

Everton Richetti

MORFOANATOMIA FOLIAR COMPARADA ENTRE ESPÉCIES  
DE *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Prog.) Lourteig COM PROBLEMAS DE  
DELIMITAÇÃO TAXONÔMICA

Dissertação submetida ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Biologia de Fungos Algas e  
Plantas da Universidade Federal  
de Santa Catarina para a obtenção  
do Grau de Mestre em Biologia de  
Fungos Algas e Plantas.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Makeli  
Garibotti Lusa

Coorientador: Prof. Dr. Pedro  
Fiaschi

Florianópolis  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária  
da UFSC.

RICHETTI, EVERTON  
MORFOANATOMIA FOLIAR COMPARADA ENTRE ESPÉCIES DE  
Oxalis sect. Polymorphae (Prog.) Lourteig COM  
PROBLEMAS DE DELIMITAÇÃO TAXONÔMICA / EVERTON  
RICHETTI ; orientador, Makeli Garibotti Lusa,  
coorientador, Pedro Fiaschi, 2019.  
96 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas,  
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos,  
Algas e Plantas, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2.  
Anatomia Vegetal. 3. Taxonomia. I. Garibotti Lusa,  
Makeli. II. Fiaschi, Pedro. III. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação  
em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV. Título.

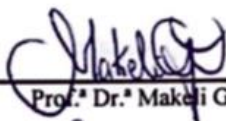
**“Morfoanatomia foliar comparada entre espécies de *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Prog.) Lourteig com problemas de delimitação taxonômica”**

por

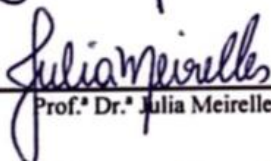
**Everton Richetti**

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelos membros titulares da Banca Examinadora (Port. 10/PPGFAP/2019) do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - UFSC, composta pelos Professores Doutores:

Banca Examinadora:



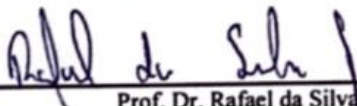
Prof.ª Dr.ª Makeli Garibotti Lusa



Prof.ª Dr.ª Julia Meirelles



Prof.ª Dr.ª Ana Claudia Rodrigues



Prof. Dr. Rafael da Silva Cruz



Prof. Dr. Pedro Fiaschi

Coordenador do Programa de Pós-Graduação  
em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Florianópolis, 09 de maio de 2019

Dedico este trabalho aos futuros  
cientistas botânicos.  
Sejam persistentes frente a esse futuro  
desconhecido que se aproxima

## AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de Mestrado tornou-se possível graças a diversas pessoas em meu caminho que contribuíram das mais variadas formas. Gratidão está entre os sentimentos mais complexos do ser humano e que nos ajuda a viver em sociedade. Ser grato envolve um aprendizado contínuo, de olhar para em volta de si perceber o lado ruim e bom das coisas, e entender que olhar lado bom é sempre mais recompensador nos auxiliando a enfrentar qualquer dificuldade que possamos encontrar.

Agradeço à minha família por todas as formas de apoio durante esses anos, sem compreenderem muito bem o que se tratava de anatomia de Oxalidaceae. Sou grato por meu namorado Rodrigo, que me apoiou e incentivou em diversos momentos desde o início desta jornada, pelos momentos felizes que passamos, outros as vezes complicados e difíceis, mas por acreditar que tudo pode ser superado.

Agradeço ao meu primeiro orientador Pedro Fiaschi pela oportunidade de orientação, pelo projeto de pesquisa, aprofundamentos nos temas, viagens, balinhas e chocolates em reuniões, além das revisões de manuscritos, e especialmente por ter colocado em minha jornada acadêmica a Makeli Garibotti Lusa, inicialmente como coorientadora e posteriormente como minha orientadora oficial de mestrado.

Agradeço à Makeli por toda a paciência, carinho, dedicação, empenho, orientações, conselhos, nas mais diversificadas atividades durante essa jornada, desde as reformas no casarão até mesmo nas várias correções de manuscritos. Grato pelas parcerias já obtidas e futuras que vamos construir. O esmero de sua orientação fez com que eu aprendesse

a observar as plantas sob outro olhar, tornando-me mais um apaixonado pela anatomia vegetal.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Sistemática Vegetal que me “introduziram” em uma rotina de pesquisa e de “viver na UFSC” durante o primeiro semestre. Agradeço também aos vizinhos do Micolab pelos momentos de descontração, colheradas de açúcar emprestadas e barzinhos de sextas. Vejo futuros grandiosos nos olhos de cada um de vocês, e embora a vida coloque obstáculos em seus caminhos nunca desistam da felicidade de seus sonhos!

Agradeço ao pesquisador de iniciação científica William pela maestria e dedicação em seu trabalho, o qual contribuiu muito para o desenvolvimento desta dissertação, tenho certeza que será um grande profissional em qualquer área que se aprofundar. Agradeço à Josi do LAVEG pelos inúmeros momentos que tivemos naquele laboratório, desde crises pessoais, com problemas na infiltração, nos cortes do micrótomo, coloração dando errado, e muitas risadas; enfim, só nós sabemos. E também à Fernanda pela descontração, cafés e gargalhadas nos corredores, tornando nossos dias de pesquisa mais felizes.

Agradeço a todos os professores do PPG-FAP que de forma direta ou indireta contribuíram para minha formação acadêmica e profissional, seja em disciplinas ou nos corredores.

E finalmente, à CAPES pela concessão de bolsa de mestrado, ao PPG-FAP por todo suporte, e a todos os contribuintes brasileiros pois tornaram este financiamento possível.

*“I’ll face it with a grin  
I’m never giving in  
On with the show”*

The show must go on - Queen

## RESUMO

*Oxalis* sect. *Polymorphae* (Progel) Lourteig apresenta táxons restritos à América do Sul, entre os quais alguns apresentam morfologias muito variáveis. Destacam-se *Oxalis polymorpha* Mart. ex Zucc e *Oxalis neuwiedii* Zucc, espécies endêmicas da Mata Atlântica e que atualmente apresentam problemas de delimitação infraespecífica. Diante da escassez de características que auxiliem no estabelecimento de limites entre estes táxons, são propostas investigações em anatomia vegetal com o intuito de identificar novas características que auxiliem nessa diagnose. Avaliamos os caracteres morfológicos e anatômicos e seu potencial para estabelecimento de limites entre categorias infraespecíficas. Foram analisadas folhas de espécimes de *Oxalis polymorpha* e *Oxalis neuwiedii* provenientes de distintas localidades ao longo da distribuição geográfica, obtidas em campo e de material de herbário e analisados por microscopia de luz e eletrônica de varredura. Diferenças foram observadas no padrão de venação das lâminas foliares, cobertura de tricomas nos pecíolos e lâminas, conformação da região vascular do pulvino, contorno e organização dos tecidos na nervura central. Nossos resultados mostram que a morfologia e a anatomia foliar forneceram características que podem contribuir para a taxonomia das espécies analisadas. Além disso, sugerimos que esforços futuros sejam concentrados para elucidar as relações taxonômicas através de reconstruções filogenéticas.

**Palavras chave:** Caracteres foliares. Morfotipos. Região vascular. Subespécies. Venação foliar.



## ABSTRACT

*Oxalis* sect. *Polymorphae* (Progel) Lourteig has taxa restricted to South America, which have variable morphologies. Among there are *Oxalis polymorpha* Mart. ex Zucc and *Oxalis newwiedii* Zucc, endemic species of the Atlantic Forest which have problems of infraspecific delimitation. Due to the scarcity of characters, which support the establishment of the limits in these taxa, are proposed investigations including techniques in plant anatomy for the recognition of characters and their potential use to the delimitation of the taxa in infraspecific level. We analyzed leaflets of *Oxalis polymorpha* and *Oxalis newwiedii* species from distinctive localities among of their geographic distribution. These samples are collected in field and herbarium, and analyzed for light microscopy and scanning electron microscopy. We observed differences in the venation pattern of the leaf blade, hair indument in their petioles and leaflets, vascular conformation in the pulvinus, outline and tissue organization in the midvein. Our results show that morphology and plant anatomy provide characters useful contribute to species taxonomy study. Moreover, we suggest future studies to clarify the taxonomic relations from phylogenetic reconstructions.

**Keywords:** Foliar venation. Morphotypes. Petioles. Subspecies. Vascular region



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Secções transversais da região mediana do pulvino (A), pecíolo (B) e nervura central (C), detalhes das fibras gelatinosas próximas da região vascular da nervura central. C – Córtex, FL – Floema, Fi – Fibras gelatinosas, Pe – Parênquima esponjoso, Pp – Parênquima plicado, Xi – Xilema. .... 41

Figura 1.2: Pulvinos em seção transversal (A-E), eletromicrogravuras eletrônicas de varredura dos pecíolos em (F-J) e pecíolos em vista transversal (K-O) das folhas dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* analisados. A-E: Detalhes no arranjo da vascularização dos pulvinos, respectivamente: (A, B) Ferradura, (C) Ferradura com extremidades voltadas para o centro, (E) ferradura fechada. Notar células com espessamento péptico no contorno do sistema vascular. F-J.-). K-O– Contorno dos pecíolos em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: levemente elíptico (K, L), circular (M) e plano/convexo (N, O). .... 43

Figura 1.3: Epiderme em vista frontal. Epiderme da face adaxial (A-C): Contorno reto (A), sinuoso (B) marcadamente sinuoso (C). Epiderme da face abaxial (D-F): Contorno reto (D), sinuoso (E) e marcadamente sinuoso (F). .... 44

Figura 1.4: Eletromicrografias eletrônicas de varredura dos folíolos dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados (A-H). Face adaxial (A-B): cera epicuticular tipo crosta (A), roseta (B). Face abaxial (C-H): cera epicuticular tipo roseta (C), deposição de cera na região de contato entre as células epidérmicas (D). Tricoma clavado (E), detalhe de tricoma simples unicelular, com ornamentações na parede (F), tricoma simples ereto (G) e incurvado (H). .... 46

Figura 1.5: Eletromicrografias eletrônicas de dos folíolos basais dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados (A-O). Nervura central face adaxial (A-E): glabra (A, C-E), com tricomas simples (B). Nervura central face abaxial (F-J): cobertura de tricomas regular (F, G), escassa (H) e abundante (I, J). Margem foliar (K-O): cobertura de tricomas regular (K, L), escassa (M) e abundante (N, O). Notar presença de tricomas simples mais curtos que os demais (F, K). .... 47

Figura 1.6: Secções transversais da região mediana da nervura central (A-J) e da margem (K-T) dos folíolos dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados. A-E- Contorno da nervura central em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: (A) ligeiramente plano/ligeiramente côncavo, (B) côncava/convexa, (C) convexo/convexo, plano/convexa (D-E). Notar número de camadas de parênquima regular

(PR) entre o feixe e a epiderme da face abaxial variável entre os morfotipos. F-J - Detalhes da região vascular na nervura central. Observar distribuição das fibras gelatinosas na região vascular: em calotas isoladas na face abaxial (F), ausentes (G), envolvendo parcialmente os feixes adaxial e abaxialmente (H), em calotas dispersas na face abaxial dos feixes (I, J). K-T. Contorno da margem: suavemente recurvada (K-N) e plana (O-T). Detalhes das margens dos folíolos: (L, N) células epidérmicas relativamente volumosas em relação às células do mesofilo; (P, R, T) células epidérmicas muito mais volumosas que as células do mesofilo. Fibras gelatinosas (cabeça de seta), idioblastos fenólicos (estrela) e cristais (asterisco)..... 49

Figura 1.7: Região internervural em secção transversal (A-C) dos folíolos dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados. Região internervural: células epidérmicas da face adaxial mais altas que as da face abaxial (A), altura das células epidérmicas de ambas as faces similar (B, C), parede periclinal externa da face adaxial reta (A-C) e da face abaxial arredondada (A) e plana, (B, C); estômatos abaixo do nível das demais células epidérmicas (B) e no mesmo nível que as demais células epidérmicas, (B, C) (ponta de seta). Idioblastos fenólicos (estrela) e cristais (asterisco)..... 50

Figura 1.8: Visão geral do padrão de venação (A-E), detalhes da região mediana (F-J) e areolação (K-O) dos folíolos apicais dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados. Folhas inteiras (A-E): espaçamento e angulação das nervuras secundárias: irregular com ângulos aumentando sentido ápice (A) irregular com ângulos irregulares ao longo da extensão da lâmina (C), regular com ângulos maiores que 50° (B), irregular com nervuras mais concentradas na base e ângulos menores que 40° (D, E). Detalhes da região mediana dos folíolos com nervuras secundárias decorrentes (F-J): observar ângulos variados (F, H), regulares e maiores que 50° (G) e ângulos menores que 40° (I, J). Areolação na região mediana dos folíolos (K-O): moderado desenvolvimento (K, O), bem desenvolvidas (M), pouco desenvolvidas (L, N)..... 52

Figura 1.9 A-E – Aspecto das nervuras livres terminais e idioblastos traqueoidais: (A) não ramificadas e afunilada, (B, C) simples ramificadas simples, (D, E) ramificadas e dilatadas; F-J– Detalhe da venação terminal marginal: (F) incompleta, (G-J) formando alças. Terminação marginal (cabeça de setas), Nervuras livres terminais (setas). ..... 54

Figura 2.1: Secções transversais da região proximal do pulvino e do pecíolo (A-F) das folhas de *Oxalis newwiedii* ssp. *paradoensis* (PAR) (A, C, E) e *O. newwiedii* ssp. *newwiedii* (NEU) (B, D, F) estudados. A, C,

B, D – Aspecto geral dos pulvinos e arranjo da vascularização (A-C) arco em contorno de ferradura, (B-D) arco em contorno de U aberto com extremidades voltadas para o centro. E, F – Contorno dos pecíolos em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: (E) oval, e (F) oval com pequena projeção na região abaxial..... 79

Figura 2.2: Vista frontal obtida por microscopia eletrônica de varredura dos pecíolos (A-B), da superfície epidérmica adaxial do limbo (D, J), e abaxial (E, F, K, L); detalhes de tricomas simples (C) e clavados (I) dos folíolos basais de *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (A-F) e *Oxalis neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (G-L) estudados. A, B, G, H – Cobertura de tricomas nos pecíolos: (G-H) moderada, (A-B) esparsa. D, J - Superfície epidérmica adaxial das lâminas foliares com detalhes do tipo de ornamentação de cera epicuticular: (D, J) crosta. E, F, K, L - Superfície epidérmica abaxial das lâminas foliares com detalhes para o tipo de ornamentação de cera epicuticular: (K, E) roseta, detalhes da ornamentação tipo roseta na região dos estômatos (F, L). ..... 81

Figura 2.3: Detalhes no padrão de venação foliar: (A, E) padrão de areolação do tipo bem desenvolvidas, (B, F) detalhe das nervuras livres terminais, vista da superfície epidérmica abaxial (C, G) e adaxial (D, H) dos folíolos apicais de *Oxalis neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (A-D) e *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (E-H) estudados. A, E – Aspecto geral da areolação do tipo bem desenvolvidas; B, F– Aspecto das nervuras livres terminais e traqueoidais: (B) com uma ramificação e afuniladas, (F) não ramificadas e dilatadas. C, D, G, H – Contorno das células epidérmicas: face abaxial (C) contorno sinuoso, (G) sinuoso; face adaxial contorno sinuoso (D, H). Ordem das nervuras (2 secundária, 3: ordem, 4: ordem, 5: ordem), nervuras livres terminais (setas). ..... 82

Figura 2.4: Vista frontal por microscopia eletrônica de varredura na região da nervura central vista adaxial (C, F), nervura central vista abaxial (A, D) e margem (B, F) dos folíolos basais de *Oxalis neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (A-C) e *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (D-F) estudados. A, D– Detalhes na cobertura de tricomas na nervura central na face adaxial: (A) esparsa com tricomas restritos à região da nervura central, (D) cobertura regular no limbo e nervura central. B, E – Aspecto da cobertura de tricomas na região exterior da margem: (B) escassa, (E) regular. C, F - Detalhes na cobertura de tricomas na nervura central na face adaxial: (C) ausentes, (F) presentes ..... 83

Figura 2.5: Secções transversais da região mediana da nervura central (A-C, B-D) da margem (E-F) e da região internervural (G-H) dos folíolos de *Oxalis neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (A, C, E, G) e *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (B, D, F, H) estudados. A, B - Contorno

da nervura central em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: (A) convexo/plano-côncava, (B) convexa/côncava. Notar número de camadas de parênquima regular entre o feixe e a epiderme da face abaxial. Observar camadas de células parenquimáticas abaixo dos feixes vasculares. C-D – Detalhes da vascularização presente na nervura central. Observar distribuição das fibras gelatinosas na região vascular: (C) envolvendo parcialmente os feixes adaxial e abaxialmente, (D) ausentes. E-F - Detalhes das margens dos folíolos, disposição plana e contorno arredondado. Fibras gelatinosas (cabeça de seta), idioblastos fenólicos (estrela) e cristais (asterisco), parênquima regular (PR). ..... 85

Figura 2.6: Padrão de venação foliar em vista geral (A, F), detalhes da região basal (C, H) mediana (D, I), apical (E, J) e venação marginal (B, G) dos folíolos apicais de *Oxalis neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (A-E) e *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (F-J) estudados. A, C, F, E, F, H, I, J – Visão geral e detalhes da venação dos folíolos com padrão pinado, brochidródomo decorado (*festooned*): (A, C-E) nervuras secundárias decurrentes com a principal, e espaçamento regular; (C-E) ângulos das nervuras secundárias com a principal regulares e maiores que 40°; (F, H-J) espaçamento das nervuras secundárias regular: (H) com ângulos agudos (30°) na base e (I, J) aumentando em direção ao ápice (80°). B, G – Aspecto das nervuras secundárias formando alças com as nervuras secundárias adjacentes, e da venação marginal. Nervuras secundárias formando ângulos com a principal (setas), alças formadas pelo contato entre nervuras secundárias (pontas de seta). ..... 87

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Lista dos táxons amostrados, respectivos Voucher, número de coletor, localidade, número de amostras (N) e indicação da população. Abreviaturas: RJ – Rio de Janeiro, MG – Minas Gerais, BA – Bahia, ES - Espírito Santo.....	37
Tabela 1.2: Características diagnósticas foliares para os diferentes morfotipos de <i>Oxalis polymorpha</i> avaliados.....	55
Tabela 2.1 – Vouchers selecionados para estudo morfoanatômico de <i>Oxalis neuwiedii</i> . ES = Espírito Santo; SP = São Paulo.....	76
Tabela 2.2: Características diagnósticas para <i>O. neuwiedii</i> ssp. <i>neuwiedii</i> (NEU) e <i>O. neuwiedii</i> ssp. <i>pardoensis</i> (PAR) avaliadas.....	89





## SUMÁRIO

RESUMO .....	8
ABSTRACT .....	9
INTRODUÇÃO GERAL .....	27
REFERÊNCIAS .....	31
CAPÍTULO 1 .....	33
RESUMO .....	34
INTRODUÇÃO .....	34
MATERIAL E MÉTODOS .....	36
Material botânico .....	36
Microscopia de Luz .....	37
Micromorfologia foliar .....	39
RESULTADOS .....	39
Caracterização geral da anatomia foliar de <i>Oxalis polymorpha</i> .....	39
Caracterização morfoanatômica comparativa dos pulvinos e dos pecíolos 41	
Caracterização comparativa da lâmina foliar em vista frontal .....	44
Caracterização morfoanatômica comparativa da lâmina foliar em secção transversal .....	48
Venação foliar .....	51
DISCUSSÃO .....	59
AGRADECIMENTOS .....	65
REFERÊNCIAS .....	66
CAPÍTULO 02 .....	72
RESUMO .....	73
INTRODUÇÃO .....	73
MATERIAL E MÉTODOS .....	75
Material botânico .....	75
RESULTADOS .....	78

Caracterização dos pulvinos.....	78
Caracterização dos pecíolos .....	80
Caracterização da lâmina foliar.....	82
Venação foliar.....	86
DISCUSSÃO .....	92
AGRADECIMENTOS .....	95
REFERÊNCIAS.....	96
DISCUSSÃO GERAL .....	100
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	101
REFERÊNCIAS.....	103

## INTRODUÇÃO GERAL

Oxalidaceae é constituída por cerca de 770 espécies (Stevens, *onwards* 2001) distribuídas nas regiões tropicas e subtropicais do mundo. No Brasil a família está representada por três gêneros: *Averrhoa* L., *Biophytum* DC. e *Oxalis* L., sendo que este último é subdividido em quatro subgêneros: *O.* subg. *Monoxalis* (Small) Lourteig, *O.* subg. *Oxalis* L., *O.* subg. *Thamnoxys* (Endl.) Reiche e *O.* subg. *Trifidus* Lourteig, (Lourteig, 1994, 2000). *Oxalis* subg. *Thamnoxys* diferencia-se dos demais subgêneros por compreender táxons de folhas geralmente pinadas trifolioladas e é subdividido em nove seções distribuídas ao longo da América Central e do Sul (Lourteig, 1994).

