

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
LABORATÓRIO DE ANATOMIA VEGETAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

RAFAELLA DE PAULA TAVARES

Morfoanatomia foliar de espécies de
Brunfelsia L. do Sul do Brasil

Florianópolis, SC

2010

RAFAELLA DE PAULA TAVARES

Morfoanatomia foliar de espécies de
Brunfelsia L. do Sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marisa Santos

Florianópolis, SC

2010

Tavares, Rafaella de Paula

Morfoanatomia foliar de espécies de *Brunfelsia* L. do Sul do Brasil

76f., fig.

Orientador: Dra. Marisa Santos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina,
Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica,
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

Inclui Bibliografia.

1. *Brunfelsia*; 2. morfologia foliar; 3. anatomia foliar; 4. folhas de sol e sombra.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais, meus anjos da guarda, pelo amor incondicional, por acreditarem em mim e nos meus ideais.

À minha família, fonte de dedicação e carinho.

À Marisa Santos, pela orientação, paciência e ensinamentos.

Às minhas tão queridas amigas, Thaysi e Dávia pelas alegrias vividas juntas, pelas discussões construtivas, pelo apoio, por me escutarem e não me deixarem sentir sozinha.

À Camile, Karine, Dayane e Flaviane por me acolherem e pela amizade.

Aos meus amigos Victor e Nayara que mesmo á distância estavam sempre ao meu lado.

Ao Gabriel, Fernando, Laila e Eduardo pela companhia e risadas compartilhadas.

Aos amigos de laboratório Roberta, Marco e Sérgio. A Caroline, pela amizade e conversas. E aos colegas Eduardo e Morgana.

Aos colegas de departamento de botânica.

Aos professores Dr^a Ana Cláudia Rodrigues, Dr^a Maria Terezinha, Dr^o Paulo Horta e Dr^a Roselane Silva pela colaboração científica. E também pelos momentos de confraternização.

Ao professor Dr^o Ademir Reis pelas ideias e auxílio nas coletas.

Ao professor Dr^o João Stehmann pela identificação das espécies.

À secretária da pós- graduação em Biologia Vegetal Vera sempre prestativa.

A Capes pela bolsa concedida.

E a todos que de uma maneira ou outra colaboram com a elaboração deste trabalho.

RESUMO

O gênero *Brunfelsia* apresenta caracteres peculiares que permitem diferenciá-lo facilmente de outros gêneros da família, mas que dificultam a identificação de suas espécies. A caracterização morfoanatômica foliar pode representar uma possibilidade de auxílio para identificação taxonômica. Na região Sul do Brasil cinco espécies desse gênero ocorrem como nativas: *B. pauciflora*, *B. brasiliensis*, *B. australis*, *B. cuneiflora* e *B. pilosa*. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a anatomia foliar das cinco espécies e comparar as características das folhas de *B. pauciflora*, naturalmente encontradas em locais ensolarados e sombreados. Foram utilizadas folhas totalmente expandidas das cinco espécies. Para morfologia, folhas desidratadas ou procedentes de exsiccatas foram diafanizadas em hipoclorito de sódio, lavadas em água, coradas com safranina, desidratadas em série etílica e, após passagem por xilol, montadas entre lâminas de vidro, com verniz vitral. Para o estudo histológico foram feitas análises de folhas reidratadas ou *in vivo* e testes histoquímicos. Amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, desidratadas em série etílica. Para microscopia óptica, foram infiltradas em hidroxietilmetacrilato e coradas com azul de toluidina. Para microscopia eletrônica de varredura, amostras de folhas das cinco espécies herborizadas foram aderidas sobre suporte de alumínio com o auxílio de fita de carbono dupla face. Para análise quantitativa, foi determinado o número mínimo amostral e realizado teste de Tukey. Análises de *B. pauciflora*, sob diferentes irradiações, indicaram que plantas de ambientes sombreados apresentam maiores valores de área foliar, comprimento e diâmetro do pecíolo e da nervura mediana. Valores de índice foliar e espessura da lâmina foram maiores em ambientes ensolarados. Os aspectos morfoanatômicos foliares considerados mais importantes para auxílio na identificação taxonômica foram: tipo de nervação interssecundária, nervação marginal, desenvolvimento e forma das aréolas; colênquima subepidérmico na região do bordo, formato do bordo e da nervura mediana, presença de bainha perivascular nas nervuras secundárias; presença de tricomas e tipo de feixe vascular de menor calibre do pecíolo

Palavras-chave: *Brunfelsia*; morfologia foliar; anatomia foliar; folhas de sol e folhas de sombra.

ABSTRACT

The *Brunfelsia* genus presents peculiar characteristics that allow a simple differentiation from other genera of the family, but in other hand makes it more difficult to identify its species. The foliar morphoanatomical characterization can represent an auxiliary possibility for the taxonomic identification. In Brazil southern five species of this genera occur as natives: *B. pauciflora*, *B. brasiliensis*, *B. australis*, *B. cuneiflora* e *B. pilosa*. The aim of this study was to characterize the foliar anatomy of this five species and compare the leaves characteristics of *B. pauciflora*, naturally found in sunny and shaded environments. Totally expanded leaves of the five species were used. For the morphology, leaves obtained from exsicates or dehydrated were cleared in sodium hypochlorite, washed with water, stained with safranin, dehydrated through an ethanol graded series and after immersion in xilol they were mounted between microscope slides with glass-varnish. For the histological study rehydrated or *in vivo* leaves were analyzed and histochemical tests were performed. The samples were fixed in glutaraldehyde 2,5%, sodium phosphate buffer 0,1M, pH 7,2, dehydrated in an ethanol graded series. For light microscopy were included in hydroxyethylmethacrylate and stained with toluidine blue. For the scanning electron microscopy was performed using leaves samples from the five herborized species adhered onto aluminium stubs using carbon double-face adhesive tape. For quantitative analysis the minimum sampling number was determined and the Tukey's test was performed. *Brunfelsia pauciflora* analysis under different irradiation showed that plants from shaded environments present higher foliar values, length and petiole and midvein diameters. Foliar index and blade thickness values were higher in sunny environments. The morphoanatomic foliar aspects considered the most important for supporting the taxonomic identification were: kind of intersecondary veins, marginal ultimate venation, areoles development and shape; chlorenchyma subepidermically in the edge region, edge and midvein shapes, presence of perivascular sheath in the secondary veins; presence of trichomes and type of secondary vascular bundle of the petiole

Keywords: *Brunfelsia*, foliar morphology, foliar anatomy, sun leaves and shade leaves

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
INTRODUÇÃO	8
OBJETIVOS	12
Objetivo geral	12
Objetivos específicos	12
MATERIAL E MÉTODOS	13
1. Material e área de estudo	13
2. Preparo das amostras e procedimentos para análise	14
2.1. Estudos qualitativos	14
2.1.1. Estudos estruturais	14
2.1.2. Estudos Ultraestruturais	16
2.2. Estudos quantitativos	16
2.2.1. Área e índice foliar e comprimento do pecíolo	17
2.2.2. Densidade estomática e dimensões da célula-guarda	17
2.2.3. Dimensões de estruturas foliares	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
1. <i>Brunfelsia pauciflora</i> Benth.	19
1.1. Características Qualitativas	19
1.2. Características Quantitativas	23
2. <i>Brunfelsia brasiliensis</i> L.B. Sm. & Downs	28
3. <i>Brunfelsia australis</i> Benth.	30
4. <i>Brunfelsia pilosa</i> Plowman	32
5. <i>Brunfelsia cuneifolia</i> J.A. Schmidt	34
6. Considerações Gerais	36
REFERÊNCIAS	43
ILUSTRAÇÕES	51

INTRODUÇÃO

Solanaceae, conforme Souza & Lorenzi (2005), é uma família com distribuição cosmopolita, concentrada na região neotropical, incluindo cerca de 150 gêneros e 3000 espécies. Os autores referem que, no Brasil, ocorrem 32 gêneros e 350 espécies, as quais apresentam-se como ervas, arbustos ou pequenas árvores, raramente lianas. As folhas são alternas, simples, sem estípulas, e margem inteira (Souza & Lorenzi 2005), apresentando tricomas de diversos tipos, estrelados ou ramificados, e espinhos (Cronquist 1981).

As espécies da família caracterizam-se pela presença frequente de antocianinas acíclicas, comumente produzindo vários tipos de alcalóides, especialmente os terpenos, nicotínicos e esteróides (Cronquist 1981). Em decorrência disto, muitas Solanaceae são tóxicas, incluindo a beladona (*Atropa belladonna* L.), a saia-branca ou trombeteira (*Brugmansia* Pers.) e o estramônio (*Datura stramonium* L.) (Souza e Lorenzi 2005). Alguns gêneros têm espécies que são tóxicas para humanos e animais, por exemplo, *Cestrum* L. e *Solanum* L., letais em bovinos, e *Nierembergia* Ruiz & Pav. que causa intoxicações em ovinos (Riet-Correa *et al.* 1993). *Solanum*, *Brugmansia*, *Nicotiana* L. e *Capsicum* G. Don são inseticidas naturais, sendo tóxicas ao pulgão da couve (Lovatto *et al.* 2004). Diversas plantas, pertencentes a esta família, referem Souza & Lorenzi (2005), são de interesse econômico, sendo utilizadas na alimentação, como o tomate (*Solanum lycopersicum* L.), a batata (*Solanum tuberosum* L.), as pimentas e o pimentão (*Capsicum* spp.), a berinjela (*Solanum melongena* L.) e o jiló (*Solanum gilo* Raddi) ou como ornamentais, como o manacá de cheiro (*Brunfelsia uniflora* D. Don) e a petúnia (*Petunia hybrida* Juss).

Entre os muitos gêneros de Solanaceae, *Brunfelsia* L. está bem representado na América tropical e subtropical, especialmente nas Antilhas, e inclui mais de 40 espécies (Smith & Downs 1966). Este gênero, conforme Soares & Mentz (2007), pertence a uma tribo monotípica, Francisceae, da subfamília Cestroideae e apresenta caracteres peculiares que permitem diferenciá-lo facilmente de outros gêneros da família, porém mostram difícil distinção entre as espécies.

Aspectos referentes a anatomia foliar têm se mostrado relevantes no caso da definição de diferentes categorias taxonômicas de Solanaceae (Jáuregui *et al.* 2001), na maioria concentrando-se em espécies de interesse farmacêutico (Mentz 1998), tais como estudos de Silva *et al.* (2007), com *Nicotiana*, e de Araújo *et al.* (2010), com espécies de *Solanum*. Estes estudos geralmente concentram-se mais na caracterização dos tipos de tricomas, tendo em vista o seu valor diagnóstico, como, por exemplo, Mentz (1998) e Elias *et al.* (2003), para *Solanum*. A organização do complexo estomático também tem valor taxonômico (Baranova 1992), sendo utilizado, entre outras características, identificação de taxa em Solanaceae, como por exemplo, em Reis *et al.* 2002. Segundo Metcalfe e Chalk (1957), em Solanaceae, podem ocorrer estômatos dos tipos anomocítico, mais frequente, anisocítico e diacítico. Baranova (1992) esclarece que em Solanaceae pode ocorrer diversidade de tipo estomático numa mesma espécie e inclusive na mesma folha, sem perder o valor taxonômico, pois sempre há predominância de um tipo. Outros autores ainda, utilizam diversas características anatômicas das folhas para auxiliar na distinção de espécies de Solanaceae, como Reis *et al.* (2002) e Lima *et al.* (2009). Entretanto, apesar da dificuldade de distinção entre as espécies de *Brunfelsia*, na literatura encontram-se dados morfológicos das inflorescências das espécies nativas (*B. australis* Benth, *B. cuneifolia* J.A Schmidt e *B. pilosa* Plowman) e introduzidas (*B. uniflora* (Pohl) D.Don e *B. pauciflora* (Cham. et Schldl.) Benth.) do Sul do Brasil (Soares & Mentz 2007) e anatômicos foliares de *B. uniflora* (Martins *et al.* 2009).

As espécies de *Brunfelsia* são conhecidas popularmente por manacá, termo da língua tupi, que diz respeito às flores, como as mais belas da floresta (Soares & Mentz 2007). Na região Sul do Brasil, de acordo com Smith & Downs (1966), ocorrem seis espécies: *B. pauciflora*, *B. uniflora*, *B. brasiliensis* L.B. Sm. & Downs, *B. australis* Benth., *B. cuneiflora*, e *B. pilosa*. Entretanto, Plowman (1998) em seu estudo de revisão do gênero cita cinco espécies como nativas da região, sendo que *B. uniflora* ocorre naturalmente somente até o Estado de São Paulo. Com frequência plantas destas espécies têm sido introduzidas em distintas localidades, principalmente devido ao seu potencial ornamental.

Brunfelsia pauciflora, de acordo com Smith & Downs (1966), é uma espécie higrófita e esciófita da prissera¹, que cresce quase exclusivamente ao longo dos regatos e pequenas depressões de solos úmidos das matas sombrias. Os autores acrescentam que a espécie apresenta distribuição muito irregular, pois enquanto é freqüente no seu hábitat preferencial, falta quase completamente nas encostas e demais solos enxutos da mata.

Brunfelsia brasiliensis, conforme descrevem Smith & Downs (1966), é um arbusto característico e exclusivo da zona dos pinhais do planalto catarinense, onde é amplamente distribuído. A espécie, acrescentam os autores, é seletiva higrófita e esciófita e desenvolve-se preferencialmente nos solos úmidos das matas mistas com pinheiros, matas de galerias e capões, ocorrendo também em lugares úmidos da floresta secundária como capoeirões, barrancos e clareiras nas matas.

Brunfelsia australis está presente nas florestas Ombrófila Mista e Estacional Decidual e Semidecidual, de acordo com dados de Soares & Mentz (2007). Os representantes da espécie comentam os autores, habitam preferencialmente o interior e clareiras de matas, chegando a formar populações que dominam a fisionomia da sinússia arbustiva.

Brunfelsia pilosa, conforme Soares & Mentz (2007), habita principalmente orla e clareiras de matas ciliares e de matas das Florestas Ombrófilas Mista, Densa e Estacionais Decidual e Semidecidual.

Brunfelsia cuneifolia foi encontrada, por Soares & Mentz (2007), habitando o interior da Floresta Ombrófila Mista, geralmente com pupulações ocupando grandes extensões, dominando a fisionomia da sinússia arbustiva, e às vezes formando comunidades com *B. pilosa*.

Devido ao aspecto vistoso das flores dos representantes deste gênero, suas plantas têm sido frequentemente usadas nos jardins como ornamentais. O potencial ornamental de *B. pauciflora* é mencionado por Smith & Downs (1966). Soares & Mentz (2007) referem que a espécie mais usada é *B. australis*, porém, nas floriculturas, *B. uniflora* parece ser a espécie mais utilizada (constatação pessoal). Considerando que os jardins são áreas mais expostas ao sol, é possível

¹ Prissera é um termo usado por antigos sociólogos (Roberto Klein nas observações ecológicas da vegetação) para designar floresta primária; significa a primeira série natural, sem interferências humanas (Ademir Reis, informação pessoal).

que a preferência por determinadas espécies do gênero relacione-se com sua potencialidade de suportar ambientes mais ensolarados. No Estado de Santa Catarina, populações nativas de *B. pauciflora* encontram-se em locais mais sombreados, podendo algumas populações ocorrer em ambientes com maior irradiação solar, apesar de que ambas tendem a localizar-se em ambientes de solos úmidos (Reis 2008, informação pessoal).

Adaptações fazem com que as plantas possam sobreviver em condições extremas de sol ou sombra, frio ou calor, habitats secos ou úmidos e em solos com deficiência em minerais (Dickson 2000). Dentre estas adaptações, as estruturas morfoanatômicas das folhas em espécies florestais têm grande relevância na adaptação às diferentes condições ambientais (Fermino Jr. *et al.* 2004). Existe uma relação bem próxima entre as características da folha e a média de irradiação vivida por esta (Pandey & Kushwaha 2005). Características morfológicas, como desenvolvimento e forma da folha, influenciam da captação de luz, balanço energético e difusão de gases (De Lucia *et al.* 1996). Folhas expostas a uma maior irradiação solar tendem a ser menores e mais espessas (Dickson 2000, Klich 2000, Morais *et al.* 2004). A plasticidade morfoanatômica da folha, no que diz respeito às condições combinadas de irradiância incidente, temperatura e umidade do ar, pode conferir à espécie o sucesso na sua permanência e, até mesmo, na competição com outras espécies (Klich 2000).

