

CAROLINA LONGO CORNEHL

**POSICIONAMENTO SISTEMÁTICO DE *HAGENBACHIA* NEES & MART.
ATRAVÉS DE CARACTERES MORFOLÓGICOS E ANATÔMICOS**

Curitiba

2009

CAROLINA LONGO CORNEHL

**POSICIONAMENTO SISTEMÁTICO DE *HAGENBACHIA* NEES & MART.
ATRAVÉS DE CARACTERES MORFOLÓGICOS E ANATÔMICOS**

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas do Setor de Ciências Biológicas da universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção de título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Erika Amano

Co-orientador: Eric de Camargo Smidt

Curitiba

2009

Cornehl, Carolina Longo

Posicionamento sistemático de *Hagenbachia* Nees & Mart. através de caracteres morfológicos e anatômicos / Carolina Longo Cornehl. – Curitiba, 2009.

21f.: il. (coloridas)

Orientadora: Erika Amano

Co-orientador: Eric de Camargo Smidt

Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

1. Anatomia. 2. Agavaceae. 3. Órgãos vegetativos e reprodutivos.

RESUMO

O estudo da morfologia comparada foi, e continua sendo, a principal fonte de informações para estudos taxonômicos e sistemáticos. Trabalhos demonstram que o uso da anatomia vegetal na sistemática foram corroboradas, posteriormente, por análises cladísticas utilizando dados macromoleculares. Para o uso de caracteres anatômicos como fonte útil de informação sistemática é necessária a compreensão da gama e fonte de variação do caráter entre indivíduos, espécies ou grupos relacionados. As afinidades do gênero *Hagenbachia* Nees & Mart. com outros gêneros e a sua posição sistemática dentre as demais monocotiledôneas têm sido tema de considerável discussão já tendo sido incluído em varias famílias. Tendo como base dessa problemática encontrada nesse gênero, este estudo teve como objetivo principal verificar as características morfológicas e anatômicas de *Hagenbachia brasiliensis* a fim de trazer informações para maior esclarecimento a cerca da sistemática e, posteriormente, da filogenia da família e da sua relação com os grupos afins dentre as monocotiledôneas. Para isso utilizou-se indivíduos de uma coleção *in vivo*, e o material foi processado de acordo com técnicas usuais em anatomia vegetal. Os órgãos vegetativos e reprodutivos foram descritos e comparados com gêneros afins, trazendo importantes informações acerca da relação com os gêneros da família Agavaceae e em relação a ordem Asparagales. Mais estudos são necessários para complementação do estudo morfológico de *Hagenbachia*, assim como, estudos de grupos próximos, já que estas informações são pouco exploradas na literatura.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1. | Secção transversal da raiz. | 14 |
| Figura 2. | Secção transversal da raiz. Detalhe. | 14 |
| Figura 3. | Secção longitudinal do caule. | 14 |
| Figura 4. | Secção longitudinal do caule. Detalhe. | 14 |
| Figura 5. | Secção transversal do feixe vascular do caule. | 14 |
| Figura 6. | Secção transversal da folha. | 15 |
| Figura 7. | Secção transversal da folha. Detalhe do feixe vascular. | 15 |
| Figura 8. | Secção transversal da folha. Detalhe do idioblasto. | 15 |
| Figura 9. | Secção transversal da folha. Detalhe dos estômatos. | 15 |
| Figura 10. | Secção paradérmica da folha. Detalhe do estômato. | 15 |
| Figura 11. | Secção transversal do escapo. | 15 |
| Figura 12. | Secção transversal do escapo. Detalhe. | 15 |
| Figura 13. | Macerado. Elemento de vaso da raiz. | 16 |
| Figura 14. | Macerado. Detalhe da placa de perfuração do elemento de vaso da raiz. | 16 |
| Figura 15. | Macerado. Detalhe da placa de perfuração do elemento de vaso da raiz. | 16 |
| Figura 16. | Macerado. Traqueíde do caule. | 16 |
| Figura 17. | Secção transversal da flor. | 17 |
| Figura 18. | Secção transversal da sépala. | 17 |
| Figura 19. | Secção transversal da pétala. | 17 |
| Figura 20. | Secção transversal da antera. | 17 |
| Figura 21. | Secção transversal do ovário. | 17 |
| Figura 22. | Secção transversal da flor. Detalhe do nectário. | 17 |
| Figura 23. | Secção longitudinal da flor. | 18 |
| Figura 24. | Secção transversal do ovário. Detalhe do ovário. | 18 |
| Figura 25. | Secção transversal do fruto. | 18 |
| Figura 26. | Secção transversal do pericarpo. | 18 |
| Figura 27. | Secção transversal do pericarpo. Detalhe do estômato. | 18 |
| Figura 28. | Secção transversal da semente. | 18 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 7 |
| 2. OBJETIVOS | |
| 2.1. Objetivo geral | 9 |
| 2.2. Objetivos específicos | 9 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | |
| 3.1. Material | 10 |
| 3.2. Métodos | 10 |
| 4. RESULTADOS | 11 |
| 5. DISCUSSÃO | 19 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 21 |

1. INTRODUÇÃO

O estudo da morfologia comparada foi, e continua sendo, a principal fonte de informações para estudos taxonômicos e sistemáticos (Endress et al. 2000). Atualmente, devido à combinação da aplicação de técnicas macromoleculares com a metodologia filogenética, a sistemática vegetal entrou em uma nova era de descobertas (Jansen et al. 2001).

