1600 m, 12 Jul 2010, *Pereira et al.* 622 (PACA, SP, UPCB); 28°06'36"S, 49°30'30" W, 1450-1550 m, 12 Jul 2010, *Pereira et al.* 623 (PACA, SP, UPCB); 28°06'44"S, 49°31'30"W, 1450-1550 m, 12 Jul 2010, *Pereira et al.* 625 (PACA, UPCB).

COMENTÁRIO.— Esta espécie apresenta grande variação morfológica ao longo de sua área de distribuição geográfica, principalmente em relação ao número de microfilos, cobertura do velo sobre o esporângio e tamanho dos megásporos. Contudo, caracteriza-se pelos microfilos longos (geralmente acima de 15 cm compr.), largos (1,5-2,5 mm larg.), lábio comprido (0,5-1,5 mm compr.), triangular a verticalmente estreito retangular, megásporo 489-807 ( $\bar{x}$ =619)  $\mu$ m diam. equatorial, reticulado, e micrósporo 27-38 ( $\bar{x}$  = 33)  $\mu$ m compr., 21-26 ( $\bar{x}$  = 23)  $\mu$ m larg., liso (Fig. 8A-I).

*Isoetes ramboi*, *I. smitii* H.P. Fuchs e *I. fuscomarginata* H.P. Fuchs formam um conjunto de espécies que ocorrem na Serra Geral em áreas paludosas da Floresta com Araucária e estepes gramíneo-lenhosos, nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Fuchs-Eckert, 1986). *Isoetes smithii* e *I. fuscomarginata* foram descritos a partir de formas variantes de *I. ramboi*. Os espécimes geralmente identificados como *I. smithii* possuem microfilos 20-90 por corno, (8)15-30 cm compr., (0,8)1,5-2,5 mm larg., velo recobrimdo aproximadamente 50% do esporângio, megásporo 489-728 ( $\bar{x}$  = 606)  $\mu$ m diam. equatorial, micrósporos 19-24 ( $\bar{x}$  = 18,8)  $\mu$ m larg., 27-34 (30,2)  $\mu$ m compr. e número cromossômico  $2n = 44$ . Enquanto, os espécimes de *I. fuscomarginata* apresentam microfilos 14-32 por corno, 12-32 cm compr., 0,6-2 mm larg., velo recobrimdo 25-50% do esporângio, megásporo 707-782 ( $\bar{x}$  = 747)  $\mu$ m diam. equatorial, micrósporo 23-26 ( $\bar{x}$  = 25,6)  $\mu$ m larg. e

34-38 ( $\bar{x}$  = 36,6)  $\mu\text{m}$  compr. Apesar da grande variação observada nestes espécimes, diversos materiais intermediários impedem o reconhecimento destes como táxons distintos. Informações adicionais de campo, bem como a análise de um maior número de exemplares das três formas é necessária para o melhor entendimento de *I. ramboi*, aqui tratado em um sentido bastante amplo.

CONSERVAÇÃO.- Este táxon é aparentemente bastante frequente em seu local de ocorrência. Contudo, o cultivo de espécies exóticas nestas localidades, sobretudo de *Pinus* L., vem gerando impactos negativos sobre o tamanho das áreas de campos e diminuição das populações de *Isoetes ramboi*. Dessa forma, baseado no nosso conhecimento atual sobre o declínio da população e distribuição geográfica, a categoria da IUCN (2010) em que *I. ramboi* melhor se encaixa é de Vulnerável (VU).

**12. *Isoetes sehnemii*** H.P. Fuchs, Fl. Illustr. Catar. 1 (Isoetáceas): 37. Est. 3, figs. e-h. 1986.

TIPO.— BRASIL. **Rio Grande do Sul**: Vacaria, Rio dos Refugiados, in lectu fluminis aquis rasis, 400 m, 5 Fev 1976, *Sehnem 14987* (Holótipo: FHS n.v.; Isótipo: PACA).

**Figs. 6C, D e F; 9B.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, raramente curto-reptantes, 0,3-0,9 cm diam. Microfilos 18-36 por cormo, filiformes, eretos a ascendentes, retos, cartáceos, verde-escuros, 3-11 cm compr., 0,3-0,8 mm larg. na porção mediana, 2,5-3,5 mm larg. na porção basal, ápice agudo a atenuado; alas presentes na porção proximal, 1-3 cm compr. (correspondendo a 25-35% do comprimento do microfilo), 0,5-0,9 mm larg. no esporângio, membranáceas, castanhas, ápice truncado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 50-75% da superfície do esporângio. Lígula não observada. Lábios arredondados a oblongos, 0,2-0,4 mm compr., 0,2-0,3 mm larg. Esporângios basais, arredondados a ovais, 1,8-3 mm compr., 1,5-1,8 mm larg., concolores, castanho-claros. Megásporos brancos, triletes, 332-554 ( $\bar{x}$  = 423)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfície distal irregularmente reticulada a

cristada, superfície proximal irregularmente reticulada; lesura e cingulo retos, com contornos triangulares, inconspícuos, separados dos muros areolados por pequenas cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 24-29 ( $\bar{x}$  = 27)  $\mu\text{m}$  compr., 15-22 ( $\bar{x}$  = 18)  $\mu\text{m}$  larg., perisporo liso. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é conhecida apenas no rio dos Refugiados, cidade de Vacaria, porção nordeste do Estado do Rio Grande do Sul (Fig. 9B). Pode ser encontrada como aquática em lâmina d'água em rio de correnteza a 400-500 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Rio Grande do Sul.** Vacaria: Fazenda do Cedro, Rio dos Refugiados, 450 m, 13 Fev 1975, *Sehnem 14629* (PACA); Fazenda do Cedro, Rio dos Refugiados, 450 m, 5 Set 1980, *Sehnem 17094* (PACA); Rio dos Refugiados, afluentes Antas, 5 Fev 1976, *Sehnem 14987* (PACA).

COMENTÁRIO.— *Isoetes sehnemii* se caracteriza pelos microfilos pequenos (até 11 cm compr.), filiformes, megásporos reticulados a cristados, e pela lesura com pequenas cristas adjacentes (Fig. 6C, D).

De acordo com Fuchs-Eckert (1986), *Isoetes ekmanii* U.Weber é uma espécie próxima a *I. sehnemii*, diferindo pelo velo completo e megásporos 502-572 ( $\bar{x}$  = 537)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial (em *I. sehnemii* o velo é incompleto, recobrando 50-75% da superfície do esporângio, e os megásporos variam de 332-554  $\mu\text{m}$  diam. equatorial).

CONSERVAÇÃO.— *Isoetes sehnemii* é conhecido unicamente de três coleções, provenientes do Rio dos Refugiados, sugerindo que esta espécie é localmente rara, com distribuição restrita. Nesta área, o processo de urbanização vem sendo intenso e a eutrofização dos rios

traz perigo à sobrevivência das populações. Deste modo, a categoria da IUCN (2010) em que *I. sehnemii* melhor se encaixa é Ameaçada (EN).

**13. *Isoetes spannagelii*** H.P. Fuchs, Fl. Illustr. Catar. 1 (Isoetáceas): 32. Est. 3, figs. a-d. 1986. TIPO.— BRASIL. **Santa Catarina**: Lages, Vacas Gordas, s. d., *Spannagel 301* (Holótipo: S n.v.; Isótipo: NY n.v.). **Figs. 6A, B e E; 9B.**

Plantas aquáticas ou terrícolas. Cormos eretos a curto-reptantes, 0,4-1,5 cm diam. Microfilos 28-70 por cormo, filiformes, ascendentes, retos, cartáceos, verde-escuros, 4,5-11 cm compr., 0,5-1,2 mm larg. na porção mediana, 3,5-7,5 mm na porção basal, ápice atenuado; alas presentes na porção proximal, 1,2-5 cm compr., (correspondendo a 27-45% do comprimento do microfilo), 0,7-1,3 mm larg. no esporângio, cartáceas, castanho-escuras, ápice truncado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo 75-95% da superfície do esporângio. Língulas 1,5-2,5 mm compr., 1-1,5 mm larg., hialinas, ovais a deltóides, auriculadas. Lábios triangulares a oblongos, 0,3-1 mm compr., 0,2-0,6 mm larg. Esporângios basais, ovais, 2,2-3 mm compr., 1,4-2,3 mm larg., concolores, castanho-claros. Megásporos brancos, triletos, 406-583 ( $\bar{x}$  = 519)  $\mu$ m diam. equatorial, superfícies distal e proximal regularmente reticuladas; lesura reta, com contorno amplamente triangular a arredondado, conspícua, conectada diretamente aos muros areolados, sem cristas adjacentes; cíngulo reto, com contorno arredondado, inconspícuo, conectado diretamente aos muros areolados, sem cristas adjacentes; vista equatorial globular e proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 23-30 ( $\bar{x}$  = 26)  $\mu$ m compr., 19-24 ( $\bar{x}$  = 22)  $\mu$ m larg., perisporo liso. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é conhecida apenas no Campos de Cima da Serra, porção sudeste do estado de Santa Catarina (Fig. 9B). Pode ser encontrada

como aquática em lâminas d'águas nos rios de correnteza, ou terrícola em campos sazonal a permanentemente inundados acima de 1000 m altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Santa Catarina.** Lages: Rio Vacas Gordas, Lagos, 24 Dez 1960, *Spannagel 459* (PACA). Urubici: Parque Nacional de São Joaquim, Estrada Vila Vacas Gordas - Bom Jardim da Serra, 28°12'59"S, 49°35'19 W, 1300-1400 m, 10 Jul 2010, *Pereira et al. 616* (PACA, UPCB); 28°08'11"S, 49°38'53"W, 1350-1450 m, 12 Jul 2010, *Pereira et al. 626* (ICN, UPCB); 28°09'56"S, 49°36'11"W, 1600-1700 m, 10 Jul 2010, *Pereira et al. 644* (UPCB). Bom Jardim da Serra: Estrada Vila Vacas Gordas - Bom Jardim da Serra, Rio dos Alagados, 28°18'30"S e 49°37'01"W, 1200-1300 m, 11 Jul 2010, *Pereira et al. 621* (ICN, UPCB).

COMENTÁRIO.— *Isoetes spannagelii* se caracteriza pelos microfilos curtos, filiformes (até 1,2 mm larg. na porção mediana), velo recobrimdo 75-95% da superfície do esporângio, megásporos regularmente reticulados, com muros areolares conectados diretamente a lesura (Fig. 6A, B).

Indivíduos de *I. spannagelii* podem ser encontrados entremeados as populações de *I. ramboi*, nos campos encharcados do sudeste de Santa Catarina. No entanto, distinguem-se principalmente pelos microfilos curtos, filiformes, megásporos regularmente reticulados, 406-583 ( $\bar{x}$  = 519)  $\mu$ m diam. equatorial e número cromossômico  $2n = 22$ . Enquanto, *I. ramboi* apresenta microfilos lineares (geralmente acima de 1,5 mm larg. na porção mediana), compridos (15-35 cm compr.), megásporos irregularmente reticulados, 489-807 ( $\bar{x}$  = 619)  $\mu$ m diam. equatorial (Fig. 8A-F) e número cromossômico  $2n = 44$ .

CONSERVAÇÃO.— Esta espécie é conhecida de poucas coleções em seu local de ocorrência, o que indica que esta é rara nesta localidade. Além disso, o cultivo de espécies exóticas, sobretudo de *Pinus*, vem gerando a diminuição das áreas de campo onde esta espécie

habita e impactos negativos sobre o tamanho da população. Dessa forma, baseado no nosso conhecimento atual sobre o declínio da população e distribuição geográfica, a categoria da IUCN (2010) em que *Isoetes spannagelii* melhor se encaixa é de Vulnerável (VU).

**14. *Isoetes ulei*** U. Weber, Hedwigia 63: 255, figs. 40, 41. 1922. TIPO.— BRASIL. **Rio de Janeiro:** Serra do Itatiaia, in parvis lacubus, 2300 m, Fev-Mar 1894, *Ule* 3533 (Holótipo: HBG n.v.). **Figs. 3C, D e F; 9B.**

Plantas aquáticas. Cormos eretos, 1,3-1,5 cm diam. Microfilos 30-40 por corno, lineares, eretos, retos, cartáceos, verde-escuros, 33-40 cm compr., 1,3-1,5 mm na porção mediana, 0,7-1 cm larg. na porção basal, ápice atenuado; alas presentes na porção proximal, 4-7,5 cm compr. (correspondendo a 12-20% do comprimento do microfilo), 2-3 mm larg. no esporângio, cartáceas, castanhas, ápice livre; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrando 25-50% da superfície do esporângio. Lígulas 4-5 mm compr., 3-3,5 mm larg, hialinas, triangulares, auriculadas. Lábios ausentes. Esporângios basais, elípticos, 0,4-0,65 cm compr., 0,23-0,42 cm larg., concolores, hialinos. Megásporos brancos, triletos, 431-635 ( $\bar{x} = 527$ )  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal esparsamente cristadas; lesura e cingulo retos, com contorno estreitamente triangulares, conspícuos, separados das cristas centrais maiores por pequenas cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 25-32 ( $\bar{x} = 29$ )  $\mu\text{m}$  compr., 19-24 ( $\bar{x} = 22$ )  $\mu\text{m}$  larg., perisporo densamente equinado. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie é aparentemente restrita aos campos de altitude da Serra do Itatiaia no Estado do Rio de Janeiro (Fig. 6B). Pode ser encontrada como aquática submersa em lagos, acima de 2300 m de altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Rio de Janeiro.** Itatiaia. Parque Nacional do Itatiaia: Última lagoa antes da Pedra do Altar, 2500 m, 11 Jul 2005, *Condack & Cortines 409* (RB); Trilha Cachoeira Airoacuca, 22°22'38"S, 44°40'24"W, 2500-2600 m altitude, 8 Jan 2011, *Pereira & Schwartsburd 638* (UPCB).

COMENTÁRIO.— Esta espécie é conhecida de poucos exemplares, mas que pode ser facilmente distinguida pelos megásporos 431-635 ( $\bar{x}$  = 527)  $\mu$ m diam. equatorial, esparsamente cristados e pelos micrósporos equinados (Fig. 3C, D e F).

*Isoetes ulei* assemelha-se a *I. goebellii* pelo megásporo cristado e micrósporo equinado, podendo ser distinguida pelas características apresentadas na chave.

CONSERVAÇÃO.— Esta espécie é conhecida por poucos espécimes em sua localidade tipo, isto sugere que *Isoetes ulei* é localmente rara e apresenta distribuição geográfica restrita, portanto, merece especial atenção quanto ao seu nível de conservação. Contudo, baseado em nosso conhecimento atual sobre o tamanho da população e distribuição geográfica, a categoria da IUCN (2010) em que *I. ulei* melhor se encaixa é Vulnerável (VU).

**15. *Isoetes weberi*** Herter, *Hedwigia*, 63: 255, figs. 44, 45. 1922. TIPO.— BRASIL. **Rio Grande do Sul:** Porto Alegre, Viamão, 100 m, 25 Out 1912, *Herter 20639* (Holótipo: B n.v.). **Figs. 4. C, D e F; 9. C.**

Plantas aquáticas ou terrícolas. Cormos eretos, 0,3-2 cm diam. Microfilos 11-53 por corno, lineares a filiformes, eretos, retos, cartáceos, verde-claros a verde-escuros, 9-26 cm compr., 0,7-1,4 mm larg. na porção mediana, 5-12 mm na porção basal, ápice atenuado; alas presentes na porção proximal, 6,5-12 cm de compr., (correspondendo a 23-66% do comprimento do microfilo), 2-3 mm larg. no esporângio, membranáceas, castanho-claras a verde-escuras, ápice atenuado; súbulas presentes. Velo incompleto, recobrimdo até 25% da superfície do esporângio. Lígulas 2,5-6 mm compr., 1,8-3,5 mm larg., castanhas, oval-

lanceoladas, auriculadas. Lábios estreitamente oblongos, 0,5-1 mm compr., 0,4-0,6 mm larg. Esporângios basais, oval-elípticos, 5-6 mm compr., 3,7-4 mm larg., bicolores, hialinos com manchas castanho-claras. Megásporos brancos, triletos, 385-490(535) ( $\bar{x}$  = 442)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal ruguladas; lesura reta, com contorno amplamente triangular a arredondado, conspícua, sem cristas adjacentes; cíngulo reto, com contorno arredondado, conspícuo, sem cristas adjacentes; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporos cinzas, monoletes, 27-33 ( $\bar{x}$  = 30)  $\mu\text{m}$  compr., 20-26 ( $\bar{x}$  = 23)  $\mu\text{m}$  larg., perisporo densamente equinado. Número cromossômico indeterminado.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA.— Esta espécie ocorre na faixa leste do Estado do Rio Grande do Sul e no Uruguai (Fig. 9C). Pode ser encontrada como aquática submersa em lagos, ou terrícola em campos periodicamente inundados a 20-60 m altitude.

MATERIAL EXAMINADO.— **Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Morro Santa Ana, 28 Set 1935, *Sehnem 2405* (PACA); Morro Santa Ana, 20 Set 1935, *Rambo s.n.* (PACA). São Leopoldo. Vila Gonzaga: 1 Nov 1936, *Sehnem 777* (PACA); 30 Set 1936, *Sehnem 676* (PACA).

COMENTÁRIO.— *Isoetes weberi* se caracteriza pelos megásporos rugulados, 385-490(535) ( $\bar{x}$  = 442)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial (Fig. 4C, D) e esporângio bicolor (com pequenas manchas castanho-escuras).

Dentre os táxons do sul da América do Sul, *Isoetes savatieri* Franchet é a espécie mais próxima pela ornamentação e tamanho dos megásporos. No entanto, *I. savatieri* possui micrósporo liso e é endêmica das áreas baixas do litoral sul do Chile, enquanto, *I. weberi* apresenta micrósporo equinado e distribuição restrita ao Uruguai e região sul do Brasil.