Sendo assim, o conhecimento de aspectos estruturais das folhas de espécies de *Brunfelsia* poderá contribuir para a identificação das cinco espécies nativas ocorrentes no Sul do Brasil. Além disto, a comparação das características morfoanatômicas das folhas de plantas de *B. pauciflora* sob duas condições de exposição à irradiação solar (locais abertos e sombreados), poderá servir de modelo para avaliar o efeito deste fator sobre as características estruturais que poderão ser utilizadas na taxonomia.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Caracterizar a anatomia foliar de cinco espécies de *Brunfelsia* L. (*B. pauciflora*, *B. brasiliensis*, *B. australis*, *B. pilosa* e *B. cuneifolia*) ocorrentes no Sul do Brasil e comparar as características das folhas de *B. pauciflora*, naturalmente encontradas em locais ensolarados e sombreados, visando contribuir com a identificação taxonômica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar morfológica e histologicamente a lâmina foliar e o pecíolo das folhas das cinco espécies.
- Determinar área e índice foliar, densidade estomática, comprimento e largura das células-guarda, espessura da lâmina foliar, da epiderme, dos tecidos do mesofilo, do diâmetro e comprimento do pecíolo e diâmetro da nervura mediana das folhas espécies de *B. pauciflora* de sol e sombra.
- Comparar os dados obtidos para cinco espécies, visando contribuir para identificação taxonômica.
- Comparar os dados obtidos para amostras de *B. pauciflora* de locais ensolarados e sombreados, visando interpretar as características que favorecem algumas populações a aclimatar-se melhor em locais mais expostos ao sol.
- Discutir os dados obtidos para as folhas das cinco espécies do gênero definindo quais características variam com as condições ambientais e quais variam com o táxon.

MATERIAL E MÉTODOS

1. MATERIAL E ÁREA DE ESTUDO

Foram utilizadas folhas totalmente expandidas de *Brunfelsia pauciflora*, *B. brasiliensis*, *B. australis*, *B. pilosa* e *B. cuneifolia*.

Brunfelsia pauciflora Benth. (Fig. 1) – Arbusto de 1 a 2 metros de altura; folhas completamente glabras, curto-pecioladas, obovado-oblongas até elípticas, em regra mais largas acima do meio, agudas pela base, curto-acuminadas ou subagudas pelo ápice, de 10 a 25 cm de comprimento, de 4 a 7 cm de largura, membranáceas (Smith & Downs 1966).

Brunfelsia brasiliensis L.B. Sm. & Downs (Fig. 2) – Arbusto bastante variável, com altura de 1 a 2 metros, muito ramoso; folhas curto-pecioladas, oblongo-lanceoladas até ovado-lanceoladas, acuminadas até obtusas, de 3 -15 cm de comprimento, de 16-30 mm de largura, mais ou menos revolutas nas margens (Smith & Downs 1966).

Brunfelsia australis Benth (Fig. 3) – Arbustos ou arvoretas com até 4 m de altura, folhas de consistência membranácea a subcoriácea; lâmina foliar com 0,8-7,6 cm de comprimento e 0,5-4,6 cm de largura, obovalada, de ápice obtuso, arredondado, raramente acuminado, agudo ou retuso e base decurrente ou cuneada; superfície foliar adaxial glabra ou com tricomas simples ou glandulares, esparsamente distribuídos sobre a nervura principal, superfície abaxial glabra; pecíolo de 0,2-0,8 cm de comprimento, glabro, raramente com tricomas simples ou glandulares (Soares & Mentz 2007).

Brunfelsia pilosa Plowman (Fig. 4) – Arbusto de até 3,0 m de altura; folhas de consistência variável; lâmina foliar com 1,2-8,5 cm de comprimento e 0,6-3,0 cm de largura, elíptica, oblanceolada ou obovalada, ápice acuminado e base cuneada; superfícies foliares, adaxial e abaxial, glabras ou com tricomas simples, esparsamente distribuídos sobre a nervura principal; pecíolo de 0,1-0,3 cm de comprimento, glabro nas folhas adultas ou com um ralo indumento de tricomas simples nas folhas jovens (Soares & Mentz 2007).

Brunfelsia cuneifolia J.A. Schmidt (Fig. 5) – Arbustos ou arvoretas com até 4 m de altura; folhas de consistência membranácea a subcoriácea; lâmina foliar com 1,1-9,6 cm de comprimento e 0,8-4,3 cm de largura, oblanceolada,

obovalada, raramente elíptica, de ápice agudo, raramente acuminado, obtuso ou arredondado e base cuneada ou aguda; superfície foliar adaxial geralmente com tricomas simples, sobre as nervuras e margens, raramente glabra, superfície abaxial com tricomas simples uniformemente distribuídos; pecíolo de 0,1-0,5 cm de comprimento, com tricomas simples (Soares & Mentz 2007).

As amostras foram obtidas a partir de exsicatas existentes nos Herbários Flor (Florianópolis/SC) e Barbosa Rodrigues (Itajaí/SC) e também de material coletado no Estado de Santa Catarina. Folhas de *B. cuneifolia* e *B. pilosa* foram coletadas no Município de Campo Belo do Sul (SC), na fazenda Guamirim Gateados próximo ao Rio Vacas Gordas (afluente do Rio Pelotas) e Município de Rio Negrinho (SC).

Folhas de *B. pauciflora* foram coletadas de indivíduos em seus ambientes nativos, na Rota das Cachoeiras (Reserva Particular do Patrimônio Natural Emílio F. Battistella), Município de Corupá-SC (Fig. 6-7), considerando o fator exposição à irradiação solar como critério para coleta das folhas, sendo escolhidos indivíduos de interior da floresta e indivíduos mais expostos ao sol (neste caso foram sempre utilizadas folhas da porção mais externa da copa). O material coletado foi acondicionado em bolsas térmicas e/ou sacos plásticos, sendo mantido sob refrigeração até o processamento das amostras.

O Município de Corupá está localizado na coordenada 26°25'31" Sul e a 49°14'35" Oeste; o clima é mesotérmico super úmido, sem estação seca (Nimer 1990); com temperatura média anual de 22°C e o total anual de precipitação de 2.200 mm (Atlas de Santa Catarina 1986).

2. PREPARO DAS AMOSTRAS E PROCEDIMENTOS PARA ANÁLISE

2.1. ESTUDOS QUALITATIVOS

2.1.1. Estudos estruturais

Estudos da morfologia da lâmina foliar das espécies foram realizados, incluindo dados sobre padrões de nervação e características do bordo e ápice da folha, de acordo com a proposta de classificação de Hickey (1979).

Folhas de *B. pauciflora* foram desidratadas em estufa, a 40°C. As folhas assim desidratadas, ou procedentes de exsicatas, no caso das demais espécies

estudadas, foram diafanizadas em hipoclorito de sódio (Johansen 1940), lavadas em água, coradas com safranina, desidratadas em série etílica e passadas por xilol, sendo então feita a montagem entre lâminas de vidro, com uso de verniz vitral (Paiva *et al.* 2006).

Para o estudo histológico, foram feitas secções transversais, longitudinais e paradérmicas no terço médio da lâmina foliar (nervura mediana, bordo e região entre estes) e do pecíolo.

Para a reidratação do material herborizado, foram testados inicialmente quatro procedimentos, com base na literatura, para avaliar os melhores resultados de preservação histológica das folhas de *Brunfelsia*. Procedimento 1: As folhas foram colocadas em água destilada e aquecidas, sem ferver e, posteriormente, distendidas em hidróxido de Potássio 2% (Smith & Smith 1942). Procedimento 2: As folhas foram colocadas em água destilada com algumas gotas de glicerina e mantidas em estufa a 58 °C, por aproximadamente 48 h (Chu 1974). Procedimento 3: As folhas foram colocadas em água destilada com algumas gotas de detergente neutro e aquecidas a 90°C (Amann 1899, *apud* Bersier & Bocquet 1960). Procedimento 4: As folhas foram colocadas em solução com água destilada - etanol 96° - glicerina (5:4:1) e 5 gotas de detergente neutro para cada 200 ml de solução. Os melhores resultados foram obtidos a partir do procedimento 1, sendo este então o usado para preparar as amostras.

Algumas amostras herborizadas e reidratadas, bem como amostras *in vivo*, provindas de coletas, foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7, 2, por 3 horas. Em seguida o material foi lavado, por três vezes, em tampão fosfato de sódio e desidratado em série etílica gradual e conservado em etanol 70°GL. Para infiltração em hidroxietilmetacrilato (*Jung's historesin* – marca Leica), o material foi desidratado até etanol 96°GL, mantido por pelo menos 12 horas em solução de pré-infiltração e 2 horas em solução de infiltração. Após esta etapa, o material foi transferido para a solução endurecedora, conforme instrução do fabricante, a partir da qual os blocos foram formados. Os blocos foram submetidos ao seccionamento em micrótopo de rotação Leica-RM 2125 RT, com espessura de 5 a 7µm. As secções foram distendidas sobre lâminas contendo água, em chapa aquecedora (45°C). Após a

secagem das lâminas, o material foi corado com azul de toluidina (O'Brien *et al.*, 1965).

Outras amostras herborizadas e reidratadas, bem como amostras *in vivo*, provindas de coletas, foram mantidas sem ação de reagentes para análise microquímica. Os testes histoquímicos foram realizados com materiais seccionados transversalmente, com auxílio de lâminas de barbear. Para a detecção de compostos químicos foi utilizado: reativo de Steimetz original (Costa 1982), para identificação de suberina, lignina, cutina, celulose, mucilagem, amido e compostos fenólicos; Sudan IV (Costa *op.cit.*), para detecção de óleos, cutina, ceras epicuticulares e suberina; floroglucinol/ HCl (Costa *op.cit.*), para detecção de lignina; ácido clorídrico (Souza *et al.* 2005), para detecção de oxalato de cálcio.

Para estudo dos estômatos foi utilizado material *in vivo*, conservado sob refrigeração, ou material reidratado a partir de exsicatas. Foram feitas secções paradérmicas, à mão-livre, com auxílio de lâmina de barbear, para confecção de lâminas temporárias, usando apenas água destilada, ou de lâminas semipermanentes, com gelatina-glicerina (Kaiser 1880, *apud* Kraus & Arduin 1997). O tipo de estrutura estomática foi determinado com base na classificação apresentada por Wilkinson (1979).

As análises e os registros das imagens foram feitos em microscópio óptico Leica MPS 30 DMLS, sendo as imagens capturadas com câmara digital Sony.

2.1.2. Estudos Ultraestruturais

Para análise da ultraestrutura da superfície foliar, amostras de folhas herborizadas das cinco espécies (material já seco e, portanto sem ação de reagentes) foram aderidas sobre suporte de alumínio com o auxílio de fita de carbono dupla face e cobertas com 20nm de ouro em metalizador Leica EM SCD500. As amostras foram observadas e documentadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) marca Jeol, modelo JSM-6390 LV, do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC.

2.2. ESTUDOS QUANTITATIVOS

A análise quantitativa foi restrita às folhas de sol e de sombra de indivíduos de *B. pauciflora*. Foi determinado o número mínimo amostral pela

equação $n=(t^2 \cdot s^2) \cdot d^{-2}$, onde “t” é dado pela tabela de Student (considerando n-1, para significância de 0,05), “s” é o desvio padrão e “d” é igual a E/100.média, onde E=10 para 10% de probabilidade, valor considerado satisfatório (em alguns casos foram utilizados E=11, 12 ou 14, valores ainda considerados satisfatórios) (Sokal & Rohlf 1969).

As médias obtidas foram comparadas por teste t (ao nível de significância de 5%).

2.2.1. Área e índice foliar e comprimento do pecíolo

Para determinação da área foliar, foram utilizadas 18 folhas de cada condição ambiental. Para cada folha, o contorno foi delineado em papel com massa constante (tamanho ofício padrão 75g.m⁻²). Os moldes foram recortados e medidos em balança digital. A massa destes moldes foi relacionada com a massa de área conhecida em cm² do mesmo papel, para a determinação da área foliar em cm².

O índice foliar (IF) foi calculado pela equação: $IF = C/L$, onde C é o comprimento e L é a largura da lâmina foliar (Van Steenis 1987). Para tanto, foram medidas as dimensões da lâmina foliar: comprimento (C = eixo longitudinal, desde a base até o ápice) e largura (L = eixo transversal, de bordo a bordo, na região média). Foram utilizadas 15 folhas de sol e 15 de sombra.

Para comprimento do pecíolo, foram utilizadas 18 folhas de cada condição ambiental. As medidas foram feitas com paquímetro digital STAINLESS.

2.2.2. Densidade estomática e dimensões da célula-guarda

Os dados foram obtidos utilizando secções paradérmicas em material *in vivo*, como referido para análise estrutural dos estômatos (item 2.1.1).

Para determinação da densidade estomática foi feita a contagem do número de estômatos por área (n=18, por tratamento) utilizando-se microscopia óptica a partir da observação, em vista frontal, da superfície epidérmica, considerando-se apenas as zonas intercostais. As imagens foram projetadas, com o auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico CarlZeiss-Loboval 4, sobre área delimitada conhecida. Os dados obtidos foram apresentados em número de estômatos por mm².

A determinação das dimensões das células-guarda (n=18, por tratamento) foi feita considerando o comprimento (eixo longitudinal, entre os dois pólos da célula) e largura (eixo transversal, na porção média da célula), quando em vista frontal da superfície epidérmica. Para as medições, as imagens foram projetadas, com auxílio de câmara clara acoplada ao mesmo microscópio óptico acima citado, sobre o papel e aferida com escala micrométrica, de modo a apresentar os resultados em micrômetros.

2.2.3. Dimensões de estruturas foliares

Foram determinadas as espessuras da epiderme, do mesofilo e tecidos constituintes do mesmo, no terço médio da lâmina foliar, na porção intermediária entre bordo e nervura (n=18, por tratamento). Amostras *in vivo*, dos dois tratamentos, foram seccionadas transversalmente, com lâmina de barbear, usando isopor como apoio (Peterson *et al.* 2008). Foram montadas lâminas semipermanentes, com gelatina-glicerinada (Kaiser 1880, *apud* Kraus & Arduin 1997). De cada secção analisada em microscopia óptica foram capturadas imagens com câmera digital. Para mensuração das espessuras da lâmina foliar e estruturas constituintes através destas imagens foi utilizado o programa computacional ANATI-QUANTI (Aguiar *et al.* 2007) desenvolvido especialmente para obtenção de dados quantitativos em anatomia vegetal.

Para determinação do diâmetro do pecíolo (n=18, por tratamento), no terço médio, foi adotado o mesmo procedimento descrito para espessura da lâmina foliar. O eixo determinado foi de lado a lado do pecíolo.

Para determinação do diâmetro da nervura mediana (n=10, por tratamento), foi utilizado material herborizado, sendo determinada a dimensão adaxial-abaxial, com auxílio de Digital Micrometer Mitutoyo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. *Brunfelsia pauciflora* Benth.

1.1. CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS

As folhas de *B. pauciflora* apresentam-se simples, lâmina simétrica, ápice acuminado, base decorrente (Fig. 1). Entretanto, há variações com a irradiação solar: a margem é inteira em folhas de sombra e revoluta em folhas de sol e a forma é oblonga, quando na sombra, e elíptica, quando no sol (Fig. 8 - 9). A textura é membranácea e não ocorrem glândulas nas folhas. O pecíolo é normal, ou seja, sem notáveis espessamentos ou outros processos (pulvinos, alas). O tipo de nervação é pinado, camptódromo-broquidrodromo (Fig. 10). Martins *et. al.* (2009) em seus estudos descreve o tipo de nervação pinado semicraespedódroma para *B. uniflora*, característica diversa da espécie aqui analisada. A nervura primária é única, possui tamanho moderado (taxa entre a largura da nervura e da lâmina foliar variando de 1,25 a 2%), curso reto. As nervuras secundárias formam ângulos de divergência agudos moderados (Fig. 11), variando de 45° a 65°; entretanto, em uma mesma folha, os ângulos de divergência são quase uniformes em relação à nervura mediana. As nervuras secundárias possuem espessura relativa moderada, pois não se apresentam mais finas ou amplas em relação à nervura primária e terciária e são curvadas abruptamente próximas à margem (Fig. 12). As nervuras intersecundárias são simples, ou seja, não são ramificadas. O ângulo de origem da nervura terciária é agudo, padrão reticulado aleatório, curso ramificado, arranjo predominantemente alternado. As nervuras de quarta ordem são finas e o curso é ortogonal. As nervuras de ordem superior formam um retículo em que as ordens das nervuras podem ser distintas. A última nervação marginal forma laço incompleto (Fig. 12). As vênulas (Fig. 12) são simples, raramente ramificadas uma vez, e lineares. O desenvolvimento das aréolas é completo e possui forma quadrangular ou poligonal (Fig. 12).

A lâmina foliar de *B. pauciflora* é dorsiventral, com epiderme uniestratificada e mesofilo constituído por parênquimas clorofilados, paliçádico e/ou tendendo a paliçádico e esponjoso (Fig. 13-15).

