

Avaliação e quantificação dos fitólitos presentes em *Chloris elata* Desv., *Chloris gayana* Kunth e *Tripogon spicatus* (Ness) Ekman (*Chloridoideae*)

Giliane Gessica Rasbold^{1,2}, Mauro Parolin¹, Marcelo Galeazzi Caxambú²
& Luiz Carlos Ruiz Pessenda³

¹ Faculdade de Ciências e Letras de Campo Mourão. Laboratório de Estudos Paleoambientais da Fecilcam – LEPAFE, Av. Comendador Norberto Marcondes, 733, Campo Mourão, Paraná, Brasil, CEP 87.303-100. grasbold@gmail.com.

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão, Paraná.

³ Universidade de São Paulo, Laboratório ¹⁴CENEA, Piracicaba, São Paulo.

Recebido em 29. VI. 2012. Aceito em 20. XI. 2012.

RESUMO – A pesquisa caracteriza e quantifica os fitólitos em *Chloris elata* Desv., *Chloris gayana* Kunth e *Tripogon spicatus* (Ness) Ekman (*Chloridoideae*). A extração dos fitólitos da raiz, caule, folha e panícula/espiga, foi realizada via dissolução ácida (HNO₃ e H₂SO₄) e após contagem e identificação, verificou-se a predominância dos morfotipos “Saddle” (87,1% sem similaridade com as demais morfologias) e “Bilobate” (6,8%) nas três espécies. As medidas estabelecidas para esses morfotipos e os demais considerados representativos, não indicaram variações significativas entre as espécies. Nos cortes histológicos (folha e caule), verificou-se que o tipo “Saddle” apresenta-se de forma mais organizada e uniforme na folha do que no caule, as distâncias entre os morfotipos “Saddle” foi maior no caule (média 22,8 µm) e menor na folha (média 11,3 µm). As espécies apresentaram valores de δ¹³C entre -14,6‰ e 14,9‰ (plantas de ciclo fotossintético C₄). Os percentuais estimados de sílica foram menores para *C. elata* (1,87%) e maiores para *C. gayana* (5,12%).

Palavras-chave: *Poaceae*, “saddle”, “bilobate”, produção de sílica, plantas C₄

ABSTRACT – Assessment and quantification of phytoliths present in *Chloris elata* Desv., *Chloris gayana* Kunth, *Tripogon spicatus* (Ness) Ekman (*Chloridoideae*). The research characterizes and quantifies the phytoliths in *Chloris elata* Desv., *Chloris gayana* Kunth, and *Tripogon spicatus* (Ness) Ekman (*Chloridoideae*). Phytolith extraction from root, stalk, leaf and panicle/spike was carried out by acid dissolution (HNO₃ and H₂SO₄); after counting and identification, saddle (87.1% without similarity to other morphologies) and bilobate (6.8%) morphotypes were predominant in the three species. The measurements for these morphotypes and others considered representative indicate no significant changes between the species. In the histological sectioning (leaf and stalk), it was found that the saddle type shows more organized and uniform patterns in the leaf than the stalk; the distances between the saddle was higher in the stalk (average 22.8 µm) and lower in the leaf (average 11.3 µm). The species showed δ¹³C values between -14.6‰ and 14.9‰ (C₄ photosynthetic pathway plants). The silica biomineralization percentage was lower for *C. elata* (1.87%) and higher for *C. gayana* (5.12%).

Key words: *Poaceae*, saddle, bilobate, silica production, C₄ plants

INTRODUÇÃO

Os fitólitos podem ser definidos como corpos micrométricos de opala biogênica que se precipitam nos tecidos vegetais, tendo como funções, a resistência estrutural das paredes celulares, resistência a ação de fungos patogênicos e criação de barreiras mecânicas à herbívora, sendo substância com força suficiente para criar abrasão no esmalte dentário de grandes herbívoros (Baker *et al.*, 1959; Barboni *et al.*, 1999;

Epstein, 1999). O ácido monossilícico é o principal responsável pela formação de fitólitos nos vegetais. Segundo Piperno (1988), este ácido é absorvido pelas raízes e acaba se mineralizando nas paredes celulares, no lúmen celular, e nos espaços intercelulares. Rovner (1988) denomina essas partículas de silicofitólitos, definindo-os como precipitações de opala biogênica resultantes de processos físicos e biológicos que acontecem em algumas espécies, se encontrando em meio aos tecidos das plantas e dentro de algumas

células. Mulholland (1989) relata que os fitólitos podem ocorrer em todas as estruturas da planta (folha, caule, raiz e inflorescência), Piperno (1988) relata que nos frutos e sementes eles também podem ser encontrados.

Piperno (1991) informa que o estudo de fitólitos em *Poaceae* permite a distinção de subfamílias, o que não é possível, por exemplo, na palinologia.

Embora possam ser encontrados fitólitos que são característicos de gêneros ou de família específica, ocorre que alguns morfotipos não tem significado taxonômico, ou seja, pode ocorrer a diferenciação da assembléia de fitólitos em partes diferentes de uma planta (Piperno, 1988; Piperno, 1991).

Estudos que visam a caracterização de assembléias de fitólitos em plantas vêm sendo realizados por Twiss *et al.* (1969); Mulholland (1989); Twiss (1992) e Piperno (2006).

Segundo Madella (2007), as partículas de opala biogênica são liberadas no solo após a morte do vegetal, pode constituir-se em importante ferramenta (*proxy*), auxiliando na reconstrução do sistema vegetacional vigente em cada trecho de solo. Ressalte-se que diferentemente de outros registros *proxy*, como por exemplo, os grãos de pólen, que necessitam de condições anóxicas para se preservarem, os fitólitos são extremamente resistentes e são muito usados em estudos arqueológicos e de caráter paleoambiental.

Os fitólitos foram descobertos em 1835, tornaram-se objeto de extensa pesquisa por alemães no início deste século (Piperno, 1991), desde então foi enorme o número de pesquisas realizadas, como pode ser observado na extensa lista de publicações elaborada por Zucol *et al.* (1999) e atualizada em Zucol *et al.* (2008). A produção de conhecimento sobre os fitólitos no Brasil, quando comparada a outros países, ainda é muito baixa. As primeiras pesquisas realizadas em território brasileiro datam da década de 1960 com os trabalhos de Sendulsky & Labouriau (1966); Cavalcante (1968); Campos & Labouriau (1969); mais recentemente com os trabalhos de Piperno & Becker (1996); Alexandre *et al.* (1999); Calegari (2008); Medeanic *et al.* (2007; 2008); Santos *et al.* (2010); Rasbold *et al.* (2011); Coe *et al.* (2012); Raitz, (2012) entre outros.

Considerando a importância que os fitólitos vêm assumindo nas interpretações paleoambientais e arqueológicas, e a necessidade cada vez maior de estudos sobre o tema, os autores analisaram e caracterizaram a presença de fitólitos em três espécies da família *Poaceae*, da subfamília *Chloridoideae*,

sendo duas do gêneros *Chloris* (*C. elata* Desv. e *C. gayana* Kunth) e uma do gênero *Tripogon* (*T. spicatus* (Ness) Ekman)

A escolha das espécies teve por base a ampla distribuição das mesmas em território brasileiro. Segundo Filgueiras (2012), ocupam os domínios fitogeográficos da Caatinga e Pampa (*C. elata* e *T. spicatus*); Mata Atlântica (*C. elata* e *C. gayana*); Cerrado (*C. gayana*) e Pantanal (*T. spicatus*).