Até a última década, foi expressiva a utilização de dados morfológicos em trabalhos sistemáticos. Desde então, tem-se focado a atenção para os avanços na biologia molecular, sendo menos constante a utilização de dados puramente morfológicos (Endress et al. 2000).

Em trabalho de revisão, avaliando o uso da anatomia vegetal na sistemática, Endress et al. (2000) citam diversos estudos anatômicos que foram corroborados, posteriormente, por análises cladísticas utilizando dados macromoleculares. Os autores citam ainda, casos em que relações filogenéticas que nunca haviam sido cogitadas surgiram com trabalhos baseados em dados macromoleculares e foram, posteriormente, apoiadas por estudos anatômicos. Segundo os mesmos autores, porém, é apropriado refletir sobre o valor relativo e as limitações do uso de caracteres morfológicos e anatômicos estudados isoladamente. Com o advento da biologia molecular, pode-se fazer análises com os dados isoladamente assim como combinadas, verificando a consistência e concordância entre as fontes de dados, mas é necessário enfatizar que os estudos macromoleculares não substituem as análises estruturais comparativas. É graças à disponibilidade de uma hipótese filogenética macromolecular para as angiospermas, que a comparação entre caracteres morfológicos e anatômicos é muito mais eficiente e significativa (Endress et al. 2000).

A morfologia comparada tem papel importante na resolução de problemas taxonômicos e, deve-se sempre lembrar que a biologia da maioria das plantas está longe de ser completamente conhecida e que novos táxons são constantemente reconhecidos (Endress et al. 2000).

Sendo assim, é extremamente importante que se combine dados anatômicos, morfológicos e macromoleculares na busca de relações filogenéticas em qualquer grupo. Tal combinação de dados é a melhor forma para obter filogenias bem

corroboradas, permitindo desta forma, uma melhor compreensão das relações evolutivas entre os táxons (Herendeen & Miller, 2000). Estes estudos devem produzir árvores filogenéticas cada vez mais sustentadas, sendo o passo seguinte reconstruir a evolução da biologia vegetal (Endress et al. 2000).

Para o uso de caracteres anatômicos como fonte útil de informação sistemática é necessária a compreensão da gama e fonte de variação do caráter entre indivíduos, espécies ou grupos relacionados. Variações podem ocorrer tanto quantitativa quanto qualitativamente nos aspectos estruturais (Dickison 2000).

Para as monocotiledôneas, pode-se ressaltar diversos estudos que ilustram o valor das análises morfológicas, anatômicas e macromoleculares combinadas, como para as Asparagales (Rudall & Cutler 1995), para Xanthorrhoeaceae (Rudall & Cutler 1996), Asteliaceae e Hypoxidaceae (Rudall & Cutler 1998).

As afinidades do gênero *Hagenbachia* Nees & Mart. com outros gêneros e a sua posição sistemática dentre as demais monocotiledôneas têm sido tema de considerável discussão já tendo sido incluído em Haemodoraceae (Cruden 1987), Haloragaceae (Cronquist 1988, Thorne 2000), Liliaceae s.l. (Cruden et al. 1991), Anthericaceae (Takhtajan 1996), ou ainda Agavaceae (APG II 2003).

O gênero *Hagenbachia* encontra-se atualmente circunscrito em Agavaceae (Asparagales) com cinco espécies reconhecidas: *H. brasiliensis* Nees & Mart., *H. panamensis* (Standl.) Cruden, *H. angusta* Ravenna, *H. columbiana* Cruden e *H. hassleriana* (Baker) Cruden. Este trabalho busca levantar caracteres morfológicos e anatômicos em *Hagenbachia brasiliensis*, como representante do gênero, que possam colaborar e elucidar o seu posicionamento em Agavaceae ou dentre as monocotiledôneas como um todo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este estudo tem como objetivo principal verificar as características morfológicas e anatômicas de *Hagenbachia brasiliensis* a fim de trazer informações para maior esclarecimento a cerca da sistemática e, posteriormente, da filogenia da família e da sua relação com os grupos afins dentre as monocotiledôneas.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever a anatomia dos órgãos vegetativos, a saber: raiz, caule, folha.
- Descrever a anatomia dos órgãos reprodutivos, a saber: flor, fruto e semente.
- Comparar os dados obtidos com as descrições de órgãos vegetativos e reprodutivos os grupos correlatos encontrados por outros autores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material estudado

Para este estudo foi utilizada uma única espécie, *Hagenbachia brasiliensis*, como representativa para o gênero como um todo. Foram realizadas coletas de material botânico a partir de coleção *in vivo*.

3.2. Metodologia

Foram coletados três espécimes. O material foi fixado em FAA (formaldeído 37%, ácido acético glacial, etanol 50% 1:1:18 v/v) (Berlyn & Miksche 1976) e posteriormente, desidratado e armazenado em etanol 70%. O material herborizado foi fervido com água e glicerina (1:1 v/v) para que este fosse reidratado e submetido posteriormente às técnicas usuais.

Para a análise estrutural, foram realizados cortes histológicos nas porções medianas da raiz, caule, folha e escapo. Os cortes foram corados com azul de Astra 1% em etanol 50% e safranina 1% em etanol 50%, desidratados e montados em resina sintética. Para tecidos mais delicados, especialmente dos órgãos reprodutivos maduros, as amostras foram incluídas e emblocadas em historresina (Leica Historresin[®]), seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo e coradas com azul de toluidina O (O'Brien et al. 1965).