Em folhas de sol, o parênquima paliçádico é constituído por um estrato de células alongadas e justapostas, podendo ocorrer um segundo estrato tendendo a paliçádico (Fig. 13). Em folhas de sombra, este tecido está formado por células mais curtas e com alguns espaços intercelulares, caracterizando o parênquima tendendo a paliçádico (Fig. 14); algumas vezes mostra células apenas mais justapostas do que aquelas do parênquima esponjoso (Fig. 15). Uma maior irradiação solar no ambiente estimula o desenvolvimento do parênquima paliçádico (Larcher 2000, Yano & Terashima 2004), o qual pode apresentar-se com maior estratificação ou maior alongamento celular, o que atenua a quantidade e a qualidade da luz que atingirá todo o parênquima clorofilado (Larcher 2000). Este autor discute que a intensidade da radiação diminui à medida que a luz atravessa o mesofilo. Esclarece que as células epidérmicas e a membrana cuticular funcionam como um filtro para o parênquima paliçádico, que por sua vez também irá atenuar a passagem da luz para os tecidos subjacentes. DeLucia *et al.* (1996) explicam que existem duas razões para que a intensidade da luz diminua à medida que atravessa a folha: a primeira é devido à reflexão pelas facetas das paredes celulares e a segunda é devido à reflexão pelos espaços intercelulares. Dessa forma, folhas de sombra tendem a apresentar apenas uma camada de parênquima paliçádico, permitindo que maior quantidade de luz alcance o parênquima esponjoso onde ocorrerá maior reflexão dos raios luminosos. Folhas que crescem em ambientes sombreados investem em expansão da área foliar e por isso possuem poucas e pequenas células de parênquima paliçádico por unidade de área (Lambers *et al.* 1998). Portanto, *B. pauciflora* mostra plasticidade na constituição do parênquima paliçádico, correspondendo aos dados da literatura.

O parênquima esponjoso possui espaços intercelulares conspícuos em ambas as condições de irradiação, os quais mostram-se mais amplos nas folhas mais sombreadas (Fig. 14-15) em relação às mais expostas ao sol (Fig.13). Vogelmann *et al.* (1996) afirmam que a anatomia dos tecidos internos determina a extensão pela qual a luz chega ao interior da folha. A maior proporção de tecido

esponjoso, em relação ao tecido paliçádico, no mesofilo de folhas de sombra, aumenta a reflectância interna e, como resultado dessa reflexão, a absorção dos comprimentos de onda fotossinteticamente ativos aumenta consideravelmente (DeLucia *et al.* 1996). Os espaços intercelulares possibilitam que a irradiação seja refletida pelas células do tecido esponjoso (Larcher 2000). Além disto, conforme referem Parkhurst & Loucks (1972) e Parkhurst (1986), o arranjo dos tecidos constituintes do mesofilo, pode facilitar a difusão de CO₂ no interior dessas folhas e aumentar, conseqüentemente, a assimilação fotossintética do carbono. Rôças *et al.* (2001) também observaram variação na compactação do mesofilo em relação à intensidade da irradiação solar, havendo ampliação dos espaços intercelulares quando reduzia a irradiação, tal como observado para *B. pauciflora*.

O clorênquima que constitui o mesofilo, próximo ao bordo foliar, é homogêneo, com células isodiamétricas e com poucos espaços intercelulares, gradualmente mostra células com paredes mais espessadas, evidenciando colênquima subepidérmico no bordo (Fig. 16-17). De acordo com Evert (2006) é comum a presença de colênquima abaixo da epiderme na região do bordo filar. O formato do bordo é arredondado nos dois ambientes. Em folhas de sol observa-se que o bordo recurva-se acentuadamente na face abaxial (Fig. 16), enquanto que nas folhas de sombra recurva-se ligeiramente (Fig. 17). Vitarelli (2008), estudando *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae), também constatou variação na flexão das folhas em distintas condições ambientais. Portanto, a flexão do bordo foliar pode variar com as condições ambientais, indicando não ser esta uma característica confiável para distinção entre *taxa*.

A nervura mediana apresenta-se convexa nas duas faces da folha e histologicamente está constituída por epiderme, colênquima, parênquima clorofilado e sistema vascular (Fig. 18-19). A epiderme é uniestratificada e com ornamentações epicuticulares (Fig. 20). Quando presentes as ornamentações servem para preservar o equilíbrio de água da planta, além de minimizar danos mecânicos às folhas e inibir o ataque de insetos e fungos (Eglinton & Hamilton 1967). O colênquima é do tipo angular (Fig. 20). Conforme Esau (1959), é típica a presença de colênquima abaixo da epiderme na região da nervura mediana. Adjacente ao colênquima ocorre parênquima clorofilado, com pequenos espaços intercelulares (Fig. 21). Ocorrem idioblastos com drusas, tanto no parênquima

clorofilado (Fig. 21) quanto no colênquima (Fig. 20). Conforme Metcalfe e Chalk (1957) em *Brunfelsia* é comum a presença de drusas nesses tecidos. Drusas podem estar relacionadas à proteção contra herbívoros, ou suporte mecânico aos tecidos na falta de água, ou ainda podem ser produtos do metabolismo da planta (Metcalfe & Chalk 1983). O sistema vascular da nervura mediana é constituído por um feixe bicolateral em arco aberto, apresentando com frequência uma faixa cambial (Fig. 22). Em algumas espécies de plantas, pode haver a formação de um câmbio vascular verdadeiro na região da nervura mediana da folha, ocorrendo a produção de tecidos secundários, mas em proporções muito pequenas em relação ao tecido primário (Mauseth 1988). Há presença de fibras junto ao floema (Fig. 22). As nervuras secundárias são contornadas por conspícua bainha perivascular (Fig. 23). Esta bainha pode corresponder à endoderme, porém isto só poderia ser afirmado mediante investigação da ontogênese, o que não fez parte do presente estudo.

A epiderme das folhas de *B. pauciflora* é uniestratificada (Fig. 13-19) e os estômatos (Fig. 24-25) estão restritos à face abaxial, caracterizando a folha como hipoestomática. Outras espécies de Solanaceae também apresentam hipoestomatia, como algumas espécies de *Cestrum* (Colares *et al.* 1999) e de *Calibrachoa* (Reis *et al.* 2002). Os estômatos encontram-se tenuemente elevados em relação às demais células epidérmicas e apenas na face abaxial, o que aponta para tendência de que a espécie é mais bem adaptada a locais sem muita exposição à irradiação solar e especialmente mais úmidos. Conforme Napp-Zinn (1984), plantas sob condições mais xéricas tendem a apresentar estômatos em depressão, enquanto aquelas sob condições mais úmidas podem ter estômatos mais elevados. De acordo com Krauss (1948), as sinuosidades das células epidérmicas estão relacionadas a ambientes úmidos, que é o caso da espécie em análise, e representam adaptações mecânicas, evitando o colapso das células durante os movimentos de expansão e contração da folha pela entrada e saída de água. Os estômatos são predominantemente do tipo paracítico (Fig. 26), ocorrendo também os do tipo anomocítico (Fig. 27). Conforme Baranova (1992), a diversidade na organização do complexo estomático pode estar presente em Solanaceae. A autora refere que este tipo de organização não invalida a importância taxonômica, pois há predominância de um tipo de estômato e, assim,

esta característica pode, associada a outras, contribuir para a identificação do taxon. Esta variação do tipo estomático em *B. pauciflora* ocorre tanto em folhas de sol quanto de sombra, as quais se distinguem apenas com relação à densidade estomática (Fig. 28-29), o que será discutido no item seguinte quando serão apresentados os dados correspondentes. Em vista frontal as paredes das células epidérmicas são sinuosas (Fig. 26-27), em ambas as faces da folha. A cutícula é delgada e ornamentada por estrias epicuticulares (Fig. 30-31), principalmente na face adaxial. As folhas de sol apresentaram-se com maior ornamentação cuticular em relação às folhas de sombra (Fig. 30-31).

O pecíolo, em secção transversal, apresenta-se sulcado adaxialmente e convexo abaxialmente em ambas as condições de irradiação solar (Fig. 32-33). Metcalfe & Chalk (1957) relataram este formato do pecíolo para o gênero *Brunfelsia*. A epiderme é uniestratificada e em folhas de sol observam-se ornamentações epicuticulares. A epiderme reveste lateralmente o pecílo (Fig. 34), porém, adaxial e abaxialmente, é muito frequente a presença de periderme (Fig. 35), o que denota perenidade da estrutura foliar. A periderme forma uma capa protetora que substitui a epiderme (Fahn 1974). Sob o tecido de revestimento ocorre colênquima angular (Fig. 34-35). Mais internamente encontra-se o parênquima clorofilado (Fig. 32-33 e 36), com reduzidos espaços intercelulares, no qual ocorrem idioblastos contendo drusas. A vascularização está constituída por um feixe vascular principal e dois feixes vasculares de menor calibre dispostos lateralmente ao feixe principal (Fig. 32-33). O feixe vascular principal é do tipo biclateral, em forma de arco aberto, com raríssimas fibras acompanhando o floema (Fig. 37). Em alguns pecíolos ocorre formação de câmbio vascular (Fig. 38). Segundo Eames & MacDaniels (1947), algumas espécies de plantas formam câmbio vascular na nervura mediana e no pecíolo, porém com menos tecido secundário se comparado ao tecido primário. Os feixes vasculares de menor calibre são do tipo anficrival (Fig. 39).

1.2. CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS

Os dados mostraram que as folhas de sombra de *B. pauciflora* apresentam maior área foliar que as de sol (Tab. 1). O aumento da área foliar em

folhas de plantas de ambientes mais sombreados em relação aos de ambientes mais ensolarados já foi evidenciado em vários outros estudos (Parkhurst & Loucks 1972, Klich 2000, Fermino Jr. *et al.* 2004, Boeger *et al.* 2009). Segundo Smith (1978), plantas de sombra produzem folhas com maior área para ampliar a captação de luz e aperfeiçoar a fixação do carbono. A variação na área foliar é determinada por aumento ou redução no comprimento e largura da lâmina foliar. Em *B. pauciflora* ambas as dimensões mostraram valores maiores em folhas de sombra (Tab. 1).

Tabela 1. Dados quantitativos de folhas de sol e de sombra de *Brunfelsia pauciflora* Benth.

	Folhas de Sol	Folhas de Sombra
ÁREA FOLIAR (cm ²)	19,29 ± 5,15 ^b	58,96 ± 11,48 ^a
ÍNDICE FOLIAR (total)	3,14 ± 0,44 ^a	2,39 ± 0,25 ^b
Comprimento (cm)	9,33 ± 1,53 ^b	13,86 ± 1,99 ^a
Largura (cm)	3,01 ± 0,58 ^b	5,79 ± 0,45 ^a
COMPRIMENTO DO PECÍOLO (mm)	5,46 ± 1,1 ^b	13,28 ± 3,08 ^a
DIÂMETRO DO PECÍOLO (mm)	1,97 ± 0,20 ^b	2,56 ± 0,26 ^a
DIÂMETRO DA NERVURA MEDIANA (mm)	0,41 ± 0,05 ^b	0,57 ± 0,05 ^a

Nota: n= 10 para nervura mediana, n=15 para índice foliar, comprimento e largura e n=18 para área foliar e comprimento e diâmetro do pecíolo. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

As folhas de sombra expandiram-se mais lateralmente do que longitudinalmente, determinando um menor índice foliar do que nas folhas de sol (Tab. 1). As folhas de sombra, de acordo com Klich (2000), são mais largas, pois, em baixa irradiação, estão em alta umidade relativa e protegidas do vento; já, sob alta irradiação, são mais estreitas por estarem sujeitas à menor umidade do ar e ventos mais secos. A diminuição da largura reduz a camada de ar junto à folha, permitindo assim que haja maior perda de calor por convecção para o ambiente e deste modo transpirando menos para o resfriamento da folha (Pooter 1999).

Destaca-se, ainda, o fato de que a variação na expansão da lâmina de *B. pauciflora*, em resposta à irradiação solar, determinou formas distintas nas folhas, ou seja, oblonga em folhas de sombra e elípticas em folhas de sol.

O comprimento e diâmetro do pecíolo apresetaram maiores valores nas folhas de sombra. Segundo Leeflang *et al.* (1998), o aumento no comprimento do pecíolo em folhas de sombra auxilia na posição da lâmina para ser melhor iluminada, evitando assim efeitos de auto-sombreamento. Niklas (1999) refere em seus estudos que o aumento nas dimensões do pecíolo (comprimento e diâmetro) leva a mudanças em suas propriedades mecânicas, o que gera uma maior flexibilidade para suportar a ampliação da área foliar em folhas de sombra. Niinemets & Fleck (2002) ressaltam que investimentos nas dimensões do pecíolo são necessários para manter a lâmina em sua posição específica.

O diâmetro da nervura mediana também se mostrou maior em folhas de sombra (Tab. 1). Essa mudança nas dimensões pode ser necessária para manutenção do transporte, já que ocorre um aumento da área foliar em folhas de sombra.

Folhas mais exposta à irradiação solar apresentaram lâminas mais espessas em relação àquelas de locais mais sombreados, o que é determinado pela maior espessura dos tecidos do mesofilo, tendo vista que a espessura da epiderme não varia (Tab. 2). Na literatura, o aumento da espessura da lâmina foliar e estruturas constituintes de folhas de sol em relação às de sombra é amplamente citado (Klich 2000, Yano & Terashima 2004, Morais *et al.* 2004, Markesteyn *et al.* 2007, Boeger *et al.* 2009). Poorter (1999) refere que o aumento da espessura da lâmina decorre do incremento do mesofilo e considera isto como importante para o reforço da capacidade fotossintética.

Independente da irradiação solar, o mesofilo nas folhas de *B. pauciflora* mostra menor proporção de parênquima paliçádico em relação ao parênquima esponjoso. DeLucia *et al.* (1996) constatou que uma maior proporção de parênquima esponjoso nas folhas aumenta a dispersão e o tempo médio de percurso da luz, facilitando sua captura. Lambers *et al.* (1998) salientou que folhas que crescem em ambientes sombreados podem apresentar poucas e pequenas células de parênquima paliçádico por unidade de área. Portanto, os dados apontam para o fato de que a espécie tende a adaptar-se melhor em

condições de baixa irradiação solar, embora apresente plasticidade para aclimatar-se a irradiação mais alta. Assim, estruturalmente (Fig. 13-14) pode ser evidenciado que as células paliçádicas mostram-se mais alongadas nas folhas de sol. Marques *et al.* (2000) referem que as células que constituem o parênquima paliçádico de folhas mais ensolaradas são mais alongadas em comparação com as mais sombreadas. Volgemann & Martin (1993) esclarecem que células colunares do parênquima paliçádico facilitam a penetração mais profunda da luz em folhas mais espessas, que geralmente estão expostas a uma maior irradiação solar, sendo possível distribuí-la mais uniformemente aos cloroplastos dentro da folha. Isto corresponde ao que ocorre com as folhas da espécie em estudo, nas quais se observa células paliçádicas mais alongadas em folhas mais espessas.

Tabela 2. Espessuras da lâmina foliar e estruturas constituintes de folhas de sol e de sombra de *Brunfelsia pauciflora* Benth.

	Folhas de Sol espessura (μm)	Folhas de Sombra espessura (μm)
LÂMINA FOLIAR	325,16 \pm 36,28 ^a	225,50 \pm 36,24 ^b
Epiderme – face adaxial	42,25 \pm 5,80 ^a	41,65 \pm 4,63 ^a
Mesofilo	276,87 \pm 36,72 ^a	181,60 \pm 29,61 ^b
Parênquima paliçádico	62,36 \pm 17,33 ^a	39,31 \pm 5,96 ^b
Parênquima esponjoso	214,29 \pm 29,72 ^a	144,63 \pm 28,36 ^b
Epiderme – face abaxial	29,88 \pm 4,75 ^a	30,94 \pm 5,43 ^a

Nota: n= 18, para cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste *t*.

Folhas de sol de *B. pauciflora* apresentaram maior densidade estomática em relação às folhas de ambiente mais sombreado (Tab. 3; fig. 28-29). Diversos estudos (Lleras 1977, Peat & Fitter 1994, Poole *et al.* 1996, Boeger & Wisniewski 2003, Boeger *et al.* 2009, Camargo 2009) citam o aumento da densidade estomática com a maior exposição à irradiação solar. As condições a que estão sujeitas as plantas de ambientes mais ensolarados são associadas com altas

temperaturas, baixa umidade, menor disponibilidade de água (Salisbury 1992). A elevação da irradiação solar reduz a umidade do ar e aumenta a temperatura interna nas folhas. Salisbury (1927, *apud* Lleras 1977) conclui que as condições de umidade do ambiente interno e externo às folhas determinam a frequência dos estômatos. A maior proximidade entre os estômatos em folhas de sol, conforme Larcher (2000) possibilita um aumento da umidade superficial por acarretar uma sobreposição no caminho de difusão do vapor de água, impedindo que as moléculas migrem livremente para a atmosfera. Desta forma, uma maior densidade estomática proporciona a formação de um microclima na superfície foliar com condições intermediárias de umidade entre o ambiente externo e interno à folha. Assim, danos de excessiva desidratação são minimizados, durante os processos de trocas gasosas. Salisbury (1992) ressalta que a planta deve conservar a umidade interna e manter uma temperatura relativamente baixa na folha. Em locais mais ensolarados, as folhas transpiram mais e isto conduz ao efeito benéfico de resfriamento (Dickison 2000).