Entre as seções de *O.* subg. *Thamnoxys*, *O.* sect. *Polymorphae* (Progel) Lourteig apresenta táxons de morfologias muito variáveis, sendo caracterizados por plantas glabras ou pubescentes, com folhas pinadas trifolioladas, reunidas no ápice ou em pseudovérticilos, folíolos com diferentes formatos, variando de obovados até rômbico-ovados, de ápice agudo a longo acuminado, cimeiras dicasiais 2-(4-)fidas, com flores muito próximas, em ramos encurtados, estames com lígula reduzida ou inconspícua, carpelos uniseminados, sementes costadas, transverso-estriadas, com fendas profundas em depressões poligonais (Lourteig, 1994). *Oxalis* sect. *Polymorphae* é representada por 13 espécies e quatro subespécies de ocorrência restrita à América do Sul, sendo citados para o Brasil 16 táxons endêmicos, ocorrendo na Caatinga, no Cerrado e na Floresta Atlântica (Fiaschi, 2012, 2014; Abreu & Fiaschi, 2015).

Apesar dos esforços realizados em estudos taxonômicos para *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Lourteig, 1994; Fiaschi, 2012, 2014) alguns de seus táxons apresentam problemas na delimitação infraespecífica.

Entre eles *Oxalis polymorpha* Mart. ex Zucc. que envolve táxons com uma distribuição disjunta ao longo da Mata Atlântica dos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Flora do Brasil, 2020) sendo caracterizada pela grande diversidade no formato dos folíolos, variando de ovados até lanceolado-apiculados, assimétricos, com indumento adpresso ou sub-adpresso, mais ou menos esparso-glabrescentes (Lourteig, 1994), que torna difícil o reconhecimento de características diagnósticas para o táxon. Já *Oxalis neuwiedii* Zucc. pode apresentar variação no indumento, sendo conhecido que a subespécie *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* é pubescente no caule e folhas, enquanto *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* é glabra nas folhas e no caule. Além disso, ambas as subespécies ocorrem no Domínio da Mata Atlântica, contudo *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* possui distribuição geográfica mais ampla, nos Estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Bahia, enquanto *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* está restrita à região de divisa entre os Estados do Paraná e de São Paulo.

Nesse sentido, o emprego de técnicas de anatomia vegetal com viés taxonômico pretende ampliar o reconhecimento de características específicas de cada táxon, partindo da compreensão da organização dos órgãos e dos tecidos no material investigados. Diversos estudos buscaram circunscrever táxons infraespecíficos, ou reconhecer espécies a partir de subespécies, com base em abordagens que utilizaram caracteres da morfologia externa e interna, ou seja, caracteres anatômicos (Caddah, Lischka, & Mayer, 2012; Elias & Dias, 2014; Moroni, O’Leary, & Filloy, 2016; de Luna *et al.*, 2017; Guarçoni, Azevedo, & Costa, 2017).

Estudos envolvendo a anatomia de *Oxalis* são escassos. As análises anatômicas de algumas espécies americanas do gênero foram

desenvolvidas por Estelita-Teixeira (1977, 1978), enquanto Reis e Alvim (2013) descreveram a anatomia foliar de algumas espécies, contudo sem discutir possíveis implicações taxonômicas. Já a análise microestrutural de sementes de espécies nativas da Argentina de *Oxalis* revelou importantes caracteres de interesse taxonômico relacionados às ornamentações nas superfícies das sementes (Rosenfeldt & Galati, 2014). Abordagens recentes sobre reconstrução de estado ancestral a partir de características morfoanatômicas foliares de espécies de *Oxalis* sul-africanas, buscaram informações acerca da evolução desses caracteres e sinapomorfias, além de apontar características que auxiliavam na distinção entre táxons (Jooste, Dreyer, & Oberlander, 2016).

Até o presente momento nenhum trabalho avaliou a variação dos caracteres diagnósticos dos táxons de *O. sect. Polymorphae* ao nível anatômico, sendo que poucas características morfológicas permitem a diferenciação entre as espécies e táxons infraespecíficos. Os trabalhos mais recentes (Fiaschi, 2012; 2014) apontam para uma ampla variabilidade morfológica em algumas espécies da seção.

Neste sentido, destaca-se a importância de estudos que envolvam a anatomia vegetal no levantamento de novos caracteres, bem como na verificação acurada de caracteres morfoanatômicos que auxiliem na delimitação dos táxons da seção *Polymorphae* e no reconhecimento de categorias infraespecíficas em *O. newwiedii*. Diante disso o presente estudo busca reconhecer características que possam auxiliar na diferenciação de táxons sob *O. polymorpha* e entre as subespécies de *O. newwiedii*, de modo a contribuir com questões relacionadas à delimitação taxonômica infraespecífica



## REFERÊNCIAS

- Abreu M. C & Fiaschi P. 2015.** Flora do Brasil. *Oxalidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.*: 1.
- Caddah MK, Lischka J & Mayer S. 2012.** Species limits in the *Kielmeyera coriacea* complex ( Calophyllaceae ) – a multidisciplinary approach. *Botanical Journal of the Linnean Society* **168**: 101–115.
- Elias RUIB & Dias E. 2014.** The recognition of infraspecific taxa in *Juniperus brevifolia* (Cupressaceae). *Phytotaxa* **188**: 241–250.
- Estelita-Teixeira ME. 1977.** Propagação vegetativa *Oxalis latifolia* Kunth (Oxalidaceae). *Boletim Botânica da Universidade de São Paulo* **5**: 13–20.
- Estelita-Teixeira ME. 1978.** Desenvolvimento anatômico do sistema Subterrâneo de *Oxalis latifolia* Kunth (Oxalidaceae) II - Sistema radicular. *Boletim Botânica da Universidade de São Paulo* **6**: 27–38.
- Fiaschi P. 2012.** Two new species of *Oxalis* sect . *Polymorphae* ( Oxalidaceae ) from the Brazilian Atlantic Forest. *Kew Bulletin* **67**: 33–38.
- Fiaschi P. 2014.** Three new species and a revised key to species of *Oxalis* section *Polymorphae* ( Oxalidaceae ). *Brittonia* **66**: 134–150.
- Guarçoni EAE, Azevedo AA de & Costa AF da. 2017.** The reestablishment of *Dyckia oligantha* and *D. nana* (Bromeliaceae, Pitcairnioidea), belonging to the *D. macedoi* complex. *Phytotaxa* **306**: 49–65.
- Jooste M, Dreyer LL & Oberlander KC. 2016.** The phylogenetic significance of leaf anatomical traits of southern African *Oxalis*. *BMC Evolutionary Biology* **16**: 225.
- Lourteig A. 1994.** *Oxalis* L. Subgenero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. *Bradea* **7**: 199.
- Lourteig A. 2000.** *Oxalis* L. Subgéneros *Monoxalis* (Small) Lourt. *Oxalis* y *Trifidus* Lourt. *BRADEA* **7**: 201–629.
- de Luna BN, de Fátima Freitas M, Baas P, De Toni KLG & Barros CF. 2017.** Leaf anatomy of five neotropical genera of Primulaceae. *International Journal Plant Science* **178**.
- Moroni P, O’Leary N & Filloy J. 2016.** Species delimitation

in the *Aloysia gratissima* complex ( Verbenaceae ) following the phylogenetic species concept. *Botanical Journal of the Linnean Society* **180**: 193–212.

**Reis RE & Alvim MN. 2013.** Anatomia foliar comparada de três espécies do gênero *Oxalis* L. (Oxalidaceae). *Periódico Científico do Núcleo de Biociências Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix* **3**: 59–72.

**Rosenfeldt S & Galati BG. 2014.** Morphology of the seed coat of *Oxalis* spp . from Buenos Aires Province ( Argentina ). *Turkish Journal of Botany* **38**: 864–876.

**Stevens PF. 2001.** Angiosperm Phylogeny Website\_Oxalidaceae. *Angiosperm Phylogeny Website*.



## **CAPÍTULO 1**

Reconhecimento de morfotipos baseado na morfoanatomia foliar de  
*Oxalis polymorpha* Mart. ex Zucc (Oxalidaceae)

## RESUMO

*Oxalis polymorpha* Mart. ex Zucc. é uma espécie endêmica da Mata Atlântica com problemas de delimitação taxonômica. Avaliamos os caracteres morfológicos e anatômicos e seu potencial para estabelecimento de limites entre categorias infraespecíficas. Foram analisadas folhas de 13 espécimes de cinco populações provenientes de diferentes localidades ao longo da sua distribuição geográfica. As amostras foram obtidas de trabalho de campo e de material de herbário e analisadas por microscopia de luz e eletrônica de varredura. Diferenças no padrão de venação das lâminas foliares, cobertura de tricomas nos pecíolos e lâminas, conformação da região vascular do pulvino e organização dos tecidos na nervura central permitiram o reconhecimento de cinco morfotipos diferentes, o que demonstra a utilidade da morfologia e da anatomia foliar à taxonomia infraespecífica de espécies morfológicamente variáveis. Sugerimos que novos estudos sejam conduzidos para elucidar as relações filogenéticas entre os cinco morfotipos identificados.

**Palavras chave:** Pulvino. Região vascular. Taxonomia. Venação foliar.

## INTRODUÇÃO

A família Oxalidaceae é constituída por cerca de 770 espécies (Stevens, 2001 *onwards*) distribuídas nas regiões tropicas e subtropicais do mundo. No Brasil a família está representada por três gêneros: *Averrhoa* L., *Biophytum* DC. e *Oxalis* L., sendo que este último é subdividido em quatro subgêneros: *O.* subg. *Monoxalis* (Small) Lourteig, *O.* subg. *Oxalis* L., *O.* subg. *Thamnoxys* (Endl.) Reiche e *O.* subg. *Trifidus* Lourteig, (Lourteig, 1994, 2000). *Oxalis* subg. *Thamnoxys* diferencia-se dos demais subgêneros por compreender táxons de folhas pinadas

geralmente 1, 2, 3folioladas com raque visível, e é subdividido em nove seções distribuídas ao longo da América Central e do Sul (Lourteig, 1994). Dentro de *O.* subg. *Thamnoxis*, a seção *Polymorphae* (Progel) Lourteig é atualmente representada por 13 espécies e quatro subespécies de ocorrência restrita à América do Sul, sendo citados para o Brasil, 16 táxons endêmicos, ocorrendo na Caatinga, Cerrado e Floresta Atlântica (Fiaschi, 2012, 2014; Abreu & Fiaschi, 2015).

Estudos taxonômicos realizados com espécies de *Oxalis* sect. *Polymorphae* indicam problemas na delimitação em algumas espécies na seção. No caso de *Oxalis polymorpha* Mart. ex Zucc. envolve táxons com uma distribuição disjunta ao longo da Mata Atlântica dos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Abreu & Fiaschi, 2015). Sendo caracterizada pela grande diversidade no formato dos folíolos, variando de ovados até lanceolado-apiculados, assimétricos, com indumento adpresso ou sub-adpresso, mais ou menos esparsoglabrescentes (Lourteig, 1994). Na delimitação mais recente de *O. polymorpha* (Lourteig, 1994) foram propostas diversas sinonimizáveis tentando abranger todas as variações morfológicas e distribuição existente. Essa variabilidade é apontada por Fiaschi (2014), sugerindo a necessidade de maiores investigações para o reconhecimento de características que auxiliem na delimitação de *O. polymorpha* e categorias infraespecíficas.

Em situações que a morfologia externa não fornece informação suficiente ao reconhecimento dos táxons, abordagens baseadas em anatomia vegetal podem colaborar ao entendimento de tais limites, tendo sido bastante úteis para uma melhor circunscrição de táxons (Metcalfe &

Chalk, 1957; Dickison, 2000; Stuessy, 2008). Neste aspecto, embora os aspectos anatômicos de Oxalidaceae já tenham sido explorados (Estelita-Teixeira, 1977, 1978; Reis & Alvim, 2013; Jooste, Dreyer, & Oberlander, 2016), tais investigações não apresentaram abordagens com fins taxonômicos. Além disso, estudos em outros grupos taxonômicos têm revelado diversas características importantes para a taxonomia (Gomes *et al.*, 2005; Melo-de-Pinna, 2005; de Oliveira *et al.*, 2011; Thadeo, Azevedo, & Meira, 2014; Guarçoni, De Azevedo, & Da Costa, 2017).

Diante da complexidade existente entre espécimes de *O. polymorpha* investigações que possam ajudar a resolver questões relacionadas ao estabelecimento de limites infraespecíficos são fundamentais. Assim, o presente estudo analisou os padrões morfológicos e anatômicos das folhas de representantes de *O. polymorpha* com ampla variabilidade morfológica e distribuição geográfica reconhecidas por Lourteig (1994), em busca de características que auxiliem em sua delimitação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Material botânico*

Para a condução do estudo, foram utilizadas amostras de material obtido em campo e herborizado, de diferentes localidades indicadas na Tabela 1. Para todas as análises foram selecionadas folhas completamente expandidas do terceiro ao quinto nó caulinar. Foram amostrados até três indivíduos de cinco localidades ao longo da área de ocorrência. O material fresco coletado em campo foi fixado em FAA 70 (Formaldeído, Ácido Acético Glacial, Álcool Etilico 70%) por 48h e transferido para etanol 70% (Johansen, 1940). As amostras obtidas a partir de material

herborizado foram submetidas a tratamento de reidratação com água, glicerina e detergente (Johansen, 1940) para então serem utilizadas de acordo com cada procedimento de análise.

*Tabela 1.1: Lista dos táxons amostrados, respectivos Voucher, número de coletor, localidade, número de amostras (N) e indicação da população. Abreviaturas: RJ – Rio de Janeiro, MG – Minas Gerais, BA – Bahia, ES - Espírito Santo.*

Táxon ( <i>sensu</i> Lourteig 1994)	Voucher	Nº coletor	Localidade	N
<i>Oxalis polymorpha</i> ssp. <i>tijucana</i>	FLOR 58969	Fiaschi et al. 4472	Rio de Janeiro, RJ	03
<i>Oxalis polymorpha</i> ssp. <i>polymorpha</i>	Não depositado	Richetti et al. 70	Cardoso Moreira, RJ	03
<i>Oxalis polymorpha</i> ssp. <i>polymorpha</i>	Não depositado	Richetti et al. 64	Marliéria, MG	03
<i>Oxalis polymorpha</i> ssp. <i>polymorpha</i>	FLOR 62498	Fiaschi & Costa-Lima 4591	Cruz das Almas, BA	01
<i>Oxalis polymorpha</i> ssp. <i>polymorpha</i>	FLOR 59522	Folli 629		
	FLOR 59523	Farias 605	Linhares, ES	03
	FLOR 59851	Folli 5877		

### *Microscopia de Luz*

Para as análises morfoanatômicas foram selecionadas três amostras da lâmina foliar dos folíolos basais na região do terço médio (incluindo três amostras da região da nervura central e três da margem), além da região mediana do pecíolo e do pulvino da mesma folha, de cada indivíduo fixado. As amostras foram desidratadas em série etílica e infiltradas em historesina (resina plástica hidróxi-etil-metacrilato, Leica

Historesin®, Heraeus-Kulzer, Hanau, Germany), conforme instruções do fabricante e adaptado de (Paiva, Pinho, & Oliveira, 2011). As amostras foram seccionadas em micrótomo rotativo manual (Modelo RM 2245, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Germany) com navalha de aço, na espessura de 5-7 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e afixadas em lâminas histológicas. As amostras foram então coradas com azul de toluidina 0,05% (em tampão citrato-fosfato, pH 4,5) (Sakai, 1973) e montadas em verniz vitral incolor (Acrilex®, São Bernardo do Campo, Brasil) entre lâmina e lamínula (Paiva *et al.*, 2006) para observação microscópica. Os registros fotográficos foram realizados em microscopia de luz com microscópio Olympus BX 41, com câmera digital colorida com 3.3 mpixel e programa de captura de imagens Q-capture Pro 5.1 da Q-imaging.

Para a observação do padrão de venação foliar foram diafanizados os folíolos apicais de três folhas, conforme protocolo de Shobe & Lersten (1967) adaptado por Caires, Gomes-Bezerra, & Proença (2012). As amostras foram montadas entre placas de vidro, utilizando verniz vitral incolor (Paiva *et al.*, 2006) (Acrilex®, São Bernardo do Campo, Brasil) e mantidas em temperatura ambiente até a secagem. Posteriormente, foram fotografadas com câmera Nikon D5100, e detalhes em Estereomicroscópio Leica® modelo EZ4D com câmera digital acoplada. A análise e descrição da arquitetura foliar foi realizada de acordo com a terminologia empregada por Ellis *et al.* (2009), enquanto os idioblastos traquoidais foram classificadas segundo Tucker (1964) e Rao & Das (1979).

### *Micromorfologia foliar*

Os estudos da superfície foliar foram realizados por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), utilizando secções de 3 mm<sup>2</sup> de tecido vegetal das mesmas regiões de interesse supracitadas. O material fresco foi desidratado em série etílica e posteriormente submetido à secagem via ponto crítico de gás carbônico, ou seja, pela substituição do etanol 100% por gás carbônico primeiramente liquefeito e posteriormente gasoso, na câmara do aparelho modelo EM CPD 030/LEICA. Com o auxílio de pinças e fita adesiva de carbono, as amostras foram fixadas em suportes apropriados (*stubs*), realizando a metalização das mesmas com ouro no metalizador LEICA modelo EM SCD 500. O material herborizado seco foi diretamente recoberto com ouro, sem passar por desidratação e secagem. As amostras foram analisadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390LV, sob 10KV e *working distance* de 10 mm. A cera foi clafoi realizada de acordo com a terminologia empregada por Koch, Bhushan, e Barthlott (2009) para ceras, por Eiten (1963) para cobertura de tricomas e por Radford *et al.*(1974) para a classificação dos tricomas.