Para a dissociação dos elementos celulares, o material foi imerso em uma solução de peróxido de hidrogênio e ácido acético glacial (1:1 v/v) durante 12-24h (Franklin 1945). Posteriormente o material foi lavado com água destilada, corado com azul de astra aquoso 3% ou safranina 1% em etanol 50% durante alguns minutos e posteriormente, montado em lâmina semi-permente com glicerina, perfazendo um total de cerca de dez lâminas por espécime.

4. RESULTADOS

Órgãos vegetativos

Raiz: A epiderme da raiz é unisseriada, com pêlos radiculares (Figura 1). Logo abaixo da epiderme, ocorre uma camada de células hexagonais de paredes levemente espessadas, constituindo a exoderme (Figura 1). O córtex é homogêneo e constituído de tecido parenquimático, sem espaços intercelulares conspícuos (Figura 1). A endoderme é uniestratificada e apresenta espessamento em U (Figura 2). O cilindro vascular é delimitado pelo periciclo parenquimático, unisseriado, e apresenta cerca de dezessete pólos de protoxilema e floema (Figuras 1-2). A medula é parenquimática (Figuras 1-2). Através da dissociação de elementos celulares, foram observados elementos de vaso com placas de perfuração simples (Figuras 13-15).

Caule: O caule é revestido por um súber estratificado. O córtex é homogêneo (Figuras 3-4) e os feixes vasculares são anfivasais (Figura 5). Foram observados meristemas de espessamento, adicionando novos feixes vasculares e tecido de preenchimento associado (Figuras 3-4). Na dissociação dos elementos celulares verificou-se a presença de traqueídes (Figura 16).

Folha: Em ambas as faces, a epiderme da folha é unisseriada, com sua parede periclinal externa recoberta por cutícula (Figura 6). Os estômatos ocorrem ao mesmo nível das células epidérmicas e a folha é anfiestomática (Figuras 6-7), porém os estômatos aparecem em maior número na face abaxial da folha (Figura 9). O mesofilo é homogêneo, formado por parênquima clorofiliano, onde estão distribuídos feixes vasculares do tipo colateral (Figura 7). Foram visualizados idioblastos cristalíferos no parênquima clorofiliano (Figura 8). A dissociação do material celular da folha permitiu classificar os estômatos no tipo paracítico (Figura 10). Com a técnica de maceração verificou-se somente a presença de traqueídes.

Escapo: O escapo floral apresenta epiderme unisseriada recoberta por cutícula (Figura 11). Logo abaixo da epiderme observam-se três a quatro camadas de parênquima clorofiliano regular que precedem quatro camadas de esclerênquima

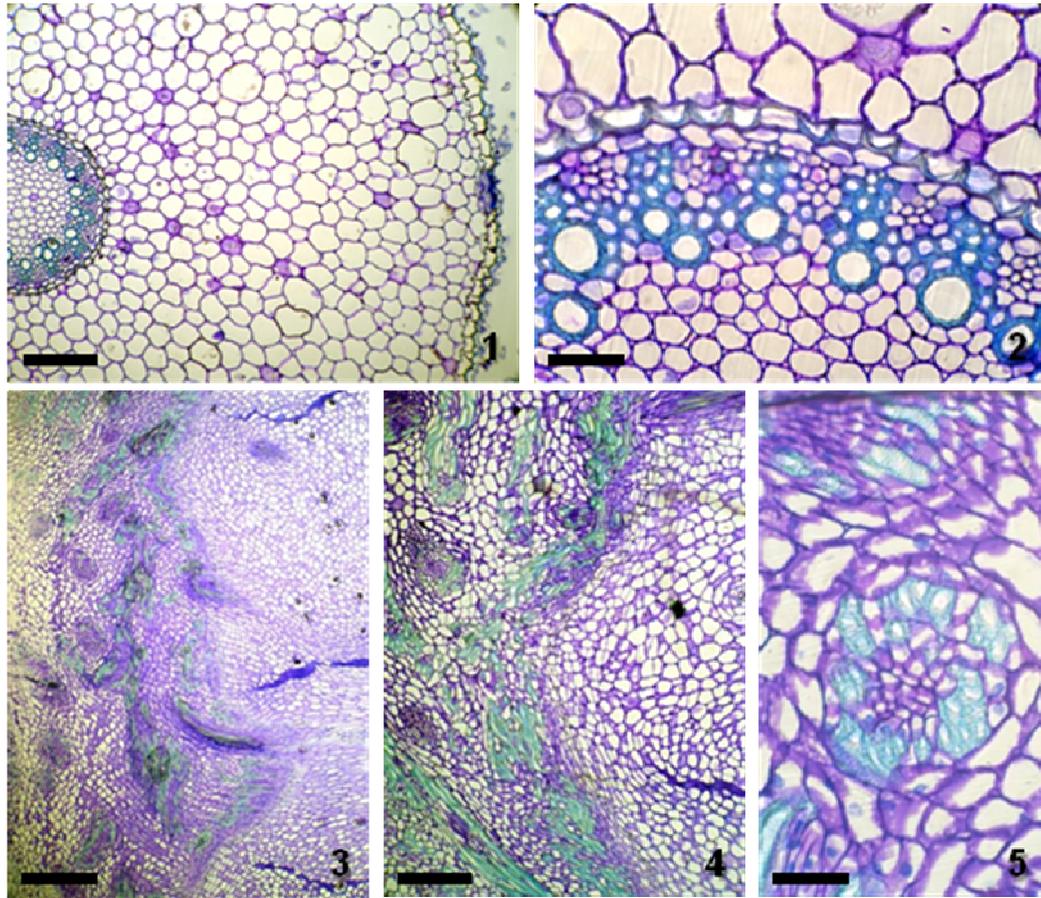
(Figura 11). Ocorrem feixes vasculares de maior e menor calibre, dispostos de maneira difusa, e do tipo colateral (Figura 11). O floema ocorre externo ao xilema e apresenta células companheiras e elementos de tubo crivado facilmente distintos (Figura 12).