Sabendo que os fitólitos são resistentes ao fogo e preservam-se no solo ou no sedimento, visamos estabelecer a produção sílica, bem como os valores de $\delta^{13}\text{C}$ das espécies pesquisadas.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas dos espécimes de *C. elata*, *C. gayana*, e *T. spicatus* (Fig. 1) foram realizadas entre os meses de agosto de 2011 e fevereiro de 2012, no entorno da cidade de Campo Mourão, PR. As identificações foram conduzidas no Herbário da UTFPR (HCF) tendo por base os exemplares: *C. elata* HCF-10.429; *C. gayana* HCF-846; *T. spicatus* HCF-4.475.

Para a extração dos fitólitos, efetuou-se a separação de porções (3 g) do tecido vegetal (caule, panícula/espiga, folha e raiz) que foram pré-lavados em cuba ultrassom e secos em estufa (60°C). O tratamento químico baseou-se em Medeanic *et al.* (2008), com a preparação de uma solução de 1:4 dos ácidos nítrico (HNO_3 -65%) e sulfúrico (H_2SO_4), respectivamente, sendo adicionados 20 ml sobre o tecido vegetal que se encontrava em Erlenmeyers cobertos posteriormente com vidros de relógio, sendo aquecidos em chapa térmica por 3 horas a 90°C. Decorrido o período de aquecimento e o tempo necessário para o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, adicionou-se aproximadamente 10 ml de peróxido de hidrogênio (v. 130) (H_2O_2); após esse tratamento, visando reduzir a acidez, as amostras foram lavadas com água destilada inúmeras vezes, agilizando-se o processo com centrifugação a 1.500 RPM; após neutralização do pH, foi realizada uma centrifugação com álcool 70%. As lâminas foram montadas, adicionando-se 50 μl (pipeta mecânica) de material em lâminas, que após secas, em chapa térmica, e, resfriadas a temperatura ambiente, foram cobertas com Entellan® e lamínula. As lâminas foram depositadas e catalogadas no Laboratório de Estudos Paleoambientais da Fecilcam (LEPAFE), identificadas pelos laminários, códigos L.171.C.16; L.172.C.16; L.173.C.16 para *C. elata*, *C. gayana* e *T. spicatus* respectivamente.

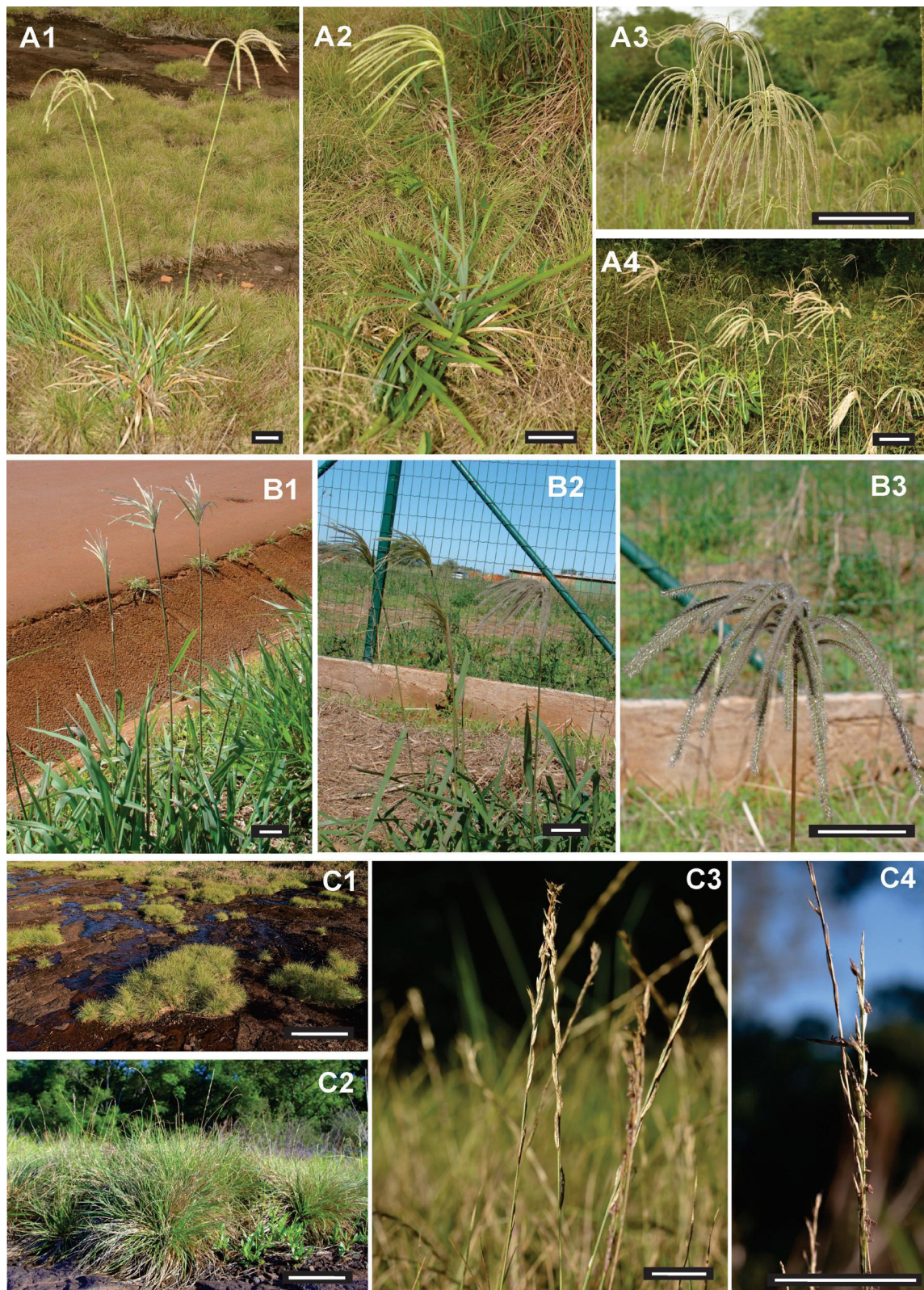


Fig. 1 A-C. Espécies de *Chloridoideae* estudadas: **A.** *Chloris elata*; **A1-A2.** Hábito; **A3-A4.** Detalhe na panícula da espécie; **B.** *Chloris gayana*; **B1-B2.** Hábito; **B3.** Detalhe para a panícula da espécie; **C.** *T. spicatus*; **C1-C2.** Hábito; **C3-C4.** Detalhe para a espiga da espécie. Barras=5cm.

As identificações, observações e microfotografias foram realizadas em microscópio óptico com aumento de x40 e x100. Para a identificação morfológica seguiu-se os trabalhos de Madella *et al.* (2005) e Piperno (2006), utilizando a terminologia em inglês com base no *International Code for Phytolith Nomenclature 1.0* expressa no trabalho de Madella *et al.* (2005).