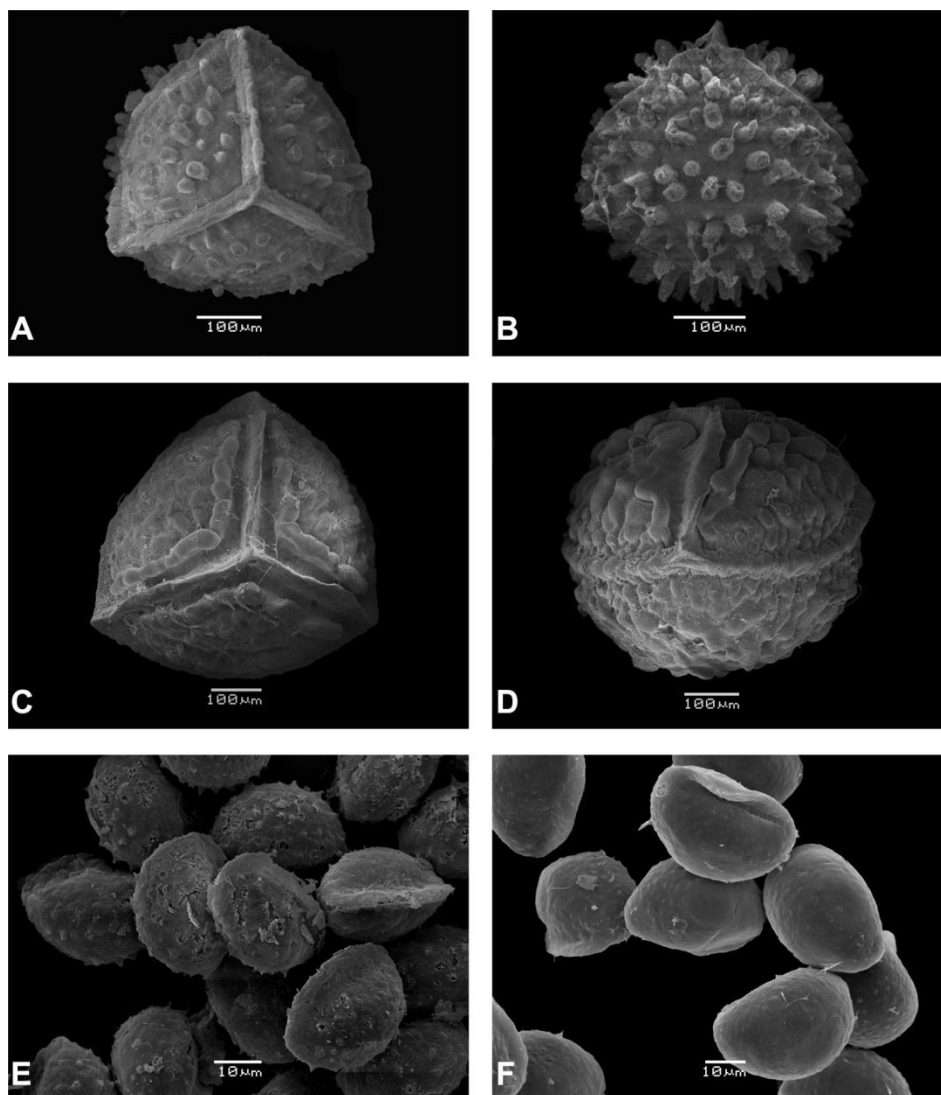
CONSERVAÇÃO.— Esta espécie é conhecida de apenas quatro coleções em três localidades, isto sugere que este táxon é raro em seu local de ocorrência e bastante seletivo quanto a

área de ocupação. Contudo, baseado em nosso conhecimento atual sobre o tamanho da população e distribuição geográfica, a categoria da IUCN (2010) em que *I. weberi* melhor se encaixa é Dado Deficiente (DD).

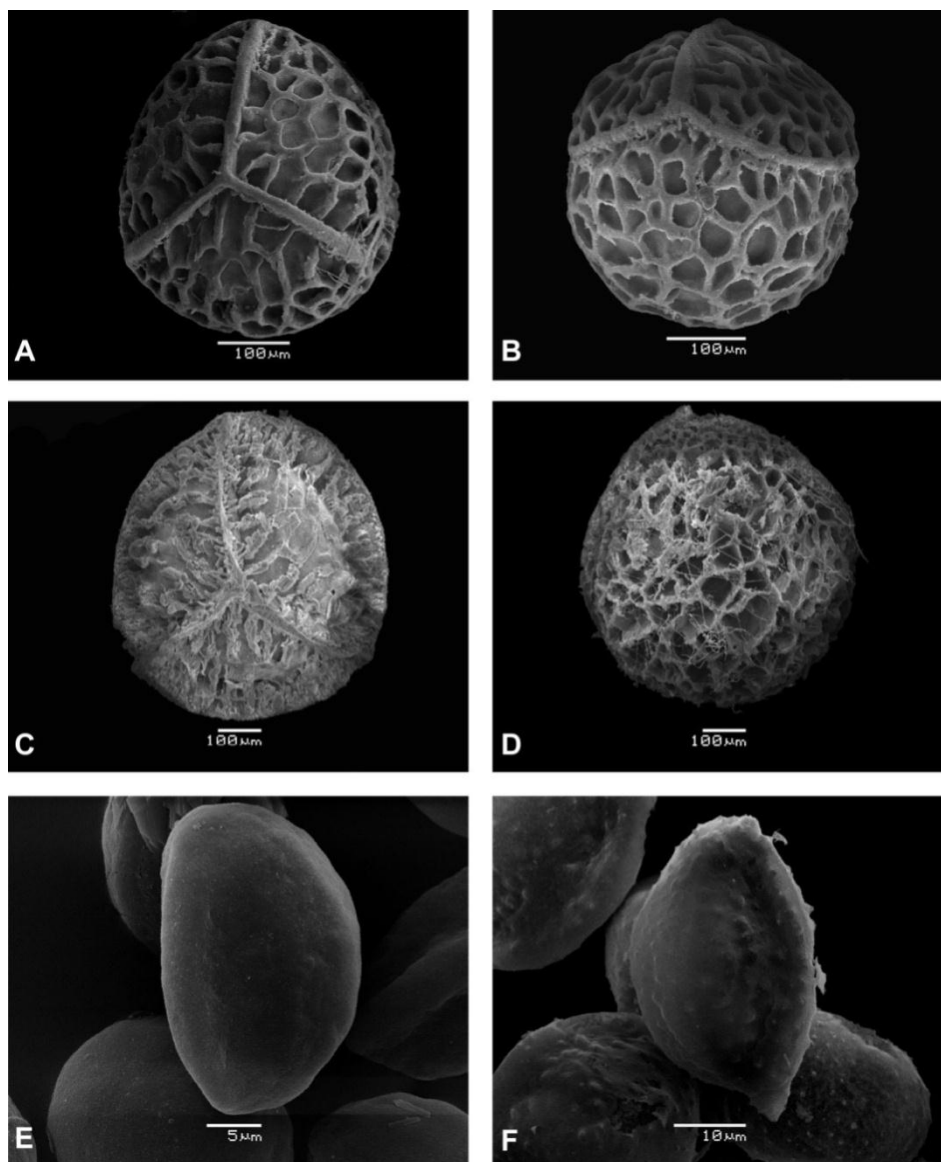
#### 4. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- CHOI, H.-K., J. JUNG. AND C. KIM. 2008. Two new species of *Isoetes* (Isoetaceae) from Jeju Island, South Korea. *J. Pl. Biol.* 51:354-358.
- COX, P. A. AND R. J. HICKEY. 1984. Convergent megaspore evolution and *Isoetes*. *Amer. Naturalist*, 124: 437–441.
- FUCHS-ECKERT, H.P. 1986. Isoetáceas. Pp. 1-42. In: Reitz, R., ed. *Flora Illustrada Catarinense*. Herbário Barbosa Rodrigues: Itajaí, Santa Catarina, Brasil.
- HICKEY, R. J. 1985. Revisionary Studies of Neotropical *Isoetes* Ph.D. dissertation, The University of Connecticut, Storrs, CT.
- HICKEY, R. J. 1986a. *Isoetes* Megaspore Surface Morphology: Nomenclature, Variation, and Systematic Importance. *Amer. Fern J.* 76: 1-16.
- HICKEY, R. J. 1986b. The Early Evolutionary and Morphological Diversity of *Isöetes*, with Descriptions of Two New Neotropical Species. *Syst. Bot.* 11: 309-321.
- HICKEY, R. J. 1990. Studies of Neotropical *Isoetes* L. I. *Euphyllum*, A New Subgenus. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* 77: 239-245.
- HICKEY, R. J., C. C. MACLUF. AND W. C. TAYLOR. 2003. A Re-evaluation of *Isoetes savatierii* Franchet in Argentina and Chile. *Amer. Fern J.* 93: 126-136.
- HICKEY, R. J., C. C. MACLUF AND M. LINK-PERÉZ. 2009. *Isoetes maxima*, New Species from Brazil. *Amer. Fern J.* 99: 194-199.
- HOOT, S. B. AND W. C. TAYLOR. 2001. The Utility of Nuclear ITS, a *LEFY* Homolog Intron, a Chloroplast *atpB-rbcL* Spacer Region Data in Phylogenetic Analyses and Species Delimitation in *Isoetes*. *Amer. Fern J.* 91: 166-177.

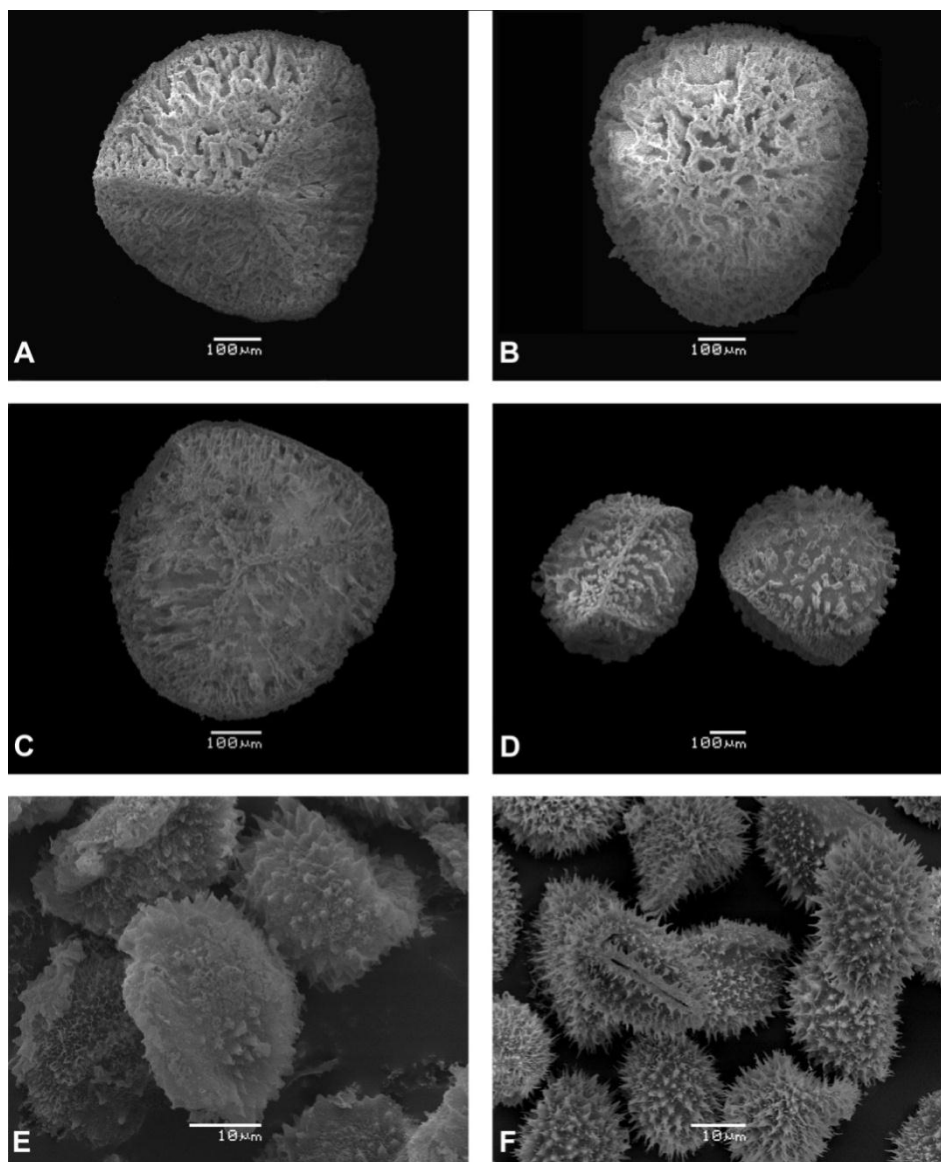
- IBAMA, 2008. Portaria Nº 37-N, 03/04/92, Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçada de extinção. <http://www2.ibama.gov.br/flora/extincao.htm> (acesso em 01 de julho de 2011).
- IUCN. 2010. IUCN Red List of Threatened Species. <<http://intranet.iucn.org/webfiles/doc/SSC/RedList/RedListGuidelines.pdf>>. (acesso em Agosto de 2011).
- LELLINGER, D. B. 2002. A Modern Multilingual Glossary for Taxonomic Pteridology. American Fern Society Press, United States of America, 264 p.
- LELLINGER, D. B. AND W. C. TAYLOR. 1997. A Classification of spore ornamentation in the Pteridophyta. Pp. 33-42. In: Johns, R. J., ed. Holttum Memorial Volume. Royal Botanic Gardens, Kew.
- LUEBKE, N. T. AND J. M. BUDKE. 2003. *Isoetes tennesseeensis* (Isoetaceae), an Octoploid Quillwort from Tennessee. Amer. Fern J. 93: 184-190.
- MORAN, R.C. 2004. The Natural History of Ferns. Timber Press, Saint Louis, 301 p.
- PFEIFFER, N. E. 1922. Monograph of the Isoetaceae. Ann. Missouri Bot. Gard. 9: 79-232.
- PRADO, J., L. SYLVESTRE. AND J.B.S. PEREIRA. 2012. Isoetaceae in Lista Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB091270>).
- RYDIN, C AND N. WIKSTRÖM. 2002. Phylogeny of *Isoetes* (Lycopsida): resolving basal relationship using *rbcL* sequences. Taxon 51: 83-89.
- SMALL, R.L. AND R. J. HICKEY. 2001. Systematics of the Northern Andean *Isoetes karstenii* Complex. Amer. Fern J. 91: 41-69.
- TAYLOR, W. C. AND R. J. HICKEY. 1992. Habitat, Evolution, and Speciation in *Isoetes*. Ann. Missouri. Bot. Gard. 79: 613-622.
- WEBER, U. 1922. Anatomie und Systematik der Gattung *Isoetes* L. Hedwigia 63: 219-262.



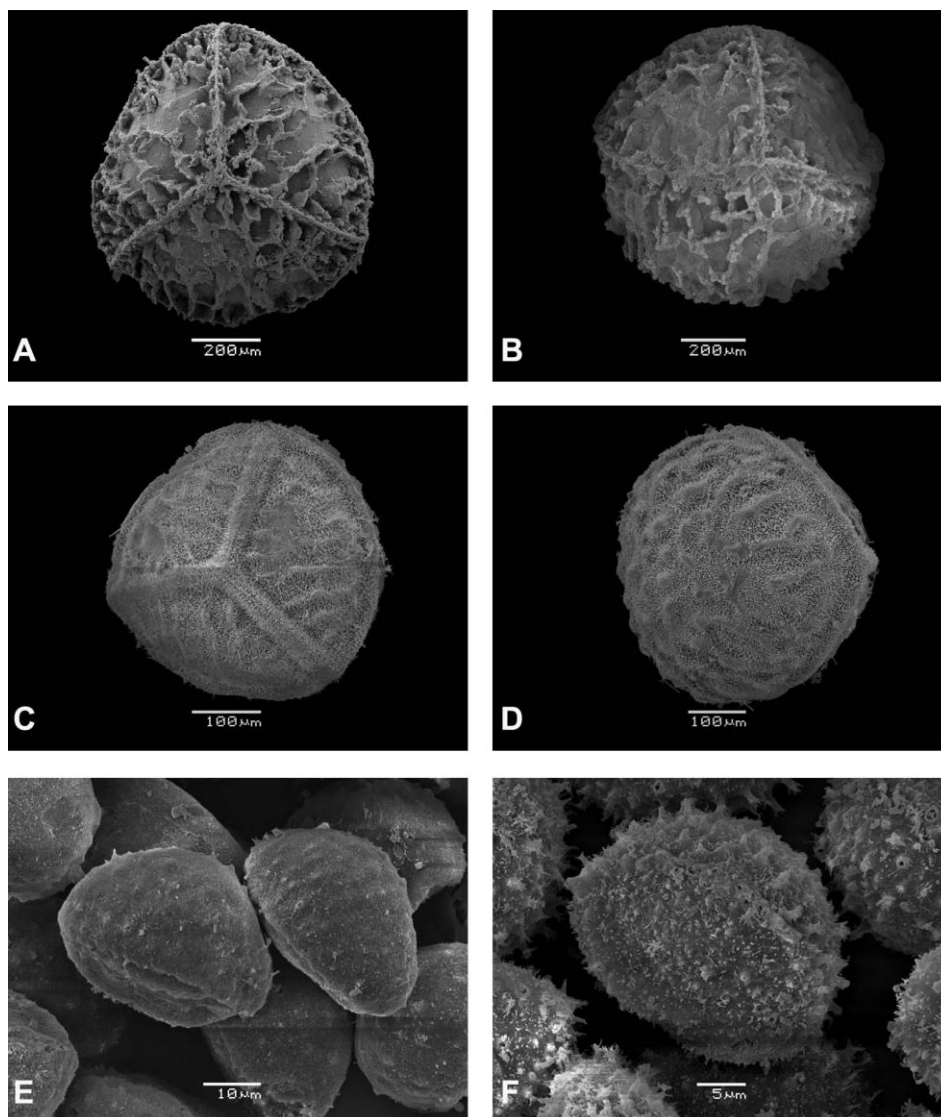
**FIG. 1.** MEV dos esporos de *Isoetes baculata* (Ribeiro et al. 01, BHCB) e *I. gigantea* (Viana & Teles 3305, BHCB). **A-B.** Megáspero de *I. baculata*. **A.** Vista proximal. **B.** Vista polar. **C-D.** Megáspero de *I. gigantea*. **C.** Vista proximal. **D.** Vista equatorial. **E.** Micrósporos de *I. baculata* em várias posições. **F.** Micrósporos de *I. gigantea* em várias posições.



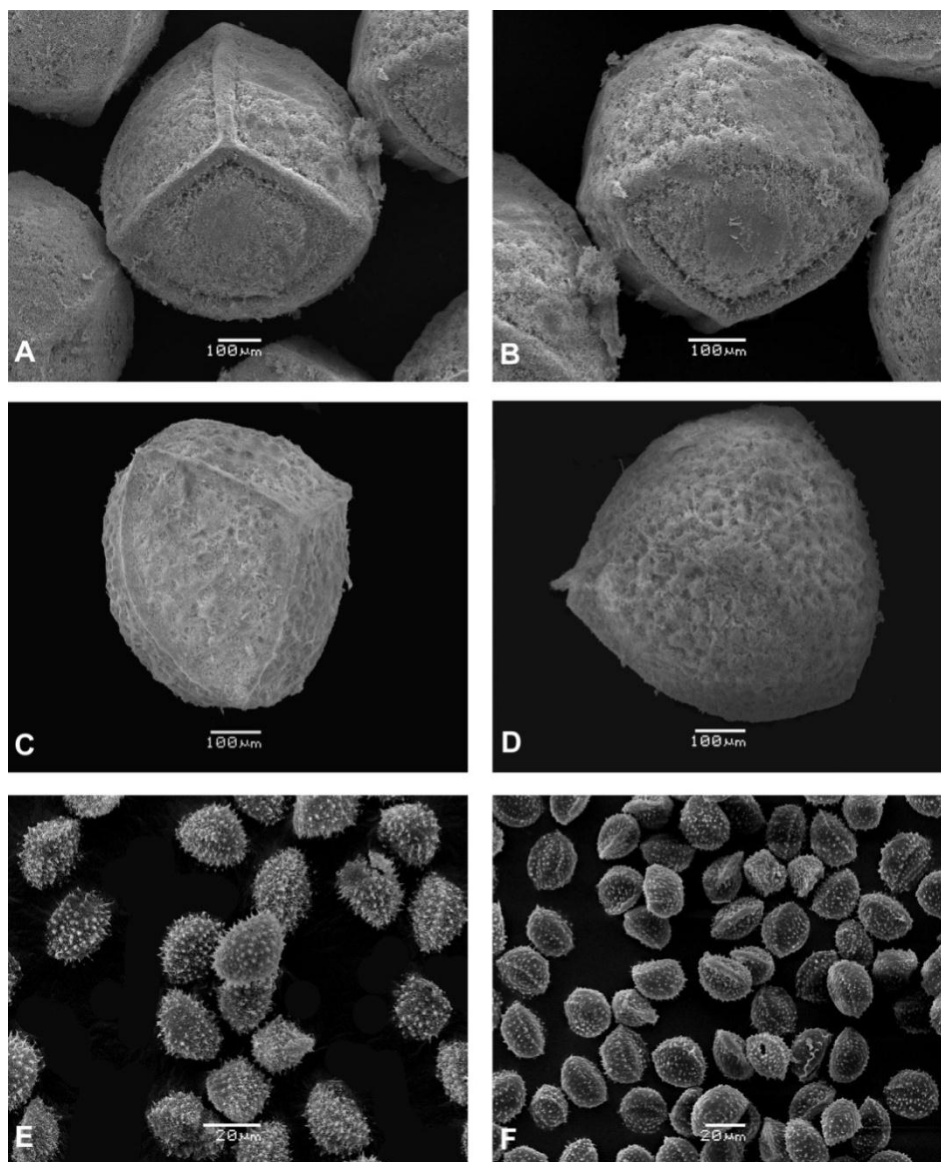
**FIG. 2.** MEV dos esporos de *Isoetes brasiliensis* (Reitz 910, PACA) e *Isoetes mourabaptistae* (Windisch 10056, PACA). **A-B.** Megáspero de *I. brasiliensis*. **A.** Vista proximal. **B.** Vista equatorial. **C-D.** Megáspero de *I. mourabaptistae*. **C.** Vista proximal. **D.** Vista distal. **E.** Micrósporo de *I. brasiliensis* em vista distal. **F.** Micrósporo de *I. mourabaptistae* em vista equatorial.