Em relação às dimensões das células-guarda, *B. pauciflora* não mostrou variação relacionada com a irradiação solar (Tab. 3).

Tabela 3. Densidade estomática, dimensões das células-guarda de folhas de sol e de sombra de *Brunfelsia pauciflora* Benth.

	Folhas de Sol	Folhas de Sombra
DENSIDADE ESTOMÁTICA (nº de estômato/mm ²)	198,61 ± 31,47 ^a	134,72 ± 27,30 ^b
CÉLULAS-GUARDA		
Comprimento (µm)	41,21 ± 2,68 ^a	40,25 ± 1,72 ^a
Largura (µm)	24,80 ± 1,15 ^a	25,28 ± 0,90 ^a

Nota: n=18, para cada tratamento. Letras diferentes comparadas na horizontal indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste *t*.

Diversos estudos constataram que folhas das espécies sob diferentes irradiações apresentam plasticidade quanto ao tamanho das células-guarda, sendo que as dimensões são menores em folhas de sol em relação às folhas de sombra (Duz *et al.* 2004, Fermino Jr. *et al.* 2004, Camargo 2009).

Segundo Abrans *et al.* (1992), quando há maior irradiação no ambiente, a perda de água pode ser minimizada pela redução do tamanho das células-guarda. Autores como Muchow & Sinclair (1989) e Larcher (2000) explicam que a condutância estomática é determinada por características anatômicas, particularmente pelo tamanho e estrutura dos estômatos, pelo arranjo do aparelho estomático e pela densidade estomática. O tamanho, a forma e a distribuição dos estômatos controlam parcialmente a transferência de vapor d'água, dióxido de carbono e oxigênio para dentro e fora da folha (Parkhurst & Loucks 1972). Entretanto, outros autores como Klich (2000), Boeger & Wisniewski (2003) e Morais *et al.* (2004) relatam que nas espécies por eles estudadas não houve diferenças em relação a comprimento e largura de células-guarda, como constatado também para *B. pauciflora*.

2. *Brunfelsia brasiliensis* L.B. Sm. & Downs

As folhas são simples, lâmina simétrica, forma obovada, ápice acuminado ou agudo, base recorrente, margem revoluta (Fig. 40), textura membranácea e sem glândulas. O pecíolo é normal, ou seja, sem notáveis espessamentos ou outros processos (pulvinos, alas). O tipo de nervação é pinado, camptódromo-broquidrodromo (Fig. 41). A nervura primária é única, possui tamanho moderado (taxa entre a largura da nervura e da lâmina foliar variando de 1,25 a 2%), curso reto. As nervuras secundárias formam ângulos de divergência agudo moderado, variando de 50° a 65°, entretanto, em uma mesma folha, os ângulos de divergência são quase uniformes em relação à nervura mediana. A espessura relativa das nervuras secundárias é moderada e o seu curso é curvado abruptamente próximo à margem. As veias intersecundárias são compostas. O ângulo de origem da nervura terciária é agudo, padrão reticulado aleatório, curso ramificado, arranjo predominantemente alternado. As nervuras de ordem superior formam um retículo, no qual as ordens das nervuras podem ser distintas. As nervuras de quarta e quinta ordem são finas e o curso é ortogonal. A última nervação marginal forma laços completos (Fig. 41-42). As vênulas são ramificadas duas vezes. O desenvolvimento das aréolas é incompleto e possui forma triangular ou quadrangular (Fig. 43).

A lâmina foliar de *B. brasiliensis* é dorsiventral. Segundo Metcalfe & Chalk (1957) é comum folhas de Solanaceae apresentarem mesofilo dorsiventral. O mesofilo é constituído por parênquimas tendendo a paliçádico e esponjoso (Fig. 44). O parênquima tendendo a paliçádico é formado por células curtas e com alguns espaços intercelulares, o que, de acordo com a literatura (Esau 1976, Mauseth 1988), não o caracteriza como um típico parênquima paliçádico. O parênquima esponjoso possui espaços intercelulares conspícuos. O mesofilo de *B. brasiliensis* assemelha-se ao descrito anteriormente em folhas de sombra de *B. pauciflora*. O clorênquima que constitui o mesofilo, próximo ao bordo foliar, é homogêneo, com células isodiamétricas e com poucos espaços intercelulares, gradualmente mostra células com paredes mais espessadas, evidenciando colênquima subepidérmico no bordo (Fig. 45). O formato do bordo é arredondado e recurva-se ligeiramente na face abaxial. A nervura mediana apresenta-se côncava na face adaxial e convexa na face abaxial (Fig. 46). A epiderme é uniestratificada e adjacente a este tecido está o colênquima (Fig. 47), que é do tipo angular. Mais internamente ocorre parênquima (Fig. 46 e 48), sendo frequente a presença de idioblastos com drusas (Fig. 48). O sistema vascular é constituído por um feixe bicolateral em arco aberto (Fig. 46); ocorre a presença de algumas fibras junto ao floema (Fig. 49). As nervuras secundárias são contornadas por uma bainha perivascular e, abaxialmente, junto ao floema, ocorrem fibras (Fig. 50). Não foi identificada a presença de floema adaxialmente, o que indica que as nervuras secundárias são do tipo colateral. De acordo com Esau (1959), os feixes de nervuras secundárias não desenvolvem floema adaxial, como ocorre na nervura mediana que apresentam feixes bicolaterais. A epiderme de *B. brasiliensis* é uniestratificada (Fig. 44), com células de paredes anticlinais sinuosas (Fig. 51-52) e tricomas pluricelulares aglandulares simples estão presentes em ambas as faces (Fig. 53-54). Diversos autores em seus estudos anatômicos relatam a presença de tricomas em espécies de Solanaceae (Colares *et al.* 1999, Jáuregui *et al.* 2001, Reis *et al.* 2002, Maiti *et al.* 2002, Elias *et al.* 2003, Martins *et al.* 2009), característica considerada diagnóstica na identificação de espécies. Os estômatos são restritos à face abaxial e determinam a classificação da folha da espécie como hipoestomática. São do tipo paracítico (Fig. 52) e estão ligeiramente elevados em relação às demais células epidérmicas

(Fig. 55). Esta última característica, associada ainda à presença de parênquima paliçádico pouco desenvolvido (tendendo a paliçádico), indicam que a espécie, de acordo com dados de literatura (Eames & MacDaniels 1947, Napp-Zinn 1984), é melhor adaptada a locais mais sombreados.

O pecíolo, em secção transversal, apresenta-se sulcado adaxialmente e arredondado abaxialmente (Fig. 56). A epiderme é uniestratificada, com ornamentações epicuticulares (Fig. 57). A epiderme, em geral, mantém-se lateralmente, porém nas faces adaxial e abaxial ela é substituída por periderme (Fig. 56 e 58). Adjacente aos tecidos de revestimento ocorre colênquima, do tipo angular (Fig. 58). A vascularização está constituída por um feixe vascular principal e dois pequenos feixes vasculares laterais, adaxialmente (Fig. 56). O feixe vascular principal é central e em forma de arco aberto, sendo do tipo bicolateral (Fig. 59), enquanto os feixes menores são do tipo anficrival (Fig. 60).

3. *Brunfelsia australis* Benth.

Possui folhas simples, lâmina simétrica, forma elíptica ou obovada, ápice acuminado, base recorrente, margem inteira (Fig. 61), textura membranácea e sem glândulas. O pecíolo é normal, ou seja, sem notáveis espessamentos ou outros processos (pulvinos, alas). O tipo de nervação é pinado, camptódromo-broquidrodo (Fig. 62). A nervura primária é única, possui tamanho moderado (taxa entre a largura da nervura e da lâmina foliar variando de 1,25 a 2%), curso reto. As nervuras secundárias formam ângulos de divergência agudo moderado, variando de 45° a 55°, entretanto, em uma mesma folha, os ângulos de divergência são quase uniformes em relação à nervura mediana. A espessura relativa das nervuras secundárias é moderada e o seu curso é curvado abruptamente próximo à margem. As veias intersecundárias são compostas (ramificado). O ângulo de origem da nervura terciária é reto ou agudo, padrão reticulado aleatório, curso ramificado, arranjo predominantemente alternado. As nervuras de ordem superior formam um retículo, no qual as ordens das nervuras podem ser distintas. As nervuras de quarta ordem são finas e o curso é ortogonal. A última nervação marginal é formada por laços completos (Fig. 63). As vênulas

são ramificadas duas vezes. O desenvolvimento das aréolas é completo e possui forma quadrangular ou pentagonal (Fig. 64).

A lâmina foliar de *B. australis* é dorsiventral sendo que o mesofilo é constituído por parênquimas tendendo a paliçádico e esponjoso (Fig. 65). O parênquima tendendo a paliçádico possui células pouco alongadas, característica semelhante a já descrita em *B. pauciflora* em folhas de sombra e *B. brasiliensis*. O parênquima esponjoso possui espaços intercelulares conspícuos. O clorênquima que constitui o mesofilo altera-se ao aproximar-se do bordo foliar, onde as células parenquimáticas são mais isodiamétricas (Fig. 66), não havendo presença de tecidos de sustentação como descrito para as duas espécies anteriores. O formato do bordo é arredondado e recurva-se ligeiramente na face abaxial. A nervura mediana mostra-se côncava na face adaxial e convexa na face abaxial (Fig. 67), similar ao referido para *B. brasiliensis*. A epiderme é uniestratificada e o colênquima, localizado subepidermicamente, é do tipo angular (Fig. 68) e com maior número de camadas abaxialmente. Mais internamente ocorre parênquima (Fig. 68) e, nesse tecido, é frequente a presença de idioblastos com drusas. O sistema vascular é constituído por feixe bicolateral, em arco aberto (Fig. 67). Acompanhando o floema, externamente, há fibras (Fig. 69). As nervuras secundárias são delimitadas por uma bainha perivascular; o floema adaxial é pouco evidente, devido ao reduzido número e tamanho das células constituintes (Fig. 70). Fibras delimitam externa e abaxialmente o floema (Fig. 70). A epiderme da folha de *B. australis* é uniestratificada (Fig. 65-67), com presença de ornamentação com estrias epicuticulares apenas na face adaxial (Fig. 71). A face abaxial (Fig. 72), cuja superfície não mostra ornamentações epicuticulares, apresenta estômatos, determinando o tipo de folha hipoestomática para a espécie. Os estômatos são do tipo paracítico (Fig. 73) e estão geralmente no mesmo nível das demais células epidérmicas ou ligeiramente elevados (Fig. 74). As células epidérmicas têm paredes anticlinais sinuosas (Fig. 73), em ambas faces da folha.

O pecíolo, em secção transversal, apresenta-se sulcado adaxialmente e arredondado abaxialmente (Fig. 75). A epiderme é uniestratificada (Fig. 76-77), com ornamentações epicuticulares (Fig. 76), na face adaxial. Sob a epiderme

ocorre colênquima angular e mais internamente parênquima (Fig. 77). A vascularização, como nas outras espécies de *Brunfelsia* descritas anteriormente, está constituída por um feixe vascular principal e dois pequenos feixes vasculares laterais, adaxialmente (Fig. 75). O feixe vascular principal é central e em forma de arco aberto, sendo do tipo bicolateral (Fig. 75 e 78); os feixes menores, contornados por bainha perivascular, também são do tipo bicolateral, embora com reduzido número de células constituindo o floema adaxialmente (Fig. 79).

4. *Brunfelsia pilosa* Plowman

Possui folhas simples, lâmina simétrica, forma elíptica, ápice acuminado, base recorrente, margem inteira, textura membranácea (Fig. 80) e sem glândulas. O pecíolo é normal. O tipo de nervação é pinado, camptódromo-broquidrodromo (Fig. 81). A nervura primária é única, possui tamanho moderado, curso reto. As nervuras secundárias formam ângulos de divergência agudo moderado, variando de 50° a 65°, entretanto, em uma mesma folha, os ângulos de divergência são quase uniformes em relação à nervura mediana. A espessura relativa das nervuras secundárias é moderada e o seu curso é curvado abruptamente próximo à margem. As veias intersecundárias são simples. O ângulo de origem da nervura terciária é agudo, padrão reticulado aleatório, curso ramificado, arranjo predominantemente alternado. As nervuras de ordem superior formam um retículo em que as ordens das nervuras podem ser distintas. As nervuras de quarta ordem são finas e o curso é ortogonal. A última nervação marginal é fimbriada (Fig. 82). As vênulas são simples ou ramificadas uma vez (Fig. 83). O desenvolvimento das aréolas é incompleto e possui forma quadrangular ou pentagonal (Fig. 83).

A lâmina foliar de *B. pilosa* é dorsiventral sendo que o mesofilo é constituído por parênquimas tendendo a paliçádico e esponjoso (Fig. 84). O parênquima tendendo a paliçádico é formado por células curtas e com alguns espaços intercelulares. O parênquima esponjoso possui espaços intercelulares conspícuos. O clorênquima que constitui o mesofilo, próximo ao bordo foliar, é homogêneo, com células isodiamétricas e com poucos espaços intercelulares; gradualmente mostra células com paredes mais espessadas, evidenciando colênquima subepidérmico no bordo (Fig. 85). O formato do bordo é arredondado

e recurva-se ligeiramente na face abaxial. A nervura mediana apresenta-se côncava na face adaxial e convexa na face abaxial e, histologicamente, está constituída por epiderme, colênquima, parênquima clorofilado e sistema vascular (Fig. 86). A epiderme é uniestratificada e o colênquima é do tipo angular (Fig. 87). Adjacente ao colênquima ocorre parênquima e nesse tecido é frequente a presença de idioblastos com drusas (Fig. 87). O sistema vascular é constituído por feixe bicolateral em arco aberto (Fig. 86), com algumas fibras junto ao floema (Fig. 88). Destaca-se a presença frequente de câmbio vascular na nervura mediana das folhas desta espécie (Fig. 88). Nas nervuras secundárias ocorrem três ou quatro células adaxiais de características não muito definidas, que poderiam ser células de protoxilema ou floemáticas, talvez por reduzido desenvolvimento do floema adaxial, considerando-se que as nervuras de maior calibre são bicolaterais. Entretanto, dados de literatura confirmam que as nervuras secundárias podem apresentar-se colaterais, mesmo quando as de maior calibre são bicolaterais (Esau 1959). Assim, como não ficou evidente a presença de células floemáticas adaxialmente, considerou-se que o feixe vascular das nervuras secundárias desta espécie é do tipo colateral; estas nervuras são contornadas por uma bainha perivascular (Fig. 89). A epiderme das folhas de *B. pilosa* é uniestratificada (Fig. 84-86), com paredes anticlinais sinuosas (Fig. 90-91) e ornamentação com estrias epicuticulares (Fig. 92-93), em ambas as faces. Os estômatos são do tipo paracítico (Fig. 91), restritos a face abaxial, determinando a folha como sendo hipostomática. Encontram-se no mesmo nível das demais células epidérmicas ou ligeiramente acima destas (Fig. 94).

O pecíolo, em secção transversal, apresenta-se sulcado adaxialmente e arredondado abaxialmente (Fig. 95). A epiderme é uniestratificada, com ornamentações epicuticulares (Fig. 96). Sob a epiderme ocorre colênquima angular (Fig. 96) e mais internamente encontra-se parênquima (Fig. 95), o qual é clorofilado. A vascularização está constituída por um feixe vascular principal e dois pequenos feixes vasculares laterais, adaxialmente (Fig. 95). O feixe vascular principal é central e em forma de arco aberto, sendo do tipo bicolateral (Fig. 95 e 97); geralmente é bastante evidente a presença de câmbio vascular (Fig. 97). Os

feixes vasculares de menor calibre são anficrivais e contornados por bainha perivascular (Fig. 98).

5. *Brunfelsia cuneifolia* J.A. Schmidt

Possui folhas simples, lâmina simétrica, forma obovada, ápice acuminado, base recorrente, margem inteira (Fig. 99), textura membranácea e sem glândulas. O pecíolo é normal, ou seja, sem notáveis espessamentos ou outros processos (pulvinos, alas). O tipo de nervação é pinado, camptódromo-broquidrodromo (Fig. 100). A nervura primária é única, possui tamanho moderado (taxa entre a largura da nervura e da lâmina foliar variando de 1,25 a 2%), curso reto. As nervuras secundárias formam ângulos de divergência agudo moderado variando de 50° a 60°, entretanto, em uma mesma folha, os ângulos de divergência são quase uniformes em relação à nervura mediana. A espessura relativa das nervuras secundárias é moderada e o seu curso é curvado abruptamente próximo à margem. As veias intersecundárias são compostas. O ângulo de origem da nervura terciária é agudo, padrão reticulado aleatório, curso ramificado, arranjo predominantemente alternado. As nervuras de ordem superior formam um retículo em que as ordens das nervuras podem ser distintas. As nervuras de quarta ordem são finas e o curso é ortogonal. A última nervação marginal é fimbriada (Fig 101). As vênulas são ramificadas uma vez. O desenvolvimento das aréolas é completo e possui forma pentagonal ou poligonal. (Fig. 102).