A diversidade das morfologias de fitólitos foi determinada com a contagem de 400 fitólitos/lâmina, sendo três lâminas para cada estrutura vegetal analisada (1.200 fitólitos por estrutura). Foram realizadas medidas micrométricas (software TSVIEW 7®), em todos os morfotipos considerados predominantes (apresentaram valores igual e/ou acima de 1% de ocorrência para cada estrutura); nesses casos foram medidos 10% do total destes morfotipos para cada estrutura, tendo por orientação o eixo longitudinal ou diâmetro e eixo lateral assim como demonstrados na figura 2, exceto para os casos de estruturas irregulares como “Acicular hair cell” e “Papillae”. Um gráfico ternário foi feito, para verificar a assembléia de fitólitos existente nas estruturas vegetais das três espécies, houve a separação de três grupos, o primeiro foi constituído do morfotipo “Saddle” (característico da subfamília *Chloridoideae*), o segundo grupo foi constituído dos morfotipos “Bilobate”, “Cross” e “Rondel” (fitólitos que são característicos de outras subfamílias de *Poaceae*) e o terceiro, constituído dos demais morfotipos encontrados. Para o tratamento estatístico dos dados de abundância dos morfotipos, foi utilizado o software PAST 2.12® optando-se pelo coeficiente assimétrico quantitativo de Bray-Curtis.

Realizou-se corte longitudinal paradérmico ao longo do limbo foliar na parte adaxial da folha (zona de crescimento longitudinal) e corte longitudinal paradérmico na região mediana do caule na direção do meristema apical nos os três espécimes estudados, e, para tanto, as estruturas repousaram em solução de 1:1 de hipoclorito de sódio (NaClO) e água destilada durante 24 horas; posteriormente o material foi seco em chapa térmica, que após resfriadas, foram cobertas com Entellan® e lamínula. Após montagem das lâminas foram realizadas avaliações da organização/ posicionamento e distâncias entre os morfotipos predominantes.

Visando a determinação do teor de sílica presente nos espécimes seguiu-se a metodologia proposta em Campos & Labouriau (1969), descrita a seguir: a) foram separados 10g de material vegetal (pré-

lavado colocados em cuba ultrasom e secos em estufa à 100°C); b) o material vegetal foi colocado em cadinhos e encaminhado à mufla (2 horas à 200°C); c) a massa carbonizada foi transferida para um becher; d) adicionou-se 100 ml de solução aquosa de HCl 5N; e) fervida com agitação em placa térmica durante 10 minutos; f) o material suspenso na solução ácida, foi transferido para um funil de buchner revestido com papel analítico (“sem cinzas”) e lavado com água destilada (diversas vezes) sob sucção; g) o material retido no filtro, foi embrulhado no próprio disco e colocado em cadinho; h) foi realizada a secagem em estufa 100°C; i) a incineração do material vegetal, se deu em mufla (800°C durante 2 horas); j) após resfriamento foi realizada a medição da massa resultante.

Para a determinação dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos espécimes, foram encaminhados 3g (folha), para a Universidade da Georgia/EUA (“Center for Applied Isotope Studies”) protocolos n.º.11175-11177.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

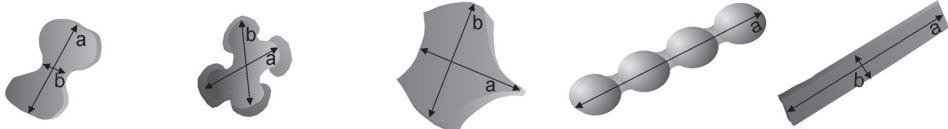
Foi encontrado um total de 15 morfotipos de fitólitos para as espécies estudadas (Tab.1). Em *C. elata* foi detectada a ocorrência, na folha e raiz, de um morfotipo que os autores não conseguiram identificar na literatura (“Unknown”). Entretanto, como sua forma lembra a da letra “y” os autores o denominaram como “Wai” (Fig. 2). Os morfotipos considerados predominantes estão representados na figura 2.

Do total de fitólitos contados o morfotipo “Saddle” é que se destaca em todas as espécies (média de 87,1% de ocorrência), sua predominância também é notada no diagrama ternário (Fig. 3), onde somente na raiz sua proporção é menor se comparado aos demais grupos de morfotipos. Para *C. gayana* e *T. spicatus* a média foi de 86,5% e para *C. elata* de 88,5% (Tab. 1). O morfotipo, “Saddle” como pode ser observado na Fig. 4, aparentemente tem forma semelhante para as três espécies. No entanto, há pequenas variações de tamanho e ocorrência nas estruturas vegetais (Figs. 2 e 4).

Para *C. elata*, o tipo “Saddle” na folha apresentou-se mais alongado do que no caule, a relação entre os eixos (eixo “a”/eixo “b”) na folha é de 1,65 enquanto que no caule é de 1,52. Nota-se que na folha de *C. elata* os morfotipos “Saddle” encontram-se com espaçamentos médios de 13,9 μm para folha e 25,3 μm para o caule.

Tabela 1. Quantidade de fitólitos e suas respectivas porcentagens nas estruturas vegetais de *Choris elata*, *Choris gayana* e *Tripogon spicatus*. **C.** Caule; **F.** Folha; **P.** Panicula; **R.** Raiz; **Ac.** “Acicular hair cell”; **Bi.** “Bilobate”; **Cr.** “Cross”; **Cu.** “Cuneiform bulliform”; **Cy.** “Cylindrical polylobate”; **Cs.** “Cylindric sulcate tracheid”; **El.** “Elongate smooth”; **Ee.** “Elongate echinate”; **Ge.** “Globular echinate”; **Wa.** “Wai”; **Pb.** “Parallepipedal bulliform”; **Pa.** “Papillae”; **Ro.** “Rondel”; **Sa.** “Saddle”; **Tr.** “Trapeziform polylobate”.