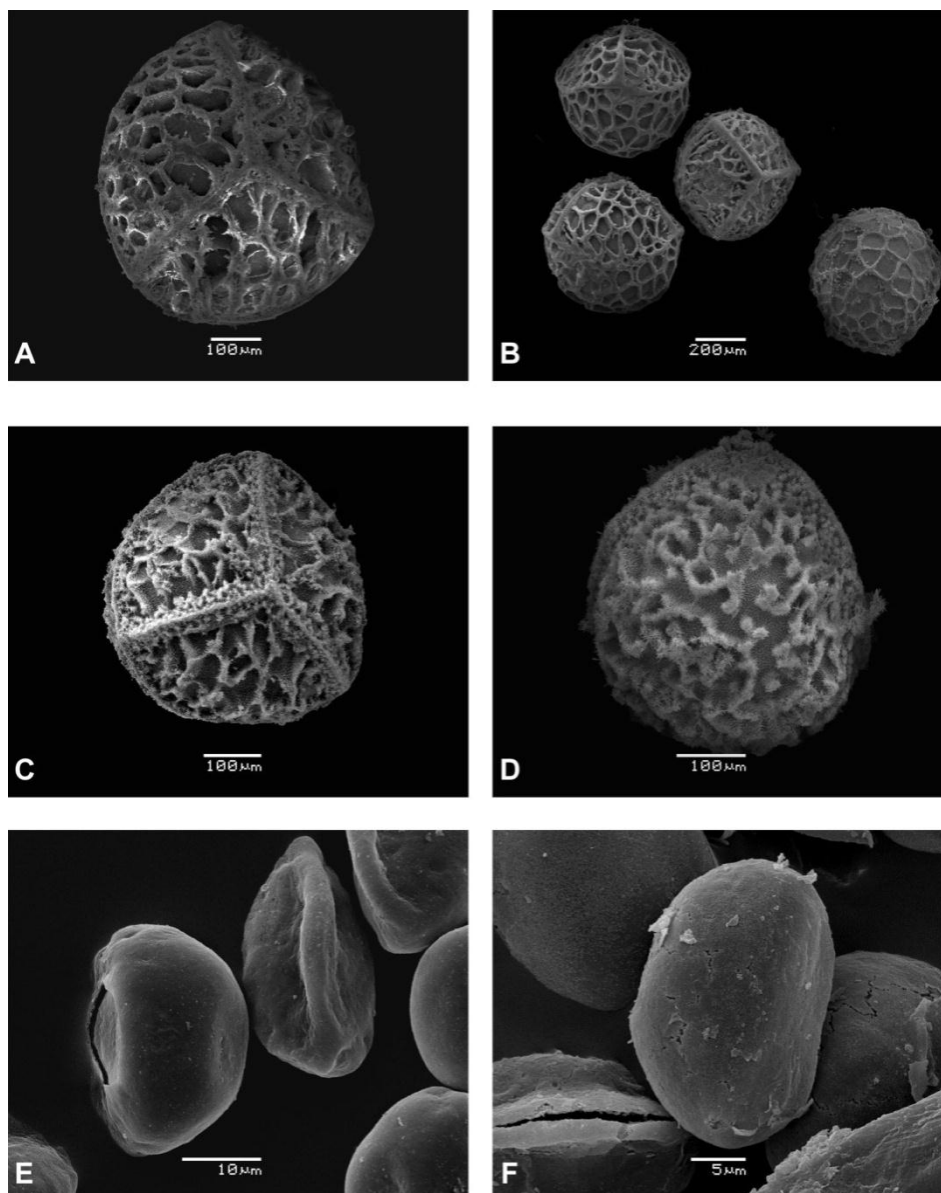
**FIG. 3.** MEV dos esporos de *Isoetes goebelii* (Pereira & Schwartzburd 643, UPCB) e *I. ulei* (Pereira & Schwartzburd 638, UPCB). **A-B.** Megásporo de *I. goebelii*. **A.** Vista proximal. **B.** Vista distal. **C-D.** Megásporo de *I. ulei*. **C.** Vista proximal. **D.** Megásporo em várias posições. **E.** Micrósporos de *I. goebelii* em várias posições. **F.** Micrósporos de *I. ulei* em várias posições.



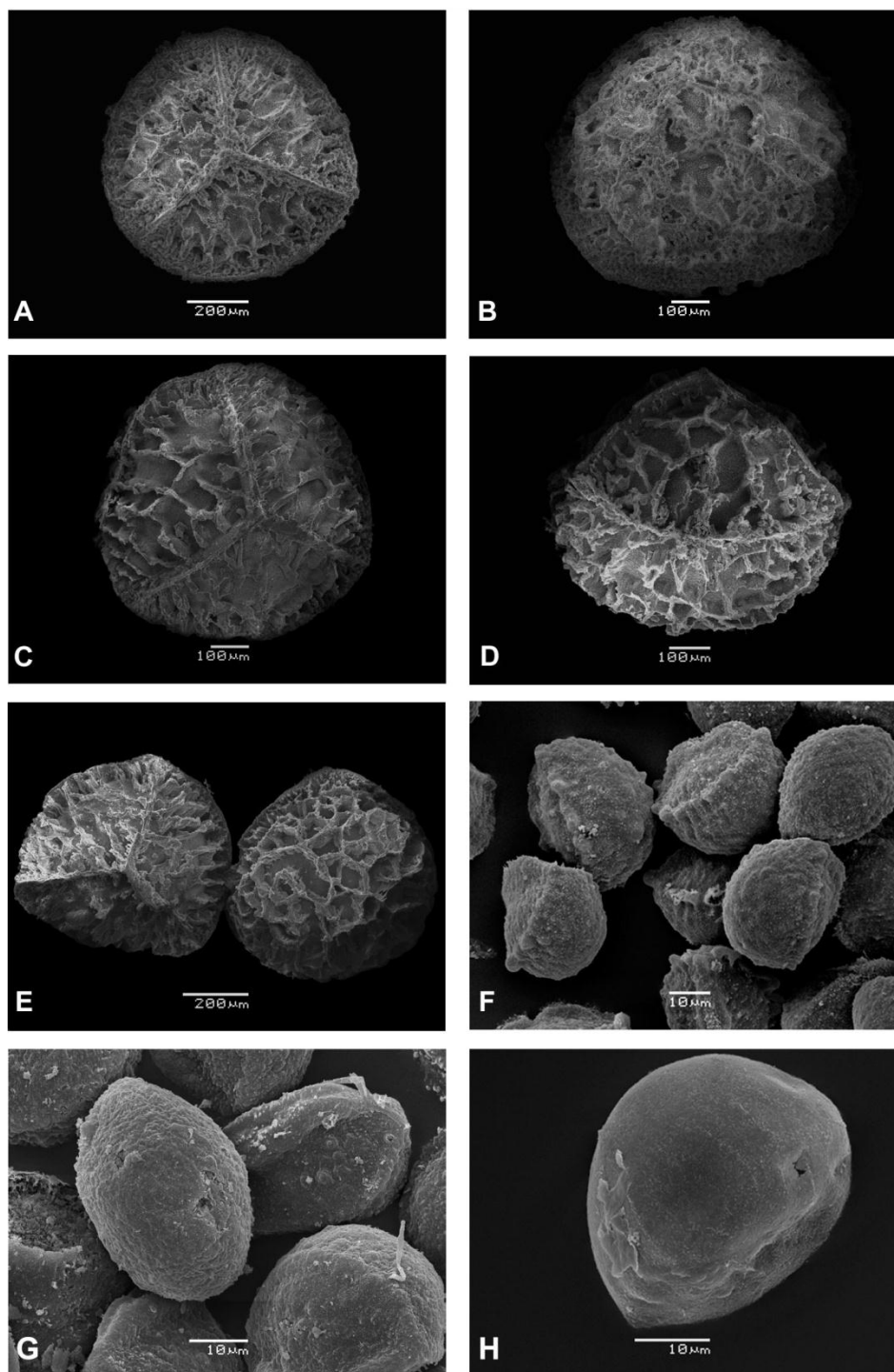
**FIG. 4.** MEV dos esporos de *Isoetes organensis* (Pereira & Schwartzburd 637, UPCB) e *I. weberi* (Rambo s.n., PACA 98839). **A-B.** Megáspero de *I. organensis*. **A.** Vista proximal. **B.** Vista equatorial. **C-D.** Megáspero de *I. weberi*. **C.** Vista proximal. **D.** Vista distal. **E.** Microsporos de *I. organensis* em várias posições. **F.** Microsporo de *I. weberi* em vista equatorial.



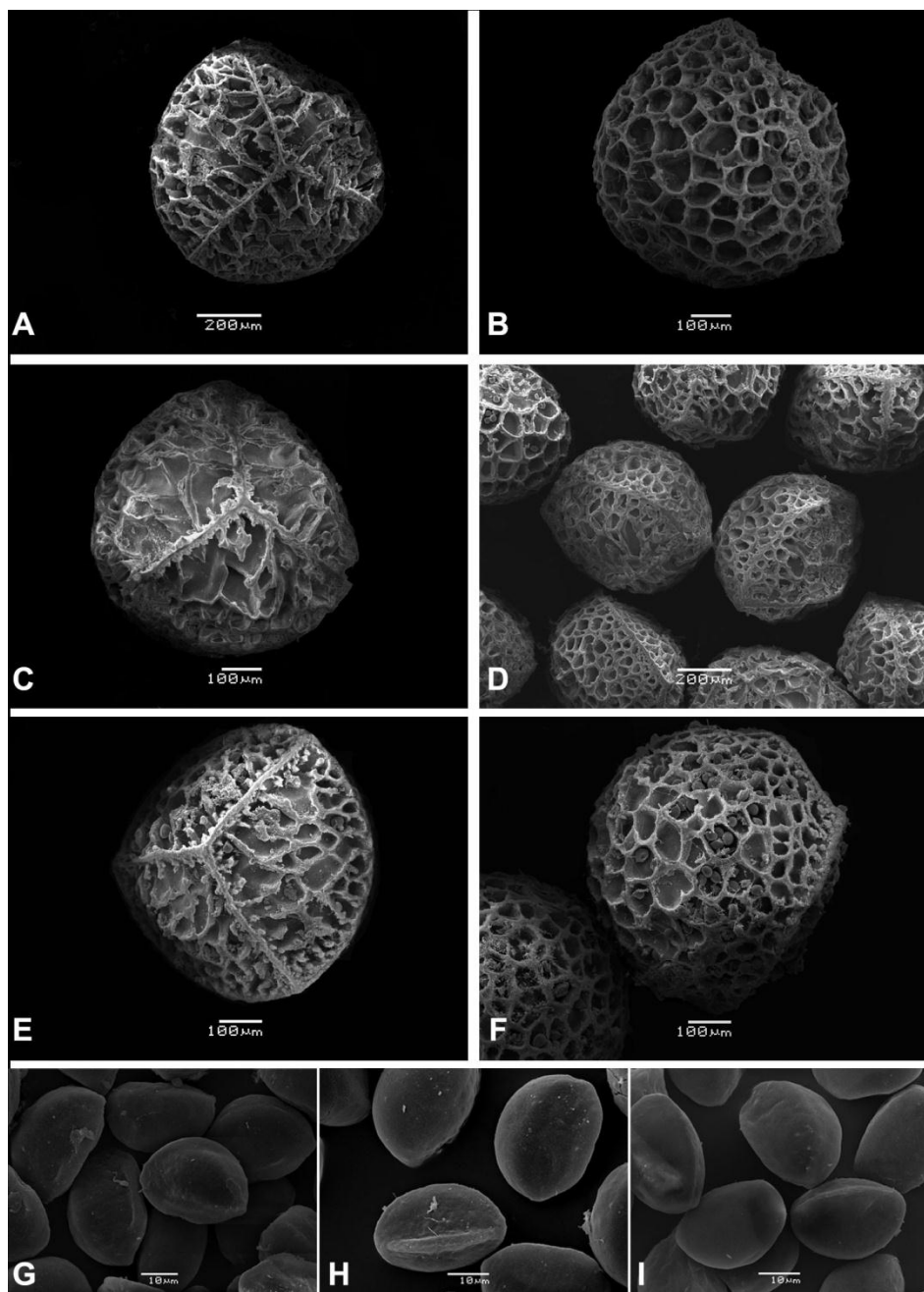
**FIG. 5.** MEV dos esporos de *Isoetes maxima* (Pereira et al. 631, UPCB) e *I. quiririensis* (Pereira et al. 635, UPCB). **A-B.** Megáspero de *I. maxima*. **A.** Vista proximal. **B.** Vista equatorial. **C-D.** Megáspero de *I. quiririensis* **C.** Vista proximal. **D.** Vista distal. **E.** Micrósporo de *I. maxima* em várias posições. **F.** Micrósporo de *I. quiririensis* em várias posições.



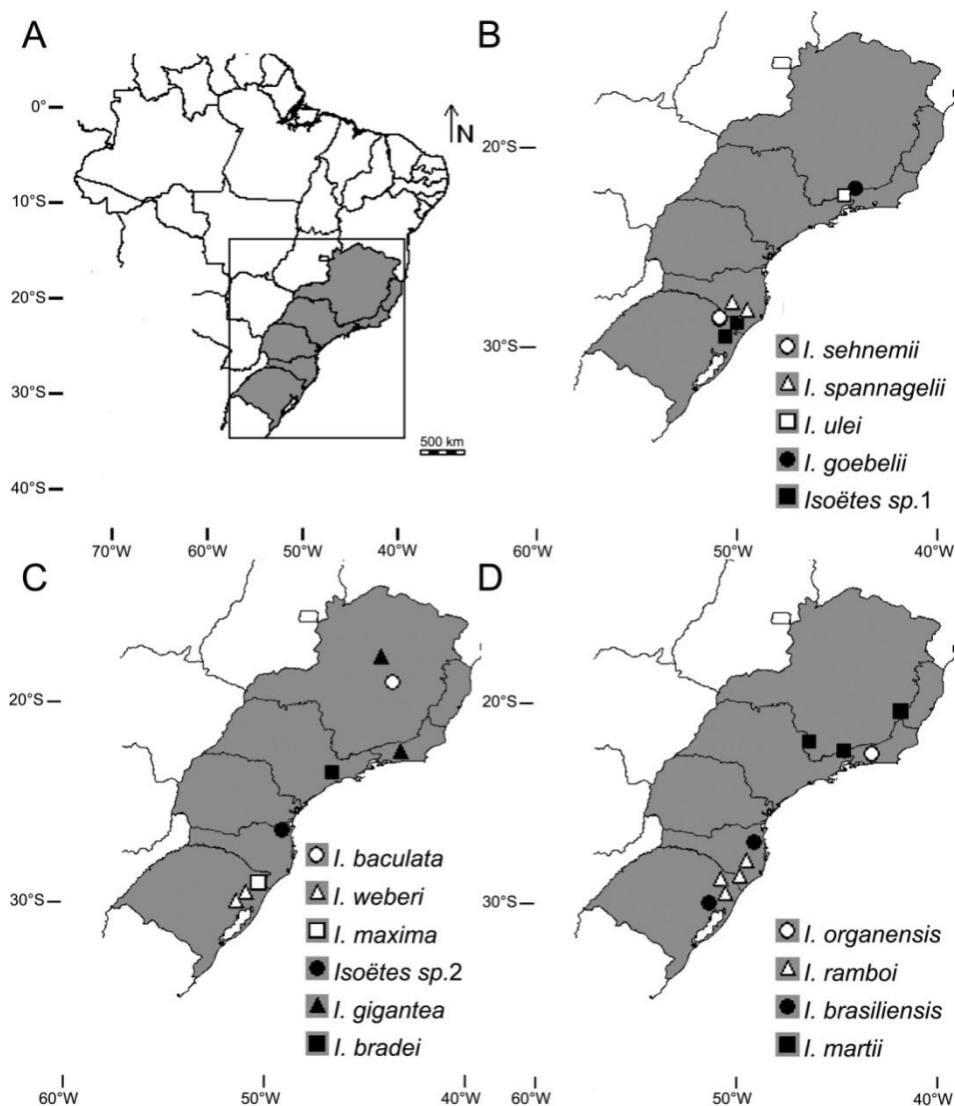
**FIG. 6.** MEV dos esporos de *Isoetes spannagelii* (Pereira et al. 626, UPCB) e *I. sehnemii* (Sehnem 17094, PACA). **A-B.** Megáspero de *I. spannagelii*. **A.** Vista proximal. **B.** Vista em várias posições. **C-D.** Megáspero de *I. sehnemii*. **C.** Vista proximal. **D.** Vista distal. **E.** Micrósporos de *I. spannagelii* em várias posições. **F.** Micrósporo de *I. sehnemii* em vista distal.



**FIG. 7.** MEV da variação nos esporos de *Isoetes martii*. **A-D, F e G.** Esporos de *I. martii* da Serra do Itatiaia. **A e B.** Megáspero em vista proximal e distal, respectivamente (*Condack 348*, RB). **C e D.** Megáspero em vista proximal e equatorial, respectivamente (*Pereira & Schwartsburd 340*, UPCB). **F e G.** Micrósporos em várias posições com perisporos tuberculados (*Pereira & Schwartsburd 341*, UPCB) e rugulados (*Brade 15571*, RB), respectivamente. **E e H.** Esporos de *I. martii* da Serra do Caparaó (*Kruger s.n.*, VIC 5799). **E.** Megásporos em várias posições. **H.** Micrósporo com perispore liso em vista polar.