## **RESULTADOS**

### *Caracterização geral da anatomia foliar de Oxalis polymorpha*

A região mediana dos pulvinos em seção transversal é caracterizada pela presença de epiderme unisseriada, córtex parenquimático amplo, e três a cinco camadas de células com paredes de espessamento péptico contornando a região vascular; mais internamente a medula é reduzida (Fig. 1.1A). Os pecíolos (Fig. 1.1B) possuem

epiderme unisseriada, composta por células geralmente isodiamétricas, com estômatos no mesmo nível das demais células, o córtex é formado por duas a três camadas de células parenquimáticas regulares, com inclusões cristalinas (drusas) na região mais interna do parênquima cortical. Fibras gelatinosas formam anel separando a região cortical da vascular. O sistema vascular com arranjo de arco aberto apresenta diversos feixes vasculares colaterais, com grandes feixes contínuos na região abaxial ou pequenos feixes separados por grupos de células parenquimáticas. As lâminas foliares são hipostomáticas. Em seção transversal, as lâminas foliares (Fig. 1.1C) são caracterizadas por epiderme unisseriada, com mesofilo dorsiventral, apresentando internamente à epiderme da face adaxial, uma camada de parênquima clorofiliano plicado, seguido por uma a três camadas de parênquima lacunoso. Células com conteúdo fenólico e cristais do tipo drusa se distribuem irregularmente ao longo do parênquima clorofiliano. O arranjo dos tecidos se estende até a margem, sendo que na nervura central são observadas células parenquimáticas de tamanho irregular se dispõem próximos da região vascular (Fig. 1.1C). Próximo aos feixes colaterais, podem ser verificadas fibras gelatinosas (Fig. 1.1D), variando a distribuição acordo com a planta analisada.



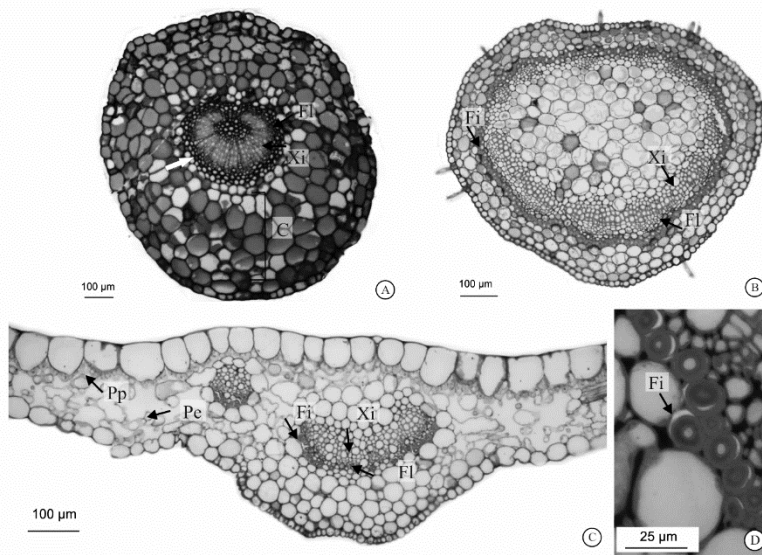


Figura 1.1: Secções transversais da região mediana do pulvino (A), pecíolo (B) e nervura central (C), detalhes das fibras gelatinosas próximas da região vascular da nervura central. C – CórTEX, FL – Floema, Fi – Fibras gelatinosas, Pe – Parênquima esponjoso, Pp – Parênquima plicado, Xi – Xilema.

Diante das características analisadas foi possível o reconhecimento de cinco morfotipos distintos (TIJ, CRM, CRA, MRL e LIN), cujas denominações estão relacionadas com suas respectivas localidades de coleta. Descrições e comentários sobre as estruturas foliares são apontados a seguir, e as principais características diagnósticas para os morfotipos são apresentadas na Tabela 1.2 e nas Figuras 1.2 a .9.

### *Caracterização morfoanatômica comparativa dos pulvinos e dos pecíolos*

As principais diferenças entre os pulvinos dos cinco morfotipos foram observadas em relação à vascularização. Assim, na região mediana

do pulvino a região vascular apresentou contorno de ferradura no morfotipo TIJ (Fig. 1.2A); com extremidades recurvadas e voltadas para o centro no morfotipo CRM (Fig. 1.2C) e contorno de ferradura fechada nos morfotipos CRA, MRL (Fig. 1.2B, D) e cilindro fechado em LIN (Fig. 1.2E).

Os pecíolos em vista frontal apresentam tricomas simples não septados em ambas as faces, formando uma cobertura moderada no morfotipos TIJ e CRA (Fig. 1.2F, G), esparsa no morfotipo CRM (Fig. 1.2H) e abundante nos morfotipos MRL, LIN (Fig. 1.2I, J). Nos morfotipos TIJ, CRA, CRM os tricomas simples são incurvados (Fig. 1.2F, G, H) e nos morfotipos MRL e LIN são eretos (Fig. 1.2I, J). Tricomas simples clavados foram observados esparsamente distribuídos em ambas as faces nos pecíolos nos morfotipos CRM, LIN e MRL (Fig. 1.2D-I). Em secção transversal os contornos dos pecíolos nos morfotipos variaram entre levemente elíptico nos morfotipos TIJ e CRA (Fig. 1.2K, L), circular no morfotipo CRM (Fig. 1.2M) e plano-convexo nos morfotipos LIN e MRL (Fig. 1.2 N, O).

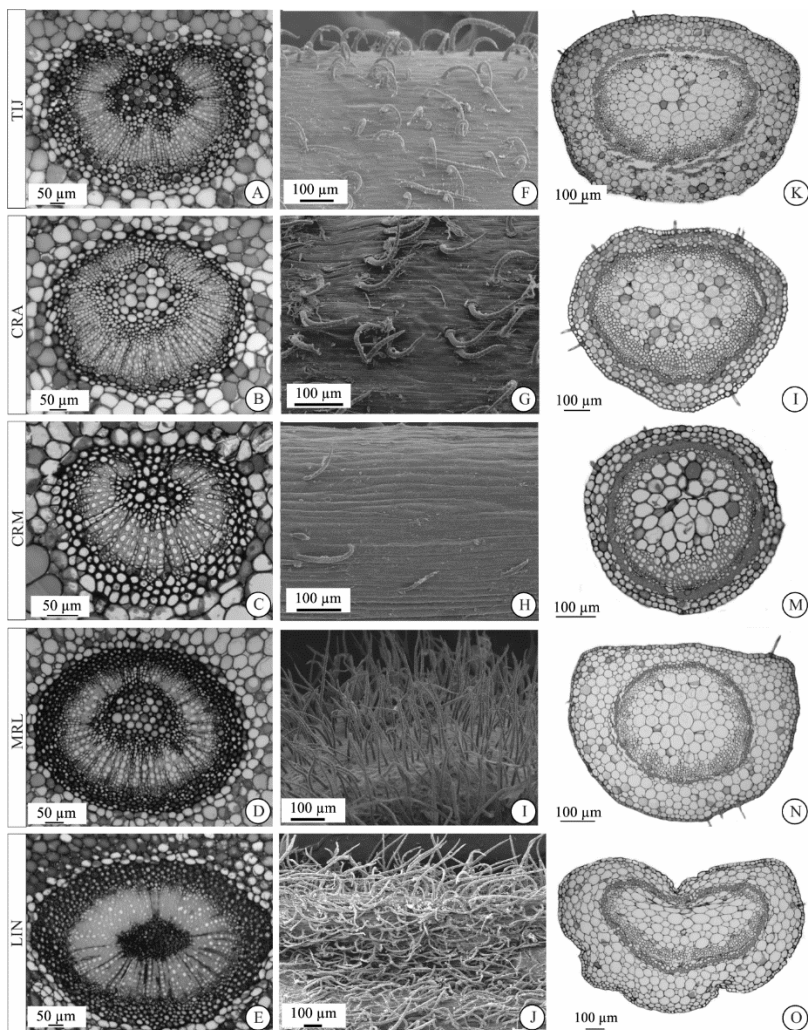


Figura 1.2: Pulvinos em seção transversal (A-E), eletromicrogravuras eletrônicas de varredura dos pecíolos em (F-J) e pecíolos em vista transversal (K-O) das folhas dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* analisados. A-E: Detalhes no arranjo da vascularização dos pulvinos, respectivamente: (A, B) Ferradura, (C) Ferradura com extremidades voltadas para o centro, (E) ferradura fechada. Notar células com espessamento péptico no contorno do sistema vascular. F-J.-). K-O- Contorno dos pecíolos em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: levemente elíptico (K, L), circular (M) e plano/convexo (N, O).

*Caracterização comparativa da lâmina foliar em vista frontal*

Em vista frontal as células epidérmicas da superfície foliar adaxial apresentam contorno reto no morfotipo TIJ (Fig. 1.3A), sinuoso no morfotipo CRM (Fig. 1.3B) e marcadamente sinuoso nos demais morfotipos (Fig. 1.3C). Na face abaxial o contorno é reto morfotipo TIJ (Fig. 1.3D) sinuoso no morfotipo CRM (Fig. 1.3E) e marcadamente sinuoso nos morfotipos CRA, MRL e LIN (Fig. 1.3F).

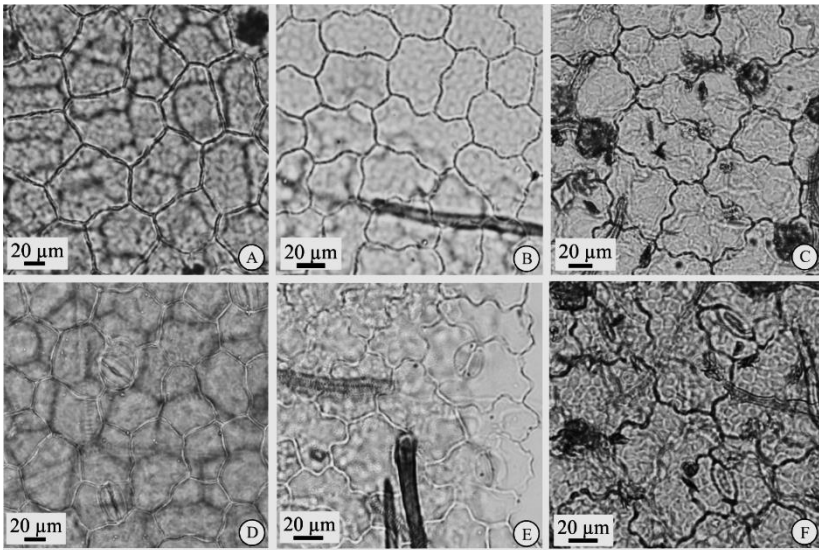


Figura 1.3: Epiderme em vista frontal. Epiderme da face adaxial (A-C): Contorno reto (A), sinuoso (B) marcadamente sinuoso (C). Epiderme da face abaxial (D-F): Contorno reto (D), sinuoso (E) e marcadamente sinuoso (F).

A cera epicuticular nos morfotipos TIJ e CRA apresentou ornamentação em forma de crosta pouco conspícua na face adaxial (Fig. 1.3A), enquanto na face adaxial e nos demais morfotipos a cera é do tipo roseta em ambas as faces, sendo mais evidente nas regiões de contato entre as células epidérmicas e estômatos (Fig. 1.3B-D).

Os tricomas clavados e os tricomas simples unicelulares nas lâminas foliares são similares aos dos pecíolos, sendo os últimos com ornamentações na parede e disposição ereta ou encurvada (Fig. 1.3E-H). Não foram observadas diferenças em relação aos tipos e à ornamentação dos tricomas entre os morfotipos. No entanto, há variação em relação ao padrão de distribuição dos mesmos. A face adaxial é glabra nos morfotipos TIJ, CRM, MRL e LIN (Fig. 1.5A, C-E), ou com tricomas simples não septados na região da nervura central do morfotipo CRA (Fig. 1.5B). Na face abaxial foram observadas variações em relação à cobertura destes tricomas, sendo regular no morfotipo TIJ e CRA (Fig. 1.4F, G) escassa no morfotipo CRM (Fig. 1.4H), abundante nos morfotipos MRL e LIN (Fig. 1.4I, J). O morfotipo TIJ apresentou tricomas com diferentes comprimentos, especialmente nas regiões da nervura central e próximo da margem (Fig. 1.4F, K). Na extremidade da margem, observa-se uma distribuição regular de tricomas simples nos morfotipos TIJ e CRA (Fig. 1.4K, L), escassa no morfotipo CRM (Fig. 1.4M) e abundantes nos morfotipos MRL e LIN (Fig. 1.4N, O). Na superfície abaxial da nervura central e na margem foliar de todos os morfotipos há tricomas simples clavados (Fig. 1.4H, I, J, K) distribuídos irregularmente. Somente o morfotipo CRA apresenta tricomas clavados na face adaxial (Fig. 1.4B).

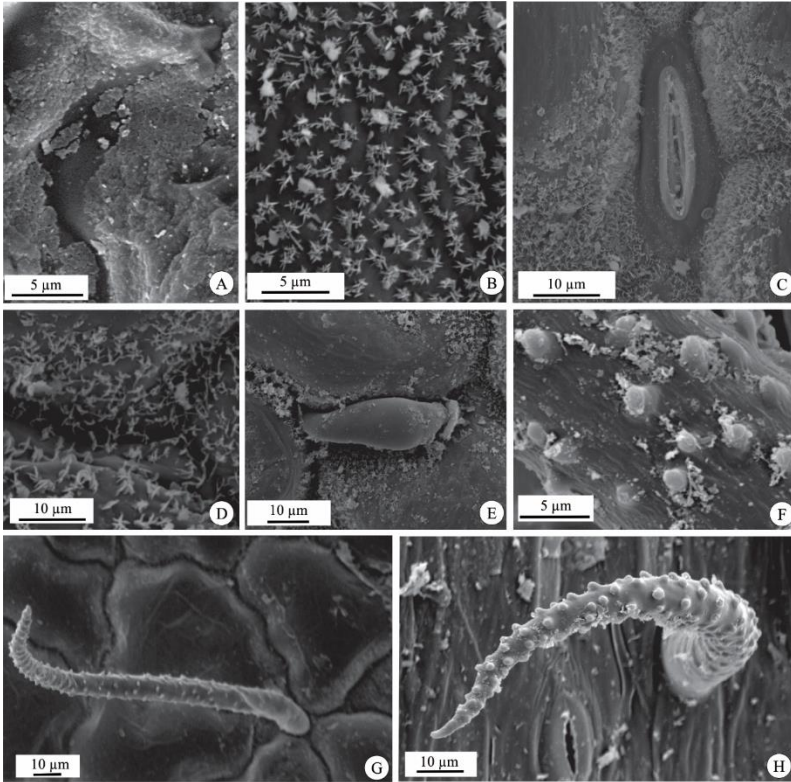


Figura 1.4: Eletromicrografias eletrônicas de varredura dos folíolos dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados (A-H). Face adaxial (A-B): cera epicuticular tipo crosta (A), roseta (B). Face abaxial (C-H): cera epicuticular tipo roseta (C), deposição de cera na região de contato entre as células epidérmicas (D). Tricoma clavado (E), detalhe de tricoma simples unicelular, com ornamentações na parede (F), tricoma simples ereto (G) e incurvado (H).

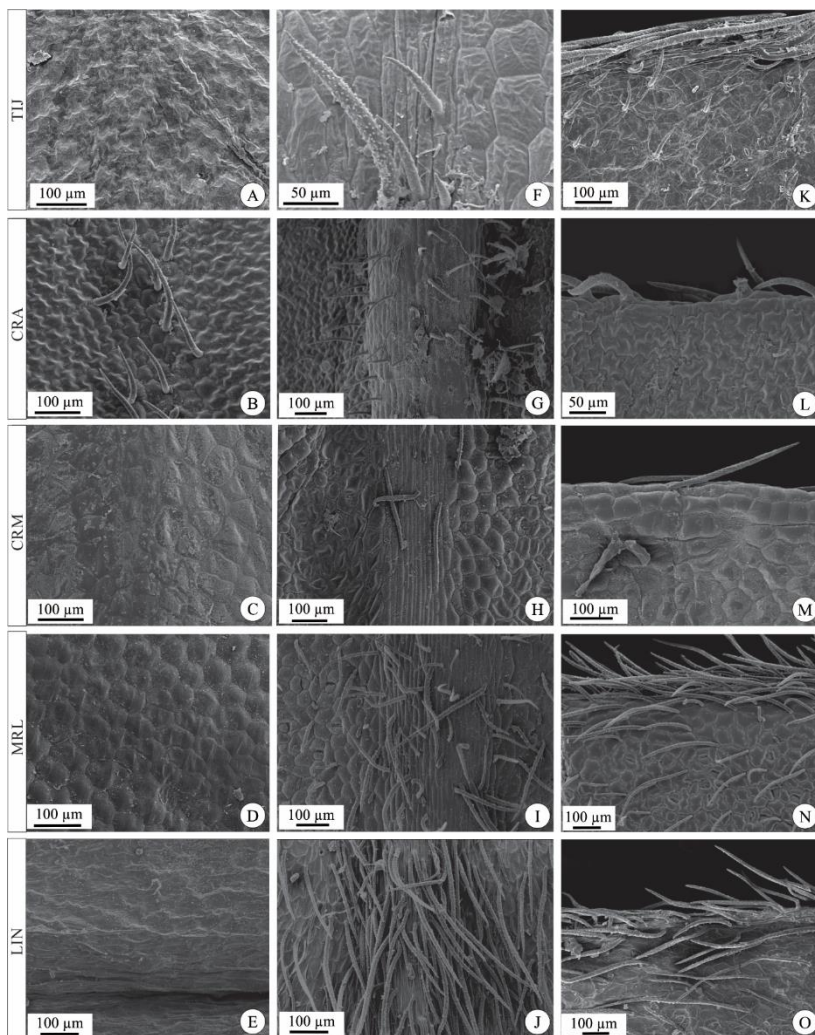


Figura 1.5: Eletromicrografias eletrônicas de dos folíolos basais dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados (A-O). Nervura central face adaxial (A-E): glabra (A, C-E), com tricomas simples (B). Nervura central face abaxial (F-J): cobertura de tricomas regular (F, G), escassa (H) e abundante (I, J). Margem foliar (K-O): cobertura de tricomas regular (K, L), escassa (M) e abundante (N, O). Notar presença de tricomas simples mais curtos que os demais (F, K).

*Caracterização morfoanatômica comparativa da lâmina foliar em secção transversal*

A nervura central é caracterizada por contornos distintos nas faces adaxial e abaxial, sendo: plano-convexo/plano-côncava no morfotipo TIJ (Fig. 1.5A), convexa/convexa no morfotipo CRM (Fig. 1.5C), plano-côncava/convexa nos morfotipos CRA e LIN (Fig. 1.5B, E) e plano/convexa no morfotipo MRL (Fig. 1.5D). Os morfotipos abaxialmente convexos (CRA, MRL e LIN) possuem a nervura central proeminente em relação ao restante da lâmina, enquanto nos demais morfotipos (TIJ, CRM) a nervura permanece sem saliência em relação ao restante da lâmina. Internamente na região vascular, fibras gelatinosas envolvem parcialmente os feixes no morfotipo CRM (Fig. 1.5H), se dispõem em calotas isoladas abaxialmente no morfotipo TIJ (Fig. 5F), formam um arco abaxial nos morfotipos MRL e LIN (Fig. 1.5I, J) ou são ausentes no morfotipo CRA (Fig. 1.5G). Abaxialmente à região vascular os morfotipos TIJ e CRA apresentam cerca de três a quatro estratos de células parenquimáticas (Fig. 1.5A, B), o morfotipo CRM apresenta somente um estrato (Fig. 1.5C) e os morfotipos MRL e LIN possuem de quatro a cinco estratos (Fig. 1.5D, E).

A margem exibe um contorno de padrão plano nos morfotipos CRM, MRL e LIN (Fig. 1.5O, Q, S) ou suavemente recurvada para a face abaxial nos morfotipos TIJ e CRA (Fig. 1.5K, M). Nas margens dos folíolos o volume das células epidérmicas é maior em relação ao volume das células do mesofilo (Fig. 1.5K-T).