A lâmina foliar de *B. cuneifolia* é dorsiventral sendo que o mesofilo é constituído por parênquimas tendendo a paliçádico e esponjoso (Fig. 103). O parênquima tendendo a paliçádico é formado por células mais curtas e com alguns espaços intercelulares e o parênquima esponjoso possui espaços intercelulares conspícuos. O clorênquima que constitui o mesofilo, próximo ao bordo foliar, é homogêneo, com células isodiamétricas e com poucos espaços intercelulares; gradualmente mostra células com paredes mais espessadas, evidenciando colênquima subepidérmico no bordo (Fig. 104). O formato do bordo não é arredondado como nas demais espécies, mostrando-se mais abrupto (Fig. 104). A nervura mediana apresenta-se convexa nas duas faces e histologicamente está constituída por epiderme, colênquima, parênquima

clorofilado e sistema vascular (Fig. 105). A epiderme é uniestratificada e o colênquima é do tipo angular (Fig. 106). Mais internamente ocorre parênquima, entre as células deste tecido é frequente a presença de idioblastos com drusas (Fig. 105-106). O sistema vascular é constituído por feixe biclateral em arco aberto (Fig. 105). Entre o floema abaxial e o xilema evidencia-se câmbio vascular (Fig. 107). Fibras ocorrem adjacente às células condutoras do floema (Fig. 107). As nervuras secundárias (Fig. 108) são do tipo biclateral, com reduzido número de células de floema adaxialmente, e são contornadas uma bainha perivascular não tão conspícua como em outras espécies de *Brunfelsia* descritas anteriormente. A epiderme de *B. cuneifolia* é uniestratificada (Fig. 103-106) e há a presença de tricomas aglandulares em ambas as faces, sendo maior a densidade na face abaxial da nervura mediana (Fig. 109). Ornamentações epicuticulares são mais evidentes na face adaxial do que na face abaxial (Fig. 110-111). As células epidérmicas têm paredes anticlinais sinuosas (Fig. 112 e 113). Os estômatos são do tipo paracítico (Fig. 113) e estão restritos à face abaxial, determinando a classificação da folha da espécie como hipoestomática. As células-guarda estão um pouco acima do nível das demais células epidérmicas (Fig. 114), característica usualmente observada em plantas localizadas em ambientes mais sombreados.

O pecíolo, em secção transversal, apresenta-se sulcado na face adaxial e arredondado abaxialmente (Fig. 115). A epiderme é uniestratificada, com ornamentações epicuticulares e presença de tricomas aglandulares (Fig. 115-116). Sob a epiderme há colênquima angular e, mais internamente, o parênquima (Fig. 116), as células mais periféricas deste são clorofiladas. O sistema vascular, como nas outras espécies de *Brunfelsia* descritas anteriormente, está constituído por um feixe vascular principal e dois pequenos feixes vasculares laterais, adaxialmente (Fig. 115). O feixe vascular principal é central e em forma de arco aberto, sendo do tipo biclateral (Fig. 115 e 117); a presença de câmbio vascular é pouco evidente (Fig. 117). Os feixes vasculares de menor calibre são anficrivais e contornados por bainha perivascular (Fig. 118).

6. Considerações Gerais

Os dados obtidos a partir da descrição morfoanatômica foliar das cinco espécies de *Brunfelsia* demonstraram que várias características são compartilhadas entre elas. No entanto, outras características mostraram-se distintas (Tab. 4), as quais podem ter valor diagnóstico para identificação.

As espécies de *Brunfelsia* apresentaram aspectos foliares similares em relação à morfologia quanto à organização simples, forma da lâmina simétrica, base decorrente, textura membranácea, sem glândulas e pecíolo normal. O tipo de nervação é pinado, camptódromo-broquidrodromo. Autores como Cardoso & Sajo (2006), estudando Myrtaceae, e Fonseca *et al.* (2007), a respeito de *Spathicarpa* Hook. (Araceae), também citam esse tipo de nervação como sendo característico de espécies analisadas por eles. A nervura primária é única, de tamanho moderado e curso reto. A espessura relativa das nervuras secundárias é moderada seu curso é curvado abruptamente próximo à margem. O ângulo de origem da nervura terciária é agudo, padrão reticulado aleatório, curso ramificado, arranjo predominantemente alternado. As nervuras de ordem superior formam um retículo em que as ordens das nervuras podem ser distintas.

Quanto à anatomia da lâmina foliar, foram compartilhadas características como mesofilo dorsiventral. Diversos autores relatam este aspecto em seus estudos relacionados a espécies de Solanaceae (Metcalf & Chalk 1957, Colares *et al.* 1999, Jáuregui *et al.* 2001, Reis *et al.* 2002, Maiti *et al.* 2002, Elias *et al.* 2003, Martins *et al.* 2009). O clorênquima próximo ao bordo é homogêneo. Na região da nervura mediana há colênquima do tipo angular subepidérmico, e adjacente ao colênquima, ocorre parênquima clorofilado, com pequenos espaços intercelulares. Observa-se a presença de idioblastos com drusas no parênquima clorofilado. O sistema vascular da nervura mediana é constituído por feixe biclateral em arco aberto e há a presença de fibras junto ao floema. A epiderme é uniestratificada. Em vista frontal as paredes das células epidérmicas anticlinais são sinuosas em ambas as faces. A cutícula é delgada e as folhas são hipostomáticas em todas as espécies.

O pecíolo das espécies de *Brunfelsia* é sulcado adaxialmente e arredondado abaxialmente. Conforme citado anteriormente na descrição das

espécies, Metcalfe & Chalk (1957) relatam a forma do pecíolo como sendo característica do gênero. A epiderme é uniestratificada. Sob a epiderme ocorre colênquima angular e mais internamente parênquima. A vascularização é constituída por um feixe vascular principal e dois pequenos feixes vasculares laterais, adaxialmente. O feixe vascular principal é central e em forma de arco aberto, sendo do tipo bicolateral.

Brunfelsia apresenta características morfológicas foliares distintas, dependendo do ambiente e da espécie, quanto à forma da lâmina (Tab.4). É oblonga, em folhas de sombra de *B. pauciflora*, e elíptica, em folhas de sol desta mesma espécie, assim como em *B. australis* e *B. pilosa*. Já a forma obovada é encontrada em *B. brasiliensis*, *B. australis* e *B. cuneifolia*. O ápice mostra-se agudo em *B. brasiliensis* e acuminado nas demais espécies estudadas. A margem é inteira em folhas de *B. pauciflora* de ambiente sombreado e em *B. australis*, *B. pilosa* e *B. cuneifolia*. Folhas de *B. pauciflora* de ambientes ensolarados e *B. brasiliensis* possuem margem revoluta. Os ângulos de divergência entre as nervuras secundárias variam de 45°-65° em *B. pauciflora*, de 45°-55° em *B. australis*, de 50°-65° em *B. brasiliensis* e *B. pilosa* e de 50°-60° em *B. cuneifolia*. As nervuras intersecundárias são simples em *B. pauciflora* e *B. pilosa* e compostas nas demais espécies. A nervação marginal é formada por laços incompletos em *B. pauciflora*, laços completos em *B. brasiliensis* e *B. australis*. Em *B. pilosa* e *B. cuneifolia* a nervação marginal é fimbriada. As vênulas são simples ou ramificadas uma vez em *B. pauciflora* e *B. pilosa*, ramificadas uma vez em *B. cuneifolia* e ramificadas duas vezes em *B. brasiliensis* e *B. australis*. O desenvolvimento das aréolas é completo em *B. pauciflora*, *B. australis* e *B. cuneifolia* e incompleto em *B. brasiliensis* e *B. pilosa*. O formato das aréolas mostra-se triangular ou quadrangular em *B. brasiliensis*, quadrangular ou pentagonal em *B. australis* e *B. pilosa*, quadrangular ou poligonal em *B. pauciflora* e pentagonal ou poligonal em *B. cuneifolia*. Conforme Fonseca *et. al.* (2007) o estudo e a caracterização da venação foliar representam uma possibilidade de auxílio na taxonomia. Entretanto, no presente estudo constatou-se que é necessária cautela quanto às características, tendo em vista que os dados de *B. pauciflora* mostraram algumas variações relacionadas com a intensidade da irradiação solar.

Em relação à anatomia foram distintos aspectos, como mesófilo apresentando parênquima paliçádico com células alongadas em folhas de sol de *B. pauciflora* e parênquima tendendo a paliçádico em folhas de sombra de *B. pauciflora*, assim como nas demais espécies analisadas. Na região do bordo foliar há a presença de colênquima subepidérmico em *B. pauciflora*, *B. brasiliensis*, *B. pilosa* e *B. cuneifolia*. Em *B. australis* há a ausência de colênquima subepidérmico. O formato do bordo é arredondado em *B. pauciflora*, *B. brasiliensis*, *B. australis* e *B. pilosa*. Já o formato do bordo de *B. cuneifolia* é abrupto. O formato da nervura mediana mostra-se convexo em ambas as faces em *B. pauciflora* e *B. cuneifolia*. Em *B. brasiliensis*, *B. australis* e *B. pilosa* o formato da nervura mediana é côncavo na face adaxial e convexo na face abaxial. O feixe vascular da nervura mediana apresenta câmbio vascular em *B. pauciflora*, *B. pilosa* e *B. cuneifolia*, sendo ausente em *B. brasiliensis* e *B. australis*. Santos & Oliveira (1988) relatam a presença de uma faixa cambial na nervura mediana foliar em seus estudos a respeito de espécies de *Ocotea* Aubl. (Lauraceae). O tipo de feixe vascular das nervuras secundárias é bicolateral em *B. pauciflora*, *B. australis* e *B. pilosa*. Em *B. brasiliensis* e *B. cuneifolia* o feixe vascular das nervuras secundárias é colateral. A ausência de bainha perivascular nas nervuras secundárias ocorre somente em *B. cuneifolia*. Estrias epicuticulares ornamentando as células epidérmicas estão presentes em ambas as faces em *B. brasiliensis* e *B. pilosa*. Porém, em *B. pauciflora*, *B. australis* e *B. cuneifolia* há a presença de estrias epicuticulares nas células epidérmicas somente na face adaxial. Tricomas aglandulares simples ocorrem nas células epidérmicas de *B. brasiliensis*, *B. pilosa* e *B. cuneifolia* sendo que as demais espécies analisadas são glabras. Estômatos mostram-se elevados em relação às demais células epidérmicas em *B. pauciflora*, *B. brasiliensis* e *B. cuneifolia*. Os estômatos das espécies de *Brunfelsia* são do tipo paracítico, porém as folhas de *B. pauciflora* apresentam, além do tipo paracítico, o tipo anomocítico numa mesma folha, independente da condição de exposição à irradiação solar.

O pecíolo possui caracteres distintos como a presença de periderme somente *B. pauciflora* e *B. brasiliensis*. O câmbio vascular no feixe vascular principal ocorre em *B. pauciflora*, *B. cuneifolia* e *B. pilosa*, sendo ausente nas demais espécies estudadas. Santos & Oliveira (1995), em seus estudos

relacionados ao pecíolo de espécies do gênero *Ocotea* (Lauraceae), também mencionam a presença de câmbio vascular no feixe vascular principal do pecíolo. Esta característica, apesar de estar sempre presente ou sempre ausente nas amostras das espécies analisadas, pode estar relacionada com o tempo de perenidade da folha. O tipo de feixe vascular de menor calibre do pecíolo é anficrival em *B. pauciflora*, *B. brasiliensis*, *B. pilosa* e *B. cuneifolia*. Apenas *B. australis* apresenta feixe vascular de menor calibre do tipo bicolateral.

Aspectos quantitativos relacionados a folhas de espécies de *B. pauciflora* sob diferentes irradiações mostraram variação em algumas características, de acordo com o ambiente em que planta se desenvolve. Entre estas características, destacam-se: forma da folha, tipo de margem, forma celular e número de camadas celulares do parênquima paliçádico, assim como densidade estomática e estômatos elevados em relação às demais células. Sendo assim, estes caracteres não foram considerados confiáveis para diagnóstico taxonômico.

Morfoanatomicamente, as cinco espécies de *Brunfelsia* analisadas apresentaram distinções foliares importantes para auxílio na identificação taxonômica, tais como: tipo de nervação interssecundária, nervação marginal, desenvolvimento e forma das aréolas; colênquima subepidérmico na região do bordo, formato do bordo e da nervura mediana; presença de bainha perivascular nas nervuras secundárias; presença de tricomas; tipo de feixe vascular de menor calibre do pecíolo e presença de bainha perivascular do feixe vascular de menor calibre do pecíolo. Portanto, os resultados obtidos no presente trabalho são de relevância e poderão servir como ferramenta para futuros estudos taxonômicos do gênero. Três características, que ocorrem apenas em algumas espécies, foram desconsideradas: a presença de câmbio vascular na nervura mediana e de periderme no pecíolo, por estar relacionada com a idade da folha; e o tipo de feixe vascular das nervuras secundárias, por ser de difícil identificação a presença ou ausência de floema adaxialmente.

Tabela 4. Características morfoanatômicas de espécies de *Brunfelsia* L. (Solanaceae)

Características	<i>B. pauciflora</i> sol	<i>B. pauciflora</i> sombra	<i>B. brasiliensis</i>	<i>B. australis</i>	<i>B. pilosa</i>	<i>B. cuneifolia</i>
Forma da Lâmina						
Oblonga		x				
Elíptica	x			x	x	
Obovada			x	x		x
Ápice						
Agudo			x			
Acuminado	x	x	x	x	x	x
Margem						
Inteira		x		x	x	x
Revoluta	x		x			
Ângulos de divergência entre as nervuras secundárias						
45°-65°	x	x				
45°-55°				x		
50°-65°			x		x	
50°-60°						x
Nervuras intersecundárias						
Simples	x	x			x	
Compostas			x	x		x
Nervação marginal						
Laços incompletos	x	x				
Laços completos			x	x		
Fimbriada					x	x
Vênulas						
Simples ou ramificadas uma vez	x	x			x	
Ramificadas uma vez						x
Ramificadas duas vezes			x	x		
Desenvolvimento das aréolas						
Incompleto			x		x	
Completo	x	x		x		x

Características	<i>B. pauciflora</i> sol	<i>B. pauciflora</i> sombra	<i>B. brasiliensis</i>	<i>B. australis</i>	<i>B. pilosa</i>	<i>B. cuneifolia</i>
Forma das aréolas						
Triangular ou quadrangular			x			
Quadrangular ou pentagonal				x	x	
Quadrangular ou poligonal	x	x				
Pentagonal ou poligonal						x
Mesófilo						
Parênquima paliçádico	x					
Parênquima tendendo a paliçádico		x	x	x	x	x
Parênquima esponjoso	x	x	x	x	x	x
Colênquima subepidérmico na região do bordo foliar						
Presente	x	x	x		x	x
Ausente				x		
Formato do bordo foliar						
Arredondado	x	x	x	x	x	
Abrupto						x
Formato da nervura mediana						
Convexo em ambas as faces	x	x				x
Côncavo na face adaxial e convexa na face abaxial			x	x	x	
Câmbio vascular na nervura mediana						
Presente	x	x			x	x
Ausente			x	x		
Tipo de feixe vascular da nervura secundária						
Colateral			x		x	
Bicolateral	x	x		x		x
Bainha perivascular nas nervuras secundárias						
Presente	x	x	x	x	x	
Ausente						x

Características	<i>B. pauciflora sol</i>	<i>B. pauciflora sombra</i>	<i>B. brasiliensis</i>	<i>B. australis</i>	<i>B. pilosa</i>	<i>B. cuneifolia</i>
Estrias epicuticulares nas células epidérmicas						
Presente em ambas as faces			x		x	
Presente apenas na face adaxial	x	x		x		x
Tricomas aglandulares						
Presentes			x		x	x
Ausentes	x	x		x		
Posição dos estômatos em relação às demais células epidérmicas						
Elevados	x	x	x			x
Não elevados				x	x	
Tipos de estômatos						
Paracítico	x	x	x	x	x	x
Anomocítico	x	x				
Periderme no pecíolo						
Presente		x	x			
Ausente	x			x	x	x
Câmbio vascular no feixe vascular principal do pecíolo						
Presente	x	x			x	x
Ausente			x	x		
Tipo de feixe vascular de menor calibre do pecíolo						
Anficrival	x	x	x		x	x
Bicolateral				x		

REFERÊNCIAS

- Abrans, M. C.; Kloeppel, B. D. & Kubske, M. E. 1992. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus serotiana*. **Tree Physiology** **10**: 343-355.
- Aguiar, T. V.; Sant'anna-Santos, B. F.; Azevedo, A. A. & Ferreira, R. S. 2007. ANATI QUANTI: Software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha** **25**: 649-659.
- Araújo, N. D.; Coelho, V. P. M. & Agra, M. F. 2010 Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Solanum crinitum* Lam., *Solanum gomphodes* Dunal e *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. Solanaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia** **20**: 666-674.
- Atlas de Santa Catarina. 1986. Governo do Estado de Santa Catarina. Gabinete de Planejamento e Coordenação Geral. Rio de Janeiro: Aerofoto Cruzeiro. 173p.
- Baranova, M. 1992. Principles of comparative stomatographic studies of flowering plants. **The Botanical Review** **58**: 49-99.
- Bersier, J. D. & Bocquet, G. 1960. Les méthodes d'éclaircissement en vascularisation et en morphogénie vegetales compares. **Archives des Sciences** **13**: 555-566.
- Boeger, M. R.T & Wisniewski, C. 2003. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **26**: 61-72.
- Boeger, M. R. T.; Espindola-Jr, A.; Macari-Jr, A.; Reissmanm, C. B.; Alves, A. C. A. & Rickli, F. L. 2009. Variação estrutural foliar de espécies medicinais em consórcio com erva-mate, sob diferentes intensidades luminosas. **Floresta** **33**: 215-225.