**FIG. 8.** MEV dos esporos de *Isoetes ramboi*. **A-F.** Variações dos megásporos. **A-B.** *Isoetes fuscomarginata* (= *Isoetes ramboi*) (Sehnem 4122, PACA). **A.** Vista proximal. **B.** Vista distal. **C-D.** *Isoetes ramboi* (Pereira et al.. 630, UPCB). **C.** Vista proximal. **D.** Vista em várias posições. **E-F.** *Isoetes smithii* (= *Isoetes ramboi*) (Smith & Reitz 10368, PACA). **E.** Vista proximal. **F.** Vista distal. **G-I.** Variação dos micrósporos de *I. ramboi*. **G.** *Isoetes fuscomarginata* (= *Isoetes ramboi*) em várias posições (Sehnem 6524, PACA). **H.** *Isoetes ramboi* em várias posições. **I.** *Isoetes smithii* (= *Isoetes ramboi*) em várias posições (Sehnem 10368, PACA).



**FIG. 9.** Distribuição geográfica das espécies de *Isoetes* nas regiões sul e sudeste do Brasil. **A.** Localização da área de estudo. **B.** *Isoetes sehnemii*, *I. spannagelii*, *I. ulei*, *I. goebelii* e *Isoetes sp.1* (= *I. mourabaptistae*). **C.** *Isoetes baculata*, *I. weberi*, *I. maxima*, *Isoetes sp.2* (= *I. quiririensis*), *I. gigantea* e *I. bradei*. **D.** *Isoetes organensis*, *I. ramboi*, *I. brasiliensis* e *I. martii*.

**CAPÍTULO 2: Contagem Cromossômica e Tamanho de Esporos no Gênero  
*Isoetes* L. nas regiões sul e sudeste do Brasil**

JOVANI B. PEREIRA

Universidade Federal do Paraná, Depto. de Botânica, C.P. 19031, 81531-980,  
Curitiba, PR, Brasil, email: giovanibio@gmail.com

PAULO H. LABIAK

Universidade Federal do Paraná, Depto. de Botânica, C.P. 19031, 81531-980,  
Curitiba, PR, Brasil, email: plabiak@ufpr.br

RESUMO.— *Isoëtes* L. é uma licófito aquática a terrícola com distribuição quase cosmopolita. O gênero possui cerca de 350 espécies, sendo que 21 espécies ocorrem no Brasil. A taxonomia do gênero é bastante complicada devido aos poucos caracteres morfológicos consistentes, alto índice de homoplasia e a ocorrência bastante frequente de hibridação e poliploidia. Nestes casos, o uso da ferramenta citogenética é muito importante para entender a variação dentro de *Isoëtes*. Neste trabalho, contagens cromossômicas foram realizadas para seis espécies: *Isoëtes goebelii* ( $2n=33$ ), *I. martii* ( $2n=44$ ), *I. maxima* ( $2n=22$ ), *I. organensis* ( $2n=66$ ), *I. ramboi* ( $2n=44$ ) e *I. spannagelii* ( $2n=22$ ). O número básico diplóide ( $2n=22$ ) foi confirmado para as espécies da região. As análises de correlação para nível de ploidia e tamanho de esporos se revelaram diretamente proporcional, principalmente para táxons em simpatrias. O presente trabalho representa um avanço no estudo das espécies de *Isoetes* que ocorrem no Brasil, e que até o momento não tinham seus números cromossômicos estabelecidos.

PALAVRAS CHAVE.— Cromossomos, esporos, hibridação, poliploidia e taxonomia.

ABSTRACT.— *Isoëtes* L. is a lycophyte that comprises approximately 350 species, of which 21 species occur in Brazil. Because the high level of homoplasmy and the fairly frequent occurrence of hybridization and polyploidy, the use of cytogenetic tools is very important to understand the morphological variation within *Isoëtes*. In this study we present the chromosome counting for seven species: *Isoëtes goebelii* ( $2n = 33$ ), *I. martii* ( $2n = 44$ ), *I. maxima* ( $2n = 22$ ), *I. organensis* ( $2n = 66$ ), *I. ramboi* ( $2n = 44$ ) and *I. spannagelii* ( $2n = 22$ ). The basic diploid number ( $2n = 22$ ) was confirmed for the species in the region. The correlation analysis between ploidy level and size of spores proved directly proportional, mainly in the sympatric species. This work represents a breakthrough in the study of *Isoetes* species that occur in Brazil, which until now had not established their chromosome numbers.

Keywords. - Chromosomes, spores, hybridization, polyploidy and taxonomy.

## 1 INTRODUÇÃO

*Isoetes* L. (Isoetaceae) é uma licófita aquática a terrícola em locais sazonal a permanentemente inundados e que apresenta distribuição quase cosmopolita. O gênero possui cerca de 350 espécies (Hickey et al. 2003), sendo no Brasil representado por 21 espécies (Prado et al. 2012).

Em *Isoetes* a alta uniformidade genética gera dificuldades no estabelecimento das relações filogenéticas e separação das espécies (Hoot e Taylor 2001; Rydin e Wikström 2002). Destacam-se também as dificuldades taxonômicas devido aos poucos caracteres morfológicos consistentes, altos índices de homoplasias e frequentes casos de evolução reticulada decorrentes dos processos de hibridação e poliploidia (Taylor e Hickey, 1992; Moran, 2004). Dentre as características mais eficientes para identificar as espécies estão os esporos, sendo a taxonomia do gênero quase totalmente baseada nestas estruturas (Pfeiffer, 1922; Hickey, 1986). Porém, este caráter pode apresentar variação, especialmente nos casos onde existem eventos de hibridação e poliploidia. Nestes casos, a contagem cromossômica tem se mostrado bastante útil para o entendimento da variação nestas populações, e até mesmo de algumas espécies que foram formadas por processos de hibridação e poliploidia (Cox e Hickey, 1984; Taylor e Hickey, 1992).

Contagens cromossômicas foram utilizadas com frequência nos estudos taxonômicos em determinados grupos de espécies, onde a delimitação das espécies é bastante difícil (Watanabe et al, 1996; Small e Hickey, 2001). Tais estudos geralmente revelaram uma riqueza maior de táxons, embora as semelhanças morfológicas sejam notórias. Como resultado, o não reconhecimento dos diferentes citótipos como táxons distintos pode ofuscar a diversidade e impedir a criação de mecanismos para a conservação das espécies (Soltis et al., 2007).

No Neotrópico, mais particularmente nas regiões andinas da Costa Rica ao sul da Argentina, análises citogenéticas revelaram uma variação no número cromossômico em

*Isoetes* que vai de  $2n=22$  a  $2n=132$  (Hickey, 1984; Hickey et al., 2003). Para as regiões sul e sudeste do Brasil, estudos semelhantes são inexistentes.

Dessa forma, este estudo tem o objetivo de contribuir para o conhecimento da variação no número cromossômico do gênero *Isoetes*, fornecendo este dado para várias espécies desta região, bem como a correlação com o tamanho dos esporos como forma de melhor compreender a variação intra e interespecífica. Estes dados servirão também como base para que novos estudos sobre os processos de hibridação e poliploidia sejam também realizados, elucidando vários aspectos sobre a evolução reticulada observada neste gênero.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 CONTAGEM CROMOSSÔMICA**

De uma forma geral, os espécimes analisados foram coletados nas localidades tipo de cada uma das espécies, exceção feita apenas para *Isoetes martii* A.Braun ex Kuhn. Populações adicionais de *I. ramboi* Herter e *I. spannagelii* H.P. Fuchs também foram analisadas (Tabela 1). Em cada população foi coletado um mínimo de 12 espécimes.

Os espécimes apanhados em campo tiveram a base dos cormos cortados para a retirada das raízes jovens (até 2 cm de compr.). Em seguida, estas foram fixadas em Solução de Farmer (3:1 álcool absoluto : ácido acético glacial), mantidas em temperatura abaixo de 15 °C, e transferidas no laboratório à temperatura abaixo de 0 °C, onde permaneceram até serem examinadas. Algumas plantas coletadas em campo foram cultivadas em laboratório, e as raízes jovens foram fixadas em Farmer e imediatamente transferidas para ambiente com temperatura abaixo de 0 °C, onde permaneceram até serem examinadas. O tempo mínimo de permanência no fixador foi de 24 horas. O horário do dia em que as plantas foram coletadas e fixadas foi aleatório.

Após a fixação, as raízes foram hidrolisadas em HCl 5% por 30 minutos, em temperatura ambiente, lavadas em álcool 70% por 3 minutos e maceradas em uma gota do

corante carmin acético (5%) sobre uma lâmina com auxílio de uma agulha. Por fim, numa mesma proporção ao corante, foi adicionada a Solução de Hoyer.

Os materiais foram observados em microscópio óptico OLYMPUS BX40, e as imagens foram obtidas com câmera de captura acoplada modelo OLYMPUS DP071.

## **2.2 NÍVEL DE PLOIDIA E TAMANHO DE ESPOROS**

Das plantas analisadas também foram retirados os micrósporos e megásporos para a elaboração de uma tabela com as medidas dos esporos (Tabela 1). As dimensões dos esporos foram obtidas a partir da análise de 20 esporos por espécie.

Na análise dos micrósporos, as estruturas foram obtidas das exsicatas, sem pré-tratamento químico, misturadas a uma gota de glicerina sobre uma lâmina, logo em seguida, visualizadas em microscópio óptico OLYMPUS BX40. As imagens dos micrósporos foram obtidas através de câmera de captura OLYMPUS DP071 e a partir destas foram obtidos o comprimento por meio do programa IMAGEJ.

Na análise dos megásporos, as estruturas foram obtidas das exsicatas e sem pré-tratamento químico, fixadas em suporte de MEV com fita de cobre dupla face 3M, e tiveram suas superfícies recobertas por ouro. As imagens dos megásporos foram obtidas em MEV JEOL modelo JSM 6360 LV e a partir destas obtivemos o diâmetro maior por meio do programa IMAGEJ.

As análises de regressão foram realizadas utilizando o programa estatístico BIOESTAT 5.0.

## **3 RESULTADO E DISCUSSÃO**

### **3.1 CONTAGEM CROMOSSÔMICA**

Contagens cromossômicas foram realizadas para seis espécies e revelaram:  $2n = 22$  (diplóide) para *Isoetes maxima* Hickey et al. (Fig. 1 e 2) e *I. spannagelii* H.P.Fuchs (Fig. 9 e 10);  $2n = 33$  (triplóide) para *I. goebelii* U.Weber (Fig. 7-8);  $2n = 44$  (tetraplóide) para *I. martii* A.Braun ex Kuhn (Fig. 5 e 6) e *I. ramboi* Herter (Fig. 11 e 12);  $2n = 66$  (hexaplóide) para *I. organensis* U.Weber (Fig. 3 e 4). Os presentes dados são inéditos para todas as espécies (Tabela 1), e estão de acordo com o número cromossômico básico  $n = 11$ , sugerido para *Isoetes* (Hickey, 1984).

Nas regiões sul e sudeste do Brasil foram observados dois táxons diplóides, além de *Isoetes quiririensis* (Pereira e Labiak, unpubl. data). De acordo com Taylor e Hickey (1992), espécies diplóides possivelmente representem exemplos de especiação gradual decorrente do isolamento espacial das populações ancestrais, seguidas por divergências genéticas. Hickey et al, (2003) considera ainda que processos de especiação alopátrica em populações de poliplóides é, geralmente, um evento raro.

No sul da América do Sul existe um conjunto de espécie com megásporo reticulado (com variante cristado em *I. goebelii* U.Weber) que apresenta excepcional dificuldade taxonômica (Hickey et al. 2009). *Isoetes spannagelii*, *I. goebelii*, *I. martii*, *I. ramboi* e *I. organensis* U.Weber são aparentemente membros deste grupo, e formam uma série de diferentes níveis de ploidia (Tabela 1). Estudos sobre o complexo de espécies de *I. echinosporo* na América do Norte e Europa, e de *I. karstenii*, no norte do Andes, encontraram sequências cromossômicas semelhantes para as espécies destes complexos. Tais resultados sugerem que algumas espécies podem ter se originado por meio de processos de hibridação e alopoliploidia (mais raramente autopoliploidia) (Taylor e Hickey, 1992; Small e Hickey, 2001). Esse pode ser o caso para o grupo acima mencionado.

Para *Isoetes goebelii*, uma espécie aquática submersa endêmica nos campos de altitude da Serra do Itatiaia, contagens cromossômicas revelaram  $2n = 33$ . A carga triplóide desta espécie possivelmente seja o resultado do cruzamento híbrido de um diplóide com um tetraplóide (Small e Hickey, 2001). Na região de distribuição de *I. goebelii* ocorrem duas outras espécies aquáticas, *I. martii* e *I. ulei* U.Weber (Tabela 1). Para *I. martii*, da Serra do

Itatiaia, foi encontrado um número cromossômico de  $2n = 44$ , enquanto que para *I. ulei* não existem contagens cromossômicas. No entanto, as análises dos micrósporos e megásporos revelaram tamanhos semelhantes aos dos táxons diplóides estudados (Fig. 15). A correlação existente entre tamanho de esporo e o nível de ploidia (ver adiante) sugere que *I. ulei* seja um espécie diplóide. Tendo em vista que, em *Isoetes*, espécies aquáticas “sociais”, que se reproduzam promiscuamente, são comuns nas regiões temperadas na América do Norte e nas regiões tropicais de altitude elevadas (Taylor e Hickey, 1992; Hickey et al., 2003), seria possível que *I. goebelii* seja o resultado do cruzamento de *I. martii* com *I. ulei* ou, ainda, com alguma outra espécie diplóide ainda não registrada para a Serra do Itatiaia. Essa segunda hipótese parece ser a menos provável, uma vez que o Parque Nacional do Itatiaia é uma das regiões mais bem exploradas em termos botânicos.

Outro caso que merece menção é o de *Isoetes ramboi*, um táxon tetraplóide que é amplamente distribuído nos campos de Cima da Serra, no sul de Santa Catarina e nordeste do Rio Grande do Sul. Na mesma área ocorre também *I. spannagelii*, cujos indivíduos são encontrados entremeados às populações de *I. ramboi*. Por compartilharem as características dos megásporos reticulados, micrósporos lisos e ocorrerem nas mesmas localidades, *I. spannagelii* possivelmente seria a espécie que teria dado origem a *I. ramboi*, por meio de eventos de autopoliploidia, ou mesmo aloploidia com outro táxon diplóide. Também entremeadado a essas populações foi encontrado um único indivíduo triplóide (Fig. 13 e 14), contudo, não foi possível identificar morfológicamente este espécime devido à ausência de esporos. Este indivíduo possivelmente represente um híbrido entre *I. ramboi* e *I. spannagelii*.

Para *Isoetes organensis* foi encontrada uma carga cromossômica hexaplóide ( $2n = 66$ ), sendo este um dos maiores níveis de ploidia já registrados para uma espécie sul-americana. A hexaploidia desta espécie provavelmente seja o resultado da duplicação no número cromossômico de um híbrido triplóide, decorrente do cruzamento de um tetraplóide com um diplóide (Hickey et al, 2003; Takamiya et al, 1994). No entanto, não nos foi possível

identificar quais os prováveis parentais envolvidos neste cruzamento, sendo necessários mais estudos em campo para se elucidar esta questão.

### 3.2 NÍVEL DE PLOIDIA VERSUS TAMANHO DOS ESPOROS

Nas espécies de *Isoetes* estudadas foram encontradas correlações diretas entre nível de ploidia e tamanho de esporos ( $R^2 = 0,798$ ;  $P = 0,0003$ ). Para o diâmetro do megásporo e comprimento do micrósporo os valores dos coeficientes de determinação foram menores ( $R^2 = 0,659$  e  $0,785$ , respectivamente), mas igualmente significativos para explicar o tamanho destas estruturas por meio do nível de ploidia (Fig. 16 e 17).

Tal correlação é bem documentada na literatura (Cox e Hickey, 1984; Small e Hickey, 2001; Luebke e Budke, 2003), embora ela não tenha se mostrado uniforme para alguns casos particulares. Entre *Isoetes goebelii* e *I. ramboi*, por exemplo, o número de cromossomos são diferentes, no entanto, as dimensões dos esporos apresentaram se bastante semelhantes (Tabela 1). O que a princípio poderia representar uma controvérsia aos resultados obtidos, na verdade pode ser mais bem entendido quando levamos em consideração outros fatores como origem ancestral, ecologia e distribuição geográfica. Tendo em vista que na comparação entre *Isoetes goebelii* e o tetraplóide *I. martii*, espécie que apresenta área simpátrica, bem como uma possível origem ancestral comum, percebemos que a correlação positiva é bem estabelecida.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Contagens cromossômicas são importantes em grupos de espécies bastante complicados como *Isoetes*, principalmente para compreender a variação intra e interespecífica. Particularmente, espécies de ampla variação morfológica pode ser composta por vários citótipos como observado por Takamiya et al. (1994) e Watanabe et al. (1996), o que constituem um forte indício de não ser somente uma espécie, mas um conjunto de

espécies. Caplen e Werth (2000a; 2000b) revelaram também que conjunto de espécies de origem aloploplóide podem ser polifilético. Dessa maneira, investigar o número cromossômico e analisar sua correlação com o tamanho dos esporos tem importância na taxonomia de *Isoetes*, especialmente na identificação de táxons que possivelmente reúnam diferentes níveis de ploidias, e que provavelmente não constituem espécies monofiléticas.

TABELA 1. Número cromossômico, hábitat, altitude e tamanho dos esporos ( $\mu\text{m}$ ), voucher e localidade das espécies de *Isoetes* nas regiões sul e sudeste.