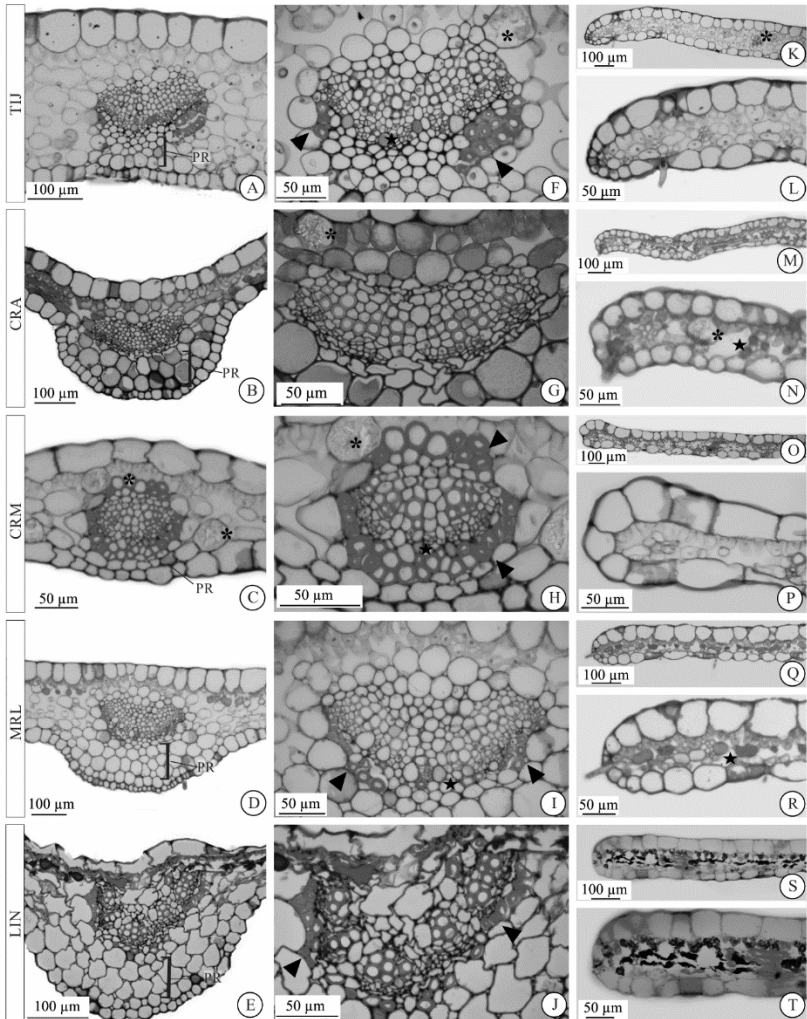


Figura 1.6: Seções transversais da região mediana da nervura central (A-J) e da margem (K-T) dos folíolos dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados. A-E- Contorno da nervura central em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: (A) ligeiramente plano/ligeiramente côncavo, (B) côncava/convexa, (C) convexo/convexo, plano/convexa (D-E). Notar número de camadas de parênquima regular (PR) entre o feixe e a epiderme da face abaxial variável entre os morfotipos. F-J - Detalhes da região vascular na nervura central. Observar distribuição das fibras gelatinosas na região vascular: em calotas isoladas na face abaxial (F), ausentes (G), envolvendo parcialmente os feixes adaxial e abaxialmente (H), em calotas dispersas na face abaxial dos feixes (I, J).

K-T. Contorno da margem: suavemente recurvada (K-N) e plana (O-T). Detalhes das margens dos folíolos: (L, N) células epidérmicas relativamente volumosas em relação às células do mesofilo; (P, R, T) células epidérmicas muito mais volumosas que as células do mesofilo. Fibras gelatinosas (cabeça de seta), idioblastos fenólicos (estrela) e cristais (asterisco).

Na região intermediária entre a nervura central e a margem foliar, a epiderme da face adaxial apresenta paredes periclinais externas planas, enquanto na face abaxial as paredes periclinais externas variam de irregularmente arredondadas nos morfotipos CRM, MRL e LIN (Fig. 1.7A) a planas nos morfotipos TIJ e CRA (Fig. 1.7B, C). As células epidérmicas comuns são mais altas na face adaxial do que na face abaxial nos morfotipos MRL e LIN (Fig. 1.7A) ou de tamanho similar nos morfotipos TIJ, CRA e CRM (Fig. 1.7B, C). Os estômatos do tipo anisóptico (Fig. 1.3E-F) são posicionados no mesmo nível que as demais células epidérmicas nos morfotipos TIJ e CRA (Fig. 1.7B, C) ou posicionados abaixo das demais células epidérmicas nos morfotipos CRM, MRL e LIN (Fig. 1.7A).

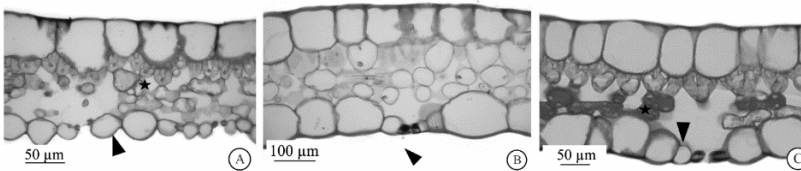


Figura 1.7: Região internervural em secção transversal (A-C) dos folíolos dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados. Região internervural: células epidérmicas da face adaxial mais altas que as da face abaxial (A), altura das células epidérmicas de ambas as faces similar (B, C), parede periclinal externa da face adaxial reta (A-C) e da face abaxial arredondada (A) e plana, (B, C); estômatos abaixo do nível das demais células epidérmicas (B) e no mesmo nível que as demais células epidérmicas, (B, C) (ponta de seta). Idioblastos fenólicos (estrela) e cristais (asterisco).

### *Venação foliar*

As folhas de todos os morfotipos exibem nervuras secundárias predominantemente decurrentes com a nervura principal, em um arranjo do tipo broquidódromo festonado (Fig. 1.8A-E). O espaçamento entre as nervuras secundárias ao longo da folha é irregular nos morfotipos TIJ e CRM (Fig. 1.8A, C), regular no morfotipo CRA (Fig. 1.8B) e mais concentradas na base nos morfotipos MRL e LIN (Fig. 1.8D, E). Os ângulos das nervuras secundárias com a primária ao longo da folha são variáveis e irregulares aumentando em direção ao ápice no morfotipo TIJ (Fig. 1.8A, E), regulares e com ângulos geralmente maiores que  $50^\circ$  no morfotipo CRA (Fig. 1.8B, G), irregulares no morfotipo CRM (Fig. 1.8C, D) e regulares e mais agudos (inferiores a  $40^\circ$ ) nos morfotipos MRL e LIN (Fig. 1.8D-I, E-J).

As nervuras intersecundárias exibem padrão excurrente (Fig. 1.8F-J). O número de nervuras por região intercostal variou entre os morfotipos, sendo menos de uma nos morfotipos TIJ, MRL e LIN (Fig. 1.8A, D, E), uma no morfotipo CRA (Fig. 1.8B) e mais de uma no morfotipo CRM (Fig. 1.8C). As nervuras intersecundárias seguem o mesmo ângulo e percurso que as nervuras secundárias adjacentes, exibindo padrão reticulado. (Fig. 1.8F-J). O arranjo da venação de terceira e quarta ordens segue o mesmo padrão reticulado irregular, conectando-se entre si, com as de maior ou menor calibre formando aréolas.

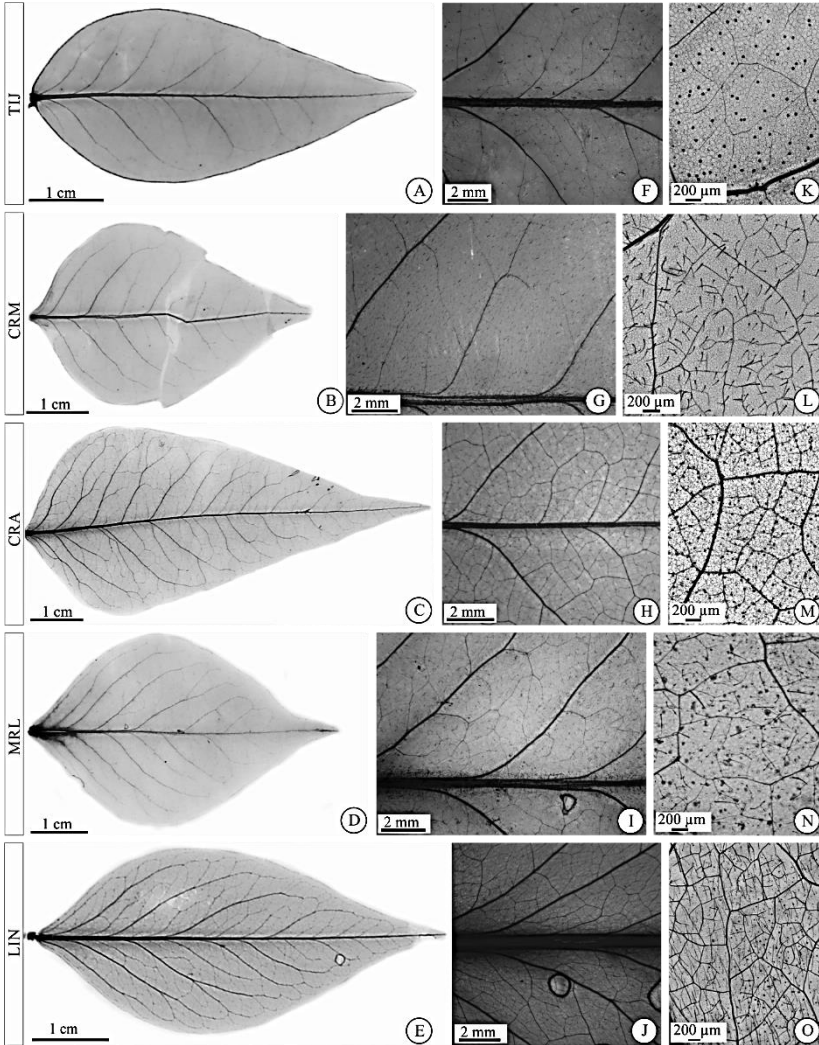


Figura 1.8: Visão geral do padrão de venação (A-E), detalhes da região mediana (F-J) e areolação (K-O) dos folíolos apicais dos morfotipos de *Oxalis polymorpha* estudados. Folhas inteiras (A-E): espaçamento e angulação das nervuras secundárias: irregular com ângulos aumentando sentido ápice (A) irregular com ângulos irregulares ao longo da extensão da lâmina (C), regular com ângulos maiores que  $50^\circ$  (B), irregular com nervuras mais concentradas na base e ângulos menores que  $40^\circ$  (D, E). Detalhes da região mediana dos folíolos com nervuras secundárias decorrentes (F-J): observar ângulos variados (F, H), regulares e

maiores que  $50^\circ$  (G) e ângulos menores que  $40^\circ$  (I, J). Areolação na região mediana dos folíolos (K-O): moderado desenvolvimento (K, O), bem desenvolvidas (M), pouco desenvolvidas (L, N).

A areolação nos morfotipos TIJ e LIN pode ser classificada como de desenvolvimento moderado, com aréolas de 4 a 5 lados, com tamanhos e formatos irregulares (Fig. 1.8K, O), no morfotipo CRM são bem desenvolvidas formando uma rede densa com aréolas de 4 a 5 lados e tamanhos regulares (Fig. 1.8M), enquanto nos morfotipos MRL e CRA são pouco desenvolvidas, com lados e tamanhos irregulares (Fig. 1.8L, N). As nervuras livres terminais no morfotipo TIJ não são ramificadas (Fig. 1.9K), enquanto nos demais possuem uma ou duas ramificações (Fig. 1.9L-O). Os idioblastos traqueoidais são simples nos morfotipos CRM e CRA (Fig. 1.9L, M) ou simples-afunilados no morfotipo TIJ (Fig. 1.9K); já os morfotipos MRL e LIN possuem as terminações dilatadas (Fig. 1.9N, O). A venação terminal marginal se apresenta incompleta no morfotipo TIJ (Fig. 1.9P), ou formando alças (*looped*) nos demais morfotipos (Fig. 1.9Q-T).

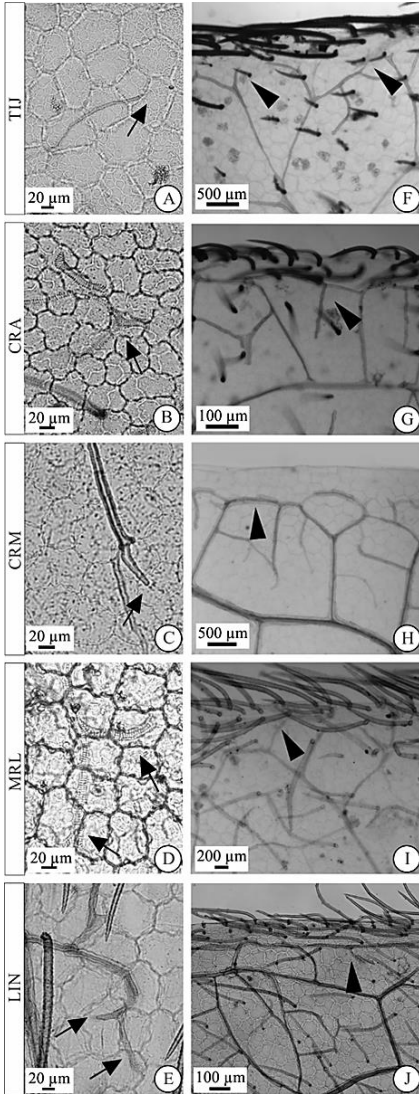


Figura 1.9 A-E – Aspecto das nervuras livres terminais e idioblastos traqueoidais: (A) não ramificadas e afunilada, (B, C) simples ramificadas simples, (D, E) ramificadas e dilatadas; F-J– Detalhe da venação terminal marginal: (F) incompleta, (G-J) formando alças. Terminação marginal (cabeça de setas), Nervuras livres terminais (setas).

Tabela 1.2: *Características diagnósticas foliares para os diferentes morfotipos de Oxalis polymorpha avaliados*

<b>Região e/ou sistema analisado</b>	<b>Característica</b>	<b>TIJ</b>	<b>CRM</b>	<b>CRA</b>	<b>MRL</b>	<b>LIN</b>
Venação	Espaçamento entre as nervuras secundárias	Irregular	Irregular	Regular	Irregular concentradas na base	Irregular concentradas na base
	Ângulo das nervuras secundárias em relação à principal	Irregulares aumentando sentido ápice	Ângulos irregulares	Regulares sempre maiores que 50°	Menores que 40°	Menores que 40°
	Frequência de nervuras intersecundárias	Menos de uma por região intercostal	Mais de uma por região intercostal	Uma por região intercostal	Menos de uma por região intercostal	Menos de uma por região intercostal
	Areolação	Moderado desenvolvimento	Bom desenvolvimento,	Pouco desenvolvidas	Pouco desenvolvidas	Moderado desenvolvimento
	Tipo de venação livre terminal	Geralmente não ramificada	Uma ou duas ramificações	Uma ou duas ramificações	Uma ou duas ramificações	Uma ou duas ramificações
	Idioblastos traqueoidais	Simple	Simple	Simple	Dilatadas	Dilatadas
	Venação marginal final	Incompleta	Alças	Alças	Alças	Alças
Pecíolo	Contorno geral do pecíolo em secção transversal	Levemente elíptico	Circular	Levemente elíptico	Plano/convexo	Plano/convexo
	Cobertura de tricomas simples no pecíolo	Moderada	Esparsa	Moderada	Abundante	Abundante

<b>Região e/ou sistema analisado</b>	<b>Característica</b>	<b>TIJ</b>	<b>CRM</b>	<b>CRA</b>	<b>MRL</b>	<b>LIN</b>
	Disposição dos tricomas simples no pecíolo	Incurvados	Incurvados	Incurvados	Eretos	Eretos
	Tricomas clavados no pecíolo	Ausentes	Presentes	Ausentes	Presentes	Presentes
Pulvino	Conformação da região vascular do pulvino	Ferradura	Ferradura com extremidades encurvadas voltadas para o centro	Ferradura fechada	Ferradura fechada	Cilindro fechado
Cobertura do limbo em geral	Padrão da cera epicuticular na face adaxial	Crosta	Roseta	Crosta	Roseta	Roseta
	Cobertura de tricomas simples na face abaxial	Restritos à nervura e próximos da margem	Escassa	Regular	Abundante	Abundante
	Tricomas clavoides na face adaxial	Ausentes	Ausentes	Presentes	Ausentes	Ausentes
	Contorno das células epidérmicas na face adaxial	Retas	Sinuosas	Marcadamente sinuosas	Marcadamente sinuosas	Marcadamente sinuosas
	Contorno das células epidérmicas na face abaxial	Retas	Sinuosas	Marcadamente sinuosas	Marcadamente sinuosas	Marcadamente sinuosas



<b>Região e/ou sistema analisado</b>	<b>Característica</b>	<b>TIJ</b>	<b>CRM</b>	<b>CRA</b>	<b>MRL</b>	<b>LIN</b>
Nervura central	Cobertura de tricomas na face adaxial	Glabra	Glabra	Tricomas simples	Glabra	Glabra
	Cobertura de tricomas na face abaxial	Regular	Escassa	Regular	Abundante	Abundante
	Proeminência da nervura central em relação ao limbo	Regular	Regular	Destacada na face abaxial	Destacada na face abaxial	Destacada na face abaxial
	Contorno da Nervura central em secção transversal (face adaxial/face abaxial)	Plano-convexo/plano-côncava	Convexa/convexa	Plano-côncava/convexa	Plano/convexa	Plano-côncava/convexa
	Número aproximado de camadas de células parenquimáticas abaixo do feixe na nervura central	Três a Quatro	Uma a duas	Três	Quatro a cinco	Quatro a cinco
Localização das fibras gelatinosas na região vascular	Calotas isoladas abaxialmente ao feixe, de forma esparsa.	Envolvendo parcialmente os feixes	Ausentes	Formando um arco abaxialmente aos feixes	Formando um arco abaxialmente aos feixes	
Margem	Disposição da margem	Suavemente recurvada	Plana	Suavemente recurvada	Plana	Plana

<b>Região e/ou sistema analisado</b>	<b>Característica</b>	<b>TIJ</b>	<b>CRM</b>	<b>CRA</b>	<b>MRL</b>	<b>LIN</b>
Região intermediária entre nervura central e margem	Cobertura de tricomas simples	Regular	Escassa	Regular	Abundante	Abundante
	Altura das células epidérmicas da face adaxial em relação à abaxial	Similar	Similar	Mais altas	Mais altas	Mais altas
	Posição dos estômatos em relação às células epidérmicas	Mesmo nível	Abaixo	Mesmo nível	Abaixo	Abaixo
	Parede periclinal externa das células epidérmicas da face abaxial (plano transversal)	Plana	Arredondada a irregular	Plana	Arredondada a irregular	Plana

## DISCUSSÃO

Além de fornecer importantes características com potencial taxonômico para *O. polymorpha*, a descrição das estruturas anatômicas permite complementar as informações existentes de morfoanatomia para o gênero *Oxalis*, especificamente para táxons do subgênero *Thamnoxy* até então não avaliados a este nível. De forma detalhada, o padrão de venação das lâminas foliares, a organização do sistema vascular no pulvino, o contorno dos pecíolos, da nervura central e da margem em secção transversal, a posição dos estômatos, o padrão de deposição de cera epicuticular, a distribuição e tipo de tricomas, são aqui apontados como importantes características para a delimitação dos morfotipos analisados.