- Camargo, M. A. B. 2009. Características estomáticas em espécies arbóreas da Amazônia Central. . Dissertação de Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais. Manaus. INPA, 52 p.
- Cardoso, C. M. V. & Sajo, M. G. 2006. Nervação foliar em espécies brasileiras de Myrtaceae Adans. **Acta Botânica Brasílica** **20**: 657-669.
- Chu, M. C. 1974. A comparative study of foliar anatomy of *Lycopodium* species. **American Journal of Botany** **61**: 681-692.
- Colares, M. N; Báyon, N. D.; Stenglein, S. A. & Arambari A. M. 1999. Anatomía y etnobotánica de las especies medicinales de la provincia pampeana: Solanaceae (excepto *Grabowskia* y *Solanum*). **Acta Farmacéutica Bonaerense** **18**: 171-182.
- Comitê Itajaí. 2004. Disponível em: <<http://www.comiteitajai.org.br/hp/bacia/localiza.php> acessado em: 25/07/2008.
- Costa, A. F. 1982. **Farmacognosia**. Farmacognosia experimental. 2ª ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. Vol. III. 1032p.
- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York, Columbia University Press. 1261p.
- DeLucia, E. H.; Nelson, K.; Vogelmann, T. C.; Smith, W. K. 1996. Contribution of intercellular reflectance to photosynthesis in shade leaves. **Plant, Cell and Environment** **19**: 159-170.
- Dickison, W.C. 2000. **Integrative plant anatomy**. Academic Press, USA. 533p.
- Duz, S. R.; Siminski, A.; Santos, M. & Paulilo, M. T. 2004. Crescimento inicial de três espécies arbóreas da Floresta Atlântica em resposta à variação de luz. **Revista Brasileira de Botânica** **3**: 587-596.
- Eames, A.J. & MacDaniels, L.H. 1947. **An introduction to plant anatomy**. 2ª ed. McGraw-Hill, USA.
- Eglinton, G. & Hamilton, R. J. 1967. Leaf epicuticular waxes. **Science** **156**: 1322-1335.
- Elias, S. R. M.; Assis, R. M.; Seraphin, E. S. & Rezende, M. H. 2003. Anatomia foliar em plantas jovens de *Solanum lycocarpum* A.St.-Hil. (Solanaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **26**: 169 -174.
- Esau, K. 1959. **Anatomia vegetal**. Barcelona, Ed.Omega. 729 p.

- Esau, K. 1976. **Anatomia das plantas com sementes**. Tradução: Berta L. de M. São Paulo, Ed. Edgard Blucher. 219 p.
- Fahn, A. 1974. **Plant anatomy**. Madrid. Ed. H. Blume, 643p.
- Fermino Jr., P. C. P. 2004. Anatomia ecológica comparada de folhas de *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Nyctaginaceae) na vegetação de restinga e na Floresta Ombrófila Densa. Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal. Florianópolis. UFSC, 69 p.
- Fermino Jr., P. C. P.; Paulilo, M.T.S.; Reis, A. & Santos, M. 2004. Espécies pioneiras e climáticas da Floresta Ombrófila Densa: anatomia foliar comparada. **Insula 33**: 21-37.
- Fonseca, L. C. M; Proença, C. E. B. & Gonçalves, E. G. 2007. Descrição do padrão de venação foliar em *Spathicarpa* Hook. (Araceae). **Acta Botânica Brasílica 21**: 213-221.
- Hickey, L. J. 1979. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (Ed.). **Anatomy of the dicotyledons**. 2^a ed. Oxford, Clarendon Press. Vol. I. p. 25-39.
- Jáuregui, D.; Ríos, N. R. de & Rojas, C. E. B. de. 2001. Estudios anatómicos foliares en Solanaceae de Venezuela. VI. Anatomia Foliar de Diez especies de *Cestrum* L. **Acta Científica Venezolana 52**: 248–260.
- Johansen, D. A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York, McGraw Hill Book Company, Inc. 523p.
- Klich, M. G. 2000. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environmental heterogeneity. **Environmental and Experimental Botany 44**: 171-183.
- Kraus, B. H. 1948. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Annanas comosus* (L.) Merr. II. The leaf. **Botanical Gazette 110**:333-404.
- Kraus, J. E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédia, RJ, Editora Universidade Rural.194p.
- Lambers, H.; Stuart, F. & Pons, T.L.1998. **Plant physiological ecology**. New York, Springers-Verlag. 540p.
- Larcher, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo. Rima Artes e Textos. 531p.
- Lee, D. W.; Oberbauer, S. F.; Johnson, P.; Krishnapilay, B.; Mansor, M.; Mohamad, H. & Yap, S. K. 2000. Effects of irradiance and spectral quality on

- leaf structure and function in seedlings of two southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany** **87**: 447-455.
- Leeflang, L., During, H. K. & Weger, M. J. A. 1998. The role of petioles in light acquisition by *Hydrocotyle vulgaris* L. in vertical light gradient. **Oecologia** **117**: 235-238.
- Lima, V. F. G. A. P.; Souza, I. L.; Ferreira, M. S.; Hugenschmidt, R. I. C. & Silva, V. S. 2009. Estudo anatômico da folha de duas espécies de Solanaceae ocorrentes no Núcleo Cabuçu (Guarulhos-SP). **Revista do Instituto Florestal** **21**: 117-129.
- Lleras, E. 1977. Differences in stomatal number per unit area within the same species under different microenvironmental conditions: a working hypothesis. **Acta Amazonica** **7**: 473-476.
- Lovatto, P. B.; Goetze, M. G. & Thomé C. H. 2004. Efeito de extratos de plantas silvestres da família *Solanaceae* sobre o controle de *Brevicoryne brassicae* em couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Ciência Rural** **34**: 971-978.
- Maiti, R. K.; Villarreal, L. R.; Trevino, A. V. & Valadares-Cerda, M. C. 2002. Some aspects on pharmacognosy of ten species of the family Solanaceae utilized in traditional medicine (Algunos aspectos de la farmacognosia de diez especies de la familia Solanaceae empleadas en medicina tradicional). **Caldasia** **24**: 317-321.
- Markesteyn, L.; Poorter, L. & Bongers, F. 2007. Light-dependent leaf trait variation in 43 tropical variation tropical dry. **American Journal of Botany** **94**: 515-525.
- Marques, A. R.; Garcia, Q. S.; Rezende, J. L. P. & Fernandes, G. W. 2000. Variations in leaf characteristics of two *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology** **41**: 47-60.
- Martins, M. B. G.; Graf, R. R.; Cavaleiro, S. D. & Rodrigues, S. D. C. 2009. Caracterização anatômica, química e antibacteriana de folhas de *Brunfelsia uniflora* (manacá) presentes na Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Farmacognosia** **19**: 106-114.
- Mauseth, J.D. 1988. **Plant anatomy**. Benjamin/Cummings, USA.

- Mentz, L.A. 1998. O gênero *Solanum* (Solanaceae) na região Sul do Brasil. Tese de doutorado em botânica. Porto Alegre. UFRGS.
- Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1957. Solanaceae. In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1957. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford. Clarendon Press. Vol. II.
- Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1983. **Anatomy of the dicotyledons**. 2^a ed. Wood structure and conclusion of the general introduction. Oxford. Clarendon Press. Vol. II.
- Morais, H; Medri, M. E.; Marur, C. J.; Caramori, P. H.; Ribeiro, A. M. A. & Gomes, J. C. 2004. Modifications of leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Brasilian Archives of Biology and Technology** **47**: 863-871.
- Muchow, R. C. & Sinclair, T. R. 1989. Epidermal conductance, stomatal density and stomatal size among genotypes of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Plant, Cell and Environment** **12**: 425-431.
- Napp-Zinn, K. 1984. **Handbuch der Pflanzenanatomie**. VIII Anatomie des Blattes, 2. Blattanatomie der Angiospermen, B. Experimentelle und ökologische Anatomie des Angiospermenblattes. Gbdr. Borntraeger, Germany. 520p.
- Niinemets, U. & Fleck, S. 2002. Petiole mechanics, leaf inclination, morphology, and investment in support in relation to light availability in the canopy of *Liriodendron tulipifera*. **Oecologia** **132**: 21-33, 2002.
- Niklas, K. J. 1999. Research review a mechanical perspective on foliage leaf form and functions. **New Phytologist** **143**: 19-31.
- Nimer, E. 1990. **Clima**. In: **Geografia do Brasil: Região Sul**. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Diretoria de Geociências. Rio de Janeiro. p. 151-187.
- O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M. E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** **59**: 368-373.
- Paiva, J. G. A; Fank-de-Carvalho, S. M.; Magalhães, M. P. & Graciano-Ribeiro, D. 2006. Verniz vitral incolor 500[®]: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta Botanica Brasilica** **20**: 257-264.

- Pandey, S. & Kushwaha, R. 2005. Leaf anatomy and photosynthetic acclimation in *Valeriana jatamansi* L. grow under high and low irradiance. **Photosynthetica** **43**: 85-90.
- Parkhurst, D. F. & Loucks, O. L. 1972. Optimal leaf size in relation to environment. **Journal of ecology** **60**: 505-537.
- Parkhurst, D. F. 1986. Internal leaf structure: a three-dimensional perspective. *In*: T. J. Givnish. (ed.). **On the economy of plant form and function**. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 215-249.
- Peat, H. J. & Fitter, A. H. 1994. A comparative study of the distribution and density of stomata in the British flora. **Biological Journal of the Linnean Society** **52**: 377-393.
- Peterson, R. L.; Peterson, C. A. & Melville, L. H. 2008. **Teaching plant anatomy through creative laboratory exercises**. Ottawa, Ontario. NRC Press. 164p.
- Plowman, T. C. 1998. A revision of the South American species of *Brunfelsia* (Solanaceae). **Fieldiana Botany New Series** **39**.
- Poole, I.; Weyfrs, J. D. B.; Lawson, T. & Raven, J. A. 1996. Variations in stomatal density and index: implications for palaeoclimatic reconstructions. **Plant, Cell and Environment** **19**: 705-712.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient; the relative importance of morphological and physiological traits. **Functional Ecology** **13**: 396-410.
- Reis, C.; Sajo M. G.; Stehmann. 2002. Leaf structure and taxonomy of *Petunia* and *Calibrachoa* (Solanaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** **45**: 59-66.
- Riet-Correa, F; Mendez, M. C.; Schild, A. L. & Petiz, C. A. 1993. Enzootic calcinosis in sheep experimental reproduction with *Nierembergia veitchii*. **Pesquisa Veterinária Brasileira** **13**: 21-24.
- Rôças, G.; Scarano, F. R. & Barros, C. F. 2001. Leaf anatomical variation in *Alchornea triplinervia* (Spreng) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) under distinct light and soil water regimes. **Botanical Journal of the Linnean Society** **136**: 231-238.

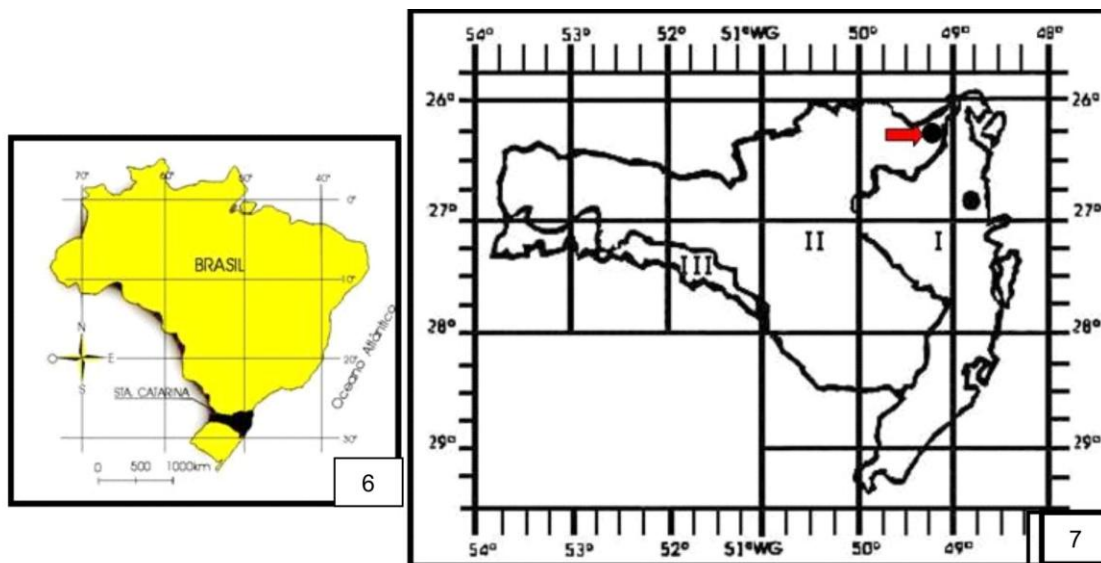
- Salisbury, F. B. & Ross, C. W. 1992. **Plant physiology**. 4^a ed. California, Wadsworth Publishing Company. 322p.
- Santos, M. & Oliveira, P. L. 1988. Aspectos anatômicos da lâmina foliar de *Ocotea porosa* Nees et. Mart ex Nees J. Angely (Lauraceae). **Insula 18**: 03-22
- Santos, M. & Oliveira, P. L. 1995. Aspectos anatômicos do pecíolo de quatro espécies do gênero *Ocotea* Aubl. (Lauraceae) ocorrentes no Rio Grande do Sul. **Insula 24**: 03-14.
- Silva, K. N.; Agra, M. F.; Baracho, G. S. & Basílio, I. J. L. D. 2007. Estudo Farmacobotânico de Folhas de *Nicotiana glauca*(Solanaceae). **Latin American Journal of Pharmacy 26**: 499-506.
- Smith, F. H. & Smith, E. C. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. **American Journal of Botany 29**: 464- 471.
- Smith, B. L. & Downs, R. J. 1966. Solanáceas. I. **Flora Ilustrada Catarinense**. Parte. 299-308 p Herbário "Barbosa Rodrigues". Itajaí. Santa Catarina Brasil
- Smith, W. K. 1978. Temperatures of desert plants: Another Perspective on the Adaptability of Leaf Size. **Science 201**: 614-616.
- Soares, E. L. de C. & Mentz, L. A. 2007. O gênero *Brunfelsia* (Solanaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisas Botânica 58**: 245-262.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. 1969. **Biometry**. San Francisco. Freeman and Company, 776p.
- Souza, L. A.; Rosa, S. M; Moscheta, I. S.; Mourão, K. S. M.; Rodella, R. A.; Rocha, D. C. & Lolis, M. I. G. A. 2005. **Morfologia e Anatomia Vegetal. Técnicas e Práticas**. Ponta Grossa, UEPG. 192p.
- Souza, V. C & Lorenzi H. 2005. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. São Paulo. Nova Odessa. 547-548 p.
- Van Steenis, C. G. G. J. 1987. Rheophytes of the world: supplement. **Allertonia 4**: 267-330.
- Vitarelli, N. C. 2008. Morfoanatomia foliar da reófito facultativa *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal. Florianópolis. UFSC, 78 p.

- Vogelmann, T. C. & Martin, G. 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. **Plant, Cell and Environment** **16**: 65-72.
- Vogelmann, T. C., Bornman, J. F. & Yates, D. J. 1996. Focusing of light by leaf epidermal cells. **Physiologia Plantarum** **98**: 43-56.
- Wilkinson, H. P. 1979. **Anatomy of Dicotyledons**. The plant surface. Part I. Stomata. *In*: Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 2^a Ed. Oxford, Clarendon Press. Vol. I. p. 97-117.
- Yano, S. & Terashima, I. 2004. Developmental process of sun and shade leaves in *Chenopodium album* L. **Plant Cell and Environment** **27**: 781-793.