Órgãos reprodutivos

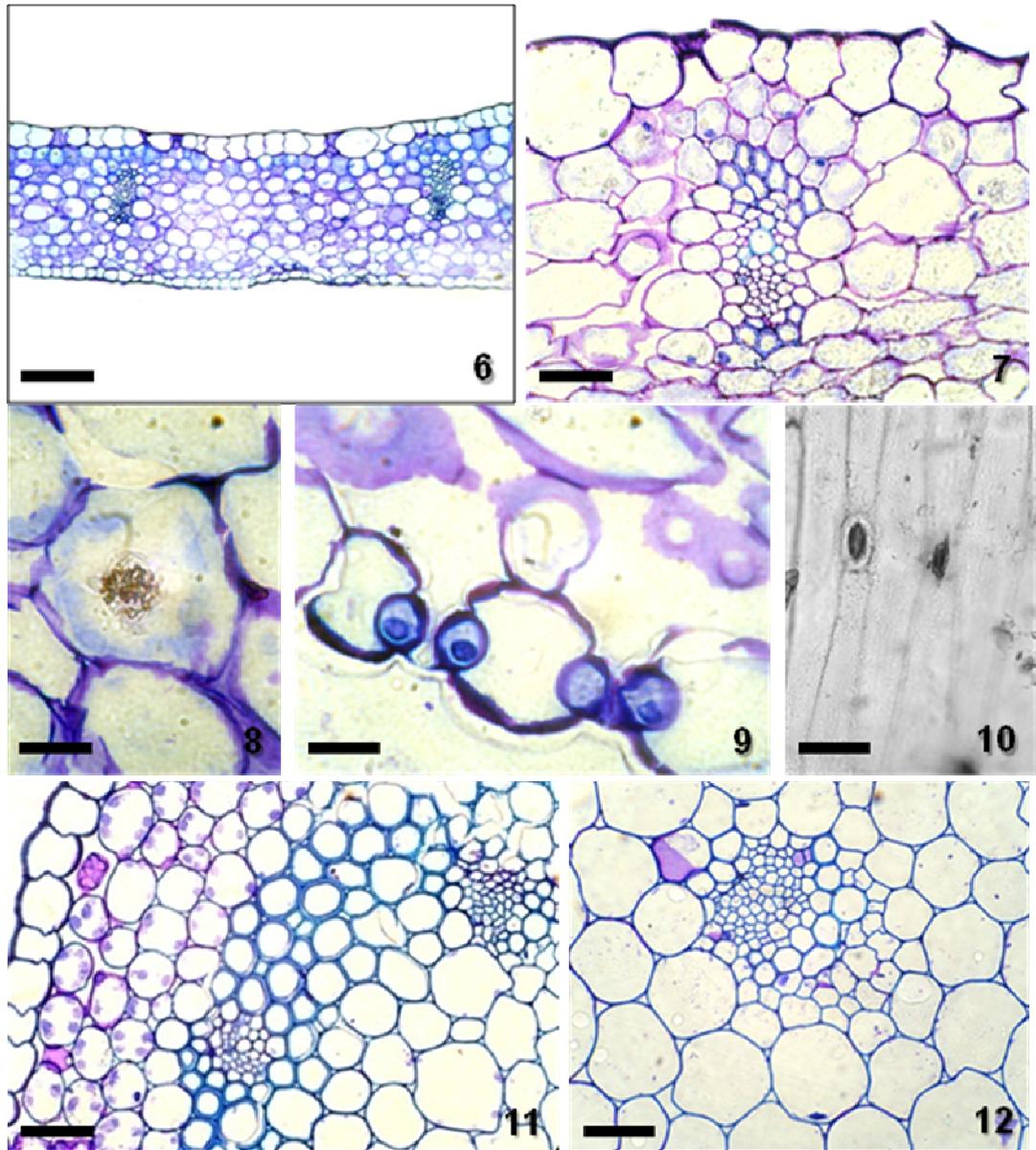
Flor: A flor é trímera, com dois verticilos de tépalas, sendo o verticilo externo de sépalas e o verticilo interno de pétalas (Figuras 17). As sépalas (Figura 18) e as pétalas (Figura 19) apresentam epiderme unisseriada, mesofilo homogêneo e parenquimático, e três feixes vasculares colaterais. Estômatos foram observados na face abaxial das sépalas (Figura 18). O androceu é formado por dois verticilos de estames, sendo o verticilo externo oposto às sépalas e o interno oposto às pétalas (Figura 17). O estilete e o conectivo são vascularizados por um único feixe vascular colateral (Figuras 17, 20). Foram observadas apenas anteras maduras, deiscentes, com coalescência dos microsporângios adjacentes de cada teca (Figura 20). Na antera madura (Figura 20), observam-se apenas dois estratos celulares: a epiderme papilosa e o endotécio com espessamentos fibrosos. A deiscência da antera é longitudinal (Figura 20). O grão de pólen é disperso na forma de mônades (Figura 20). O gineceu é sincárpico, tricarpelar e trilobular, com dois óvulos por carpelo (Figura 17). A parede do ovário apresenta epiderme externa com células isodiamétricas de paredes finas, mesofilo homogêneo com idioblastos cristalíferos (ráfides) e epiderme interna unisseriada (Figuras 21, 23-24). Foram observados nectários septais, próximos aos feixes ventrais colaterais dos carpelos, com tecido secretor diferenciado em relação ao tecido parenquimático que o envolve (Figuras 21-22). Os óvulos são anátropos, bitegmentados e tenuinucelados (Figuras 21, 23). A micrópila do óvulo volta-se em contato com a região placentária (Figura 23). O nucelo é desenvolvido (Figura 23).