Espécie	Número de cromossomos (nível de ploidia)	Hábitat	Altitude (m)	Megásporo diam.	Micrósporo compr.	Voucher	Localidade (Coordenada geográfica)
<i>I. goebelii</i>	33 (3X)	Aquática	2300-2400	535-697 ( $\bar{x}$ = 611)	30-36 ( $\bar{x}$ = 34)	<i>Pereira 642</i> (UPCB)	Itatiaia, Rio de Janeiro (22°23'01"S; 44°40'11"W)
<i>I. martii</i>	44 (4X)	Aquática	2300-2400	760-869 ( $\bar{x}$ = 814)	32-35 ( $\bar{x}$ = 33,4)	<i>Pereira 640</i> (UPCB)	Itatiaia, Rio de Janeiro (22°22'36"S; 44°40'12"W)
<i>I. martii</i>	44 (4X)	Aquática	2300-2400	723-850 ( $\bar{x}$ = 781)	33-39 ( $\bar{x}$ = 35,2)	<i>Pereira 641</i> (UPCB)	Itatiaia, Rio de Janeiro (22°23'01"S; 44°40'11"W)
<i>I. maxima</i>	22 (2X)	Aquática	900-1000	479-656 ( $\bar{x}$ = 592)	25-30 ( $\bar{x}$ = 27,3)	<i>Pereira 631</i> (UPCB)	Cambará do Sul, Rio Grande do Sul (29°04'36"S; 49°59'06"W)
<i>I. organensis</i>	66 (6X)	Aquática	2100-2200	786-896 ( $\bar{x}$ = 849)	33-40 ( $\bar{x}$ = 36,2)	<i>Pereira 637</i> (UPCB)	Petrópolis, Rio de Janeiro (22°29'08"S; 43°03'42"W)
<i>I. quiririensis</i>	22 (2X)	Aquática	1000-1100	477-670 ( $\bar{x}$ = 567)	26-30 ( $\bar{x}$ = 27,9)	<i>Pereira 635</i> (UPCB)	Garuva, Santa Catarina (26°07'36"S; 49°03'13"W)
<i>I. ramboi</i>	44 (4X)	Terrícola	1450-1550	558-682 ( $\bar{x}$ = 640)	30-37 ( $\bar{x}$ = 33,3)	<i>Pereira 623</i> (UPCB)	Urubici, Santa Catarina (28°06'36"S; 49°30'30"W)
<i>I. ramboi</i>	44 (4X)	Aquático	1100-1200	505-654 ( $\bar{x}$ = 564)	31-37 ( $\bar{x}$ = 33,8)	<i>Pereira 627</i> (UPCB)	Bom Jardim da Serra, Rio Grande do Sul (28°29'02"S; 49°43'24"W)
<i>I. ramboi</i>	44 (4X)	Terrestre	800-900	651-807 ( $\bar{x}$ = 690)	27-34 ( $\bar{x}$ = 29,7)	<i>Pereira 630</i> (UPCB)	Cambará do Sul, Rio Grande do Sul (29°04'36"S; 49°59'06"W)

Continua

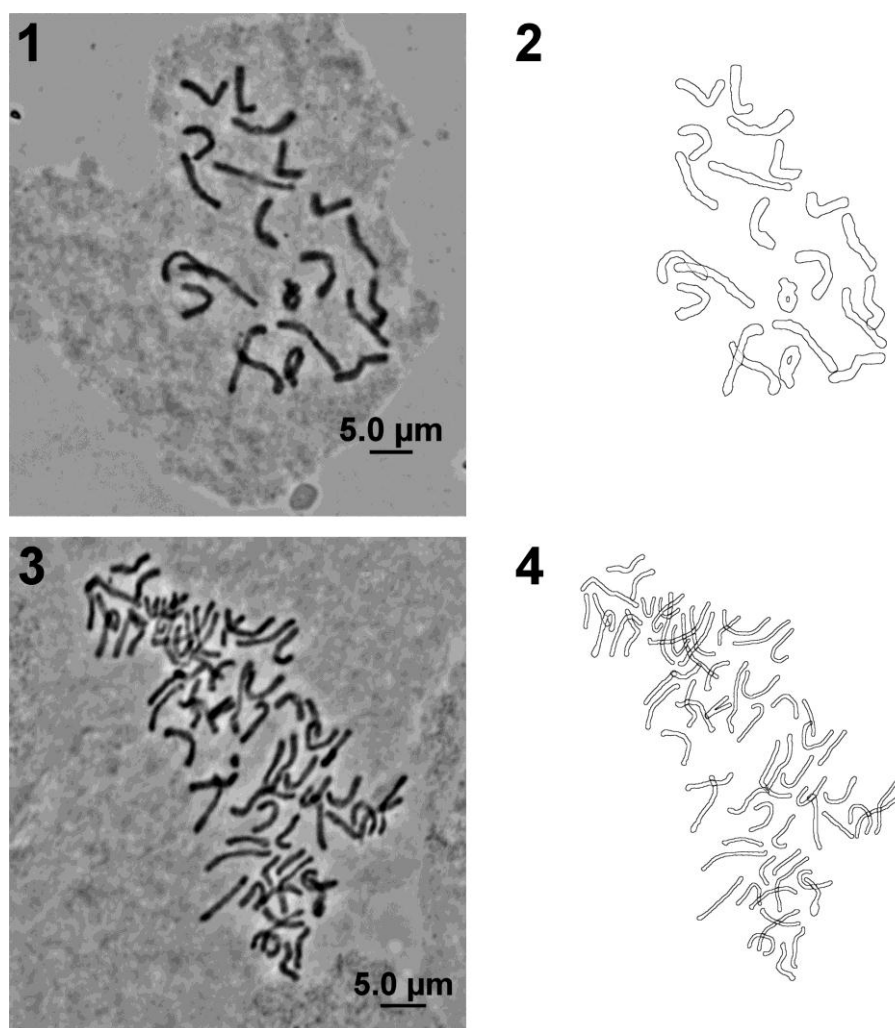
Continuação

Espécie	Número de cromossomos (nível de ploidia)	Hábitat	Altitude (m)	Megásporo diam.	Micrósporo compr.	Voucher	Localidade (Coordenada geográfica)
<i>I. spannagelii</i>	22 (2X)	Terrícola	1300-1400	475-579 ( $\bar{x}$ = 541)	23-29 ( $\bar{x}$ = 25,5)	<i>Pereira 645</i> (UPCB)	Urubici, Santa Catarina (28°10'23"S; 49°34'20"W)
<i>I. spannagelii</i>	22 (2X)	Terrestre	1350-1450	484-566 ( $\bar{x}$ = 520)	25-29 ( $\bar{x}$ = 26,8)	<i>Pereira 626</i> (UPCB)	Urubici, Santa Catarina (28°08'11"S; 49°38'53"W) $\mu$
<i>I. ulei</i>	-	Aquática	2300-2500	431-635 ( $\bar{x}$ = 527)	25-31 ( $\bar{x}$ = 28,9)	<i>Condack, 409</i> (RB)	Itatiaia, Rio de Janeiro (22°17'08"S; 44°36'47"W)

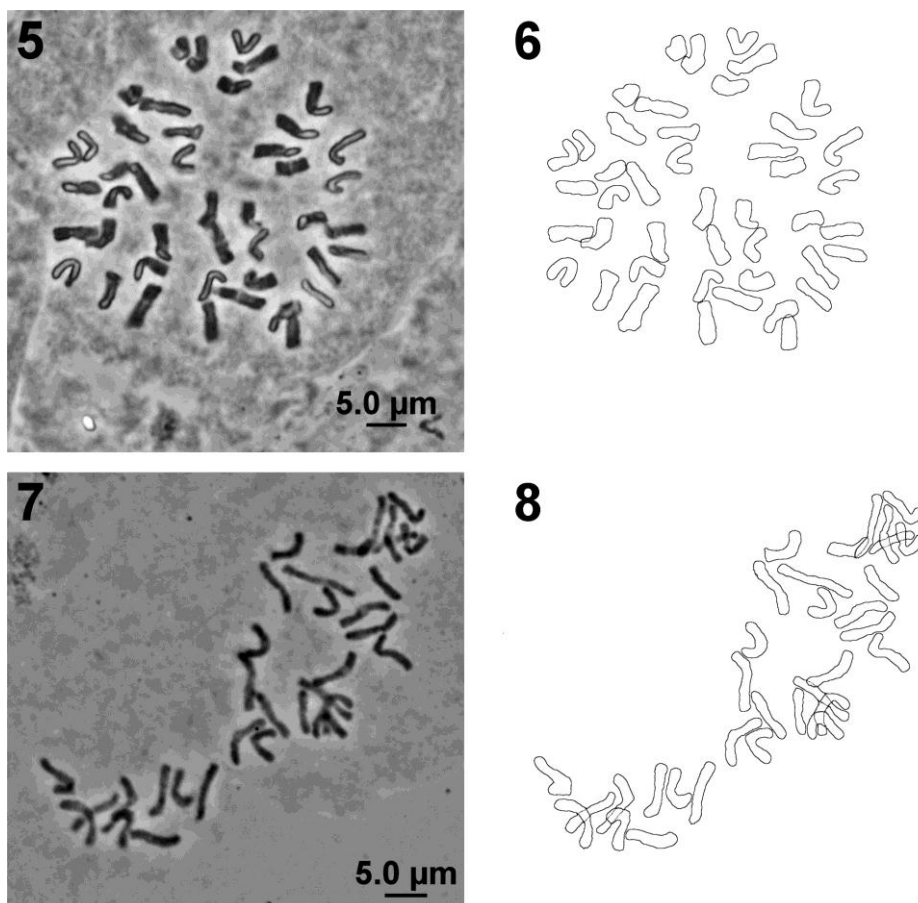
## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COX, P. A. AND HICKEY, R.J. 1984. Convergent megaspore evolution and *Isoetes*. Amer. Naturalist 124: 437–441.
- CAPLEN, C. A. AND C. R. WERTH. 2000A. Isozymes of the *Isoetes riparia* complex, I. Genetic variation and relatedness of diploid species. Syst. Bot. 25:235–259.
- CAPLEN, C. A. AND C. R. WERTH. 2000B. Isozymes of the *Isoetes riparia* complex, II. Ancestry and relationships of polyploids. Syst. Bot. 25:260–280.
- HICKEY, R. J. 1984. Chromosome Numbers of Neotropical *Isoetes*. Amer. Fern J.74: 9-13.
- HICKEY, R. J. 1986. *Isoetes* Megaspore Surface Morphology: Nomenclature, Variation, and Systematic Importance. Amer. Fern J. 76: 1-16.
- HICKEY, R. J., MACLUF, C. AND TAYLOR, W. C. 2003. A Re-evaluation of *Isoetes savatierii* Franchet in Argentina and Chile. Amer. Fern J. 93: 126-136.
- HICKEY, R. J., MACLUF, C. C. AND LINK-PERÉZ, M. 2009. *Isoetes maxima*, New Species from Brasil. Amer. Fern J. 99: 194-199.
- HOOT, S. B. AND W. C. TAYLOR. 2001. The Utility of Nuclear ITS, a *LEFY* Homolog Intron, a Chloroplast *atpB-rbcL* Spacer Region Data in Phylogenetic Analyses and Species Delimitation in *Isoetes*. Amer. Fern J. 91: 166-177.
- MORAN, R. C. 2004. The Natural History of Ferns. 1.ed. Saint Louis, Timber Press.
- PFEIFFER, N. E. 1922. Monograph of the Isoetaceae. Ann. Missouri Bot. Gard. 9: 79-232.
- RYDIN, C AND N. WIKSTRÖM. 2002. Phylogeny of *Isoetes* (Lycopsida): resolving basal relationship using *rbcL* sequences. Taxon 51: 83-89.
- SMALL, R. L. AND HICKEY, R. J. 2001. Systematics of the Northern Andean *Isoetes karstenii* Complex. Amer. Fern J. 91: 41–69.
- SOLTIS, D. E., SOLTIS, P. S., SCHEMSKE, D. W., HANCOCK, J. F., THOMPSON, J. N., HUSBAND, B. C. AND JUDD, W. S. 2007. Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly underestimated the number of species? Taxon 56: 14-30.

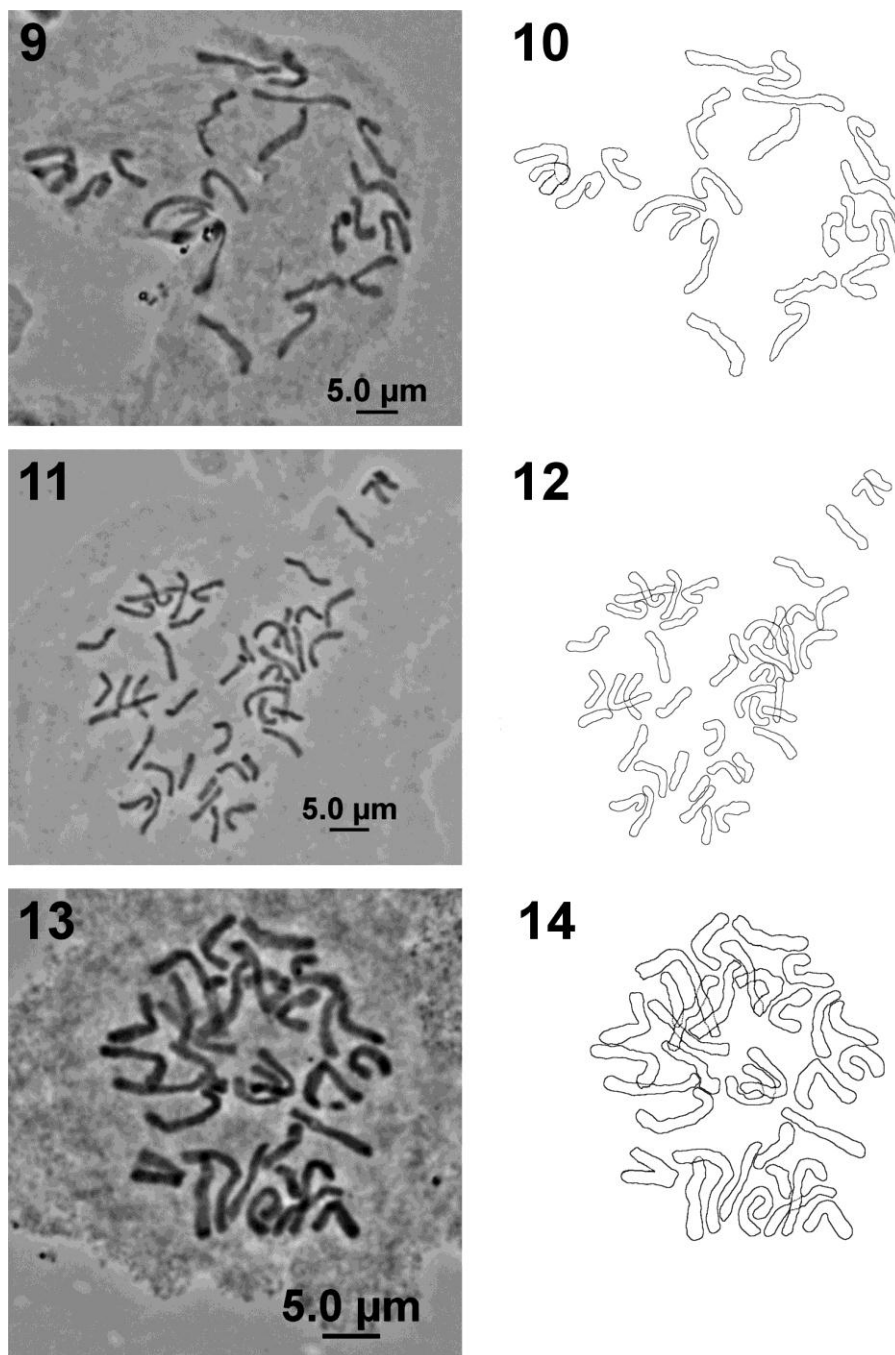
- TAKAMIYA, M., WATANABE, M. AND ONO, K. 1994. Biosystematic studies on the genus *Isoetes* in Japan I. Variation of somatic chromosome numbers. *J. Plant Res.* 107: 289–297.
- TAYLOR, W. C. AND HICKEY, R. J. 1992. Habitat, Evolution, and Speciation in *Isoetes*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 79: 613-622.
- WATANABE, M., TAKAMIYA, M., MATSUSAKA, T. AND ONO, K. 1996. Biosystematic studies on the genus *Isoetes* (Isoetaceae) in Japan. III. Variability within qualitative and quantitative morphology of spores. *J. Plant Res.* 109: 281–296.



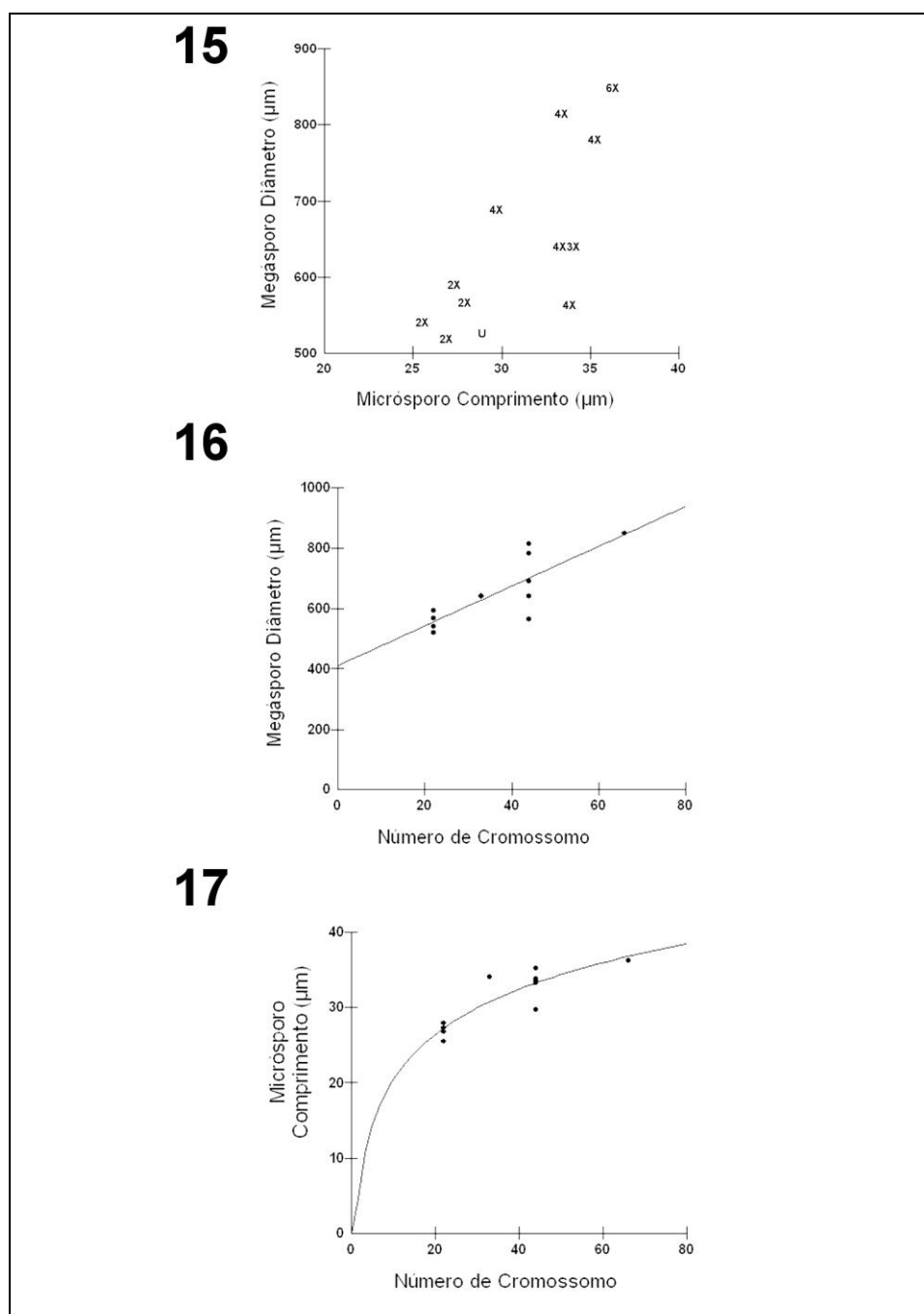
**FIG. 1-4.** MO dos cromossomos em metáfase mitótica de *Isoetes maxima* (Pereira 631, UPCB) e *I. organensis* (Pereira 637, UPCB). **1-2.** *Isoetes maxima*,  $2n = 22$ . **3-4.** *Isoetes organensis*,  $2n = 66$ .



**FIG. 5-8.** MO dos cromossomos em metáfase mitótica de *Isoetes martii* (Pereira 640, UPCB) e *I. goebelii* (Pereira 642, UPCB). **5-6.** *Isoetes martii*,  $2n = 44$ . **7-8.** *Isoetes goebelii*,  $2n = 33$ .



**FIG. 9-14.** MO dos cromossomos em metáfase mitótica de *Isoetes spannagelii* (Pereira 626, UPCB), *I. ramboi* (Pereira 630, UPCB) e *Isoetes* sp. (Pereira 613, UPCB). **9-10.** *Isoetes spannagelii*,  $2n = 22$ . **11-12.** *Isoetes ramboi*,  $2n = 44$ . **13-14.** *Isoetes* sp.,  $2n = 33$ .