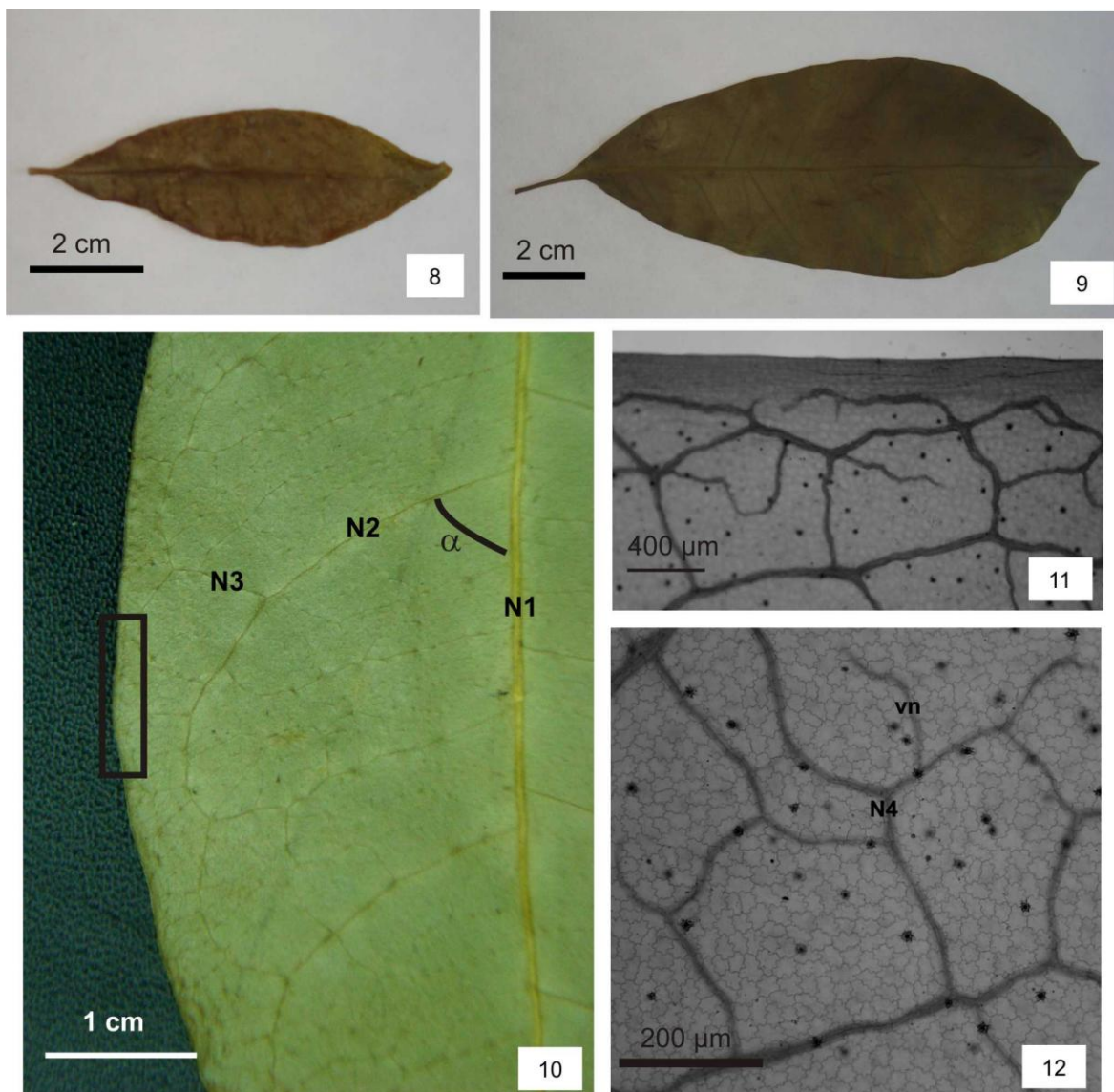
ILUSTRAÇÕES



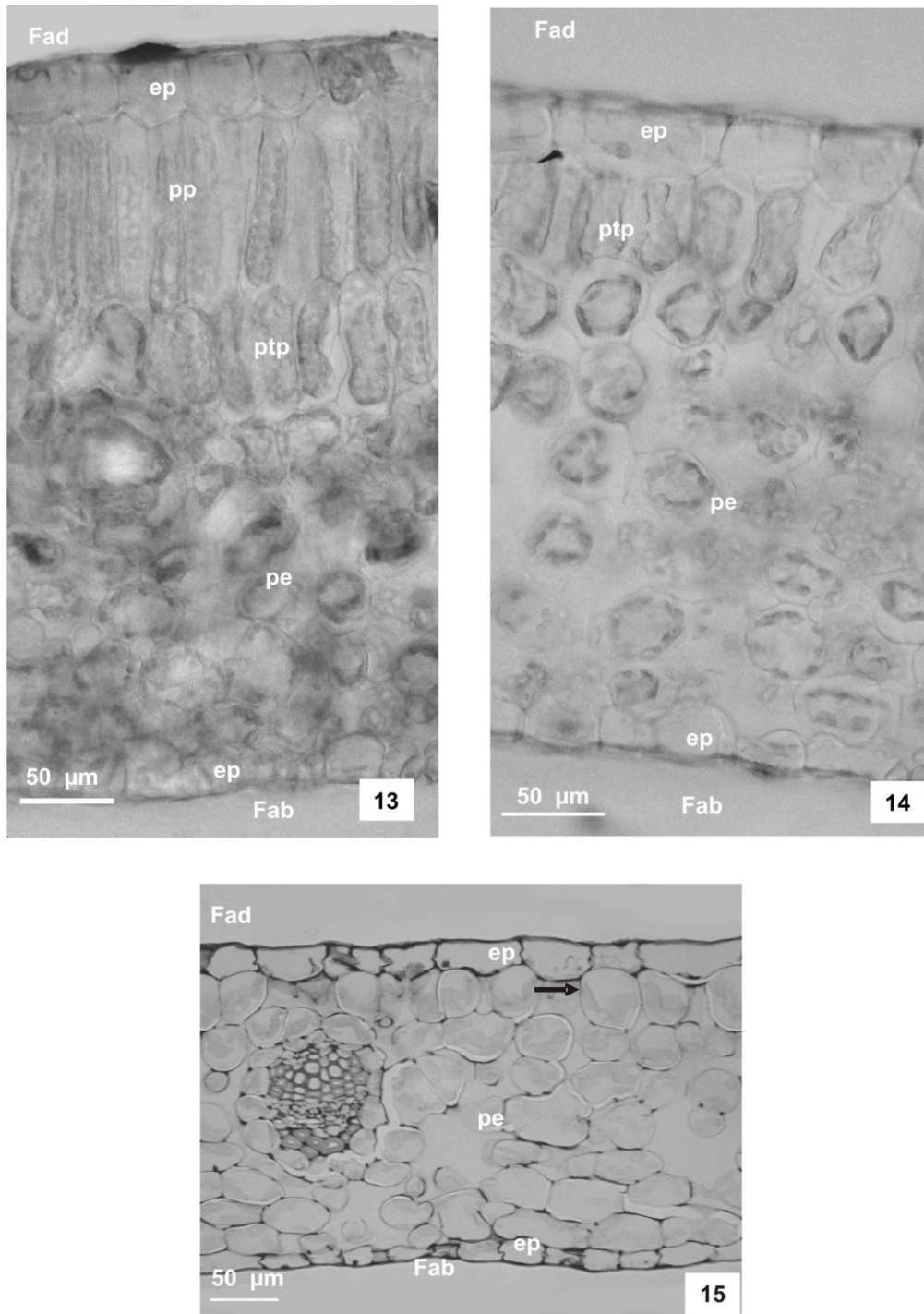
Figuras 1-5. Aspectos gerais de espécies de *Brunfelsia* L. **1.** *B. pauciflora* (Cham. & Schltdl.) Benth. (Bresolin A. & Klein R.M. Herbário FLOR n° 1333). **2.** *B. brasiliensis* L.B. Sm. & Downs. (Falkenberg D. B. & Souza M. L. Herbário FLOR n° 21650). **3.** *B. australis* Benth. (Falkenberg D.B. & Souza M. L. Herbário FLOR n° 19583). **4.** *B. pilosa* Plowman. (Hatschback G.; Herbário FLOR n° 24077). **5.** *B. cuneifolia* J.A. Schmidt. (Jarenkow J.A.; Herbário FLOR n° 25932).



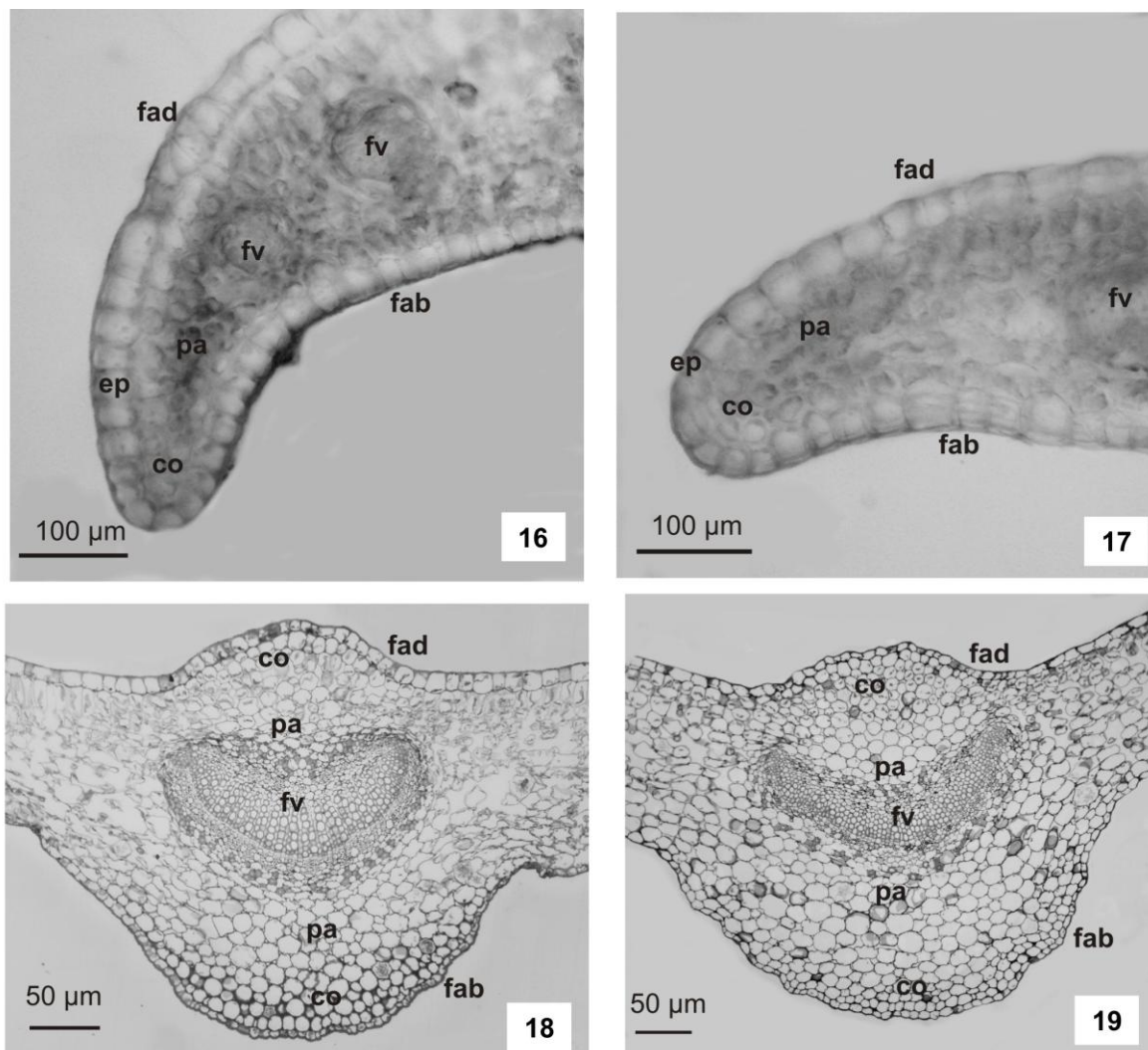
Figuras 6 - 7. Mapas para referência dos locais de coleta. **6.** Mapa do Brasil, destacando em preto o Estado de Santa Catarina (Comitê de Itajaí, 2004). **7.** Mapa do Estado de Santa Catarina; seta vermelha indica o município de Corupá (adaptado do Comitê de Itajaí, 2004).



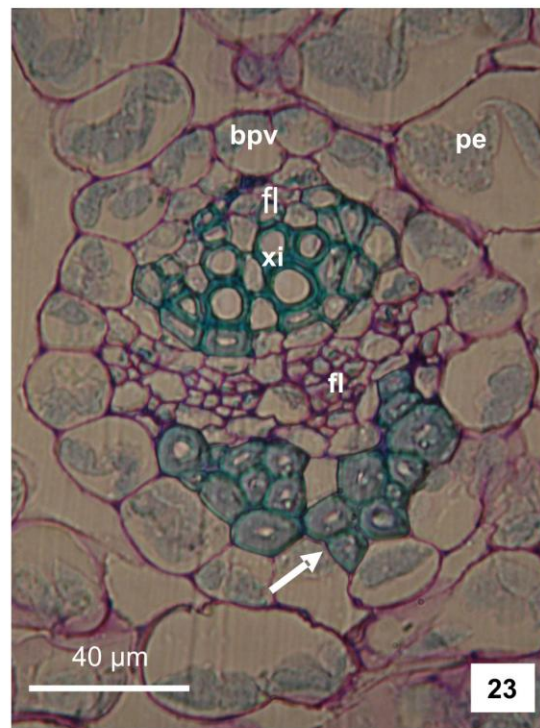
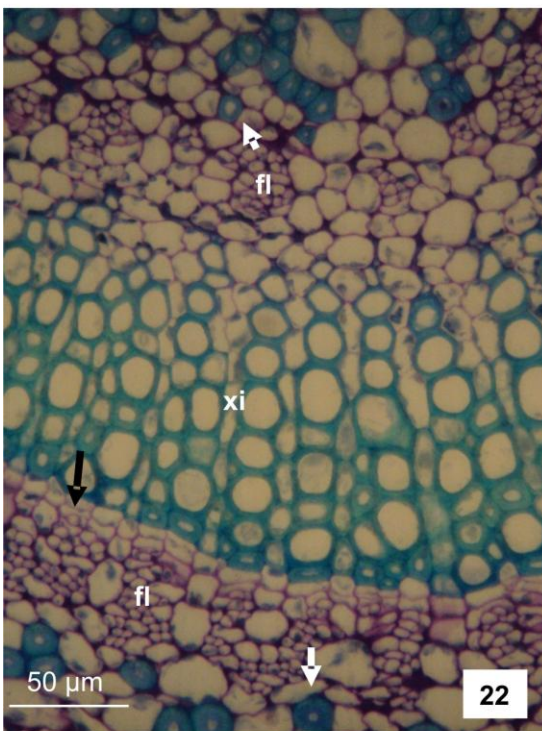
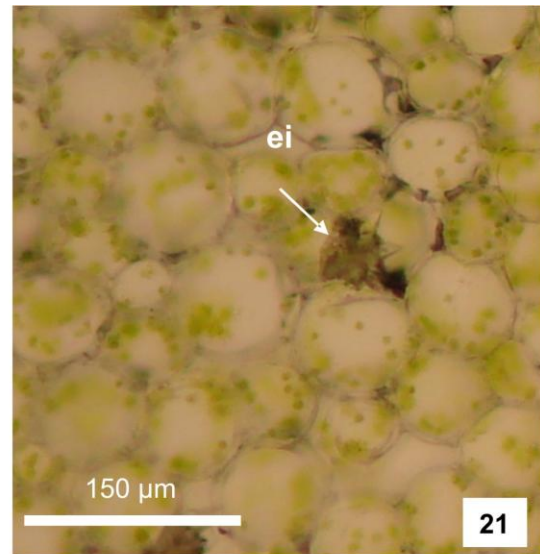
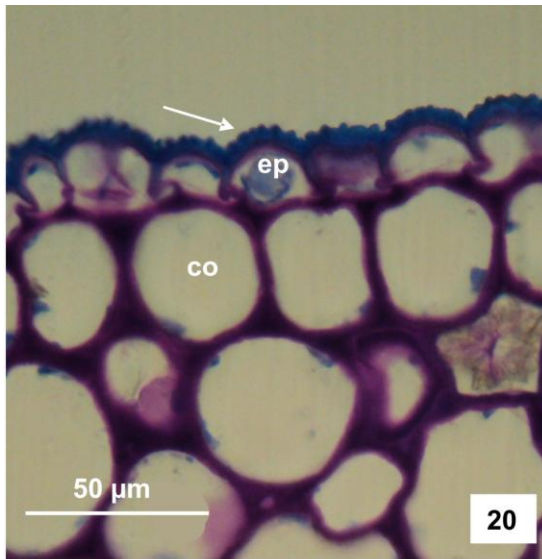
Figuras 08-12. Folha de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **08.** Aspecto geral da folha de ambiente ensolarado. **09.** Aspecto geral da folha de ambiente sombreado. **10.** Face abaxial da lâmina foliar evidenciando nervação pinada, camptódroma-broquidrodoma. **11-12.** Detalhes de nervação em lâmina foliar diafanizada. **11.** Última nervação marginal, em laços incompletos (correspondendo à região indicada por retângulo preto na figura 10). **12.** Aréolas com desenvolvimento completo e forma quadrangular ou poligonal. Legenda: α - ângulo de divergência entre nervura primária e secundária; N1- nervura primária; N2- nervura secundária; N3- nervura terciária; N4- nervura quaternária; vn- vênula.