Fruto e semente: Desde estágios iniciais do desenvolvimento dos carpelos, observa-se supressão do desenvolvimento dos dois óvulos de um dos carpelos (Figura 17). Ao longo do desenvolvimento, outros dois óvulos são abortados, um de cada carpelo (Figuras 21). No fruto maduro, observam-se apenas uma semente viáveis por lóculo (Figura 25). A parede do fruto sofre poucas modificações,

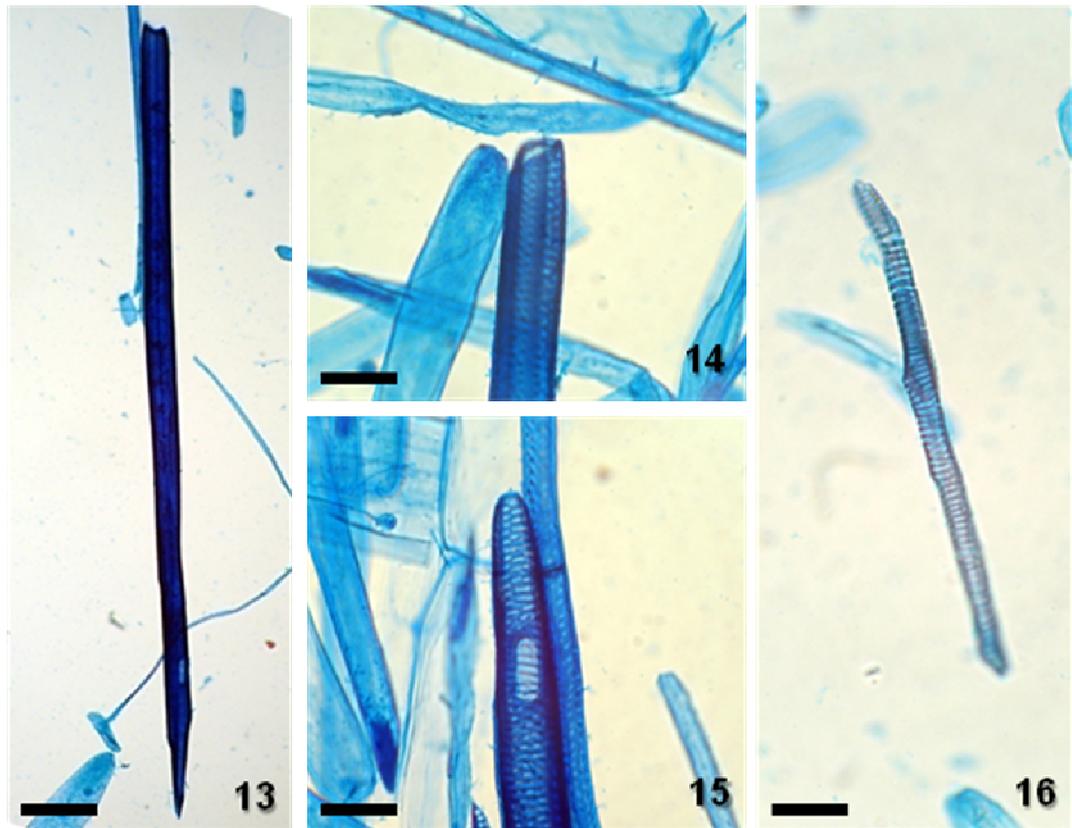
permanecendo com exocarpo e endocarpo unisseriados e mesocarpo homogêneo, com feixes vasculares colaterais (Figuras 25-26). Estômatos foram observados na epiderme externa, no mesmo nível das demais células (Figura 27). As sementes apresentam envoltório densamente corado (Figuras 26, 28). O tecido de reserva compreende grande parte da semente (Figuras 25-26, 28) e o embrião não pode ser visualizado.