Embora estudos que envolvam análise da venação foliar em Oxalidaceae sejam escassos, algumas características que são relevantes em outros grupos taxonômicos se mostraram úteis para distinção entre os morfotipos de *O. polymorpha*. O padrão reticulado irregular observado nas nervuras terciárias já é descrito para outras espécies do gênero *Oxalis* (Lourteig, 1980) o que sugere ser uma característica comum para o gênero.

O espaçamento e angulação das nervuras secundárias permite o agrupamento dos morfotipos LIN MRL que possuem nervuras agrupadas na região basal e a diferenciação entre os morfotipos TIJ, CRA, CRM que apresentaram padrões distintos cada. Em *Spondias* L. (Anacardiaceae) (Mitchell, John & Daly, 2015) essa característica contribuiu para diferenciação entre algumas espécies, juntamente com o tipo de nervura livre marginal. O padrão da nervura marginal é incompleto no morfotipo TIJ, distinto dos demais que apresentam padrão em alças.

O número de nervuras intersecundárias, os diferentes arranjos de areolação pouco variaram entre os morfotipos, entretanto, a venação livre terminal e os tipos idioblastos traqueoidais, exibiram-se importantes somados à outras características das nervuras dos folíolos. Em diferentes abordagens a combinação de características de padrão de venação revelou uma série caracteres úteis para diferenciação entre táxons de outros grupos taxonômicos. (Reis, Proença, & Sajo, 2005; Gomes-Bezerra, Soares-Silva, & Gomes, 2011; Thadeo *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2017; Rojas-Leal, Terrazas, & Villaseñor, 2018).

Apesar da estrutura interna do pulvino ser semelhante à descrita para espécies de outras famílias (Rodrigues) a organização da vascularização exibiu diferenças entre os morfotipos analisados. Sendo Pereira *et al.* (2018) indicaram essa característica como diagnóstica para distinção entre espécies de *Bauhinia* L. e *Schnella* Raddi. Além disso, a configuração do sistema vascular em folhas pode ser característica diagnóstica em diversas espécies de angiospermas (Gomes *et al.*, 2005; Rio, Kinoshita, & Castro, 2006; Araújo *et al.*, 2010; Moraes *et al.*, 2011; Carvalho *et al.*, 2017). Nos materiais examinados no presente estudo, a conformação da região vascular nos pecíolos é pouco variável entre os morfotipos, contudo na região mediana dos pulvinos, a região vascular exibiu contornos que contribuem ao reconhecimento dos morfotipos.

Nos morfotipos analisados, o contorno dos pecíolos em seção transversal exibe-se diferente entre quatro dos cinco morfotipos, permitindo o agrupamento do LIN com MRL. Já a organização dos tecidos internos manteve-se similar entre eles, sendo muito próxima à descrita em *Oxalis corniculata* L. (Metcalf & Chalk, 1957). Em diversos estudos a estrutura e o contorno do pecíolo é considerada como

importante característica taxonômica para distinção entre espécies de diversos grupos taxonômicos (Reis *et al.*, 2005; Lusa & Bona, 2009; Zoric *et al.*, 2012; Albert & Sharma, 2013; Coutinho, Francino, & Meira, 2013; Pereira *et al.*, 2018).

Conforme Eiten (1963) uma certa média e amplitude de variação na orientação dos tricomas permite a caracterização de espécies e subespécies, conferindo um caráter importante entre espécies do gênero *Oxalis*. As análises de microscopia eletrônica revelaram importantes diferenças no tipo de cobertura dos tricomas, onde o morfotipo CRM apresentou cobertura esparsa, TIJ e CRA, cobertura regular, e os morfotipos LIN e MRL apresentam o mesmo padrão de cobertura abundante. O morfotipo CRA diferencia-se do morfotipo TIJ por apresentar ambos tipos de tricomas na face adaxial da nervura central. Em outros estudos sobre a cobertura e tipos de tricomas é apontada como um caráter útil para distinção entre espécies de *Bauhinia* L. (Fabaceae) (Lusa & Bona; 2009), *Psychotria* L. (Rubiaceae) (Moraes *et al.*, 2011), na delimitação entre espécies de *Varronia* P. Browne (Boraginaceae) (Tölke *et al.*, 2013), em *Lychnophorinae* (Asteraceae) (Wagner *et al.*, 2014) e em *Argyrea* Lour. (Convolvulaceae) (Chitchak *et al.*, 2018).

Formas de deposição de cera na superfície foliar também podem ser diagnósticas, auxiliando na caracterização de categorias taxonômicas menos inclusivas (Wilkinson, 1979; Barthlott, 1981; Alquini *et al.*, 2003; Barthlott *et al.*, 2008; Koch *et al.*, 2009). O padrão de ornamentação de cera observado nos morfotipos, apresentou pouca variação, permitindo a diferenciação dos morfotipos CRA e TIJ com padrão de cera tipo crosta em relação aos demais que possuem cera tipo roseta. Ornamentações na cutícula mostraram-se relevantes para a diferenciação entre espécies dos

gêneros *Rondeletia* L. (Rubiaceae) (Kocsis, Daro, & Borhidi, 2004), *Ficus* L. (Moraceae) (Klimko & Truchan, 2006) e *Psychotria* L. (Rubiaceae) (Moraes *et al.*, 2011).

O contorno e a presença de fibras gelatinosas ao redor dos feixes vasculares na região da nervura central foliar se mostraram características úteis para distinção entre os cinco morfotipos. Apesar de não ser uma característica abordada para o gênero *Oxalis*, as fibras gelatinosas possuem a parede interna altamente higroscópica e podem estar relacionadas com a reserva de água (Chalk, 1989) e também permitir flexibilidade ao órgão. A disposição de fibras e o contorno da nervura central são considerados importantes caracteres para a distinção entre morfotipos do gênero *Campomanesia* Ruiz & Pav. (Myrtaceae) (de Oliveira *et al.*, 2018), e entre diferentes espécies de Salicaceae (Thadeo *et al.*, 2014).

As variações observadas no contorno das margens dos folíolos em vista transversal permitem agrupar os morfotipos TIJ e CRA que possuem contorno suavemente recurvado, enquanto os demais morfotipos o contorno é plano. Esta característica contribuiu para a sinonimização entre táxons, como no complexo *Anemopaegma arvense* (Firetti-Leggieri *et al.*, 2014), e para a distinção entre espécies de *Calolisianthus* (Griseb.) Gilg (Delgado *et al.*, 2011), e de *Bauhinia* L. e *Schnella* Raddi. (Pereira *et al.*, 2018).

O tipo de mesofilo dorsiventral observado corrobora o que é citado para Oxalidaceae (Metcalfe & Chalk, 1957). Estudos com espécies de *Oxalis* sul-africanas diagnosticaram outros arranjos de mesofilo, como homogêneo e isobilateral (Jooste *et al.*, 2016), que são associados a adaptações das plantas a condições climáticas extremas (Fahn & Cutler,

1992; Dickison, 2000; Evert, 2006) que não é observado nos morfotipos analisados no presente estudo. Drusas foram observadas em todos os morfotipos, em diferentes órgãos e regiões, mas não são reconhecidos como uma característica para distinção taxonômica (Metcalf & Chalk, 1957).

Para espécies de *Oxalis* é relatada a presença de epiderme unisseriada, com células epidérmicas proporcionalmente muito altas em relação à largura da lâmina, podendo ser arqueadas para fora, ou alongadas, parecidas com paliçada, e excedendo a espessura do mesofilo (Metcalf & Chalk, 1957) o que está de acordo com nossas observações. As variações na altura das células epidérmicas de ambas as faces também foram indicadas como distintivas em Myrtaceae (Gomes *et al.*, 2009) e em *Chamaecrista* (L.) Moench (Fabaceae) (Coutinho *et al.*, 2013). As variações registradas em relação à superfície epidérmica abaxial juntamente com o nível dos estômatos para às demais células epidérmicas agrupam os morfotipos CRM, MRL e LIN com contorno irregular e estômatos abaixo, enquanto os morfotipos TIJ e CRA possuem contorno plano e os estômatos no mesmo nível que as células epidérmicas. Estas mesmas características mostraram-se distintas entre as espécies de *Oxalis* sul-africanas avaliadas por Jooste *et al.* (2016) e forneceram suporte para clados previamente definidos a partir de estudos filogenéticos. O nível dos estômatos em relação às demais células epidérmicas também mostrou-se útil na distinção entre espécies de *Varronia* (Tölke *et al.*, 2013), no complexo de espécies *Anemopaegma arvense*, contribuindo para o reconhecimento e sinonimização de variedades (Firetti-Leggieri *et al.*, 2014) e entre diferentes espécies de Lauraceae (Gomes-Bezerra *et al.*, 2018).

A partir do conjunto das características analisadas, foi possível o reconhecimento de cinco distintos morfotipos de *O. polymorpha*, relacionados com diferentes localizações geográficas. Os morfotipos LIN e MRL compartilham diversas características que os distinguem dos demais morfotipos, entre as quais o padrão de venação das nervuras secundárias, a cobertura e tipo de tricomas e o arranjo das fibras gelatinosas da região vascular na nervura, entretanto distinguem-se entre si pelo contorno da nervura central e a conformação do sistema vascular no pulvino. O morfotipo CRM é distinguível dos demais principalmente pelo espaçamento e angulação irregular das nervuras secundárias, contorno do pecíolo, a escassez de tricomas em vista frontal, sistema vascular no pulvino em ferradura, juntamente com a distribuição das fibras gelatinosas que envolvem parcialmente os feixes na nervura central. Já o morfotipo TIJ possui diversas características em comum a todos os morfotipos, distinguindo-se dos demais pelo tipo de terminação nas nervuras, venação marginal incompleta, juntamente pela cobertura regular de tricomas na margem e pecíolo, além do contorno do sistema vascular em ferradura no pulvino e das calotas isoladas de fibras gelatinosas. O morfotipo CRA apresenta um conjunto de caracteres compartilhados com o morfotipo TIJ distinguível pela distribuição das nervuras de forma regular, presença de tricomas na face adaxial, ausência de tricomas tipo clava no pecíolo e ausência de fibras gelatinosas na nervura central.

Os resultados revelam a importância de estudos morfológicos e anatômicos em contribuição para delimitações em táxons de maior complexidade. O conjunto de dados apresentados sugere que os cinco morfotipos de *O. polymorpha* reconhecidos quanto à morfo-anatomia



foliar poderiam tratar-se de entidades taxonômicas distintas, o que deve ser futuramente elucidado do ponto de vista filogenético, em estudo que integre as informações aqui levantadas com outros aspectos da morfologia externa e dados moleculares.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos Algas e Plantas (PPGFAP), técnicos do Departamento de Botânica (CCBBOT) e técnicos dos Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), Laboratório Multi-usuário de Estudos em Biologia (LAMEB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

## REFERÊNCIAS

- Abreu M. C & Fiaschi P. 2015.** Flora do Brasil. *Oxalidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.*: 1.
- Albert S & Sharma B. 2013.** Comparative foliar micromorphological studies of some *Bauhinia* (Leguminosae) species. *Turkish Journal of Botany* **37**: 276–281.
- Alquini Y, Bona C, Boeger MRT, Costa CG & Barros CF. 2003.** Epiderme. In: Apezatto da Glória B, Carmello-Guerreiro M, eds. *Anatomia vegetal*. Viçosa: UFV, 1–438.
- Araújo JS, Azevedo AA, Silva LC & Meira RMSA. 2010.** Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in the Cerrado area ( Brazil ). *Plant Systematics and Evolution* **286**: 117–131.
- Athayde AE de, Richetti E, Wolff J, Lusa MG & Biavatti MW. 2019.** “Arnicas” from Brazil: comparative analysis among ten species. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **5**.
- Barthlott W. 1981.** Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nordic Journal of Botany* **1**: 345–355.
- Barthlott W, Ditsch F, Meusel I, Cutler D, Wilhelmi H, Neinhuis C & Theisen I. 2008.** Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical Journal of the Linnean Society* **126**: 237–260.
- Caddah MK, Lischka J & Mayer S. 2012.** Species limits in the *Kielmeyera coriacea* complex ( Calophyllaceae ) – a multidisciplinary approach. *Botanical Journal of the Linnean Society* **168**: 101–115.
- Caires CS, Gomes-Bezerra KM & Proença CEB. 2012.** Novos sinônimos e uma nova combinação em *Pusillanthus* (Loranthaceae). *Acta Botanica Brasilica* **26**: 668–674.
- Carvalho R, Cristina L, Pellissari O, Pace MR, Scremin-dias E, Arruda R de O & Farinaccio MA. 2017.** Leaf morphoanatomy of *Araujia* and *Morrenia* ( Asclepiadoideae , Apocynaceae ): phylogenetic implications and species key. *Botanical Journal of the Linnean Society* **20**: 1–14.
- Chalk L. 1989.** Fibers. In: Metcalfe C.R. & Chalk L., ed. *Anatomy of the dicotyledons. Wood Structure and conclusion of the general introduction*. Oxford: Oxford University.
- Chitchak N, Traiperm P, Staples G, Rattanakrajang P & Sumanon P. 2018.** Species delimitation of some *Argyreia* ( Convulvaceae ) using

phenetic analyses : insights from leaf anatomical data reveal a new species. *NRC Research Press* **17**: 1–17.

**Coutinho ÍAC, Francino DMT & Meira RMSA. 2013.** Leaf anatomical studies of *Chamaecrista* subsect. *Baseophyllum* (Leguminosae, Caesalpinioideae): New evidence for the up-ranking of the varieties to the species level. *Plant Systematics and Evolution* **299**: 1709–1720.

**Cruz R, Duarte M, Pirani JR & Melo-de-Pinna GFA. 2017.** Phylogenetic analysis and evolution of morphological characters in *Metrodorea* and related species in Rutoideae (Rutaceae). *Plant Systematics and Evolution* **303**: 927–943.

**Delgado MN, Azevedo AA, Silva LC, Valente GE & Kasuya MCM. 2011.** Comparative Anatomy of *Calolisianthus* Species (Gentianaceae – Helieae) From Brazil: Taxonomic Aspects. *Edinburgh Journal of Botany* **68**: 139–155.

**Dickison WC. 2000.** *Integrative Plant Anatomy*. San Diego: Academic Press.

**Eiten G. 1963.** Taxonomy and Regional Variation of *Oxalis* Section *Corniculatae*. I. Introduction, Keys and Synopsis of the Species. *American Midland Naturalist* **69**: 257–309.

**Ellis B, Daly DC, Hickey LJ, Johnson KR, Mitchell JD, Wilf P & Wing SL. 2009.** *Manual of Leaf Architecture*. Ithaca: Cornell University Press.

**Estelita-Teixeira ME. 1977.** Propagação vegetativa *Oxalis latifolia* Kunth (Oxalidaceae). *Boletim Botânica da Universidade de São Paulo* **5**: 13–20.

**Estelita-Teixeira ME. 1978.** Desenvolvimento anatômico do sistema Subterrâneo de *Oxalis latifolia* Kunth (Oxalidaceae) II - Sistema radicular. *Boletim Botânica da Universidade de São Paulo* **6**: 27–38.

**Evert RF. 2006.** *Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

**Fahn A & Cutler DF. 1992.** *Xerophytes: Encyclopedia of Plant Anatomy*. Berlin: Gebr. Borntraeger.

**Fiaschi P. 2012.** Two new species of *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Oxalidaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Kew Bulletin* **67**: 33–38.

**Fiaschi P. 2014.** Three new species and a revised key to species of *Oxalis* section *Polymorphae* (Oxalidaceae). *Brittonia* **66**: 134–150.

**Firetti-Leggieri F, Lohmann LG, Semir J, Demarco D & Castro MM. 2014.** Using leaf anatomy to solve taxonomic problems within the

*Anemopaegma arvense* species complex (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *Nordic Journal of Botany* **32**: 620–631.

**Gomes-Bezerra KM, Gomes SM, Silveira CEDS & Soares-Silva LH. 2018.** Leaf epidermal descriptors applied to the taxonomy of Lauraceae, including new anatomical characters. *Phytotaxa* **358**: 49–66.

**Gomes-Bezerra KM, Soares-Silva LH & Gomes SM. 2011.** Arquitectura foliar de las Lauraceae del Distrito Federal, Brasil, y nuevos patrones de venación propuestos. *Gayana. Botánica* **68**: 1–15.

**Gomes SMAA, Silva EAM da, Lombardi JA, Azevedo AA & Vale FHA. 2005.** Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de Hippocrateoideae (Celastraceae) no Sudeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **19**: 945–961.

**Gomes SM, Somavilla NSDN, Gomes-Bezerra KM, Miranda S do C de, Carvalho PS & Graciano-Ribeiro D. 2009.** Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. *Acta Botanica Brasilica* **23**: 224–238.

**Guarçoni EAE, De Azevedo AA & Da Costa AF. 2017.** The reestablishment of *Dyckia oligantha* and *D. nana* (Bromeliaceae, Pitcairnioideae), belonging to the *D. macedoi* complex. *Phytotaxa* **306**: 49–65.

**Johansen DA. 1940.** *Plant microtechnique*. New York: Mcgraw-Hill Book.

**Jooste M, Dreyer LL & Oberlander KC. 2016.** The phylogenetic significance of leaf anatomical traits of southern African *Oxalis*. *BMC Evolutionary Biology* **16**: 225.

**Klimko M & Truchan M. 2006.** Morphological variability of the leaf epidermis in selected taxa of the genus *Ficus* L. (Moraceae) and its taxonomic implications. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **75**: 309–324.

**Koch K, Bhushan B & Barthlott W. 2009.** Multifunctional surface structures of plants: An inspiration for biomimetics. *Progress in Materials Science* **54**: 137–178.

**Kocsis M, Daro J & Borhidi A. 2004.** Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* ( Rubiaceae ) species. *Plant Systematics and Evolution* **248**: 205–218.

**Lourteig A. 1980.** *Flora of Panama: Part IV Family Oxalidaceae*. Missouri Botanical Garden Press.

**Lourteig A. 1994.** *Oxalis* L. Subgenero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. *Bradea* **7**: 1–199.

**Lourteig A. 2000.** *Oxalis* L. Subgéneros *Monoxalis* (Small) Lourt. *Oxalis* y

Trifidus Lour. *BRADEA* 7: 201–629.

**Lusa MG & Bona C. 2009.** Análise morfoanatômica comparativa da folha de *Bauhinia forficata* Link e *B. variegata* Linn. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Acta Botanica Brasilica* 23: 196–211.

**Melo-de-Pinna GF de A. 2005.** Anatomia foliar de *Richtera* Kuntze (Mutisieae, Asteraceae). *Acta Botanica Brasilica* 18: 591–600.

**Metcalf CR & Chalk L. 1957.** *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford; London: At The Clarendon Press.

**Mitchell, John D & Daly DC. 2015.** A revision of *Spondias* L. (Anacardiaceae) in the Neotropics. *PhytoKeys* 55: 1–92.

**Moraes TM da S, Rabelo GR, Alexandrino CR, Silva Neto SJ da & Da Cunha M. 2011.** Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. *Acta Botanica Brasilica* 25: 178–190.

**Moroni P, O’Leary N & Filloy J. 2016.** Species delimitation in the *Aloysia gratissima* complex ( Verbenaceae ) following the phylogenetic species concept. *Botanical Journal of the Linnean Society* 180: 193–212.

**de Oliveira MIU, Funch LS, Santos F de AR dos & Landrum LR. 2011.** Aplicação de caracteres morfoanatômicos foliares na taxonomia de *Campomanesia* Ruiz & Pavón (Myrtaceae). *Acta Botanica Brasilica* 25: 455–465.