**Fig. 15-17.** Nível de ploidia e tamanho de esporos em *Isoetes* das regiões sul e sudeste do Brasil. **15.** Diagrama de dispersão com a plotagem do megásporo diâmetro versus micrósporo comprimento para as espécies de *Isoetes* com número de cromossomos conhecido e a posição de *Isoetes ulei* (U). **16.** Gráfico de regressão linear do megásporo diâmetro e número de cromossomos ( $R^2 = 0,659$ ;  $P = 0,0024$ ). **17.** Gráfico de regressão logarítmica do micrósporo comprimento e número de cromossomos ( $R^2 = 0,785$ ;  $P = 0,0003$ ).

**CAPÍTULO 3: *Isoetes quiririensis*, uma nova espécie para o sul do Brasil****Jovani B. Pereira<sup>1,2</sup> e Paulo H. Labiak<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal do Paraná, Departamento de Botânica, CEP 81531-980,  
Curitiba-PR, Brasil

<sup>2</sup>Autor para correspondência (jovanibio@gmail.com)

**RESUMO.**— *Isoetes quiririensis* é descrita, ilustrada e comparada com os táxons mais próximos. Esta espécie se distingue das demais espécies da região por um conjunto de características como microfilos rígidos, velo recobrando acima de 3/4 da superfície do esporângio, megásporo 477-670  $\mu\text{m}$  diâmetro equatorial, regularmente tuberculado, micrósporo com perisporo equinado e número cromossômico  $2n = 22$ . São ainda apresentadas uma chave para as espécies com megásporo tuberculado a rugulado, ilustrações dos esporos e um mapa de distribuição geográfica. Esta espécie é conhecida apenas para a sua localidade tipo, em uma área com histórico de degradação ambiental e deve ser classificada como Ameaçada (VU) de acordo com os critérios da IUCN.

**PALAVRAS CHAVE.**— Endemismo, espécie ameaçada, Isoetaceae, Lycophyta, América do Sul.

**ABSTRACT.**— *Isoetes quiririensis* is described, illustrated and compared with the similar species. This species is distinct by a set of features such as rigid leaf, velum covering more than 3/4 of the surface of the sporangia, megaspore 477-670  $\mu\text{m}$  equatorial diameter, regularly tuberculate, microspores echinate and chromosome number  $2n = 22$ . A key to the species with the tuberculate to rugulate megaspore, illustrations of spores and a map of geographical distribution is also presented. This species is known only for its type locality, in an area with an environmental degradation history, and therefore we consider it as Endangerous (EN), according to the IUCN criteria.

**KEYWORDS.**— Endemism, endangered species, Isoetaceae, Lycophyta, South America.

## 1 INTRODUÇÃO

*Isoetes* L. (Isoetaceae) é um gênero quase cosmopolita da linhagem das licófitas heterosporadas que apresenta aproximadamente 350 espécies (Hickey 1986a; Hickey et al 2003), sendo 21 espécies no Brasil (Prado et al 2012). Embora com longo histórico de interesse morfológico e taxonômico, o gênero é pouco coletado e apenas esporadicamente estudado (Hickey et al 1989; 2003).

Ainda, o gênero *Isoetes* é reconhecidamente bastante simples morfológicamente e o alto índice de homoplasia, além dos frequentes casos de poliploidia e hibridação criam grande dificuldades na identificação das espécies, bem como no estabelecimento de suas relações filogenéticas (Taylor e Hickey 1992). Diante destas dificuldades, os megásporos são fundamentais para a distinção dos táxons e a taxonomia do gênero é quase totalmente baseada nestas estruturas (Hickey 1986a; Pfeiffer 1922). Contudo, estas também apresentam variação principalmente nos casos envolvendo hibridação e poliploidia. Nestes casos, as contagens cromossômicas mostram-se como uma ferramenta bastante útil para o entendimento destas populações e, até mesmo, no reconhecimento da origem de algumas espécies que foram formadas por esses processos (Cox e Hickey 1984; Hickey 1986b).

Com o objetivo de entender a taxonomia e a diversidade de *Isoetes* na região sul do Brasil, expedições de coletas foram empreendidas para encontrar novas populações e obter espécimes para análises citogenéticas e morfológicas. Durante uma destas excursões, na Serra do Quiriri, situada na porção nordeste do Estado de Santa Catarina, próximo a divisa com o Paraná, foi encontrada uma população com características bastante particulares e que a distingui das demais espécies de *Isoetes* já conhecidas das regiões sul e sudeste do Brasil, a qual é descrita a seguir.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

**2.1 ANÁLISE DOS ESPOROS.**— Os espécimes depositados em herbários (PACA, UPCB) tiveram parte de seus esporângios retirados para obtenção dos esporos para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os megásporos e micrósporos secos, sem pré-tratamento químico, foram fixados em suporte de MEV com fita de cobre dupla face 3M e tiveram suas superfícies recobertas por uma camada de ouro-paládio. As imagens dos esporos foram obtidas em MEV JEOL modelo JSM 6360 LV.

As dimensões dos micrósporos foram obtidas em análise em microscópio óptico binocular. Para tanto, as estruturas foram retiradas das exsicatas, e sem pré-tratamento químico, misturadas a uma gota de glicerina sobre uma lâmina, longa em seguida, visualizadas em microscópio óptico OLYMPUS BX40 e as imagens capturadas em câmera de captura OLYMPUS DP071. A dimensão dos megásporos foi observada em MEV.

Os cálculos das médias dos esporos foram obtidos de 20 estruturas por esporângio. A descrição e classificação morfológica da parede dos esporos estão de acordo com Hickey (1985 e 1986a).

**2.2 ANÁLISE CITOGENÉTICA.**— Para os estudos citogenéticos foram utilizadas células mitóticas do ápice das raízes jovens (até 2 cm de compr.) das plantas coletas em campo e imediatamente fixadas em Solução de Farmer (3 partes de álcool 100% para 1 parte de ácido acético glacial), e mantidas em temperaturas inferiores a 15°C. As células foram posteriormente hidrolisadas em HCl (5%) por 25 minutos, em temperatura ambiente, lavadas em álcool (70%) por 3 minutos e maceradas sobre uma gota do corante carmin acético (5%) com auxílio de uma agulha. Em seguida, numa mesma proporção ao corante, foi misturada a solução Hoyer. As fotos dos cromossomos foram obtidas em microscópio óptico binocular modelo OLYMPUS BX40, com câmera de captura acoplada OLYMPUS DP071.

### **3. TRATAMENTO TAXONÔMICO**

**Isoetes quiririensis** Pereira & Labiak, *sp. nov.*—TIPO: **BRASIL**. Santa Catarina: Mun. Garuva, Serra do Quiriri, 26°07'36``S, 49°03'13``W, 1050 m, 04 Nov 2010, *Pereira et al.* 635 (holótipo: UPCB; isótipo; M, NY, PACA, SP).

Planta aquática. Cormus erectus, bilobatus. Radices synchroni, dichotome divisi, conspicue, succulenti. Folia strictae, 25-60, erectae, 25-41 cm longa. Alae carthaceae, 7,5-15 cm longa, 30-40% per foliae longitudinem ascendentes, apice vulgo acutae. Subula olivacea, apice acuta. Squamae absentes. Velum incompletum, tegens sporangium  $> \frac{3}{4}$ . Labium triangule vel rotundate. Ligula deltato-lanceolata. Esporangium basale, ellipticum, hyalinum. Megasporae albae, triletae, 477-670  $\mu\text{m}$  diametro, tuberculatae. Microsporae monolatae, echinatae, 26-34  $\mu\text{m}$  longae, 18-21  $\mu\text{m}$  latae. Chromosomatum numerus  $2n = 22$ .

Planta aquática, submersa. Cormo ereto, 1-2 cm larg., bilobado. Raízes conspícuas, síncronas, dicotomicamente divididas. Microfilos 25-60, rígidos, eretos, retos, 25-41 cm compr., 1,8-2,3 mm larg. na porção mediana, 5-9 mm larg. na base; alas cartáceas, castanhas a hialinas, 7,5-15 cm comprimento (correspondendo a 30-40% do comprimento do microfilo), 1-2 mm larg. no esporângio, ápice agudo. Súbula presente, verde-olivácea, com ápice agudo. Escamas ausentes. Velo recobrimdo acima de  $\frac{3}{4}$  da superfície do esporângio. Lábio triangular a arredondado, 0,4-0,7 mm compr., 0,6-0,9 mm larg. Lígula deltóide-lanceolada, auriculada, 3,5-4 mm compr., 1,8-2,3 mm larg., auriculada. Esporângio basal, elíptico, 5-9 mm compr., 2,5-4 mm larg. Megáspero branco, trilete, 477-670 ( $\bar{x} = 567$ )  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, superfícies distal e proximal tuberculadas, lesura e cingulo retos, triangulares, conspícuas; vista equatorial globular, vista proximal subtriangular. Micrósporo cinza, monolete, 26-34 ( $\bar{x} = 31$ )  $\mu\text{m}$  compr. e 18-21 ( $\bar{x} = 19$ )  $\mu\text{m}$  larg., superfície do perisporo equinada. Número cromossômico  $2n = 22$ . **Fig. 1, 2 e 4.**

**3.1 ETIMOLOGIA.**– O epíteto específico se refere ao nome da localidade tipo onde os espécimes foram encontrados, na Serra do Quiriri.

**3.2 DISTRIBUIÇÃO E HÁBITAT**– *Isoetes quiririensis* é aparentemente endêmica da localidade tipo, sendo encontrada nos campos de altitude da Serra do Quiriri, porção sul da “Serra do Mar”, no estado de Santa Catarina (Fig. 5). *Isoetes quiririensis* é aquática submersa e pode ser encontrada até 2 m de profundidade, em ambiente oligotrófico.

**3.3 COMENTÁRIOS.**– *Isoetes quiririensis* pode ser caracterizada pelos microfilos rígidos, velo recobrimdo acima de  $\frac{3}{4}$  da superfície do esporângio, megásporos 477-670 ( $\bar{x}$  = 567)  $\mu\text{m}$  diam. equatorial, regularmente tuberculados, e pelo perispo dos micrósporos equinado (Fig. 2).

Embora *Isoetes* apresente grande variedade de ornamentação superficial dos megásporos (baculado, cristado, sacado, reticulado, rugulado e tuberculado) nas regiões montanhosas da costa leste e sul do Brasil (do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul), a grande maioria das espécies apresenta megásporos com superfícies reticuladas e tuberculadas. Os táxons com megásporos reticulados constituem um conjunto de espécie de difícil delimitação taxonômica (Hickey et al 2009), o que não parece ser o caso para as espécies com megásporo tuberculado, como é o caso de *I. quiririensis*.

*Isoetes quiririensis* é semelhante a *I. bradei* pela ornamentação do megásporo e micrósporo, e tamanho do megásporo. No entanto, pode ser facilmente diferenciada pelo microfilo com ala apenas na porção proximal (com súbula na porção distal), velo cobrindo  $\frac{3}{4}$  da superfície do esporângio, micrósporos 26-34 ( $\bar{x}$  = 31)  $\mu\text{m}$  compr. e 18-21 ( $\bar{x}$ =19)  $\mu\text{m}$  larg. Por outro lado, *I. bradei* apresenta microfilo completamente alado (ausência de súbula), velo ausente a rudimentar, micrósporo 40-51,3 ( $\bar{x}$  = 45)  $\mu\text{m}$  compr. e 32,5-38,8 ( $\bar{x}$  = 35)  $\mu\text{m}$  larg. (Fig.2C, D em Hickey 1990). Cabe ressaltar que *I. bradei* foi provavelmente extinto da

natureza (IBAMA 2008), uma vez que era conhecido por apenas duas coletas feitas por Brade em 1921, no Rio Mooca na cidade de São Paulo.

Outras espécies que também apresentam megásporos tuberculados a rugulados e micrósoros equinados são *Isoetes pedersenii* Fuchs ex Meza & Macluf, *I. maxima* Hickey et al e *I. weberi* Herter (fig. 3). Estas espécies se distinguem de *I. quiririensis* principalmente pelas características apresentadas na chave, como cobertura do velo, ornamentação e tamanho do megásporo.

**3.4 CONSERVAÇÃO.**– Os espécimes de *I. quiririensis* foram encontrados em apenas um dos rios da Serra do Quiriri. Esta localidade foi no passado bastante explorada pela pecuária, agricultura e mineração, o que provocaram o assoreamento e eutrofização de vários dos rios da região. Recentemente, parte da Serra do Quiriri converteu-se em área de proteção ambiental (APA), como estratégia para proteger as nascentes dos rios que ocorrem na área. Deste modo, de acordo com IUCN (2010), a categoria na qual esta espécie melhor se encaixa é Ameaçada (EN).

CHAVE PARA AS ESPÉCIES DE ISOETES COM MEGÁSPORO TUBERCULADO A RUGULADO DAS REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL

1. Microfilos completamente alados (sem súbula na porção distal), flexuosos, achatados a elípticos em seção transversal.....*I. bradei*
1. Microfilos parcialmente alados (com súbula na porção distal), retos, semicilíndricos ou trigonais em seção transversal.....2
  2. Megásporos rugulados (se rugulado-tuberculado, menores de 500 µm diâmetro equatorial); esporângios bicolores (com manchas castanhas).....*I. weberi*
  2. Megásporos tuberculados, liso-tuberculados (se rugulado-tuberculados, acima de 500 µm diâmetro equatorial); esporângio concolores.....3
  3. Microfilos trigonais em seção transversal; velo ausente a rudimentar;

- megásporos menores 400 µm em diâmetro equatorial.....*I. pedersenii*
3. Microfilos semicilíndricos em seção transversal; velo recobrimdo mais de ¼ do esporângio; megásporos maiores que 480 µm em diâmetro equatorial.....5
4. Velo recobrimdo ¼ a ½ do esporângio; megásporo irregularmente tuberculado (tuberculado-liso a tuberculado-rugulado).....*I. maxima*
4. Velo recobrimdo acima de ¾ do esporângio, megásporo regularmente tuberculado.....*I. quiririensis*

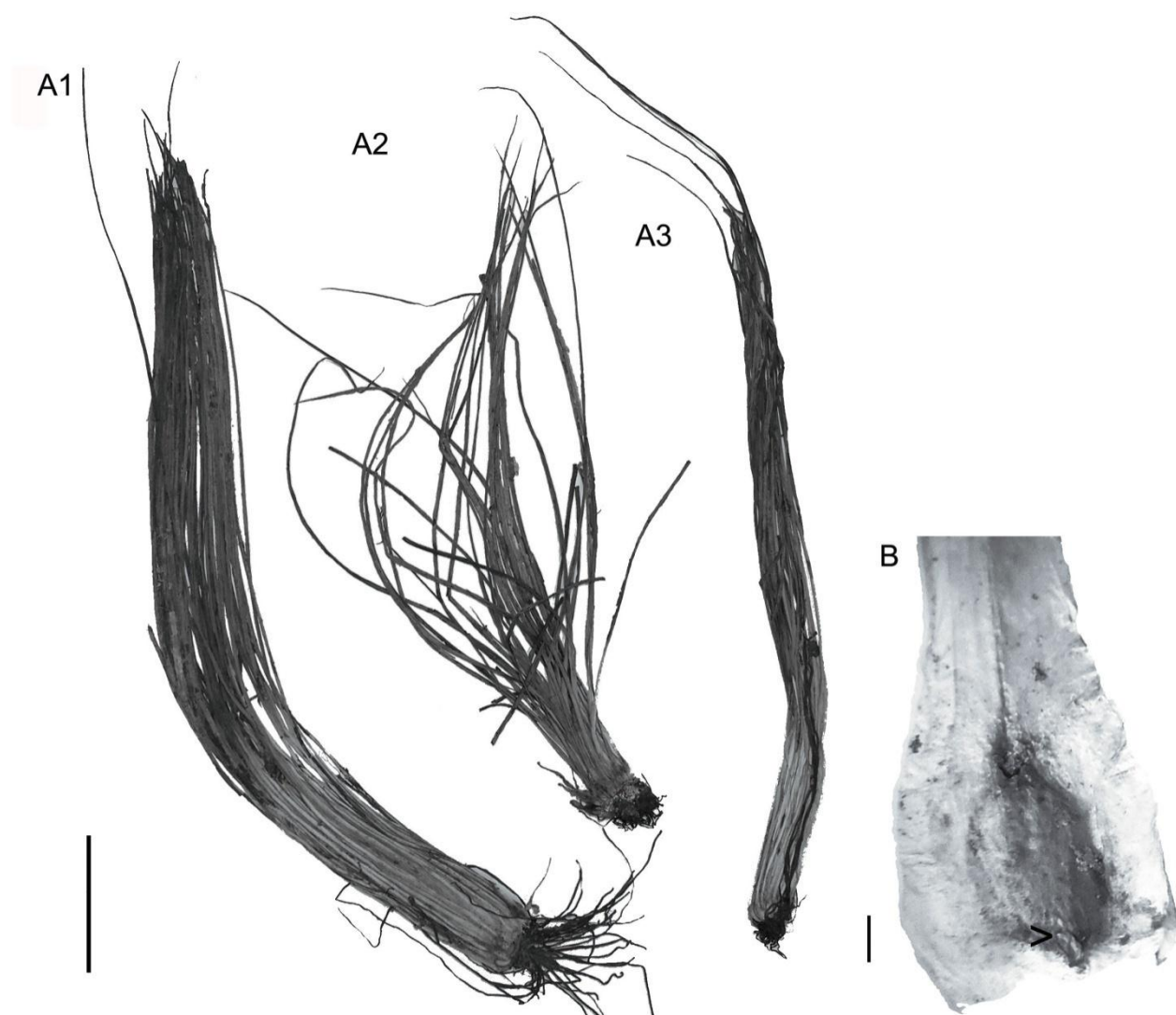
#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cox, P. A. e Hickey, R. J. 1984. Convergent megaspore evolution and *Isoetes*. *American Naturalist*, 124: 437–441.
- Hickey, R. J. 1985. Revisionary Studies of Neotropical *Isoetes* Ph.D. dissertation, The University of Connecticut, Storrs, CT.
- Hickey, R. J. 1986a. *Isoetes* Megaspore Surface Morphology: Nomenclature, Variation, and Systematic Importance. *American Fern Journal*, 76: 1-16.
- Hickey, R. J. 1986b. The Early Evolutionary and Morphological Diversity of *Isoetes*, with Descriptions of Two New Neotropical Species. *Systematic Botany*, 11: 309-321.
- Hickey, R. J. 1990. Studies of Neotropical *Isoetes* L. I. *Euphyllum*, A New Subgenus. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 77: 239-245.
- Hickey, R. J., Macluf, C. C. e Link-Peréz, M. 2009. *Isoetes maxima*, New Species from Brasil. *American Fern Journal*, 99: 194-199.
- HOOT, S. B. e W. C. TAYLOR. 2001. The Utility of Nuclear ITS, a *LEFY* Homolog Intron, a Chloroplast *atpB-rbcL* Spacer Region Data in Phylogenetic Analyses and Species Delimitation in *Isoetes*. *Amer. Fern J.* 91: 166-177.
- IBAMA. 2008. Portaria Nº 37-N, 03/04/92, Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçada de extinção. <http://www2.ibama.gov.br/flora/extincao.htm> (acesso em 01 de julho de 2011).