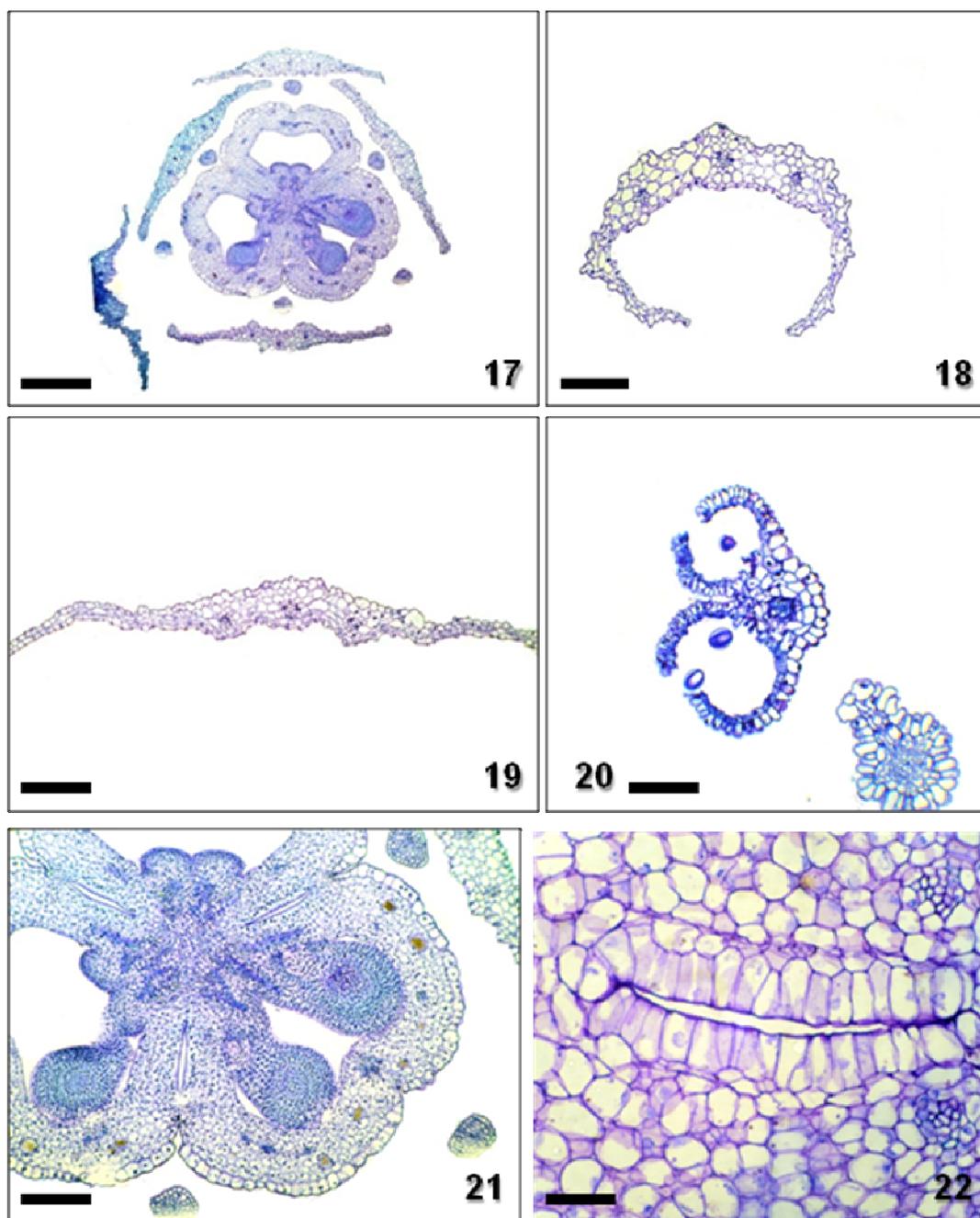
Figuras 1-5. 1. Aspecto geral em secção transversal da raiz. 2. Detalhe do cilindro vascular da raiz em secção transversal. Note a endoderme com espessamento em "U". 3. Aspecto geral em secção longitudinal do caule. 4. Detalhe do meristema de espessamento de monocotiledôneas. 5. Detalhe do feixe anávascular em secção transversal. Barra: 1, 3, 4= 140µm; 2, 5= 35µm.