**de Oliveira MIU, Rebouças DA, Leite KRB, de Oliveira RP & Funch LS. 2018.** Can leaf morphology and anatomy contribute to species delimitation? A case in the *Campomanesia xanthocarpa* complex (Myrtaceae). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 249: 111–123.

**Paiva JGA de, Fank-de-carvalho SM, Magalhães MP & Graciano-Ribeiro D. 2006.** Verniz vitral incolor 500: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasilica* 20: 257–264.

**Paiva EAS, Pinho SZ de & Oliveira DMT. 2011.** Large Plants Samples: How to Process for GMA embedding? In: Chiarini-Garcia H, Melo RCN, eds. *Light microscopy: methods and protocols*. New York: Springer/Humana, 37–49.

**Pereira LBS, Costa-silva R, Felix LP & Agra M de F. 2018.** Leaf morphoanatomy of “ mororó ” (*Bauhinia* and *Schnella*, Fabaceae ). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 28: 383–392.

**Radford AE, Dickison WC, Massey JR & Murphy JC. 1974.** *Vascular*

*Plant Systematics*. HarperCollins.

**Rao TA & Das S. 1979.** Typology of foliar tracheoids in angiosperms. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section B. Part 2, Plant Sciences* **88**: 331–345.

**Reis RE & Alvim MN. 2013.** Anatomia foliar comparada de três espécies do gênero *Oxalis* L. (Oxalidaceae). *Periódico Científico do Núcleo de Biociências Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix* **3**: 59–72.

**Reis C dos, Proença SL & Sajo M das G. 2005.** Vascularização foliar e anatomia do pecíolo de Melastomataceae do cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botanica Brasílica* **18**: 987–999.

**Rio MCS, Kinoshita LS & Castro MM. 2006.** Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. *Revista Brasileira de Botânica* **28**: 713–726.

**Rojas-Leal A, Terrazas T & Villaseñor JL. 2018.** Foliar architecture of some members of the tribe Senecioneae (Asteraceae) with a key for identification of the Mexican genera. *Phytotaxa* **364**: 136.

**Sakai WS. 1973.** Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. *Stain Technology* **48**: 247–249.

**Shobe WR & Lersten NR. 1967.** A technique for clearing and staining gymnosperm leaves. *Botanical Gazette* **128**: 150–152.

**Stevens PF. 2001.** Angiosperm Phylogeny Website\_Oxalidaceae. *Angiosperm Phylogeny Website*.

**Stuessy TF. 2008.** *Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data*. New York, Chichester, West Sussex Copyright: Columbia University Press.

**Thadeo M, Azevedo AA & Meira RMSA. 2014.** Foliar anatomy of neotropical Salicaceae: potentially useful characters for taxonomy. *Plant Systematics and Evolution* **300**: 2073–2089.

**Tölke EEAD, Melo JIM De, Carmello-Guerreiro SM & Lacchia APS. 2013.** Leaf anatomy with emphasis on separation of two species of *Varronia* P. Br. ( Cordiaceae ) of the Brazilian semi-arid region. *Brazilian Journal Botany* **36**: 189–201.

**Tucker SC. 1964.** The Terminal Idioblasts in Magnoliaceous Leaves. *American Journal of Botany* **51**: 1051–1062.

**Wagner M de A, Loeuille BFP, Siniscalchi CM, Melo-de-Pinna GF & Pirani JR. 2014.** Diversity of non-glandular trichomes in subtribe Lychnophorinae (Asteraceae: Vernonieae) and taxonomic implications. *Plant Systematics and Evolution* **300**: 1219–1233.

**Wilkinson HP. 1979.** The plant surface (mainly leaf). In: Metcalfe CR, Chalk L, eds. *Anatomy of the Dicotyledons: 1*. Oxford; London: Clarendon Press, 97–165.

**Zoric L, Merkulov L, Lukovic J & Boza P. 2012.** Comparative analysis of qualitative anatomical characters of *Trifolium* L. (Fabaceae) and their taxonomic implications: Preliminary results. *Plant Systematics and Evolution* **298**: 205–219.

## **CAPÍTULO 02**



Morfoanatomia foliar como subsídio à taxonomia de *Oxalis neuwiedii*  
Zucc. (Oxalidaceae)

## RESUMO

*Oxalis neuwiedii* Zucc é uma espécie endêmica da Mata Atlântica que atualmente apresenta duas subespécies reconhecidas *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* e *O. neuwiedii* ssp. *paradoensis* Lourteig, entretanto os limites de delimitação não são muito claros. Avaliamos os caracteres morfológicos e anatômicos e seu potencial para estabelecimento de limites entre categorias infraespecíficas. Foram analisadas folhas de seis espécimes correspondentes a cinco localidades de ocorrência das subespécies, obtidos em campo e material de herbário e analisados por microscopia de luz e eletrônica de varredura. Diferenças no padrão de venação das lâminas foliares, contorno de células epidérmicas, cobertura de tricomas, conformação da região vascular do pulvino e organização dos tecidos na nervura central são apontados como principais características que diferiram entre os táxons. Os resultados demonstram que as análises de morfologia e a anatomia foliar foram importantes para o levantamento de características que possam contribuir na delimitação das subespécies. Sugerimos abordagens futuras para que sejam elucidadas as relações taxonômicas existentes entre as subespécies.

Palavras chave: Região vascular. Subespécies. Taxonomia. Tricomas. Venação foliar.

## INTRODUÇÃO

Anatomia vegetal tem sido uma ferramenta útil para a taxonomia vegetal, pois pode ser aplicada no fornecimento de dados adicionais referentes a características morfológicas externas e internas, e desta forma utilizadas com o intuito de resolver questões taxonômicas como problemas de delimitação de táxons (Metcalf & Chalk, 1957; Evert, 2006). Além disso, abordagens baseadas em estudos anatômicos têm

demonstrado sua importância no estudo de processos morfológicos e ontogenéticos investigando origem de determinadas estruturas com implicações no entendimento taxonômico de grupos vegetais (Dickison, 2000).

*Oxalis neuwiedii* Zucc. pertence à seção *Polymorphae* de *O.* subg. *Thamnoxys* (Endl.) Reiche (Oxalidaceae). A seção compreende 13 espécies, sendo que duas dessas espécies apresentam duas subespécies cada. As espécies são distribuídas em sua maioria, na Mata Atlântica brasileira entre os estados do Paraná e Ceará (Lourteig, 1994; Fiaschi, 2012, 2014; Vaio *et al.*, 2018) São ervas, com caules aéreos simples ou ramificados, folhas pinadas trifolioladas, discolores, com formato ovado, rombo ou lanceolado-acuminado, agudas no ápice e subcuneadas na base, inflorescências bífidias, com 11 a 25 flores, sementes pardo-alaranjadas, semiovoides, assimétricas, com 12 estrias transversais, depressões subretangulares e fendas desiguais (Lourteig, 1994).

Na revisão taxonômica de *O.* sect. *Polymorphae* são reconhecidas as subespécies *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* e *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* Lourteig (Lourteig, 1994). Embora ambas ocorram no domínio da Mata Atlântica, a subespécie típica possui distribuição geográfica restrita aos estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro, enquanto *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* tem ocorrência restrita à bacia do Rio Pardo, na divisa dos estados de São Paulo e Paraná (Fiaschi, 2014). A principal característica para distinção entre as subespécies é o padrão de cobertura de tricomas, onde, segundo Lourteig (1994), *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* possui tricomas na margem e nas nervuras das lâminas foliares, enquanto *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* é completamente glabra.

Embora sejam atualmente reconhecidas como subespécies, determinadas características no padrão morfológico e a área de distribuição distinta sugerem que possam se tratar de entidades taxonômicas distintas. Além disso, dados recentes obtidos a partir da análise de cariótipos (Vaio *et al.*, 2018) chamam a atenção para que revisões taxonômicas sejam realizadas para tentar esclarecer as relações entre *O. newwiedii* ssp. e táxons relacionados. Neste sentido, o levantamento de características a partir da anatomia foliar pode fornecer dados que auxiliem resolver questões relacionadas a delimitações intraespecíficas em *O. newwiedii*. Desta forma o principal objetivo deste estudo é investigar as estruturas anatômicas foliares entre as subespécies de *Oxalis newwiedii* visando contribuir com novos caracteres que auxiliem em sua delimitação taxonômica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Material botânico*

Para a condução do estudo, foram utilizadas amostras de material obtido em campo e herborizado, oriundos de coletas realizadas em diferentes localidades, indicadas na Tabela 1. Para todas as análises foram selecionadas folhas completamente expandidas do terceiro ao quinto nó. Sempre que possível, foram amostrados três indivíduos, de cinco localidades ao longo da área de ocorrência. O material coletado em campo foi fixado em FAA 70 por 48h (Formaldeído, Ácido Acético Glacial, Álcool Etílico 70% ) e transferido para etanol 70% (Johansen, 1940), onde foi armazenado. As amostras obtidas a partir de material herborizado foram submetidas a um tratamento de reidratação com água,

glicerina e detergente (Johansen, 1940) para então serem utilizadas de acordo com os procedimentos descritos a seguir.

Tabela 0.1 – Vouchers selecionados para estudo morfoanatômico de *Oxalis neuwiedii*. ES = Espírito Santo; SP = São Paulo.

Táxon	Voucher	Nº coletor	Localidade	Nº indiv.	Subespécie
<i>O. neuwiedii</i> ssp. <i>neuwiedii</i>	Ainda não tombado	Costa, T.S. 102	Linhares, ES	01	NEU
<i>O. neuwiedii</i> ssp. <i>neuwiedii</i>	FLOR 59852	Folli, D.A. 3791	Linhares, ES	01	NEU
<i>O. neuwiedii</i> ssp. <i>neuwiedii</i>	FLOR 50173	Duarte, A.P. 3706	Nova Venécia, ES	01	NEU
<i>O. neuwiedii</i> ssp. <i>pardoensis</i>	FLOR 58430	Caxambu, M.G. 5990	Eldorado, SP	01	PAR
<i>O. neuwiedii</i> ssp. <i>pardoensis</i>	FLOR 59060	Fiaschi, P. 4563	Cajati, SP	02	PAR

Para as análises morfoanatômicas foram selecionadas três amostras da lâmina foliar do folíolo basal na região do terço médio (incluindo três amostras da região da nervura central e três da margem), além do pecíolo e da região basal do pulvino da mesma folha, de cada indivíduo fixado. As amostras foram desidratadas em série etflica e infiltradas em historesina (resina plástica hidróxi-etil-metacrilato, Leica Historesin®, Heraeus-Kulzer, Hanau, Germany), conforme instruções do fabricante e adaptado de Paiva, Pinho, & Oliveira (2011). As amostras foram seccionadas em micrótomato rotativo manual (Modelo RM 2245, Leica Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch, Germany) com navalha de aço, na espessura de 5-7 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e afixadas em lâminas histológicas. As amostras foram então coradas com azul de toluidina

0,05% (em tampão citrato-fosfato, pH 4,5) (Sakai, 1973) e montadas em verniz vitral incolor (Acrix®), São Bernardo do Campo, Brasil) (Paiva et al., 2006) entre lâmina e lamínula para observação microscópica. Os registros fotográficos foram realizados em microscopia de luz com microscópio Olympus BX 41, com câmera digital colorida com 3.3 mpixel e programa de captura de imagens Q-capture Pro 5.1 da Q-imaging.

Para a observação do padrão de venação foliar foram diafanizados os folíolos apicais de três folhas, conforme protocolo de Shobe & Lersten (1967) adaptado por Caires, Gomes-Bezerra & Proença (2012). As amostras foram montadas entre placas de vidro, utilizando verniz vitral incolor e foram mantidas em temperatura ambiente até a secagem. Posteriormente, foram fotografadas com câmera Nikon D5100, e detalhes em Estereomicroscópio Leica® modelo EZ4D com câmera digital acoplada. A análise e descrição da arquitetura foliar foi realizada de acordo com a terminologia empregada por Ellis *et al.* (2009), enquanto os idioblastos traqueoidais foram classificadas seguindo Tucker (1964) e Rao & Das (1979).

Os estudos da superfície foliar foram realizados por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), utilizando secções de 3 mm<sup>2</sup> de tecido vegetal das mesmas regiões de interesse supracitadas. O material coletado em campo foi desidratado em série etílica e posteriormente submetido à secagem via ponto crítico de gás carbônico, utilizando aparelho modelo Leica® EM CPD 030. Com o auxílio de pinças e fita adesiva de carbono, as amostras foram fixadas em suportes, e a seguir foram metalizadas com ouro no metalizador Leica® modelo EM SCD 500. O material herborizado seco foi diretamente recoberto com

ouro. As amostras foram analisadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390LV, sob 10KV e “*working distance*” de 10 mm. A análise e a descrição das estruturas foram realizadas de acordo com a terminologia empregada por Koch, Bhushan, e Barthlott (2009) para ceras, e por Eiten (1963) para cobertura e caracterização dos tricomas.

## RESULTADOS

As principais características que distinguem os indivíduos de *Oxalis neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) e *Oxalis neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) analisados nesse estudo estão apresentadas na Tabela 2.2 e nas Figuras 2.1 a 2.6.

### *Caracterização dos pulvinos*

A região mediana dos pulvinos das subespécies de *Oxalis neuwiedii* caracterizam-se, em seção transversal, pela presença de epiderme uniestratificada, córtex parenquimático amplo, três a quatro camadas de células com paredes com espessamento péptico contornando o sistema vascular e medula reduzida (Fig. 2.1A, B). Na região proximal do pulvino, a região da medula é mais reduzida, enquanto a região do córtex é mais ampla, padrão invertido na região distal. As principais diferenças entre os pulvinos das subespécies foram observadas na vascularização. Assim, a região vascular apresentou contorno de ferradura na subespécie PAR (Fig. 2.1C) e em contorno de U com extremidades voltadas para o centro em NEU (Fig. 2.1D).

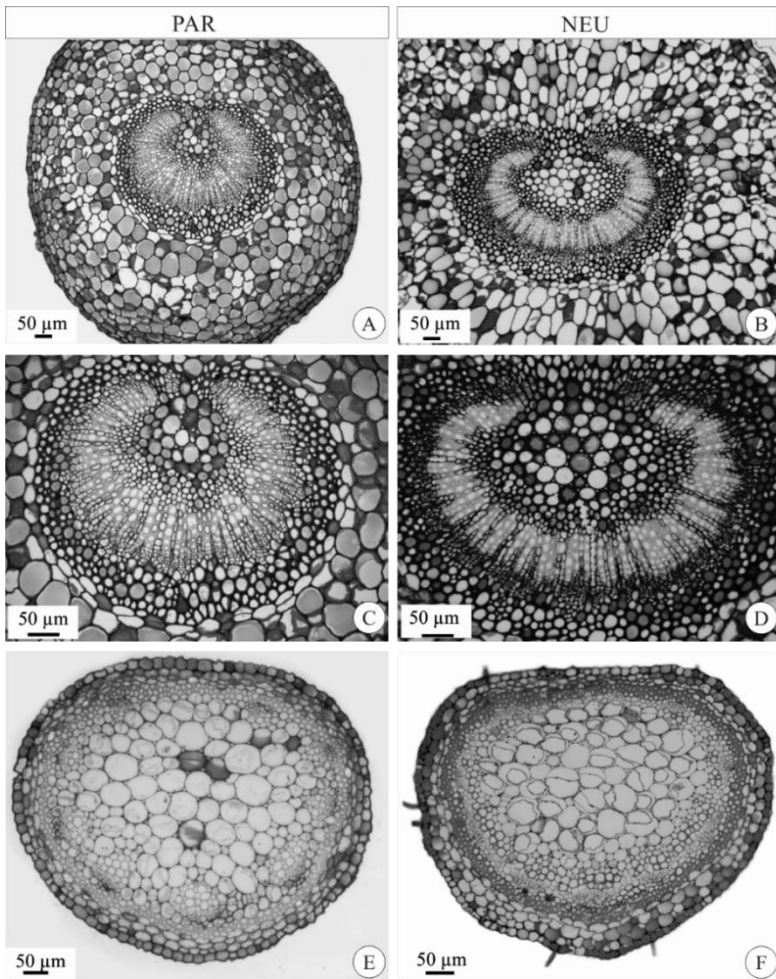


Figura 0.1: Secções transversais da região proximal do pulvino e do pecíolo das folhas de *Oxalis neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (A, C, E) e *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (B, D, F) estudados. A, C, B, D – Aspecto geral dos pulvinos e arranjo da vascularização (C) arco em contorno de ferradura, (D) arco em contorno de U aberto com extremidades voltadas para o centro. E, F – Contorno dos pecíolos em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: (E) oval, e (F) oval com pequena projeção na região abaxial

### *Caracterização dos pecíolos*

Em secção transversal os pecíolos apresentaram contorno oval em ambas subespécies (Fig. 2.1E, F) sendo que em PAR é observada uma projeção abaxial (Fig. 2.1F). Os pecíolos possuem epiderme unisseriada, composta por células geralmente isodiamétricas, com estômatos no mesmo nível das demais células. Inclusões do tipo cristal de oxalato de cálcio são observadas na região mais interna do parênquima cortical. Fibras gelatinosas compõem o cilindro vascular em forma de anel (Fig. 2.1E, F). Em relação à disposição, o sistema vascular apresenta estrutura em ferradura, com os feixes vasculares do tipo colateral.

A superfície dos pecíolos apresenta tricomas simples não septados em toda a superfície epidérmica nas duas subespécies (Fig. 2.2A, B, G, H) formando uma cobertura moderada em NEU (Fig. 2.2G, H) e esparsa em PAR (Fig. 2.2A, B). Em PAR os tricomas simples são incurvados (Fig. 2.2A) e em NEU os tricomas simples são eretos (Fig. 2.2G, H). Tricomas clavados (Fig. 2.2I) são distribuídos esparsamente sobre os pecíolos em ambas as subespécies.



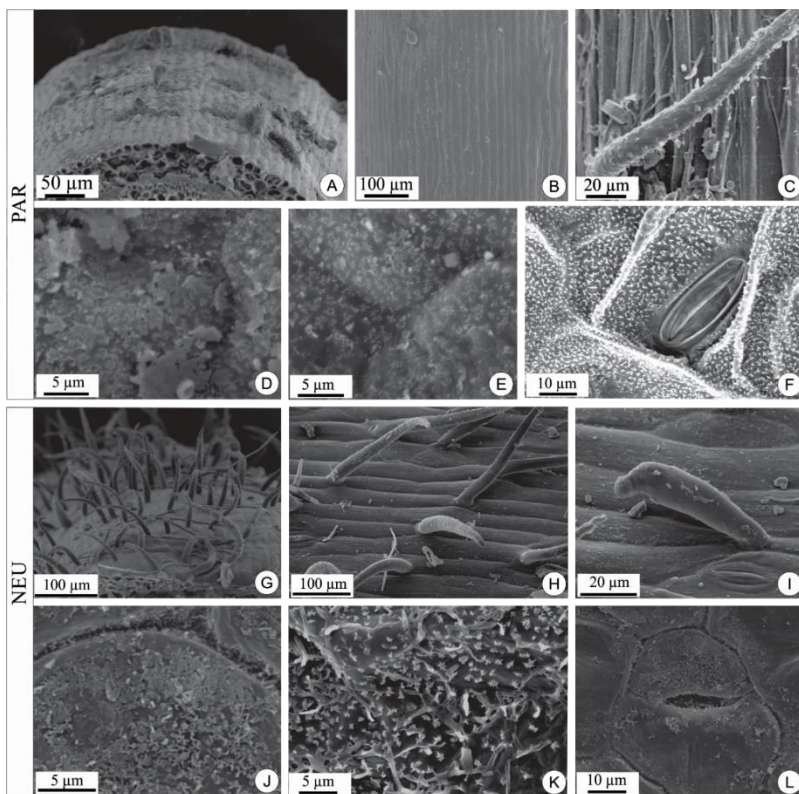


Figura 0.2: Vista frontal obtida por microscopia eletrônica de varredura dos pecíolos (A-B), da superfície epidérmica adaxial do limbo (D, J), e abaxial (E, F, K, L); detalhes de tricomas simples (C) e clavados (I) dos folíolos basais de *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (A-F) e *Oxalis neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (G-L) estudados. A, B, G, H – Cobertura de tricomas nos pecíolos: (G-H) moderada, (A-B) esparsa. D, J - Superfície epidérmica adaxial das lâminas foliares com detalhes do tipo de ornamentação de cera epicuticular: (D, J) crosta. E, F, K, L - Superfície epidérmica abaxial das lâminas foliares com detalhes para o tipo de ornamentação de cera epicuticular: (K, E) roseta, detalhes da ornamentação tipo roseta na região dos estômatos (F, L).