		Ac	Bi	Cr	Cu	Cy	Cs	El	Ee	Ge	Wa	Pb	Pa	Ro	Sa	Tr
<i>Choris elata</i>	C	4	4	4	0	1	0	3	0	0	0	0	0	3	1175	6
	%C	0,3	0,3	0,3	0	0,1	0	0,3	0	0	0	0	0	0,3	97,9	0,5
	F	0	4	2	0	1	1	14	2	0	25	10	0	0	1106	35
	%F	0	0,3	0,2	0	0,1	0,1	1,2	0,2	0	2,1	0,8	0	0	92,2	2,9
	P	6	10	1	0	0	7	4	0	0	0	0	1	0	1161	10
	%P	0,5	0,8	0,1	0	0	0,6	0,3	0	0	0	0	0,1	0	96,8	0,8
	R	1	268	52	0	21	2	16	0	19	1	0	0	11	803	6
	%R	0,1	22,3	4,3	0	1,8	0,2	1,3	0	1,6	0,1	0	0	0,9	66,9	0,5
	Σ	11	286	59	0	23	10	37	1	19	26	10	1	14	4246	57
Σ%	0,2	6,0	1,2	0	0,5	0,2	0,8	0	0,4	0,5	0,2	0	0,3	88,5	1,2	
<i>Chloris gayana</i>	C	0	7	0	0	1	0	1	10	0	0	0	0	4	1173	4
	%C	0	0,6	0	0	0,1	0	0,1	0,8	0	0	0	0	0,3	97,8	0,3
	F	7	36	2	19	9	0	2	4	0	0	0	0	7	1109	5
	%F	0,6	3,0	0,2	1,6	0,8	0	0,2	0,3	0	0	0	0	0,6	92,4	0,4
	P	4	5	0	0	0	0	7	2	0	0	0	0	0	1174	8
	%P	0,3	0,4	0,0	0	0,0	0	0,6	0,2	0	0	0	0	0	97,8	0,7
	R	1	309	68	0	18	0	30	10	0	0	0	27	39	696	2
	%R	0,1	25,8	5,7	0	1,5	0	2,5	0,8	0	0	0	2,3	3,3	58,0	0,2
	Σ	12	357	70	19	28	0	40	26	0	0	0	27	50	4152	19
Σ%	0,3	7,4	1,5	0,4	0,6	0	0,8	0,5	0	0	0	0,6	1,0	86,5	0,4	
<i>Tripogon spicatus</i>	C	2	8	4	0	4	0	7	4	0	0	0	0	6	1162	3
	%C	0,2	0,7	0,3	0	0,3	0	0,6	0,3	0	0	0	0	0,5	96,8	0,3
	F	4	32	1	10	4	0	0	4	0	0	0	0	8	1130	7
	%F	0,3	2,7	0,1	0,8	0,3	0	0	0,3	0	0	0	0	0,7	94,2	0,6
	P	4	61	0	0	3	0	0	9	0	0	0	0	0	1115	8
	%P	0,3	5,1	0	0	0,3	0	0	0,8	0	0	0	0	0,0	92,9	0,7
	R	0	240	205	0	5	0	0	0	0	0	0	1	5	743	1
	%R	0	20	17,1	0	0,4	0	0	0	0	0	0	0,1	0,4	61,9	0,1
	Σ	10	341	210	10	16	0	7	17	0	0	0	1	19	4150	19
Σ%	0,2	7,1	4,4	0,2	0,3	0	0,1	0,4	0	0	0	0	0,4	86,5	0,4	
Total	Σ	33	984	339	29	67	10	84	44	19	26	10	29	83	12548	95
	Σ%	0,2	6,8	2,4	0,2	0,5	0,1	0,6	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,6	87,1	0,7



		<i>Bilobate short cell</i>			<i>Cross</i>			<i>Cuneiform bulliform cell</i>			<i>Cylindrical polylobate</i>			<i>Elongate</i>		
		<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>
Caulis	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Folia	A	0	13,7	18,7	0	0	0	0	36,7	0	0	0	0	21,9	0	0
	A'	0	18,3	19,5	0	0	0	0	51,1	0	0	0	0	30,7	0	0
	Ma	0	16,0	19,1	0	0	0	0	43,9	0	0	0	0	26,3	0	0
	B	0	3,1	3,5	0	0	0	0	35,4	0	0	0	0	5,7	0	0
	Mb	0	4,0	3,9	0	0	0	0	37,8	0	0	0	0	7,5	0	0
Panicula/ Espiga	A	0	0	15,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A'	0	0	18,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ma	0	0	17,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	B	0	0	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mb	0	0	2,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Raiz	A	12,0	11,7	5,9	10,8	10,4	6,4	0	0	0	19,4	16,8	0	33,5	12,9	0
	A'	31,6	31,1	12,8	15,9	11,8	13,5	0	0	0	21,0	19,2	0	35,4	41,0	0
	Ma	16,6	20,8	9,8	12,8	11,0	9,6	0	0	0	20,3	18,0	0	34,4	23,2	0
	B	2,5	2,1	2,4	11,7	9,1	6,3	0	0	0	0	0	0	8,3	3,6	0
	Mb	13,2	10,8	5,5	13,7	10,4	11,9	0	0	0	0	0	0	8,6	11,7	0

		<i>Globular echinate</i>			<i>Wai</i>			<i>Rondel</i>			<i>Saddle</i>			<i>Trapeziform polylobate</i>		
		<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>	<i>C. elata</i>	<i>C. gayana</i>	<i>T. spicatus</i>
Caulis	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6,1	8,3	4,8	0	0	0
	A'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16,9	17,2	11,6	0	0	0
	Ma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11,0	11,7	7,5	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,7	4,6	3,0	0	0	0
	Mb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12,0	13,3	11,1	0	0	0
Folia	A	0	0	0	17,2	0	0	0	0	0	7,1	4,5	3,3	33,9	0	0
	A'	0	0	0	20,9	0	0	0	0	0	21,7	18,6	8,7	53,6	0	0
	Ma	0	0	0	18,7	0	0	0	0	0	13,1	13,0	5,8	45,7	0	0
	B	0	0	0	13,4	0	0	0	0	0	2,9	4,6	2,8	10,0	0	0
	Mb	0	0	0	17,2	0	0	0	0	0	12,3	14,8	7,4	11,8	0	0
Panicula/ Espiga	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5,4	3,7	4,4	0	0	0
	A'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15,5	11,3	13,9	0	0	0
	Ma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9,7	6,9	7,7	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,6	2,6	3,4	0	0	0
	Mb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13,7	12,8	11,5	0	0	0
Raiz	A	4,8	0	0	0	0	0	0	7,1	0	6,6	7,8	4,5	0	0	0
	A'	6,1	0	0	0	0	0	0	12,4	0	20,0	17,3	14,0	0	0	0
	Ma	5,4	0	0	0	0	0	0	8,8	0	12,5	12,3	8,2	0	0	0
	B	0	0	0	0	0	0	0	3,8	0	4,5	6,1	3,4	0	0	0
	Mb	0	0	0	0	0	0	0	10,0	0	11,5	16,8	9,8	0	0	0

Fig 2. Critérios e resultados das medições em morfotipos predominantes ($\geq 1\%$ de observações por estrutura vegetal) de *Choris elata*, *Choris gayana* e *Tripogon spicatus* presentes no caule, folha, panicula/espiga e raiz: **A.** medida mínima obtida no eixo longitudinal/diâmetro “a”; **A'.** medida máxima obtida no eixo longitudinal/diâmetro “a”; **Ma.** média aritmética das medidas do eixo longitudinal/diâmetro “a” (10% das formas predominantes por estrutura vegetal, conforme valores constantes na Tabela 1); **B.** medida mínima obtida para o eixo lateral “b”; **B'.** medida máxima obtida para o eixo lateral “b”; **Mb.** média aritmética das medidas do eixo lateral “b” (10% das formas predominantes por estrutura vegetal, conforme valores constantes na Tabela 1).