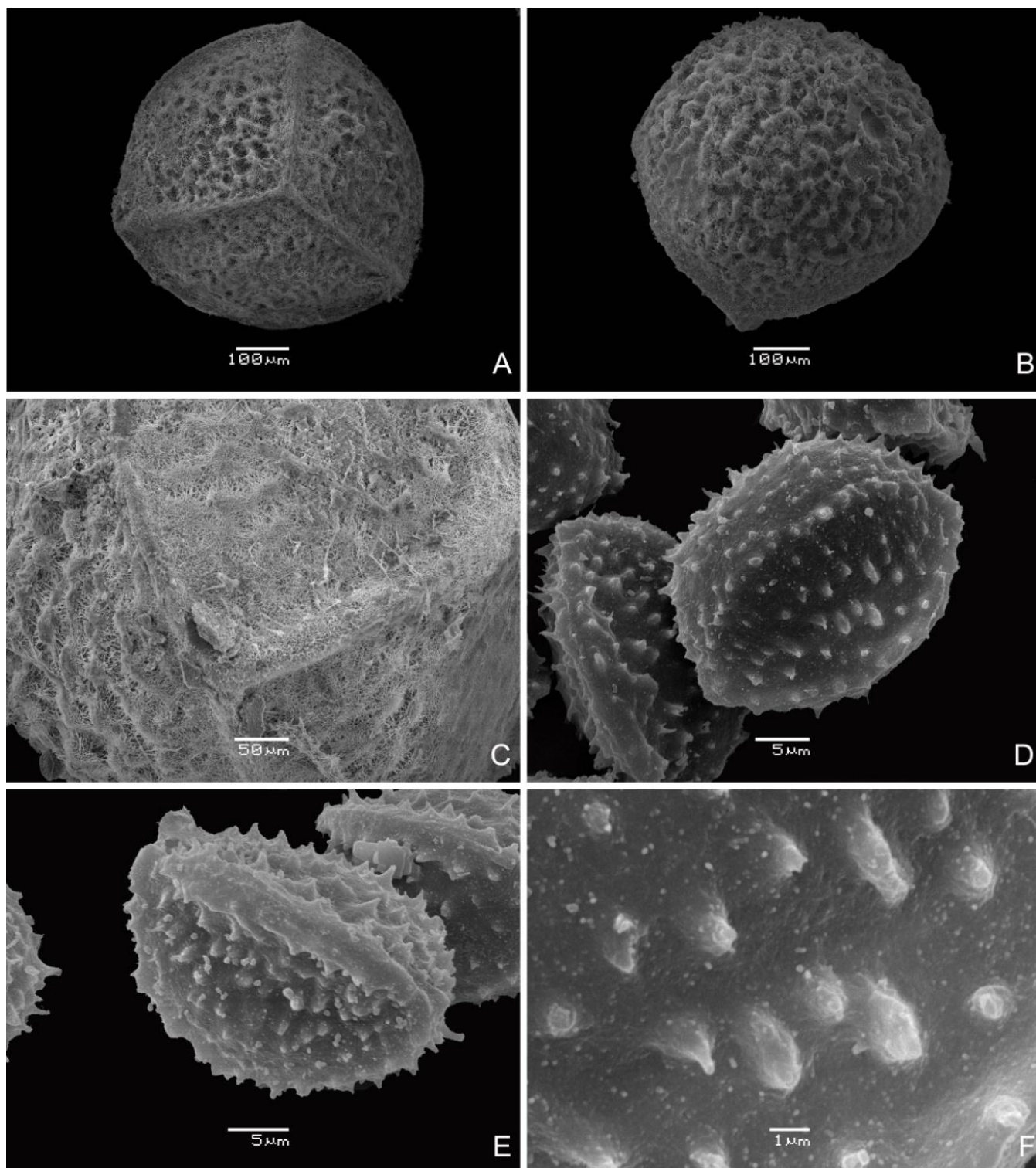
IUCN. 2010. IUCN Red List of Threatened Species. <<http://intranet.iucn.org/webfiles/doc/SSC/RedList/RedListGuidelines.pdf>>. (acesso em Agosto de 2011).

Pfeiffer, N. E. 1922. Monograph of the Isoetaceae. Ann. Missouri Bot. Gard. 9: 79-232.

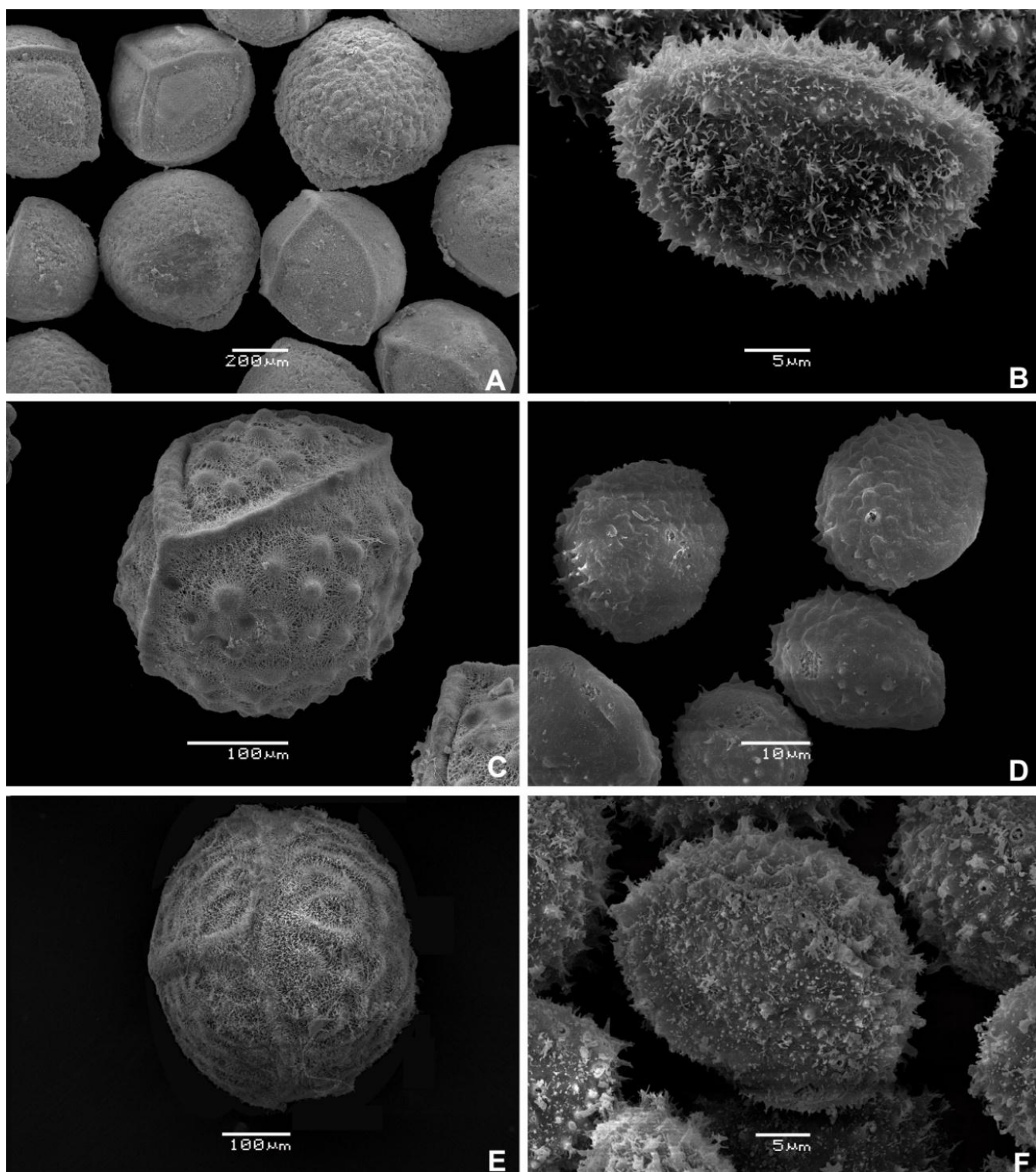
Taylor, W. C. e Hickey, R. J. 1992. Habitat, Evolution, and Speciation in *Isoetes*. Ann. Missouri Bot. Gard. 79: 613-622.



**FIG. 1.** *Isoetes quiririensis* (Holótipo: *Pereira et al 635*, UPCB). **A.** Hábito. **B.** Cobertura do velo sobre 75-95% do esporângio, com o seu limite (>). Escala A=5 cm e B=2 mm.



**FIG. 2.** MEV dos esporos de *Isoetes quiririensis*. **A-C.** Megáspero tuberculado. **A.** Vista proximal. **B.** Vista distal. **C.** Detalhe da ornamentação em vista polar. **D-F.** Micrósporo com perisporo equinado. **D.** Vista distal. **E.** Vista equatorial. **F.** Detalhe da ornamentação em vista distal.



**FIG. 3.** MEV dos esporos de *Isoetes maxima* (Pereira et al 631 UPCB), *I. pedersenii* (Pott e Moreira 10857, UPCB) e *I. weberi* (Rambo s.n., PACA). **A-B.** Esporos de *I. maxima*. **A.** Megásporos tuberculado-rugulados a tuberculado-lisos em várias posições. **B.** Micrósporo com perispo equinado em vista equatorial. **C-D.** Esporos de *I. pedersenii*. **C.** Megásporo tuberculado em vista polar. **D.** Micrósporos com perisporos equinados em várias posições. **E-F.** Esporos de *I. weberi*. **E.** Megásporo rugulada em vista polar. **F.** Micrósporo com perispo equinado em vista equatorial.

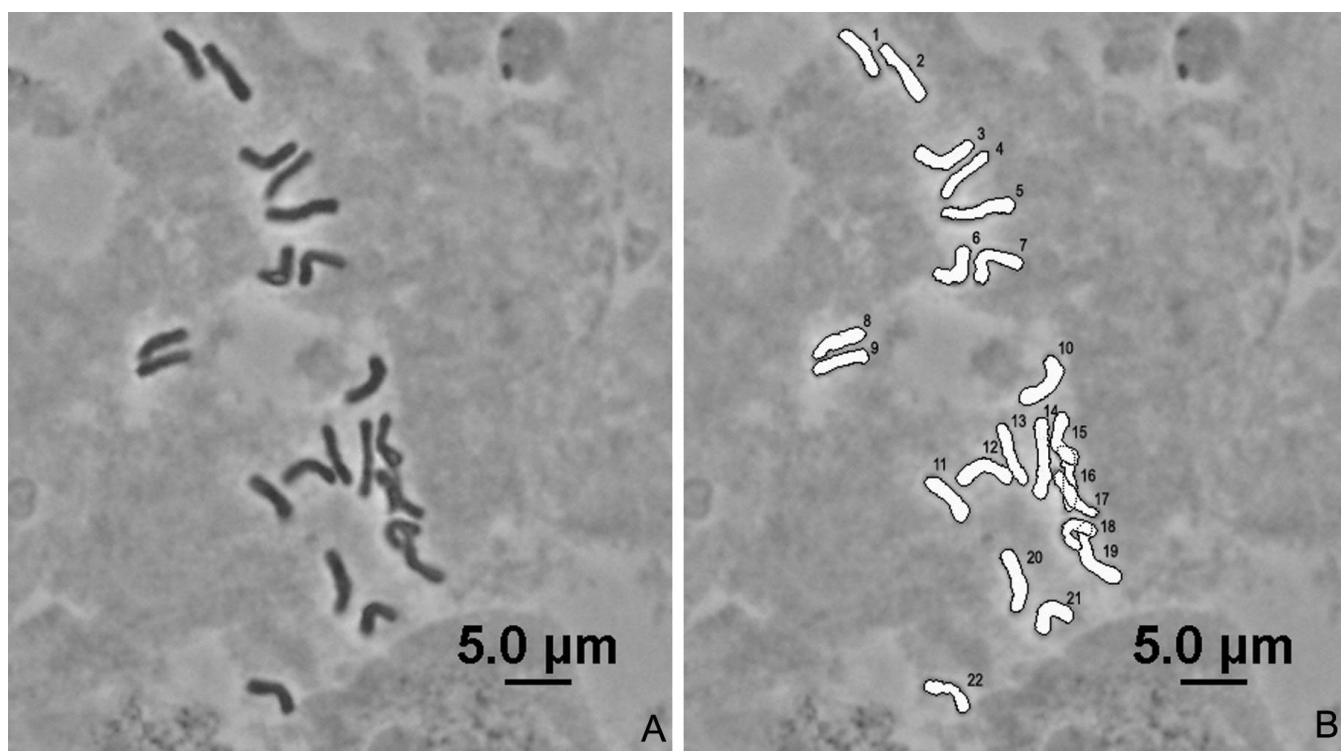


FIG. 4. MO dos cromossomos de *I. quiririensis*. A. Metáfase mitótica. B. Ilustração do número de cromossomo  $2n=22$ .

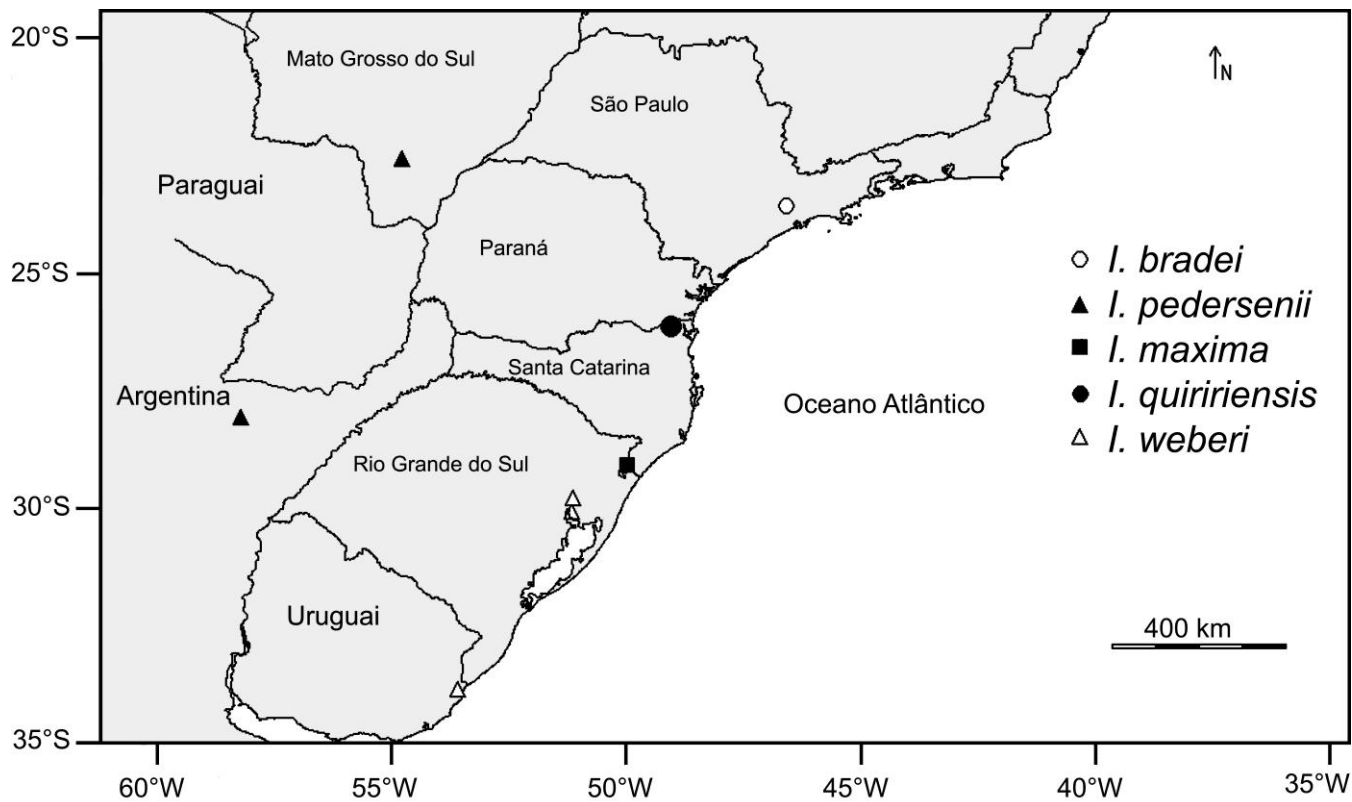


FIG. 5. Distribuição geográfica de *Isoetes bradei*, *I. pedersenii*, *I. maxima*, *I. quiririensis* e *I. weberi*.

**Capítulo 4: *Isoetes mourabaptistae*, a New Species from  
southern Brazil**

JOVANI B. PEREIRA

Universidade Federal do Paraná, Depto. de Botânica, C.P. 19031, 81531-980, Curitiba, PR,  
Brazil, e-mail: giovanibio@gmail.com

PAULO G. WINDISCH

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Depto. de Botânica, C.P. 43433, 91501-970,  
Porto Alegre, RS, Brazil, e-mail: pteridos@gmail.com

MARIA L. LORSCHAITTER

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Depto. de Botânica,  
C.P. 9500, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brazil, e-mail: mlorsch@uol.com.br

PAULO H. LABIAK\*

Universidade Federal do Paraná, Depto. de Botânica, C.P. 19031, 81531-980, Curitiba, PR,  
Brazil, e-mail: plabiak@ufpr.br

RESUMO.— *Isoetes mourabaptistae*, uma nova espécie para o sul do Brasil, é descrita, ilustrada e comparada com as espécies mais similares. Esta espécie é aparentemente restrita ao sul do Brasil, sendo caracterizada pelo megásporo cristado a irregularmente reticulado e micrósporo microequinado. Esta planta pode ser encontrada como aquática, ocorrendo submersa entre rochas em rios de correnteza, em altitude aproximada de 900-1000 m.

PALAVRAS CHAVE.— Isoetaceae, Taxonomia, licófitas, diversidade, planta aquática.

ABSTRACT.— *Isoetes mourabaptistae*, a new species from southern Brazil, is described, illustrated, and compared to the most similar species. This new species is apparently restricted to southern Brazil, and is characterized by cristate to irregularly reticulate megaspores and microechinate microspores. It is an aquatic plant, occurring among submersed rocks along rivers, at about 900–1100 m in elevation.

KEY WORDS.— Isoetaceae, taxonomy, lycophytes, diversity, aquatic plants.

## 1 INTRODUCTION

The genus *Isoetes* L. comprises approximately 350 species (Hickey *et al.* 2003), most of them occurring as aquatic plants in lakes and streams, but also as terrestrials on permanent or seasonally wet soils. The genus is widely distributed around the world, but many of its species tend to have very narrow distributions (Hickey, 1986; Hickey *et al.*, 2003; Small and Hickey, 2001; Luebke and Budke, 2003; Choi *et al.*, 2008).

Hickey (1990) considered South America to be a center of both morphological and taxonomic diversity for *Isoetes*. However, this is still one of the less known regions, and published estimates of the diversity of *Isoetes* in South America vary considerably. Two of the most important contributions to South American *Isoetes*, provided by Fucks-Eckert (1982) and Hickey (1985), suggest, respectively, between 75 and 47 species for this region. Undoubtedly much work is still needed to assess the actual diversity in South America. In Brazil particularly, *Isoetes* is one of the less known groups of lycophytes, and most of the species are represented by a very limited number of collections. Prado & Sylvestre (2010) recorded 14 species for Brazil (12 endemics), most of them distributed along the coastal mountains of the southeastern and southern regions.

A study on the spore morphology of ferns and lycophytes of Rio Grande do Sul (Lorscheitter *et al.* 2009), and additional fieldwork conducted by the authors, has identified the presence of a new species of *Isoetes* that we describe herein.