### Caracterização da lâmina foliar

Em vista frontal a superfície epidérmica do limbo foliar de ambas subespécies apresentou ornamentações da cera epicuticular nas duas faces (Fig. 2.2D-F, J-L). Na superfície adaxial a cera é depositada em forma de crosta (Fig. 2.2D, J), enquanto na face abaxial a cobertura é do tipo roseta (Fig. 2.2E, K), sendo mais evidente nas regiões de contato entre as células epidérmicas e na região próxima aos estômatos (Fig. 2.2F, L). Em ambas subespécies o contorno das células epidérmicas na superfície foliar adaxial é sinuoso (Fig. 2.3D, H), enquanto na face abaxial o contorno das células epidérmicas é reto em NEU (Fig. 2.3C), e sinuoso em PAR (Fig. 2.3G). Ambas as subespécies são hipoestomáticas, com estômatos anisocíticos (Fig. 2.3C, G).

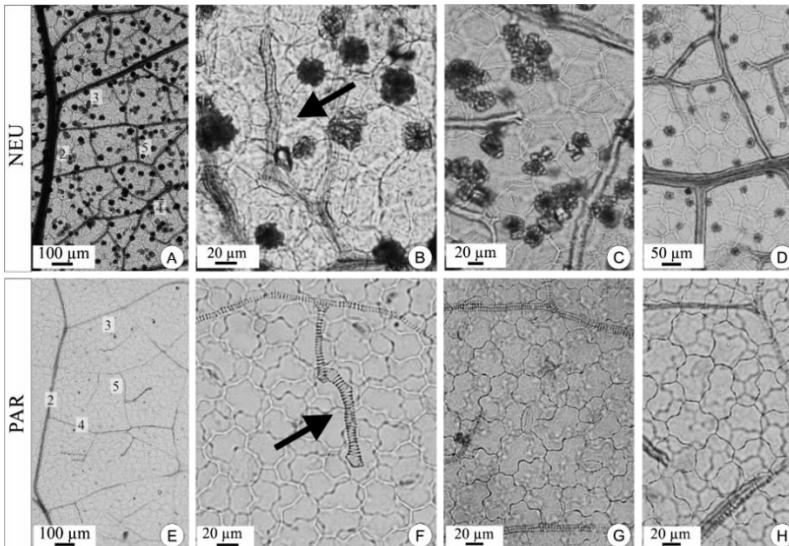


Figura 0.3: Detalhes no padrão de venação foliar: (A, E) padrão de areolação do tipo bem desenvolvidas, (B, F) detalhe das nervuras livres terminais, vista da superfície epidérmica abaxial (C, G) e adaxial (D, H) dos folíolos apicais de *Oxalis newwiedii* ssp. *newwiedii* (NEU) (A-D) e *O. newwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (E-H) estudados. A, E – Aspecto geral da areolação do tipo bem desenvolvidas; B, F– Aspecto das nervuras livres terminais e

traqueoidais: (B) com uma ramificação e afuniladas, (F) não ramificadas e dilatadas. C, D, G, H – Contorno das células epidérmicas: face abaxial (C) contorno sinuoso, (G) sinuoso; face adaxial contorno sinuoso (D, H). Ordem das nervuras (2 secundária, 3: ordem, 4: ordem, 5: ordem), nervuras livres terminais (setas).

Em relação à cobertura de tricomas, a face adaxial da lâmina foliar é predominantemente glabra em PAR (Fig. 2.4A) e com tricomas simples na região da nervura central em NEU (Fig. 2.4D). Na face abaxial do limbo foram observadas variações em relação à cobertura de tricomas simples e clavados, sendo esparsa com tricomas restritos à região da nervura central em PAR (Fig. 2.4B), ou regularmente distribuídos pelo limbo em NEU (Fig. 2.4E). Na extremidade da margem a distribuição de tricomas simples e clavados é escassa em PAR (Fig. 2.4C) e moderada em NEU (Fig. 2.4F).

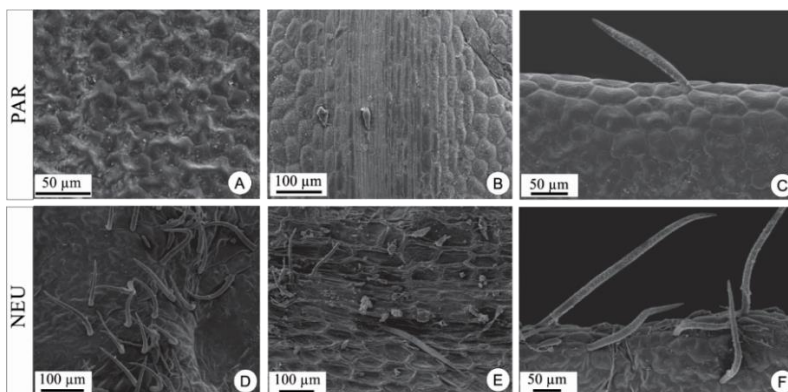


Figura 0.4: Vista frontal por microscopia eletrônica de varredura na região da nervura central vista adaxial (C, F), nervura central vista abaxial (A, D) e margem (B, F) dos folíolos basais de *Oxalis neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (A-C) e *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (D-F) estudados. A, D– Detalhes na cobertura de tricomas na nervura central na face adaxial: (A) esparsa com tricomas restritos à região da nervura central, (D) cobertura regular no limbo e nervura central. B, E – Aspecto da cobertura de tricomas na região exterior da margem: (B) escassa, (E) regular. C, F - Detalhes na cobertura de tricomas na nervura central na face adaxial: (C) ausentes, (F) presentes

Em vista transversal a nervura central dos indivíduos analisados é caracterizada por distintos contornos em relação às faces adaxial e abaxial: convexa/plano-côncava em PAR (Fig. 2.5A) e convexa/côncava em NEU (Fig. 2.5B). Em ambos os casos a nervura central é pouco proeminente em relação ao mesofilo. Internamente, fibras gelatinosas distribuídas em placas envolvem parcialmente os feixes em NEU (Fig. 2.5D), porém estão ausentes em PAR (Fig. 2.5C). Abaxialmente ao feixe vascular os indivíduos de PAR apresentam duas a três camadas de células parenquimáticas (Fig. 2.5A, C), enquanto os indivíduos de NEU possuem somente uma (Fig. 2.5B, D). A margem foliar de ambas as subespécies analisadas apresentam contorno arredondado e posição plana em relação ao restante do limbo (Fig. 2.5E, F).

Na região intermediária entre a nervura central e a margem não foram observadas diferenças entre as subespécies. Em geral, apresentam epiderme é uni-estratificada em ambas as superfícies (Fig. 2.5G, H), parede periclinal externa mostra-se plana adaxialmente, enquanto na face abaxial é irregular, com células de contorno arredondado em ambas as subespécies (Fig. 2.5G, H). A altura das células epidérmicas na face adaxial mostra-se maior que na face abaxial em e os com estômatos posicionados no mesmo nível que as demais células epidérmicas (Fig. 2.5G, H). O mesofilo é dorsiventral e apresenta, internamente à epiderme da face adaxial, uma camada de parênquima clorofiliano plicado, seguida por uma a três camadas de parênquima lacunoso (Fig. 2.5G, H). Compostos fenólicos e drusas estão distribuídos irregularmente ao longo do parênquima clorofiliano do mesofilo (Fig. 2.5D-F, H).

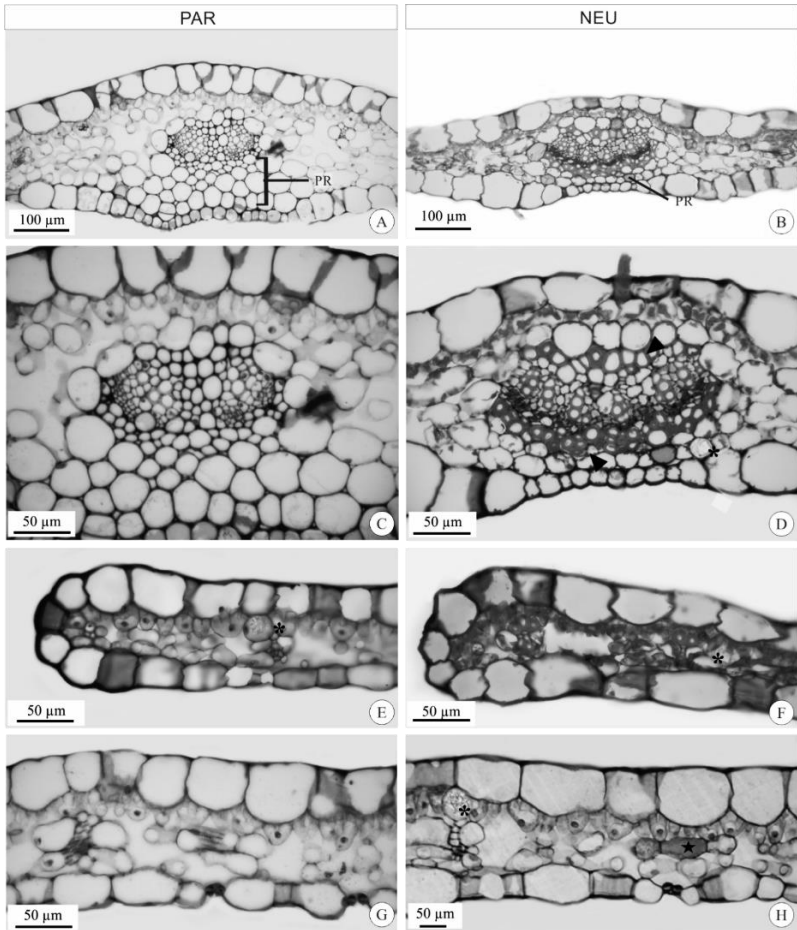


Figura 0.5: Secções transversais da região mediana da nervura central (A-C, B-D) da margem (E-F) e da região internervural (G-H) dos folíolos de *Oxalis neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (A, C, E, G) e *O. neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (B, D, F, H) estudados. A, B - Contorno da nervura central em relação às faces adaxial e abaxial, respectivamente: (A) convexo/plano-côncava, (B) convexa/côncava. Notar número de camadas de parênquima regular entre o feixe e a epiderme da face abaxial. Observar camadas de células parenquimáticas abaixo dos feixes vasculares. Observar distribuição das fibras gelatinosas na região vascular: (C) envolvendo parcialmente os feixes adaxial e abaxialmente, (D) ausentes. E-F - Detalhes das margens dos folíolos,

disposição plana e contorno arredondado. Fibras gelatinosas (cabeça de seta), idioblastos fenólicos (estrela) e cristais (asterisco), parênquima regular (PR).

### *Venação foliar*

Ambas as subespécies possuem nervuras secundárias decurrentes com a nervura principal (Fig. 2.6A, F) em um arranjo broquidródromo festonado (*festooned brochidromous*), com nervuras secundárias unindo-se em arcos irregulares e pouco proeminentes (Fig. 2.6B, G). O espaçamento entre as nervuras secundárias é regular ao longo da folha em ambas as subespécies (Fig. 2.6A, C-E, F - L). Os ângulos entre as nervuras secundárias e a principal obedecem ao padrão regular maior que 40° em NEU (Fig. 2.6A, C-E) e aumentam de 30° a 80° em direção ao ápice em PAR (Fig. 2.6F, H-L).

A frequência de nervuras intersecundárias é de cerca de uma ou duas em ambas as subespécies (Fig. 2.6A, F). O percurso e a angulação das nervuras intersecundárias são semelhantes aos das nervuras secundárias adjacentes exibindo padrão reticulado ao longo da extensão da lâmina, formando uma rede com as demais nervuras adjacentes e de menor ordem (Fig. 2.6D, I). O arranjo das nervuras terciárias segue o mesmo padrão reticulado irregular, conectando-se com as de menor calibre (4ª e 5ª ordem). As nervuras de menor calibre arranjam-se em reticulado irregular, conectando-se e formando aréolas (Fig. 2.3A, E).

A areolação em ambas as subespécies é classificada como de bom desenvolvimento, com aréolas de quatro a cinco lados, com tamanhos e formatos irregulares (Fig. 2.3A, E). As nervuras livres terminais em NEU possuem uma ramificação, com idioblastos

traqueoidais de formato afunilado (Fig. 2.3B), enquanto em PAR as nervuras livres terminais não são ramificadas e os idioblastos traqueoidais terminais são do tipo simples dilatadas (Fig. 2.3F). O padrão de venação terminal marginal se apresenta formando alças nas duas subespécies (Fig. 2.6B, G).

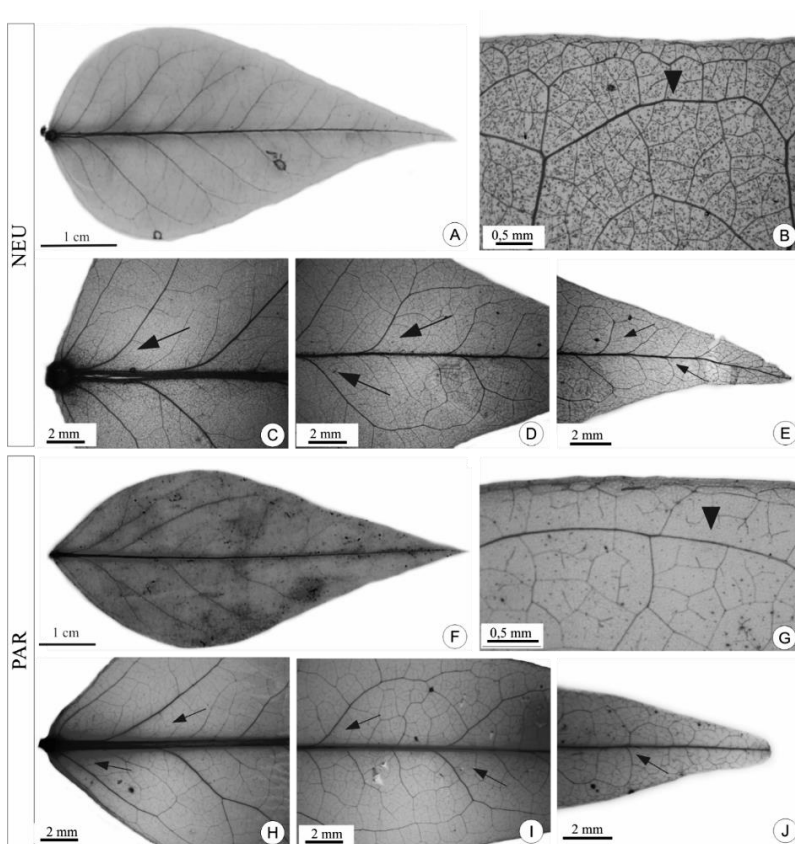


Figura 0.6: Padrão de venação foliar em vista geral (A, F), detalhes da região basal (C, H) mediana (D, I), apical (E, J) e venação marginal (B, G) dos folíolos apicais de *Oxalis neuwiedii* ssp. *neuwiedii* (NEU) (A-E) e *O. neuwiedii* ssp. *pardoensis* (PAR) (F-J) estudados. A, C, F, E, F, H, I, J– Visão

geral e detalhes da venação dos folíolos com padrão pinado, brochidródromo decorado (*festooned*): (A, C-E) nervuras secundárias decurrentes com a principal, e espaçamento regular; (C-E) ângulos das nervuras secundárias com a principal regulares e maiores que  $40^\circ$ ; (F, H-J) espaçamento das nervuras secundárias regular: (H) com ângulos agudos ( $30^\circ$ ) na base e (I, J) aumentando em direção ao ápice ( $80^\circ$ ). B, G – Aspecto das nervuras secundárias formando alças com as nervuras secundárias adjacentes, e da venação marginal. Nervuras secundárias formando ângulos com a principal (setas), alças formadas pelo contato entre nervuras secundárias (pontas de seta).



*Tabela 0.2: Características diagnósticas para O. neuwiedii ssp. neuwiedii (NEU) e O. neuwiedii ssp. pardoensis (PAR) avaliadas*

<b>Região</b>	<b>Característica</b>	<b>PAR</b>	<b>NEU</b>
Pulvino	Contorno da região vascular	Ferradura	U com extremidades voltadas para o centro
Pecíolo	Cobertura de tricomas no pecíolo	Esparsa	Moderada
	Forma dos tricomas simples no pecíolo	Encurvado	Reto
Limbo foliar	Cobertura de tricomas na face abaxial do limbo	Esparsa	Regular
	Tricomas tipo clava no limbo face adaxial	Ausentes	Presentes
	Tricomas simples e clavados na nervura central na face adaxial	Ausentes	Presentes
Margem foliar	Distribuição dos tricomas na margem	Esparsa e irregular	Moderada e regular
	Tricomas tipo clavados na margem	Presentes/esparsos	Presentes/regulares
Epiderme	Contorno das células epidérmicas abaxial	Sinuoso	Reto
Nervura Central	Contorno da nervura central (Adaxial/Abaxial)	Convexa/plano-côncava	Convexa/côncava
	Número de camadas de células parenquimáticas abaixo do feixe vascular	Duas a três camadas	Uma camada
	Localização das fibras gelatinosas na região vascular	Ausentes	Em placas adaxial e abaxial

<b>Região</b>	<b>Característica</b>	<b>PAR</b>	<b>NEU</b>
Padrão de Venação	Ângulo das nervuras secundárias em relação à principal	Aumentam em direção ao ápice (30° a 80°)	Regulares na extensão (>40°)
	Nervuras livres terminais	Não ramificadas	Uma ramificação
	Tipo de idioblastos traqueoidais	Simples dilatadas	Simples afunilado



## DISCUSSÃO

Entre as características estudadas as mais importantes para contribuir à delimitação entre as subespécies de *Oxalis newwiedii* foram: a cobertura de tricomas, a angulação das nervuras secundárias em relação à primária, as nervuras livres terminais em conjunto do tipo idioblastos traqueoidais, o contorno do feixe vascular nos pulvinos, contorno e a organização dos tecidos do parênquima regular e esclerênquima na região da nervura central e o contorno das células epidérmicas.

Os dados sobre cobertura e tipo de tricomas observados *O. newwiedii* ssp. *newwiedii* condizem com as descrições realizadas por Lourteig (1994), ou seja, o táxon apresenta uma cobertura moderada de tricomas nas folhas. Entretanto, esta característica difere em *O. newwiedii* ssp. *pardoensis*, a qual apresenta uma cobertura esparsa de tricomas simples e clavados, tanto na face abaxial quanto na extremidade da margem. Essa caracterização de *O. newwiedii* ssp. *pardoensis* diverge da descrição realizada por Lourteig (1994), que delimita a subespécie como geralmente glabra.