Em *C. gayana* o tipo “Saddle” apresentou-se levemente menos alongado do que *C. elata* na folha com relação entre eixos de 1,31, no entanto, no caule foi maior com 1,56. O espaçamento entre os fitólitos “Saddle” em *C. gayana* é de 23,9 μm para o caule e 11,5 μm para a folha, tendo valores próximos ao de *C. elata*. Já em *T. spicatus*, o tipo “Saddle” tem o menor tamanho na folha e caule em

relação às outras espécies estudadas (observe-se escala na Fig. 5 e eixos da Fig. 2), a relação entre os eixos é também a menor sendo 1,13 na folha e 1,07 no caule. É interessante observar que os morfotipos “Saddle” apresentam-se mais próximos na folha de *T. spicatus* se comparado a *C. elata* e *C. gayana*, com espaçamento de 8,7 μm para folha e caule 19,3 μm . Quanto à organização do tipo “Saddle” na folha das

três espécies estudadas ocorre de forma alinhada, com maior padronização no tamanho (Fig. 5), enquanto que no caule existe certa desorganização do posicionamento e maior espaçamento entre os morfotipos (Fig. 5). Diante das medidas e observações realizadas, é possível afirmar que *C. gayana* e *C. elata* têm formas mais semelhantes quanto aos seus eixos e tamanhos do que *T. spicatus*.

O segundo morfotipo que se destaca é o “Bilobate” com eixos longitudinais que variam entre 5,9 à 31,6 μm e eixos transversais entre 1,3 à 5,1 μm , embora tenha ocorrido essa variação de tamanho, as médias dos eixos se apresenta muito semelhante para os três espécimes (Fig. 2). A média de ocorrência para *C. elata* foi de de 6%, 7,1% para *T. spicatus* e 7,4% para *C. gayana* sendo significativa sua ocorrência apenas na folhas de *C. gayana* e *T. spicatus*, nas raízes das três espécies e na panícula do *T. spicatus* (Tab. 1 e Fig. 3). Mesmo tendo ocorrência nas folhas, não foi possível a sua observação nos cortes histológicos.

A abundância de fitólitos aplicada na similaridade Bray-Curtis (Fig. 6), demonstra que o morfotipo “Saddle” não estabelece nenhuma similaridade com os demais. Os morfotipos “Rondel” e “Cylindrical

polylobate” são os que apresentaram maior grau de similaridade (>66%). Os demais morfotipos tem suas similaridades menores que 55%.

Outros morfotipos de menor destaque, que tiveram contagem superior a 1% nas estruturas vegetais e que se julga importante comentar conforme disposto na Fig. 2 são: a) “Cross”, que aparece nas raízes das três espécies; b) “Cuneiform”, somente na folha de *C. gayana*; c) “Cylindrical polylobate”, somente nas raízes de *C. elata* e *C. gayana*; d) “Elongate smooth”, somente na folha de *C. elata* e raízes de *C. elata* e *C. gayana*; e) “Globular echinate”, somente na raiz de *C. elata*, este morfotipo é reconhecido como sendo característicos para a família *Arecaceae* com diâmetros entre 6-25 μm (Piperno, 1988; Runge, 1999) e *Bromeliaceae* com diâmetros 2-10 μm (Kealhofer & Piperno, 1998; Piperno, 1985; 2006), não sendo encontrado até o momento para a família *Poaceae* (estudada neste trabalho), o morfotipo encontrado tem diâmetro que varia de 4,8 à 5,4 μm , com tonalidades escuras; f) “Wai”, somente na folha de *C. elata*; g) “Rondel”, somente na raiz de *C. gayana*; h) “Trapeziform polylobate”, somente na folha de *C. elata*.

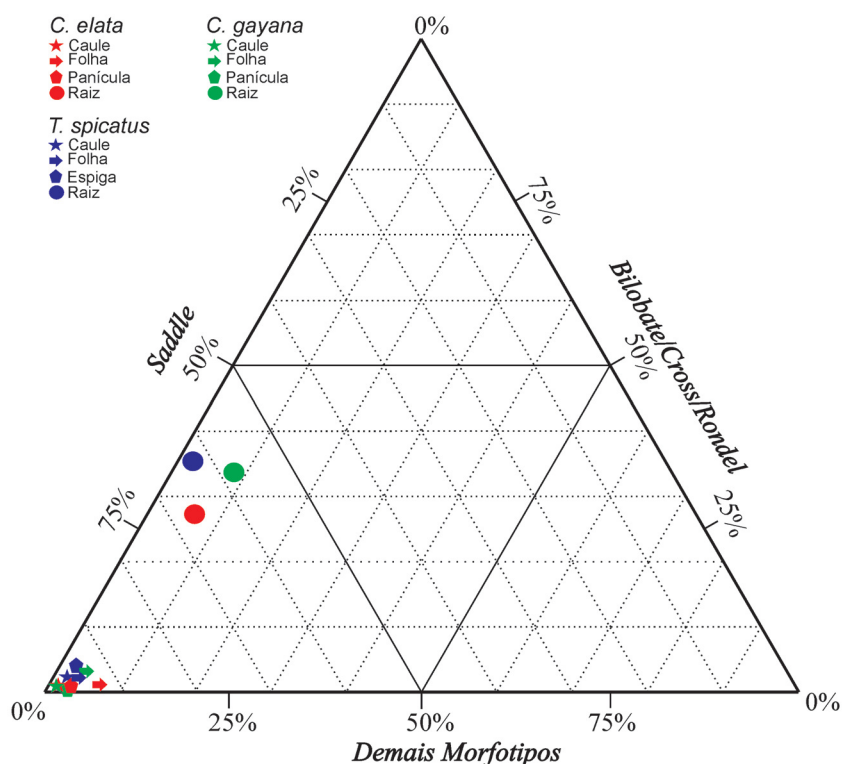


Fig. 3. Diagrama ternário de ocorrência percentual de morfotipos de fitólitos na raiz, folha, caule e panícula/espiga em *Chloris elata*, *Chloris gayana* e *Tripogon spicatus*.