## 2 TAXONOMIC TREATMENT

***Isoetes mourabaptistae*** J. B. S. Pereira, P. G. Windisch, M. L. Lorscheitter, and Labiak, **sp. nov.** TYPE.— BRAZIL. Rio Grande do Sul, São Francisco de Paula, Rio Tainhas, 1 Oct. 2005, P. G. Windisch 10056 (Holotype: PACA 107431). **Figs. 1 A-B; 2 A-D; 3 A-D.**

Plantae parvae. Cormus erectus, bilobatus. Radices synchroni, dichotome divisi, conspicue succulenti. Folia chartacea, 10–35, ascendunt, 6–11 cm longa. Alae castaneae, apice vulgo truncatae, 20–25% per foliae longitudinem ascendentes. Subula olivacea, ascendens, apice attenuata. Squamae absentes. Labium absens. Ligula deltato-lanceolata. Velum incompletum. Sporangium basale ellipticum, hyalinum. Megasporeae albae, triletae, 558–736  $\mu\text{m}$  diametro, hemisphaerium distale reticulatum vel cristatum, hemisphaerium proximale reticulatum. Microsporeae monoletae, microechinatae, 24–31  $\mu\text{m}$  longae, 13–22  $\mu\text{m}$  latae.

Plants submerged, growing among rocks in streams, less than 15 cm tall. Corm erect, bilobed, 3–10 mm wide. Roots synchronous, dichotomous. Microphylls 10–35, ascending, linear, chartaceous, 6–11 cm long, 4–6 mm wide at the base and 1–2.5 mm wide in the medial portion, base of the microphylls alate, the alae 1.4–2.3 cm long, 0.5–0.8 mm wide (above the sporangium), extending 20–25% the length of the microphyll, castaneous, apices often truncate. Subula olive green, ascending, semiterete, the apex attenuate. Scales absent. Labium absent. Ligule deltate-lanceolate, membranaceous, 2.2–2.5 mm long and 1.4–1.8 mm wide. Velum incomplete, covering 50–75% of the sporangium width, and 25–50% of the sporangium length. Sporangium basal, elliptic, hyaline, 3.1–3.4 mm long, 1.9–2.4 mm wide. Megaspores whitish, trilete, globose in equatorial view, globose to subtriangular in proximal view, 558–736 ( $\bar{x}$  = 669)  $\mu\text{m}$  wide, irregularly reticulate to densely cristate distally, irregularly reticulate proximally. Microspores gray, monolete, elliptic, 30–38 ( $\bar{x}$  = 34)  $\mu\text{m}$  long, 23–28 ( $\bar{x}$  = 25)  $\mu\text{m}$  wide, perispore microechinate.

ADDITIONAL SPECIMENS EXAMINED.— BRAZIL. Rio Grande do Sul: São José dos Ausentes, Silveira, 09 Dez. 1994, *R. Bueno 4471* (ICN).

2.1 ETYMOLOGY.— The specific epithet honors Dr. Luis Rios de Moura Baptista, botanist from the Federal University in Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

2.2 DISTRIBUTION AND ECOLOGY.— *Isoetes mourabaptistae* is known from only two collections: one from São Francisco de Paula, and the other from São José dos Ausentes, both in the northeastern part of Rio Grande do Sul. It was found growing submerged, amongst rocks in shallow, clear waters, at altitudes of about 900–1100 m.

2.3 TAXONOMIC NOTES.— According to Hickey *et al.* (2009), in the southern part of South America there is a group of species with reticulate megaspores that is very complex taxonomically. This group includes species such as *I. brasiliensis* H. P. Fuchs-Eckert, *I. ekmanii* U. Weber, *I. fuscomarginata* H. P. Fuchs-Eckert, *I. martii* A. Br., *I. organensis* U. Weber, *I. ramboi* Herter, *I. smithii* H. P. Fuchs-Eckert, *I. sehnemii* H. P. Fuchs-Eckert, and *I. spannagelii* H. P. Fuchs-Eckert. Because *Isoetes mourabaptistae* has megaspores that are irregularly reticulate, we believe that it may belong to this group. It can be distinguished from most of those species, however, by its larger megaspores (558-736  $\mu\text{m}$  in diameter), and by its microechinate microspores. In contrast, the megaspores of most of the species from southern Brazil are usually less than 400  $\mu\text{m}$  in diameter, and the microspores always have smooth outer coatings.

In the size of the microphylls (up to 11 cm long) and habit (Fig. 1 A), *Isoetes mourabaptistae* resembles *I. sehnemii* H. P. Fuchs-Eckert and *I. spannagelii* H. P. Fuchs-Eckert. However, the megaspores of *I. sehnemii* are much smaller (332-480(-554)  $\mu\text{m}$  diam.) and the microspores are smooth (Figs. 2 E, and 3 E). In *I. spannagelii* the megaspores are 406-562(-603)  $\mu\text{m}$  in diameter and distinctly and consistently reticulate. The microspores are also smooth (Figs. 2 F, and 3 F).

Hans Peter Fucks-Eckert labeled a collection made by Luis Rios Moura-Baptista as '*Isoetes batistae*' (*Moura-Baptista 7719, PACA*), and also cited this name on pages 237 and 256 of his work published in 1982 (Fucks-Eckert, 1982). However, Fucks-Eckert never validly

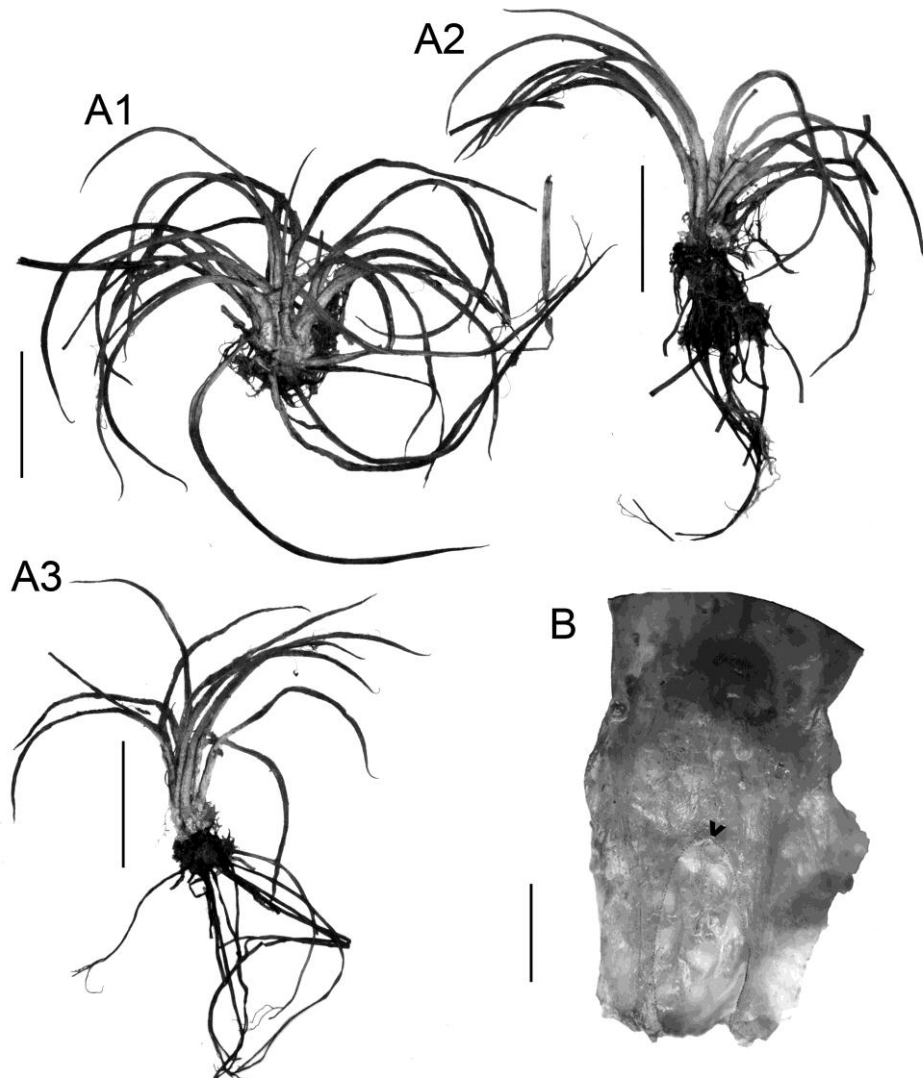
published this new name (therefore a *nomen nudum*). The specimen at the PACA Herbarium consists of a very depauperate specimen, with only fragments of the microphylls. Even though it was collected in the same river, and likely represents the species described here, we cannot be sure about its identity given the absence of the characters that distinguish this species from its congeners.

2.4 CONSERVATION STATUS.— *Isoetes mourabaptistae* is currently known from only two collections, from two different rivers in southern Brazil. This suggest that it is locally rare and has a narrow distribution, therefore deserving special attention relative to its conservation status. However, based on our current knowledge on its population size, geographic ditribution, and according to IUCN Red List Criteria (IUCN, 2001), it is assessed here as Data Deficient (DD).

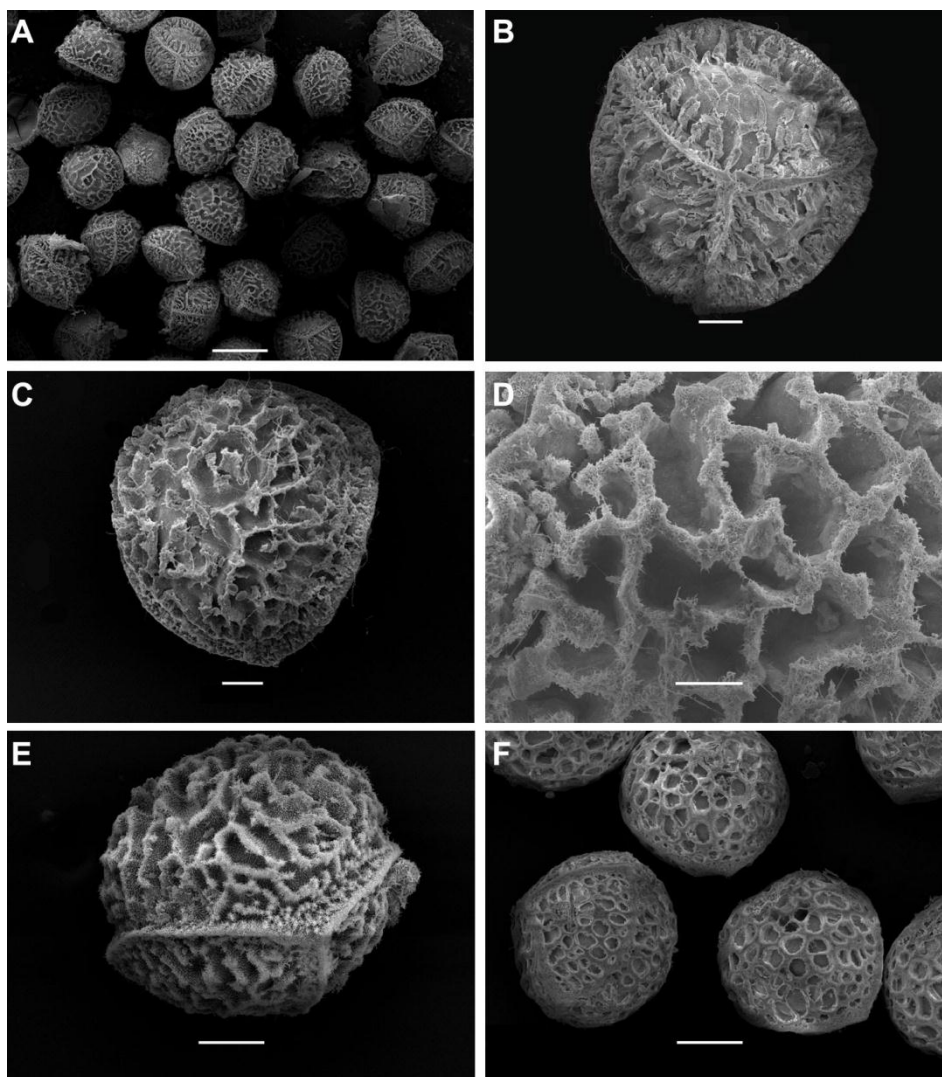
### 3 LITERATURE CITED

- CHOI, H.-K., JUNG, J. and KIM, C. 2008. Two new species of *Isoetes* (Isoetaceae) from Jeju Island, South Korea. *J. Pl. Biol.* 51:354-358.
- FUCHS-ECKERT, H. P. 1982. Zur heutigen Kenntnis von Vorkommen und Verbreitung der südamerikanischen *Isoetes*-Arten. *Proc. Koninkl. Neder. Akad. Wetensch. Ser. C.* 85: 205-260.
- FUCHS-ECKERT, H. P. 1986. Isoetáceas. Pp. 3–43 in R. Reitz, ed. *Flora Illustrada Catarinense*. Itajaí, Santa Catarina, Brasil.
- HICKEY, R. J. 1985. Revisionary studies of Neotropical *Isoetes* Ph.D. Dissertation, The University of Connecticut, Storrs, CT.
- HICKEY, R. J. 1986. The early evolutionary and morphological diversity of *Isoetes*, with description of two new Neotropical species. *Syst. Bot.* 11:309-321.
- HICKEY, R. J. 1990. Studies of Neotropical *Isoetes* L. I. *Euphyllum*, a new Subgenus. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* 77:239-245.

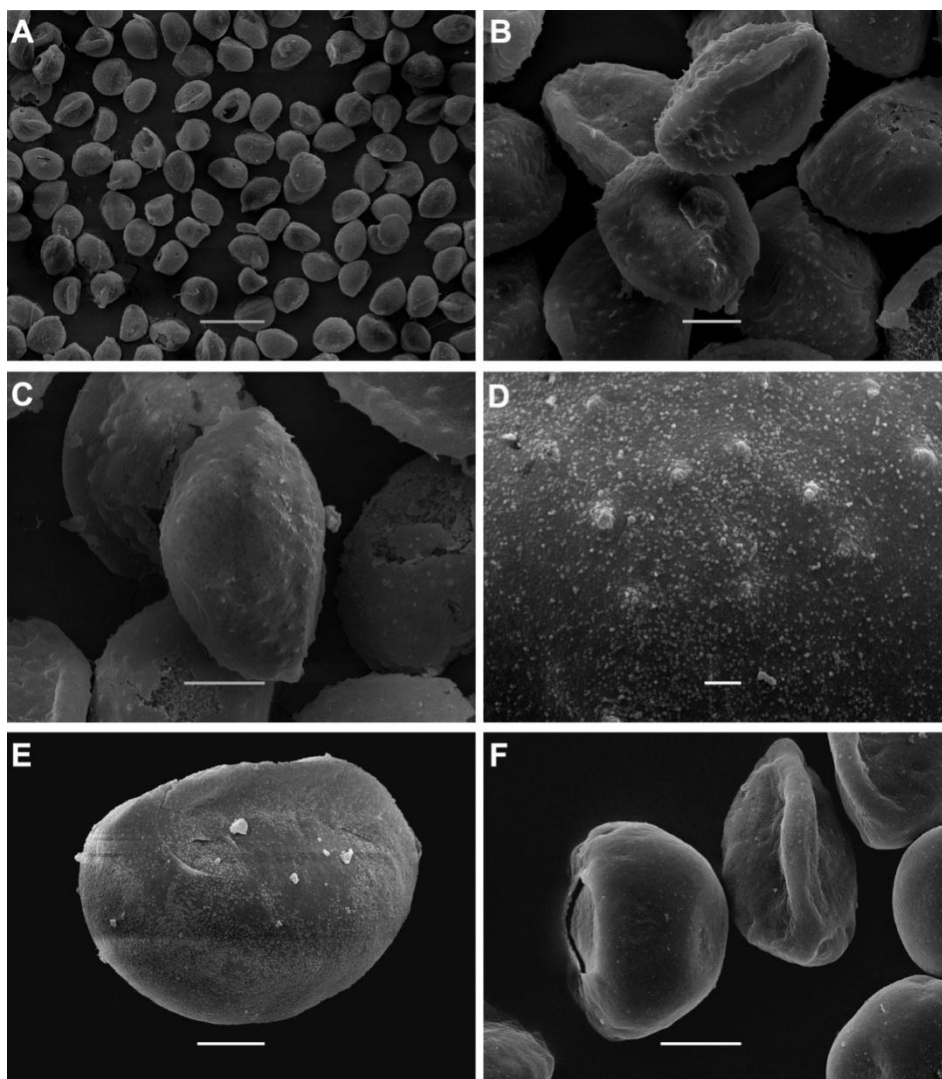
- HICKEY, R. J., TAYLOR, W. C. and LUEBKE, N. T. 1989. The species concept in Pteridophyta with special reference to *Isoetes*. Amer. Fern. J. 79:78-89.
- HICKEY, R. J., MACLUF, C. and TAYLOR, W. C. 2003. A re-evaluation of *Isoetes savatieri* Franchet in Argentina and Chile. Amer. Fern. J. 93:126-136.
- HICKEY, R. J., MACLUF, C. C. and LINK-PERÉZ, M. 2009. *Isoetes maxima*, a new species from Brazil. Amer. Fern. J. 99:194-199.
- LORSCHUITTER, M. L., ASHRAF, A. R., WINDISCH, P. G. and MOSBRUGGER, V. 2009. Pteridophyte spores of Rio Grande do Sul flora, Brazil, Part VI. Palaeontographica 281:1-96.
- LUEBKE, N. T. and BUDKE, J. M. 2003. *Isoetes tennesseensis* (Isoetaceae), an octoploid quillwort from Tennessee. Amer. Fern. J. 93:184-190.
- PRADO, J. and SYLVESTRE, L. S. 2010. Isoetaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/fb091270>).
- SMALL, R. L. and HICKEY, R. J. 2001. Systematics of the Northern Andean *Isoetes karstenii* Complex. Amer. Fern. J. 91:41-69.
- TAYLOR, W. C. and HICKEY, R. J. 1992. Habitat, evolution, and speciation in *Isoetes*. Ann. Missouri. Bot. Gard.79:613-622.



**FIG. 1. A-B.** **A.** Habit of *Isoetes mourabaptistae*. **B.** Velum (the arrow indicates the edge of the velum with the fenestra below). Scale bars: A = 2 cm and B = 1 mm. (All from the Holotype, *P. G. Windisch 10056*, PACA).



**FIG. 2.** A-F. SEM images of the megaspores of *Isoetes mourabaptistae*, *I. sehnemii*, and *I. spannagelii*. **A-D.** *Isoetes mourabaptistae* (Windisch 10056, PACA). **A.** Overview of the megaspores. **B.** Proximal view. **C.** Distal view. **D.** Detail of the megaspores in distal view. **E.** *I. sehnemii* (Sehnem 17094, PACA), megaspore in equatorial view. **F.** *I. spannagelii* (Pereira et al. 626, UPCB), megaspores in different positions. Scale bars: A = 500  $\mu\text{m}$ ; B, C, and E = 100  $\mu\text{m}$ ; D = 50  $\mu\text{m}$  and F = 200  $\mu\text{m}$ .



**FIG. 3. A-F.** SEM of the microspores of *Isoetes mourabaptistae*, *I. sehnemii* and *I. spannagelii*. **A-D.** *Isoetes mourabaptistae* (Windisch 10056, PACA). **A-B.** Overview of the microspores. **C.** Distal view of a microspore. **D.** Detail of the outer coating showing the microechinate surface. **E.** *I. sehnemii* (Sehnem 17094, PACA), equatorial view. **F.** *I. spannagelii* (Pereira et al. 626, UPCB), overview of the microspores. Scale bars: A = 50  $\mu\text{m}$ ; B, C and F = 10  $\mu\text{m}$ ; D = 1  $\mu\text{m}$  and E = 5  $\mu\text{m}$ .