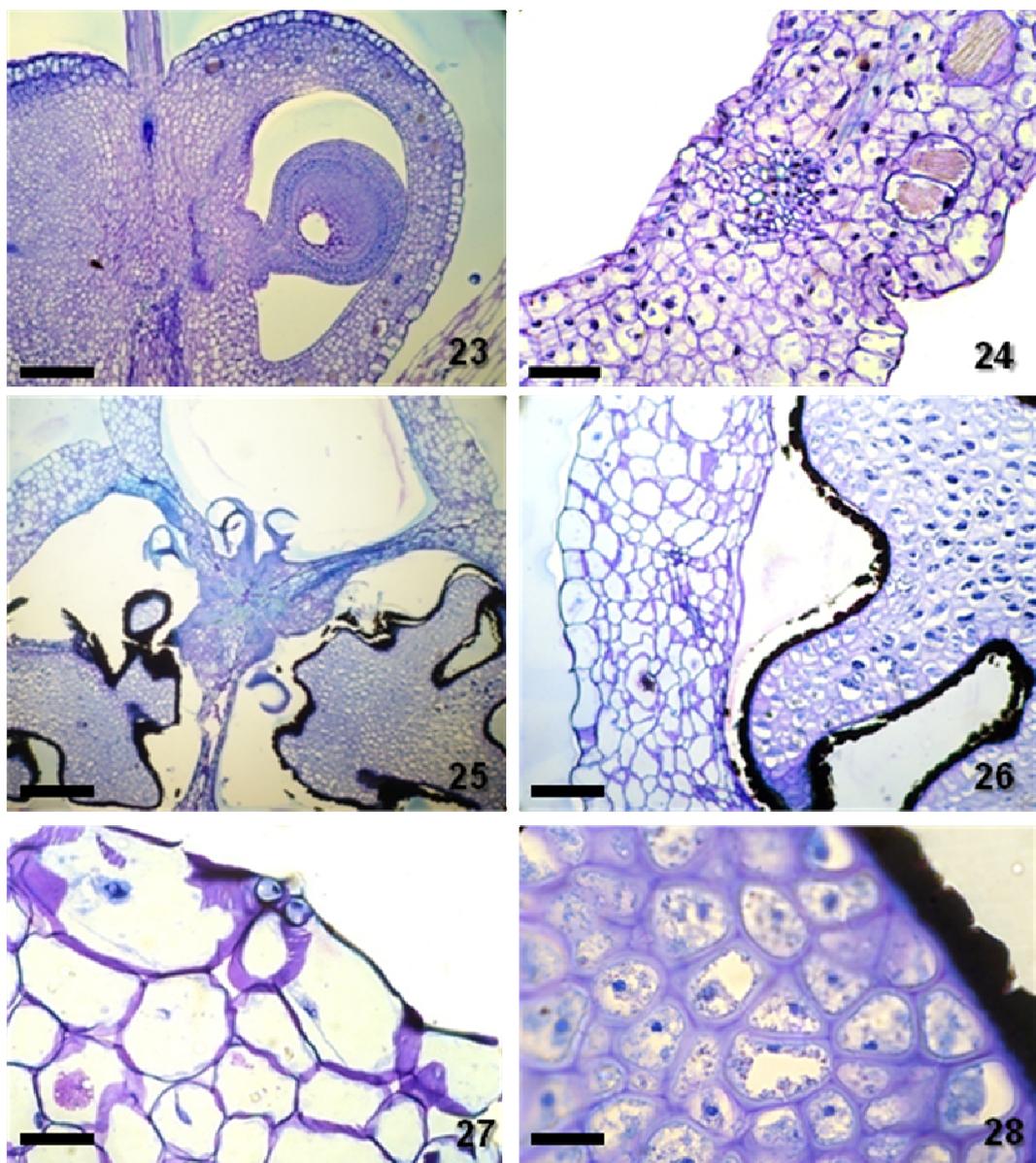
Figuras 6-12. 6. Aspecto geral da folha em secção transversal. 7. Detalhe do feixe colateral da folha em secção transversal. Observe o estômato na face adaxial da folha. 8. Cristais de oxalato de cálcio em secção transversal da folha. 9. Estômatos na face abaxial da folha em secção transversal. 10. Estômatos paracíticos da folha em secção paradérmica. 11. Aspecto geral do escapo floral em secção transversal. 12. Detalhe do feixe colateral do escapo floral em secção transversal. Barra: 6= 140µm; 7, 10, 11, 12= 35µm; 8,9= 15µm.



Figuras 13-16. 13. Elemento de vaso da raiz. 14. Detalhe da placa de perfuração na parede terminal do elemento de vaso da raiz. 15. Detalhe da placa de perfuração na parede lateral do elemento de vaso da raiz. 16. Traqueíde presente no caule. Barra: 13= 140µm; 14, 15, 16= 35µm.



Figuras 17-22. 17. Aspecto geral da flor em secção transversal. 18. Aspecto geral da sépala em secção transversal. 19. Aspecto geral da pétala em secção transversal. 20. Antera em secção transversal. Observe os grãos de pólen. 21. Detalhe da presença de dois óvulos por lóculo em secção transversal do ovário. 22. Detalhe do nectário floral em secção transversal do ovário. Barra: 17= 270 μ m; 18, 19, 21= 140 μ m; 20= 70 μ m; 22= 35 μ m.



Figuras 23-28. 23. Aspecto geral do ovário em secção longitudinal do botão. 24. Detalhe das ráfides em secção transversal do ovário. 25. Aspecto geral do fruto em secção transversal. 26. Detalhe do pericarpo em secção transversal. 27. Detalhe do estômato no exocarpo do fruto em secção transversal. 28. Detalhe da semente em secção transversal. Barra: 23, 25= 140µm; 24, 27, 28= 35µm; 26= 70µm.

5. DISCUSSÃO

Agavaceae compreende um clado que inclui os gêneros: *Anemarrhena* Bunge, *Agave* L., *Hesperocallis* A.Gray, *Behnia* F.Didrichs., *Herreria* Ruiz & Pav. e *Anthericum* L., entre outros (Stevens, 2001). O grupo mais basal do cladograma que representa Agavaceae é *Anemarrhena*. *Agave* e *Hesperocallis* são grupo-irmãos, suportados por dados moleculares (Pires, 2004). Estudos moleculares recentes posicionaram próximos, e no ápice do clado, os gêneros *Behnia*, *Herreria* e *Anthericum* (Conran, 1999).

Com base em estudos moleculares, morfológicos e anatômicos continuados, Stevens (2001) dispõe um clado que relaciona os grupos pertencentes à Agavaceae, sendo *Agave* e *Hesperocallis* e *Herreria* e *Anthericum* considerados grupo-irmãos. Avaliou-se a relação de características anatômicas dos grupos *Agave*, *Anemarrhena*, *Behnia* e *Anthericum* e comparou-se com *Hagenbachia*. De acordo com essa lista, *Hagenbachia* compartilha a presença do meristema de espessamento secundário com o grupo *Behnia*. Os grupos *Behnia* e *Anthericum* - proximamente relacionados no cladograma - compartilham a presença de elementos de vaso também no caule, o que não ocorre em *Hagenbachia*.

Comparando características anatômicas de raiz entre *Hagenbachia* e os grupos *Agave*, *Behnia*, *Anthericum* e *Herreria* estudados por Kauff e colaboradores (2000), constatou-se maior compartilhamento de estados de caracteres de *Hagenbachia* com *Agave*, *Herreria* e *Behnia*.