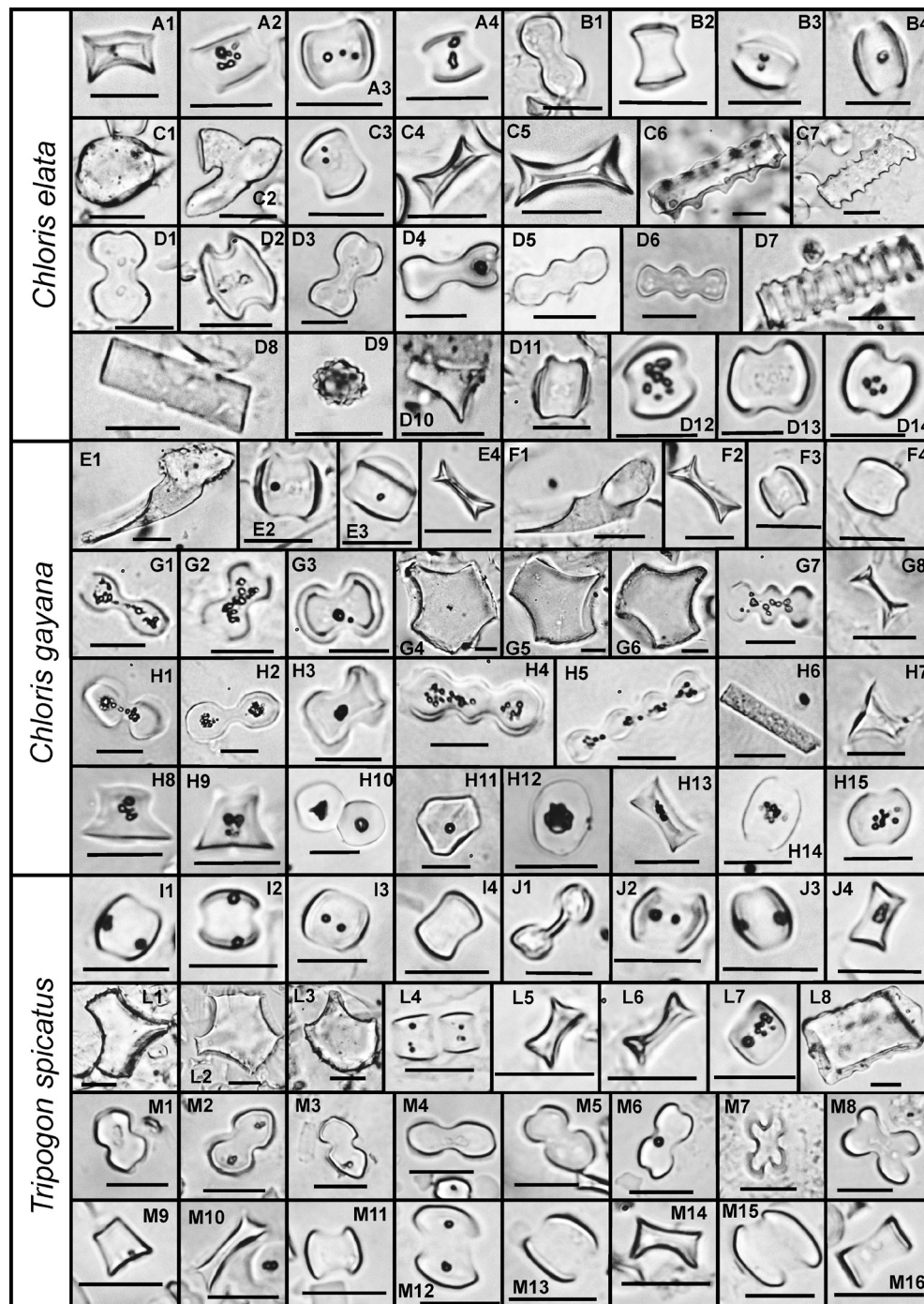


Fig. 4 A-M. Formas de fitólitos encontradas em *Chloris elata*, *Chloris gayana* e *Tripogon spicatus*. **A-D.** *C. elata*; **A.** Caule; **A1-A4.** “Saddle”; **B.** Panícula; **B1.** “Bilobate”; **B2-B4.** “Saddle”; **C.** Folha; **C1.** “Acicular hair cell”; **C2.** “Wai”; **C3-C5.** “Saddle”; **C6-C7.** “Elongate echinate”; **D.** Raiz **D1-D4.** “Bilobate”; **D5-D6.** “Cylindrical polylobate”; **D7.** “Cylindric sulcate tracheid”; **D8.** “Elongate smooth”; **D9.** “Globular echinate”; **D10.** “Rondel”; **D11-D14.** “Saddle”; **E-H.** *C. gayana*; **E.** Caule; **E1.** “Acicular hair cell”; **E2-E4.** “Saddle”; **F.** Panícula; **F1.** “Acicular hair cell”; **F2-F4.** “Saddle”; **G.** Folha; **G1-G3.** “Bilobate”; **G4-G6.** “Cuneiform bulliform cell”; **G7.** “Cylindrical polylobate”; **G8.** “Saddle”; **H.** Raiz; **H1-H3.** “Bilobate”; **H4-H5.** “Cylindrical polylobate”; **H6.** “Elongate smooth”; **H7-H9.** “Rondel”; **H10-H12.** “Papillae”; **H13-H15.** “Saddle”; **I-M.** *T. spicatus*; **I.** Caule; **I1-I4.** “Saddle”; **J.** Espiga **J1.** “Bilobate”; **J2-J4.** “Saddle”; **L.** Folha; **L1-L3.** “Cuneiform bulliform cell”; **L4-L7.** “Saddle”; **L8.** “Trapeziform polylobate”; **M.** Raiz; **M1-M6.** “Bilobate”; **M7-M8.** “Cross”; **M9.** “Rondel”; **M10-M16.** “Saddle”. Barras = 12,5µm.

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ nas três espécies estudadas tiveram pouca variação: $-14,9\text{‰}$ (*C. elata*), $-14,8\text{‰}$ (*C. gayana*) e $-14,6\text{‰}$ (*T. spicatus*) (Tab. 2), caracterizando-as como de ciclo fotossintético C_4 (predominantemente gramíneas), ou seja, discriminam menos CO_2 , com valores maiores de $\delta^{13}\text{C}$ (-17 a -9‰) quando comparadas a de ciclo fotossintético C_3 (Boutton, 1991).

Em relação às massas de sílica (Tab. 2) *C. gayana* apresentou as maiores porcentagens de sílica em 10 g de massa seca (5,12%) e menores para *C. elata* (1,87%). Os valores determinados estão em consonância com a literatura (Webb & Longstaffe, 2000), que indica percentuais entre 0,1 a 6,7% de sílica (peso seco) para algumas *Poaceae*.