Ambas subespécies exibiram um padrão de venação muito similar entre si. Embora sutis, algumas das características observadas permitiram auxiliar na distinção entre as subespécies. Estas mesmas características demonstraram-se relevantes na diferenciação entre táxons de diferentes grupos taxonômicos, como por exemplo o espaçamento e a angulação das nervuras secundárias e idioblastos traqueoidais terminais em *Spondias* L. (Anacardiaceae) (Mitchell, John & Daly, 2015); a classificação da areolação e o tipo de nervuras de terminação livre, que auxiliaram na circunscrição de espécies de *Crotolaria* L. (Fabaceae)

(Devecchi, Pirani, & Melo-de-Pinna, 2015) e na distinção entre espécies de *Casearia* (Salicaceae) (Thadeo, Azevedo, & Meira, 2014).

O arranjo da vascularização dos pulvinos exibiu diferenças entre as subespécies, sendo contorno de ferradura no morfotipo PAR e em contorno de U com extremidades voltadas para o centro em NEU. Esta característica que também exibiu variação para diferentes espécies de *Bauhinia* L. e *Schnella* (Raddi.) Wund. (Fabaceae) (Pereira *et al.*, 2018). A configuração do sistema vascular em folhas tem sido sugerida em diferentes estudos como característica diagnóstica para diferentes grupos taxonômicos, como em Rubiaceae (Kocsis, Daro, & Borhidi, 2004), em Myrtaceae (de Oliveira *et al.*, 2011), Salicaceae (Thadeo *et al.*, 2014), Asclepiadaceae (Carvalho *et al.*, 2017).

A organização dos tecidos nos pecíolos em *O. newwiedii* é similar à observada por (Metcalf & Chalk, 1957) em *O. corniculata* L., variando com relação à conformação e à distribuição dos feixes vasculares nas espécies analisadas. Já sobre a organização anatômica do limbo e da epiderme, ambas as subespécies estudadas compartilham características comuns a outros táxons de Oxalidaceae, como epiderme uniestratificada e mesofilo dorsiventral (Metcalf & Chalk, 1957; Reis & Alvim, 2013).

Os táxons analisados no presente estudo apresentam folhas hipoestomáticas com estômatos anisocíticos, diferindo do que foi relatado em Oxalidaceae, como estômatos paracíticos (Metcalf & Chalk, 1957), e para outras espécies do subgênero *Oxalis* L., como *O. debillis* Kunth e *O. latifolia* Kunth com lâminas anfiestomáticas e estômatos anomocíticos (Reis & Alvim, 2013). Em espécies de *Oxalis* sul africanas são relatadas folhas anfiestomáticas, epiestomáticas e hipoestomáticas, além de quatro

tipos de complexos estomáticos (anomocítico, anisocítico, actinocítico e anisocítico incomum de 4 células) (Jooste, Dreyer, & Oberlander, 2016). Ainda em relação à superfície epidérmica, as subespécies analisadas exibiram distintos contornos nas células epidérmicas na face abaxial. Em outros trabalhos envolvendo anatomia de *Oxalis* (Reis & Alvim, 2013; Jooste *et al.*, 2016) foram identificados diferentes contornos nas células epidérmicas das faces adaxial e abaxial. Essa variabilidade nas características epidérmicas em espécies de *Oxalis* sugerem potencial para contribuir na taxonomia dos táxons avaliados.

Na região da nervura central, a organização dos tecidos em torno dos feixes vasculares contribui para a distinção entre as subespécies de *O. neuwiedii*. Características anatômicas relacionadas com a nervura central em conjunto de outros caracteres auxiliaram na distinção entre diferentes espécies de Celastraceae (Gomes *et al.*, 2006), Myrtaceae (Gomes *et al.*, 2009), Fabaceae (Vargas, Sartori, & Dias, 2015) e Asteraceae (Filartiga *et al.*, 2016; Athayde *et al.*, 2019), em grupos de taxonomia complexa, como *Argyreia* Lour. (Convolvulaceae) (Chitchak *et al.*, 2018), *Eriosema campestre* (Fabaceae) Benth. (Pacheco Seixas, Fortuna-Perez, & Rodrigues, 2019) e entre morfotipos do complexo *Campomanesia xanthocarpa* Ruiz & Pav. (Myrtaceae) (de Oliveira *et al.*, 2018).

As principais características que distinguem as subespécies estão relacionadas à presença de fibras gelatinosas na região da nervura central, o ângulo nervuras secundárias em relação à principal, além do tipo de nervura livre terminal e o tipo de idiblastos traqueoidais. O padrão de cobertura de tricomas também se mostrou uma característica relevante para a diferenciação, especialmente ao analisar na região do pecíolo e

nervura. Os resultados demonstram a relevância de estudos que envolvam diferentes técnicas de anatomia vegetal para o reconhecimento de padrões e estruturas visando contribuir para a taxonomia. As diferentes características morfoanatômicas apontadas entre as subespécies de *Oxalis newwiedii* são também indicadas como importantes em diversos estudos para outros grupos taxonômicos. O conjunto destas características, juntamente com os padrões de distribuição geográfica, sugerem que ambas subespécies possuem diferenças entre si, sendo necessários estudos complementares com base em dados moleculares para reavaliar a atual categoria taxonômica aplicada.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos Algas e Plantas (PPGFAP), técnicos do Departamento de Botânica (CCBBOT) e técnicos dos Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) e Laboratório Multi-usuário de Estudos em Biologia (LAMEB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

- Athayde AE de, Richetti E, Wolff J, Lusa MG & Biavatti MW. 2019.** “Arnicas” from Brazil: comparative analysis among ten species. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **5**.
- Caires CS, Gomes-Bezerra KM & Proença CEB. 2012.** Novos sinônimos e uma nova combinação em *Pusillanthus* (Loranthaceae). *Acta Botanica Brasilica* **26**: 668–674.
- Carvalho R, Cristina L, Pellissari O, Pace MR, Scremin-dias E, Arruda R de O & Farinaccio MA. 2017.** Leaf morphoanatomy of *Araujia* and *Morrenia* (Asclepiadoideae, Apocynaceae): phylogenetic implications and species key. *Botanical Journal of the Linnean Society* **20**: 1–14.
- Chitchak N, Traiperm P, Staples G, Rattanakrajang P & Sumanon P. 2018.** Species delimitation of some *Argyreia* (Convolvulaceae) using phenetic analyses: insights from leaf anatomical data reveal a new species. *NRC Research Press* **17**: 1–17.
- Devecchi MF, Pirani JR & Melo-de-Pinna GF de A. 2015.** Comparative leaf anatomy and morphology of some Brazilian species of *Crotalaria* L. (Leguminosae: Papilionoideae: Crotalariaeae). *Acta Botanica Brasilica* **28**: 583–593.
- Dickison WC. 2000.** *Integrative Plant Anatomy*. San Diego: Academic Press.
- Eiten G. 1963.** Taxonomy and Regional Variation of *Oxalis* Section *Corniculatae*. I. Introduction, Keys and Synopsis of the Species. *American Midland Naturalist* **69**: 257–309.
- Ellis B, Daly DC, Hickey LJ, Johnson KR, Mitchell JD, Wilf P & Wing SL. 2009.** *Manual of Leaf Architecture*. Ithaca: Cornell University Press.
- Evert RF. 2006.** *Esau’s Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Fiaschi P. 2012.** Two new species of *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Oxalidaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Kew Bulletin* **67**: 33–38.
- Fiaschi P. 2014.** Three new species and a revised key to species of *Oxalis* section *Polymorphae* (Oxalidaceae). *Brittonia* **66**: 134–150.



- Filartiga AL, Bassinello V, Filippi GM, Bombo AB & Appezzato-da-Glória B. 2016.** Secretory duct distribution and leaf venation patterns of *Aldama species* (Asteraceae) and their application in taxonomy. *Botany* **94**: 1161–1170.
- Gomes SM, Somavilla NSDN, Gomes-bezerra KM, Miranda S do C de, De-Carvalho PS & Graciano-Ribeiro D. 2009.** Anatomia Foliar Myrtaceae 2009.Pdf. *Acta Botanica Brasilica* **23**: 223–238.
- Johansen DA. 1940.** *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book.
- Jooste M, Dreyer LL & Oberlander KC. 2016.** The phylogenetic significance of leaf anatomical traits of southern African *Oxalis*. *BMC Evolutionary Biology* **16**: 225.
- Koch K, Bhushan B & Barthlott W. 2009.** Multifunctional surface structures of plants: An inspiration for biomimetics. *Progress in Materials Science* **54**: 137–178.
- Kocsis M, Daro J & Borhidi A. 2004.** Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. *Plant Systematics and Evolution* **248**: 205–218.
- Lourteig A. 1994.** *Oxalis* L. Subgenero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. *Bradea* **7**: 1–199.
- Metcalf CR & Chalk L. 1957.** *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford; London: At The Clarendon Press.
- Mitchell, John D & Daly DC. 2015.** A revision of *Spondias* L. (Anacardiaceae) in the Neotropics. *PhytoKeys* **55**: 1–92.
- de Oliveira MIU, Funch LS, Santos F de AR dos & Landrum LR. 2011.** Aplicação de caracteres morfoanatômicos foliares na taxonomia de *Campomanesia* Ruiz & Pavón (Myrtaceae). *Acta Botanica Brasilica* **25**: 455–465.
- de Oliveira MIU, Rebouças DA, Leite KRB, de Oliveira RP & Funch LS. 2018.** Can leaf morphology and anatomy contribute to species delimitation? A case in the *Campomanesia xanthocarpa* complex (Myrtaceae). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **249**: 111–123.
- Pacheco Seixas D, Fortuna-Perez AP & Rodrigues TM. 2019.** Leaf anatomical features of the *Eriosema campestre* Benth. (Leguminosae,

Papilionoideae, Phaseoleae) complex and potential taxonomic implications. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **253**: 107–115.

**Paiva JGA de, Fank-de-carvalho SM, Magalhães MP & Graciano-Ribeiro D. 2006.** Verniz vitral incolor 500: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. *Acta Botanica Brasilica* **20**: 257–264.

**Paiva EAS, Pinho SZ de & Oliveira DMT. 2011.** Large Plants Samples: How to Process for GMA embedding? In: Chiarini-Garcia H, Melo RCN, eds. *Light microscopy: methods and protocols*. New York: Springer/Humana, 37–49.

**Pereira LBS, Costa-Silva R, Felix LP & Agra M de F. 2018.** Leaf morphoanatomy of “mororó” (*Bauhinia* and *Schnella*, Fabaceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **28**: 383–392.

**Rao TA & Das S. 1979.** Typology of foliar tracheoids in angiosperms. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section B. Part 2, Plant Sciences* **88**: 331–345.

**Reis RE & Alvim MN. 2013.** Anatomia foliar comparada de três espécies do gênero *Oxalis* L. (Oxalidaceae). *Periódico Científico do Núcleo de Biociências Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix* **3**: 59–72.

**Sakai WS. 1973.** Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. *Stain Technology* **48**: 247–249.

**Shobe WR & Lersten NR. 1967.** A technique for clearing and staining gymnosperm leaves. *Botanical Gazette* **128**: 150–152.

**Thadeo M, Azevedo AA & Meira RMSA. 2014.** Foliar anatomy of neotropical Salicaceae: potentially useful characters for taxonomy. *Plant Systematics and Evolution* **300**: 2073–2089.

**Tucker SC. 1964.** The Terminal Idioblasts in Magnoliaceous Leaves. *American Journal of Botany* **51**: 1051–1062.

**Vaio M, Nascimento J, Mendes S, Ibiapino A, Felix LP, Gardner A, Emswiller E, Fiaschi P & Guerra M. 2018.** Multiple karyotype changes distinguish two closely related species of *Oxalis* (*O. psoraleoides* and *O. rhombeo-ovata*) and suggest an artificial grouping of section *Polymorphae* (Oxalidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **188**: 269–280.

**Vargas WD, Sartori ALB & Dias ES. 2015.** Novelties in secretory structures and anatomy of *Rhynchosia* ( Fabaceae ). *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* **87**: 83–93.

## DISCUSSÃO GERAL

A partir dos resultados encontrados no presente estudo foi possível reconhecer que características foliares podem auxiliar na distinção taxonômica das espécies de *Oxalis* abordadas. Os táxons estudados demonstraram alguns padrões estruturais comuns com aqueles observados em estudos envolvendo anatomia do gênero, entretanto determinadas diferenças exibiram-se relevantes para a taxonomia do grupo (Metcalf & Chalk, 1957; Estelita-Teixeira, 1977, 1978; Reis & Alvim, 2013; Jooste, Dreyer, & Oberlander, 2016). As variações observadas no tipo e cobertura de tricomas demonstraram ser uma característica relevante para os táxons estudados. Os resultados encontrados para *O. polymorpha* spp. permitiram a definição de quatro dos cinco morfotipos avaliados. Para as subespécies de *O. neuwiedii* o tipo de cobertura de tricomas divergiu do que era relatado para *O. ssp. pardoensis* (Lourteig, 1994), demonstrando a necessidade de maiores aprofundamentos nas análises em táxons muito relacionados. A estrutura da vascularização nos pulvinos em conjunto com as características de contorno e organização dos tecidos na nervura central auxiliaram no reconhecimento dos cinco morfotipos em *O. polymorpha* spp.

As mesmas características também foram relevantes em *O. neuwiedii* spp. contudo com diferenças mais sutis e concentradas na nervura central, como por exemplo a presença de fibras gelatinosas na região vascular. Diferentes estudos têm relacionado tanto a conformação do região vascular na folha, como a organização dos tecidos que compõem a nervura central como importantes características que contribuem para a taxonomia e delimitação entre agrupamentos

taxonômicos diversos (Rio, Kinoshita, & Castro, 2006; Gomes *et al.*, 2009; Somavilla & Graciano-Ribeiro, 2012; Coutinho, Francino, & Meira, 2013; Thadeo, Azevedo, & Meira, 2014; Carvalho *et al.*, 2017; de Oliveira *et al.*, 2018; Pereira *et al.*, 2018). Destaca-se neste estudo que não somente uma, mas sim um conjunto de características morfoanatômicas contribuíram para o reconhecimento e delimitação de táxons.

O padrão de venação observado apresentou sutis diferenças tanto entre os morfotipos do capítulo 1, quanto entre as subespécies do capítulo 2. O arranjo geral das nervuras secundárias brochidródomo-decorado, arranjo reticulado irregular das nervuras de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> ordem, mostraram-se características comuns entre todos os táxons. Entretanto, ao avaliar o ângulo e o espaçamento das nervuras secundárias em relação com a principal, as terminações finais e marginais e idioblastos traqueoidais terminais, foram notadas variações que permitiram contribuir para a diferenciação entre os táxons. Estas mesmas características foram muito relevantes em diversos estudos e grupos taxonômicos distintos (Lusa & Bona, 2009; Mitchell, John & Daly, 2015; Carvalho *et al.*, 2017; Rojas-Leal, Terrazas, & Villaseñor, 2018).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos apresentados ao longo desta dissertação indicam diversas características morfoanatômicas de valor taxonômico para os diferentes táxons de *Oxalis* sect. *Polymorphae*. De acordo com os resultados apresentados são relacionadas as seguintes considerações:

- Abordagens a partir de análises morfoanatômicas podem indicar características com potencial para distinção taxonômica vegetal, pois fornecem informações inéditas.
- *Oxalis polymorpha* subsp. *polymorpha* apresentou muitas variações entre espécimes, permitindo o reconhecimento dos cinco morfotipos. São sugeridos estudos anatômicos associados a hipóteses de reconstrução filogenética com intuito de identificar se os caracteres levantados podem fornecer maior suporte para essas hipóteses.
- *Oxalis neuwiedii* subsp. *neuwiedii* e *O. neuwiedii* subsp. *pardoensis* apresentaram diferenças em sua morfologia e anatomia foliares, acrescentando características para diferenciá-las. É sugerida a realização de estudos filogenéticos com dados moleculares e/ou morfológicos para avaliar o atual taxonômico dessas subespécies e sua eventual elevação à categoria específica.

## REFERÊNCIAS

- Carvalho R, Cristina L, Pellissari O, Pace MR, Scremin-dias E, Arruda R de O & Farinaccio MA. 2017.** Leaf morphoanatomy of *Araujia* and *Morrenia* (Asclepiadoideae, Apocynaceae): phylogenetic implications and species key. *Botanical Journal of the Linnean Society* **20**: 1–14.
- Coutinho ÍAC, Francino DMT & Meira RMSA. 2013.** Leaf anatomical studies of *Chamaecrista* subsect . *Baseophyllum* ( Leguminosae , Caesalpinioideae ): new evidence for the up-ranking of the varieties to the species level. *Plant Systematics and Evolution* **299**: 1709–1720.
- Estelita-Teixeira ME. 1977.** Propagação vegetativa *Oxalis latifolia* Kunth (Oxalidaceae). *Boletim Botânica da Universidade de São Paulo* **5**: 13–20.
- Estelita-Teixeira ME. 1978.** Desenvolvimento anatômico do sistema Subterrâneo de *Oxalis latifolia* Kunth (Oxalidaceae) II - Sistema radicular. *Boletim Botânica da Universidade de São Paulo* **6**: 27–38.
- Gomes SM, Somavilla NSDN, Gomes-Bezerra KM, Miranda S do C de, Carvalho PS & Graciano-Ribeiro D. 2009.** Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. *Acta Botanica Brasilica* **23**: 224–238.
- Jooste M, Dreyer LL & Oberlander KC. 2016.** The phylogenetic significance of leaf anatomical traits of southern African *Oxalis*. *BMC Evolutionary Biology* **16**: 225.
- Lourteig A. 1994.** *Oxalis* L. Subgenero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. *Bradea* **7**: 199.
- Lusa MG & Bona C. 2009.** Análise morfoanatômica comparativa da folha de *Bauhinia forficata* Link e *B. variegata* Linn. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Acta Botanica Brasilica* **23**: 196–211.
- Metcalf CR & Chalk L. 1957.** *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford; London: At The Clarendon Press.
- Mitchell, John D & Daly DC. 2015.** A revision of *Spondias* L. (Anacardiaceae) in the Neotropics. *PhytoKeys* **55**: 1–92.
- de Oliveira MIU, Rebouças DA, Leite KRB, de Oliveira RP & Funch LS. 2018.** Can leaf morphology and anatomy contribute to species delimitation? A case in the *Campomanesia xanthocarpa* complex

(Myrtaceae). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **249**: 111–123.

**Pereira LBS, Costa-silva R, Felix LP & Agra M de F. 2018.** Leaf morphoanatomy of “ mororó ” (*Bauhinia* and *Schnella*, Fabaceae ). *Revista Brasileira de Farmacognosia* **28**: 383–392.

**Reis RE & Alvim MN. 2013.** Anatomia foliar comparada de três espécies do gênero *Oxalis* L. (Oxalidaceae). *Periódico Científico do Núcleo de Biociências Centro Universitário Metodista Izabela Hendrix* **3**: 59–72.

**Rio MCS, Kinoshita LS & Castro MM. 2006.** Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. *Revista Brasileira de Botânica* **28**: 713–726.

**Rojas-Leal A, Terrazas T & Villaseñor JL. 2018.** Foliar architecture of some members of the tribe Senecioneae (Asteraceae) with a key for identification of the Mexican genera. *Phytotaxa* **364**: 136.

**Somavilla NS & Graciano-Ribeiro D. 2012.** Análise comparativa da anatomia foliar de Melastomataceae em ambiente de vereda e cerrado sensu stricto. *Acta Botanica Brasilica* **25**: 764–775.

**Thadeo M, Azevedo AA & Meira RMSA. 2014.** Foliar anatomy of neotropical Salicaceae: potentially useful characters for taxonomy. *Plant Systematics and Evolution* **300**: 2073–2089.