Salvo por *Anthericum*, nenhum dos grupos apresenta uma ou mais camadas de velame como tecido mais externo da raiz. *Hagenbachia*, *Herreria* e *Agave* apresentam exoderme multiestratificada (Kauff et al. 2000). Em *Hagenbachia*, *Behnia* e *Anthericum* não ocorrem células esclerenquimáticas ou fibras no córtex. Ráfides estão presentes no córtex de *Hagenbachia*, enquanto nos outros grupos os cristais são ausentes ou de forma cuboidal. As células da endoderme com espessamento em U aparecem em *Hagenbachia*, em *Agave* e em *Behnia*. As placas de perfuração da raiz são simples em *Hagenbachia* e em *Behnia*, *Agave*, *Anthericum* e *Herreria* (Stevens, 2001). A medula central é parenquimatosa em *Hagenbachia*, assim como em *Agave*, *Anthericum* e em *Behnia*. Feixes vasculares centrais são ausentes em *Hagenbachia* e nos grupos *Behnia*, *Herreria* e *Anthericum*. O metaxilema com espessamento está presente em todos os grupos.

Na folha os estômatos paracíticos, encontrados em *Hagenbachia brasiliensis*, ocorrem também em *Behnia* e em *Agave* (Blunden, 1973). Os grupos *Anemarrhena*, *Anthericum* e *Herreria* apresentam estômato anomocítico (Blunden, 1973).

Um estudo detalhado da folha do grupo *Agave* permitiu a comparação de características anatômicas deste órgão com *Hagenbachia*. Ambos os grupos apresentam estômatos paracíticos. Cristais de oxalato de cálcio aparecem em apenas algumas espécies de *Agave* e em *Hagenbachia brasiliensis* eles, também, foram encontrados, assim como, a presença de cutícula espessa.

O presente estudo dos órgãos vegetativos e reprodutivos fornece informações importantes acerca da utilização de ferramentas usuais de morfologia e anatomia vegetal em conjunto com ferramentas taxonômicas e moleculares disponíveis da espécie estudada com gêneros afins, em Agavaceae e a sua relação em Asparagales. Mais estudos são necessários para complementação do estudo morfológico de *Hagenbachia*, assim como, estudos de grupos próximos, já que estas informações são pouco exploradas na literatura.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399–436.
- Berlyn, G. P., Miksche, S. P. 1960. *Botanical microtechnique and cytochemistry*. The IOWA State Press, Ames.
- Blunden, G. & Jewers, K. 1973. The comparative leaf anatomy of *Agave*, *Beschorneria*, *Doryanthes* and *Furcraea* species (Agavaceae: Agaveae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 66: 157-179.
- Conran, J. G. 1999. Anatomy and morphology of *Behnia* (Behniaceae) and its relationships within Liliaceae: Asparagales. *Botanical Journal of the Linnean Society* 131: 115-129.
- Cronquist, A. 1988. *The evolution and classification of flowering plants*. New York Botanical Garden, New York.
- Cruden, R. W. 1987. *Hagenbachia*, a misplaced genus of New World Liliaceae. *Nord. J. Bot.* 7: 255 - 260.
- Cruden, R. W., Maas, P. J. M. & Kamer, H. M.-van de. 1991. *Hagenbachia* (Liliaceae): Reexamination of Its Familial Placement, Its Authors, the Lectotype, and Other Collections. *Taxon* 40: 445-452.
- Dickison, W. C. 2000. *Integrative plant anatomy*. Harcourt Academic Press, San Diego.
- Endress, P. K., Baas, P., Gregory, M. 2000. Systematic plant morphology and anatomy - 50 years of progress. *Taxon* 49: 401-434.
- Franklin, G. L. 1945. Preparations of thin sections of synthetic resins and wood-resins composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155: 51
- Herendeen, P. S., Miller, R. B. 2000. Utility of wood anatomical characters in cladistic analyses. *IAWA Journal* 21: 247-276.
- Jansen, S., Baas, P., Smets, E. 2001. Vestured pits: their occurrence and systematic importance in eudicots. *Taxon* 50: 135-167.
- Kauff, F.; Rudall, P. J.; Conran, J. G., 2000. Systematic root anatomy of Asparagales and other monocotyledons. *Plant Systematics and Evolution* 223: 139-154.
- O'Brien, T.P., N. Feder & M.E. McCully. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Rudall, P. J., Chase, M. W. 1996. Systematics of Xanthorrhoeaceae sensu lato: evidence for polyphyly. *Telopea* 6: 629-647.
- Rudall, P. J., Chase, M. W., Cutler, D. F., Rusby, J., De Bruijn, A. Y. 1998. Anatomical and molecular systematics of Asteliaceae and Hypoxidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 127: 1-42.

- Rudall, P. J., Cutler, D. F. 1995. Asparagales: a reappraisal. In P. J. Rudall, Cribb, P. J., Cutler, D. F., Humphries, C. J. [ed.], *Monocotyledons: systematics and evolution*, 157-168. Royal Botanic Gardens, Kew, London.
- Stevens, P. F. 2001 (onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008 [and more or less continuously updated since]." will do.
<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>
- Takhtajan, A. 1969. *Flowering plants, origin and dispersal*. Oliver & Boyd, Edinburg.
- Thorne, R. F. 2000. The classification and geography of the flowering plants: dicotyledons of the class Angiospermae. *Botanical Review* 66: 441–647