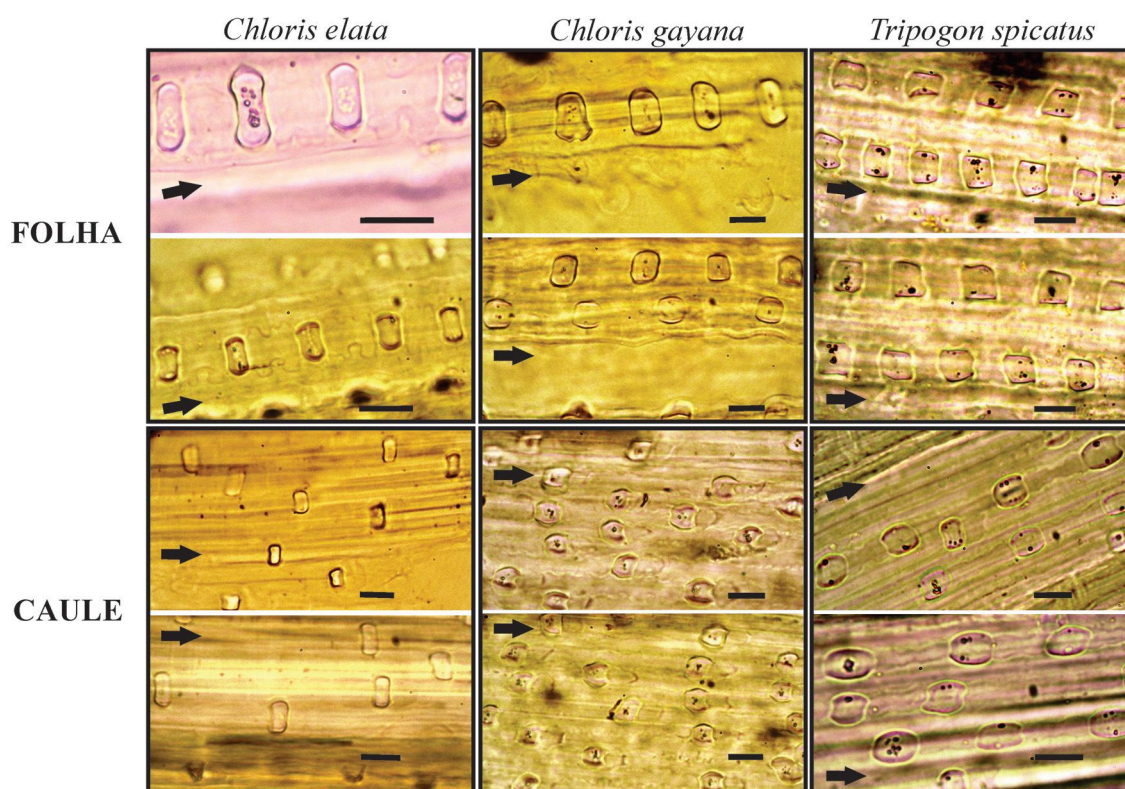


Fig. 5. Corte longitudinal paradérmico ao longo do limbo foliar, na parte adaxial da folha (zona de crescimento longitudinal) e corte longitudinal paradérmico na região mediana do caule na direção do meristema apical de *Chloris elata*, *Chloris gayana* e *Tripogon spicatus*. Setas indicam o eixo longitudinal do órgão. Barras = $12,5\mu\text{m}$.

Piperno (2006) estabelece como predominantes para a subfamília *Chloridoideae* (para os gêneros *Merxmuellera* sp., *Centropodia* sp., *Eragostis* sp., *Uniola* sp., *Pappophorum* sp., *Zoysia* sp., *Spartina* sp., *Sporobolus* sp., *Distichlis* sp.) os morfotipos de fitólitos “Saddle” e “Bilobate”.

Mulhllonad (1989), identifica que nas espécies de *Calamovilfa longifolia*, *Muhlenbergia cuspidata*, *Bouteloua curtipendula*, *Bouteloua gracilis*, *Spartina*

pectinata (*Chloridoideae*), o morfotipo “Saddle” tem ocorrência entre 60 e 99% e “Bilobate” entre 6 e 19%.

O morfotipo “Saddle” é caracterizado geralmente com tamanho $<15\mu\text{m}$ para a subfamília *Chloridoideae* (Twiss *et al.*, 1969; Barboni *et al.*, 1999; Lu & Liu 2003; Madella *et al.*, 2005), corroborando os resultados aqui estabelecidos.

Twiss (1987) e Twiss (1992), utilizaram o morfotipo “Saddle” como marcador para a subfamília

Chloridoideae, determinando o índice de adaptação da formação vegetal à aridez (Iph), gramíneas baixas C_4 (*Chloridoideae*) em relação às gramíneas altas C_4 (grande maioria *Panicoideae*); o autor também determina o índice climático (Ic) que é a adaptação vegetal a uma temperatura mínima e/ou pressão

parcial de Dióxido de Carbono (pCO_2), sendo a relação entre gramíneas temperadas C_3 e gramíneas quentes C_4 . A determinação dos morfotipos de fitólitos e ciclo fotossintético da vegetação em conjunto com a utilização dos índices são importantes ferramentas nas reconstruções paleoambientais que utilizam fitólitos.

Tabela 2. Valores de $\delta^{13}C$, massas de sílica e suas respectivas porcentagens em *Chloris elata*, *Chloris gayana* e *Tripogon spicatus*.

Espécie	$\delta^{13}C$ ‰	Massa seca (g)	Massa sílica (g)	Média sílica (g)	% Sílica	% Média sílica
<i>C. elata</i>	-14,9	10	0,170	0,187	1,7	1,87
		10	0,185		1,85	
		10	0,208		2,08	
<i>C. gayana</i>	-14,8	10	0,487	0,512	4,87	5,12
		10	0,506		5,06	
		10	0,543		5,43	
<i>T. spicatus</i>	-14,6	10	0,345	0,376	3,45	3,76
		10	0,378		3,78	
		10	0,407		4,07	

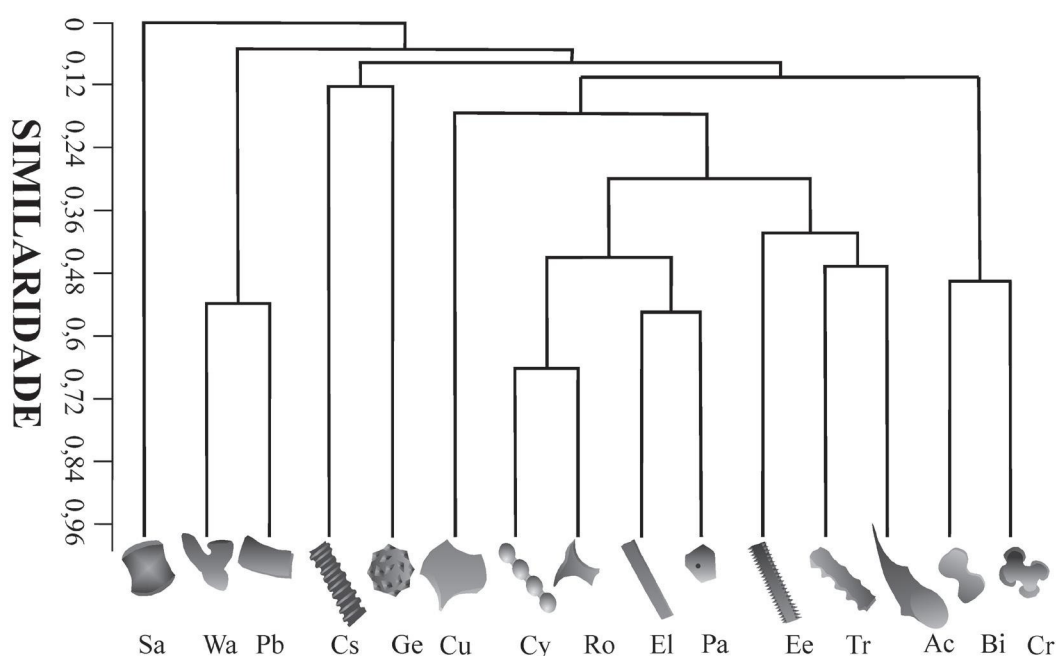


Fig. 6. Similaridade de Bray-Curtis, aplicada a abundância das morfologias de fitólitos observadas nas três espécies de *Chloridoideae*, *Chloris elata*, *Chloris gayana* e *Tripogon spicatus*.

CONCLUSÕES

As morfologias e porcentagens de ocorrência de fitólitos são semelhantes nas três espécies estudadas, tendo predominância dos morfotipos “Saddle” (87,1%) e “Bilobate” (6,8%), com pequena variação de tamanho nas três espécies pesquisadas e nas suas respectivas estruturas vegetais.

Os sinais isotópicos (~-14,8‰), as porcentagens de sílica e os cortes histológicos também se apresentaram de maneira semelhante.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo 400442/2010-8 e 401765/2010-5) pelo apoio financeiro e bolsa de apoio técnico à primeira autora (Processo 552980/2011-0), e, a Mayara dos Reis Monteiro e Renato Lada Guerreiro pela ajuda laboratorial.

REFERÊNCIAS

- Alexandre, A., Meunier, J.D., Mariotti, A., Soubies, F. 1999. Late Holocene Phytolith and Carbon-Isotope Record from a Latosol at Salitre, South-Central Brazil. *Quaternary Research*, 51:187-194.
- Baker, G., Jones, L.W.P. & Wardrop, I.D. 1959. Cause of Wear in Sheep's Teeth. *Nature*, 184:1583-1584.
- Barboni, D., Bonnefille, R., Alexandre, A. & Meunier, J.D. 1999. Phytoliths as paleoenvironmental indicators, West Side Middle Awash Valley Ethiopia. *Palaeogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 152:87-100.
- Boutton, T.W. 1991. Stable carbon isotope ratios of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine, and freshwater environmental. *In Carbon isotope techniques*. (D.C. Coleman & B. Fry. eds.). Academic Press, New York. p. 173-185.
- Calegari, M.R. 2008. Ocorrência e significado paleoambiental do horizonte A húmico em latossolos. 259 f. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo.
- Campos, A.C. De & Labouriau L.G. 1969. Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. II. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 4:143-151.
- Cavalcante, P.B. 1968. Contribuição ao estudo dos corpos silicosos das gramíneas Amazônicas I. *Panicoideae (Melinideae, Andropogoneae, e Tripsaceae)*. *Botânica*, 80: 1-11.
- Coe, H.H.G., Alexandre, A., Carvalho, C.N. de, Santos, G.M., Silva, A.S., Sousa, L.O.F., Lepsch, I.F. 2012. Changes in Holocene tree cover density in Cabo Frio (Rio de Janeiro, Brazil): Evidence from soil phytolith assemblages. *Quaternary International*, 2:1-10.
- Epstein, E. 1999. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50:641-664.
- Filgueiras, T.S. 2012. *Chloris*. *In Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB013081>. Acesso em 17.05.2012.
- Kealhofer, L. & Piperno, D.R. 1988. Opal Phytoliths in Southeast Asian Flora. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., v. 88, 238 p.
- Lu, H. & Liu, K. 2003. Morphological variations of lobate phytoliths from grasses in China and the Southeastern USA. *Diversity and Distributions*, 9(1):73-87.
- Madella, M., Alexandre, A. & Ball, T. 2005. International code for phytolith nomenclature 1.0. *Annals of Botany*, 96(2): 253-260.
- Madella, M. 2007. Phytoliths: a terrestrial botanical dataset for palaeoenvironmental reconstructions. *Geophysical Research*, 9:060057.
- Medeanic, S., Dillenburger, S.R. & Weschenfelder, J. 2007. Palinomorfos nos sedimentos de fundo de laguna dos Patos, RS: aplicação nas reconstruções paleoambientais. *Gravel*, 5(1):89-102.
- Medeanic, S., Cordazzo, C.V., Corrêa, I.C.S. & Mirlean, N. 2008. Os fitólitos em gramíneas de dunas do extremo Sul do Brasil: variabilidade morfológica e importância nas reconstruções paleoambientais costeiras. *Gravel*, 6(2):1-14.
- Mulhllonad, S.C. 1989. Phytolith shape frequencies in North Dakota grasses: a comparison to genera patterns, *Journal of Archeological Science*, 16:489-511.
- Piperno, D.R. 1985. Phytolith Taphonomy and Distributions in Archeological Sediments from Panama. *Journal of Archeological Science*, 12:247-267.
- Piperno, D.R. 1988. A phytolith analysis: an archaeological and geological perspective. Academic Press, London, 280 p.
- Piperno, D. 1991. The Status of Phytolith Analysis in the American Tropics. *Journal of World Prehistory*, 5(2):155-191.
- Piperno, D.R. 2006. Phytoliths: a comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists. AltaMira Press, Oxford. 238 p.
- Piperno, D.R. & Becker, P. 1996. Vegetational History of a Site in the Central Amazon Basin Derived from Phytolith and Charcoal Records from Natural Soils. *Quaternary Research* 45, 202-209.
- Raitz, E. 2012. Coleção de referência de silicofitólitos da flora do sudoeste do Paraná: subsídios para estudos paleoambientais. 153 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná.
- Rasbold, G.G., Monteiro, M.R., Parolin, M., Caxambú, M.G. & Pessenda, L.C.R. 2011. Caracterização dos tipos morfológicos de fitólitos presentes em *Butia paraguayensis* (Barb. Rodr.) L.H. Bailey (*Areaceae*). *Iheringia. Série Botânica*, Porto Alegre, 66(2):265-270.
- Rovner, I. 1988. Macro and micro-ecological reconstruction using plant opal phytolith data from archaeological sediments. *Geoarchaeology*, 3(2):155-163.
- Runge, F. 1999. The opal phytolith inventory of soils in central Africa-quantities, shapes, classification, and spectra. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 107:23-53.

- Santos, G.M., Alexandre, A., Coe, H.H.G., Reyerson, P.E., Southon, J.R. & Carvalho, C. N. de. 2010. The phytolith 14C puzzle: a tale of background determinations and accuracy tests. *Radiocarbon*, 52:113-128.
- Sendulsky, T.S. & Labouriau, L.G. 1966. Corpos silicosos de gramíneas dos cerrados. I. *In Anais do II Simpósio Sobre o Cerrado*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, p. 159-170.
- Twiss, C., Suess, E. & Smith, R.M. 1969. Morphological classification of grass phytoliths. *Soil Science Society of America Proceedings*, 33:109-115.
- Twiss, P.C. 1987. Grass-opal phytoliths as climatic indicators of the Great Plains Pleistocene. *In Quaternary Environments of Kansas* (W.C. Johnson, ed.). Kansas Geological Survey Guidebook Series, v. 5, p. 179-188.
- Twiss, P.C. 1992. Predicted world distribution of C3 and C4 grass phytoliths. *In Phytolith systematics. Emerging issues* (G.Jr. Rapp & S.C. Mulholland, eds.). *Advances in Archaeological and Museum Science*, v. 1, p. 113-128.
- Webb, E.A & Longstaffe, F.J. 2000. The oxygen isotopic compositions of silica phytoliths and plant water in grasses: implications for the study of paleoclimate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(5):767-780.
- Zucol, A.F., Bertoldi de Pomar, H., Osterrieth, M. & Brea, M. 1999. Bibliografía sobre análisis fitolíticos. *GEFACS*, v. 1, p. 1-43
- Zucol, A.F., Brea, M. & Passeggi, E. 2008. Los Estudios Fitolíticos en América del Sur, una Visión Retrospectiva. *In Matices Interdisciplinarios en Estudios Fitolíticos y de Otros Microfósiles* (A. Korstange & P. Babot, ed.). BAR International Series S1870, Oxford, p. 3-21.