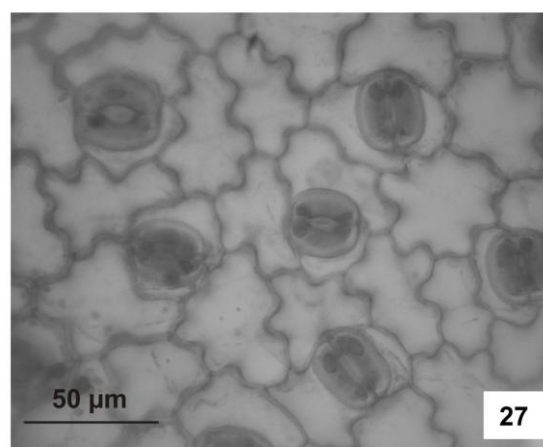
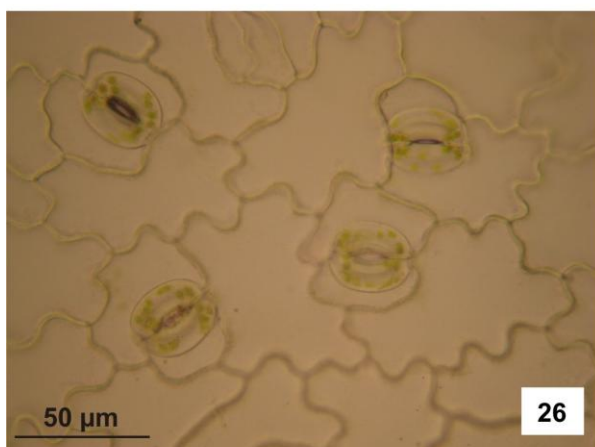
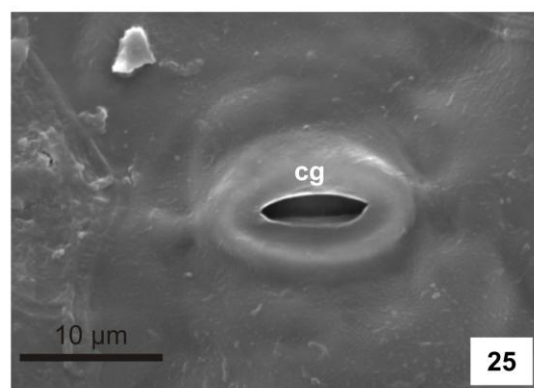
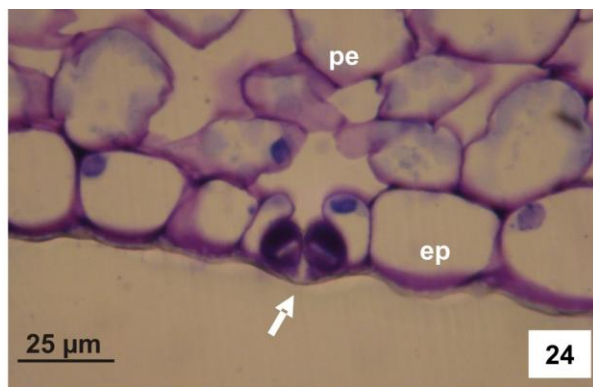
Figuras 13 - 15. Fotomicrografias de secções transversais de lâminas foliares de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **13.** Folha de sol. **14 - 15.** Folhas de sombra, sem constituir parênquima paliçádico. **14.** Adaxialmente, estrato parenquimático tendendo à paliçada. **15.** Estrato subjacente à epiderme adaxialmente é mais compacto que parênquima esponjoso, mas sem forma paliçádica (seta).
 Legenda: ep - epiderme; fab - face abaxial; fad - face adaxial; pe - parênquima esponjoso; pp- parênquima paliçádico; ptp- parênquima tendendo a paliçádico.



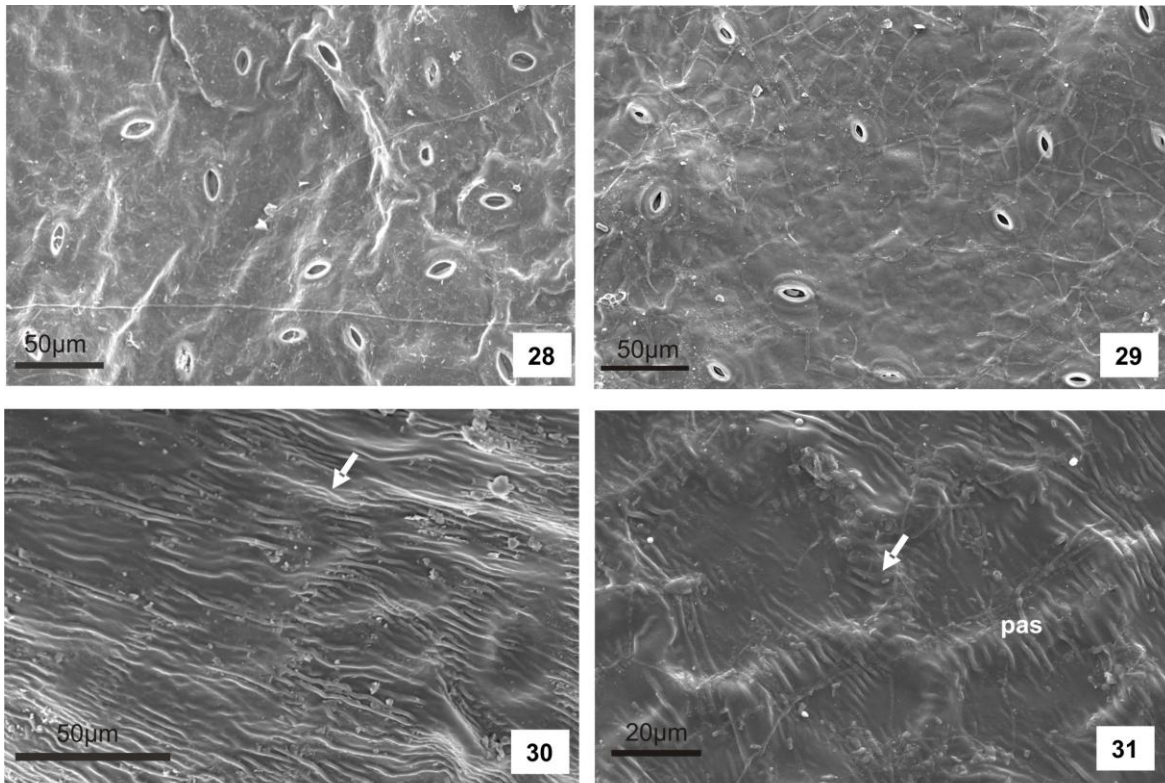
Figuras 16-19. Fotomicrografias de secções transversais de lâminas foliares de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **16-17.** Bordos foliares de folhas de sol e sombra respectivamente. Setas indicam extremidade acentuadamente recurvada nas folhas de sol e ligeiramente recurvada nas de sombra. **18-19.** Aspectos gerais da nervura mediana, de folhas de sol e sombra, respectivamente. Feixes vasculares em forma de semi-arco, mais estreitos e mais alongados lateralmente nas folhas de sombra. Legenda: co - colênquima; ep - epiderme; fab - face abaxial; fad - face adaxial; fv - feixe vascular; pa - parênquima



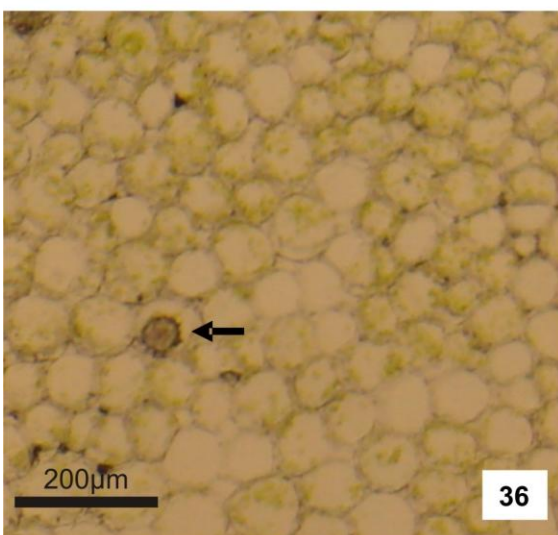
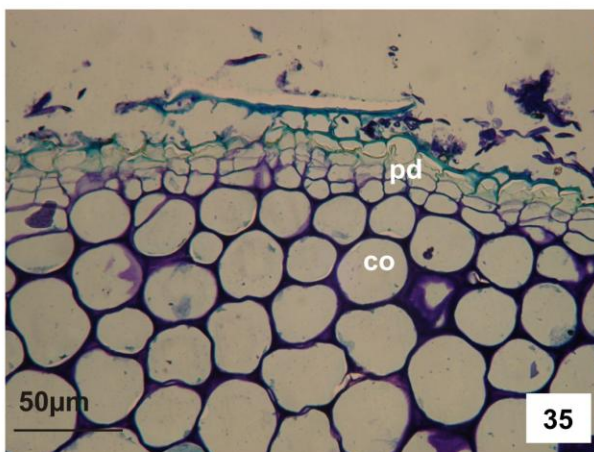
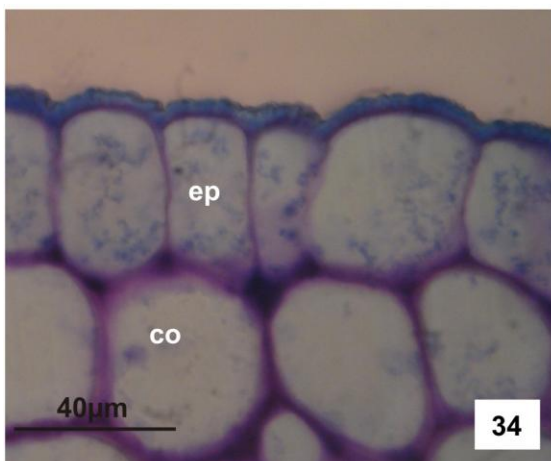
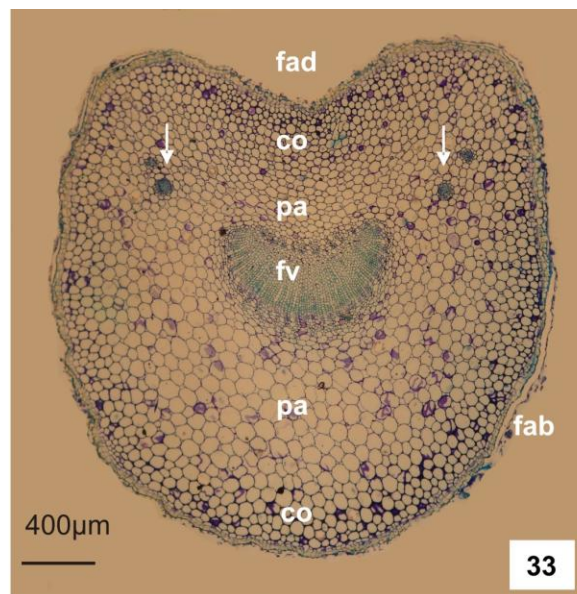
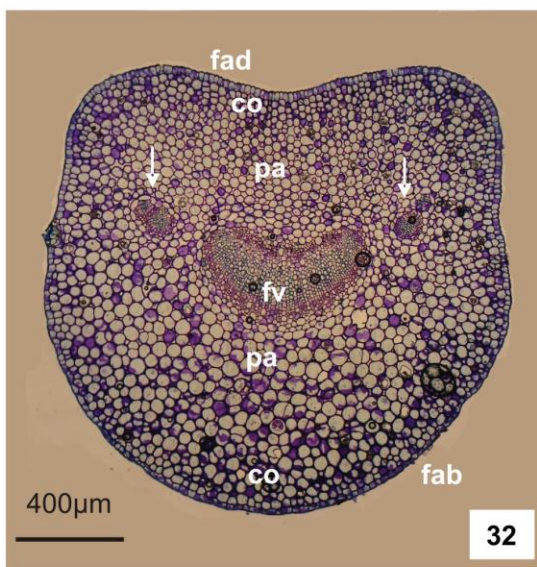
Figuras 20-23. Fotomicrografias de secções transversais de lâminas foliares de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **20.** Tecidos adaxiais da nervura mediana evidenciando a epiderme com ornamentações epicuticulares (seta) e o colênquima subjacente. **21.** Detalhe de células do parênquima clorofilado da nervura mediana; seta indica drusa. **22.** Detalhe do feixe vascular bicollateral aberto da nervura mediana. Setas brancas indicam fibras. Seta escura indica câmbio vascular. **23.** Nervura secundária delimitada por bainha perivascular entre as células do parênquima esponjoso. Seta branca indica fibras. Legenda: bpv- bainha perivascular; co- colênquima; ei- espaços intercelulares; ep- epiderme; fl- floema; fv- feixe vascular; pa- parênquima; pe- parênquima esponjoso; xi- xilema.



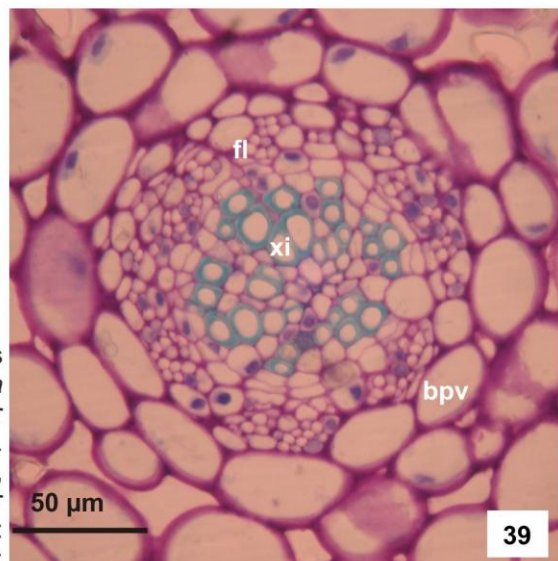
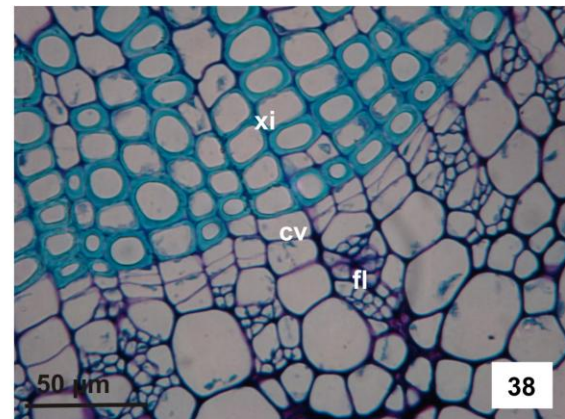
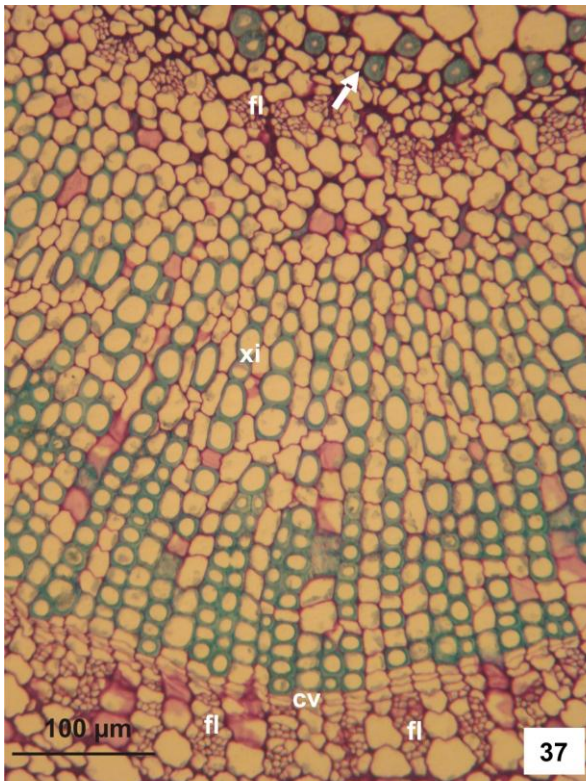
Figuras 24-27. Lâminas foliares de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **24.** Fotomicrografia de secção transversal de tecidos abaxiais, evidenciando estômato tenuemente elevado (seta). **25.** Eletromicrografia de estômato, na face abaxial. **26-27.** Superfície abaxial. **26.** Estômatos paracíticos. **27.** Estômatos anomocíticos. Legenda: cg- célula-guarda; ep- epiderme; pe- parênquima esponjoso.



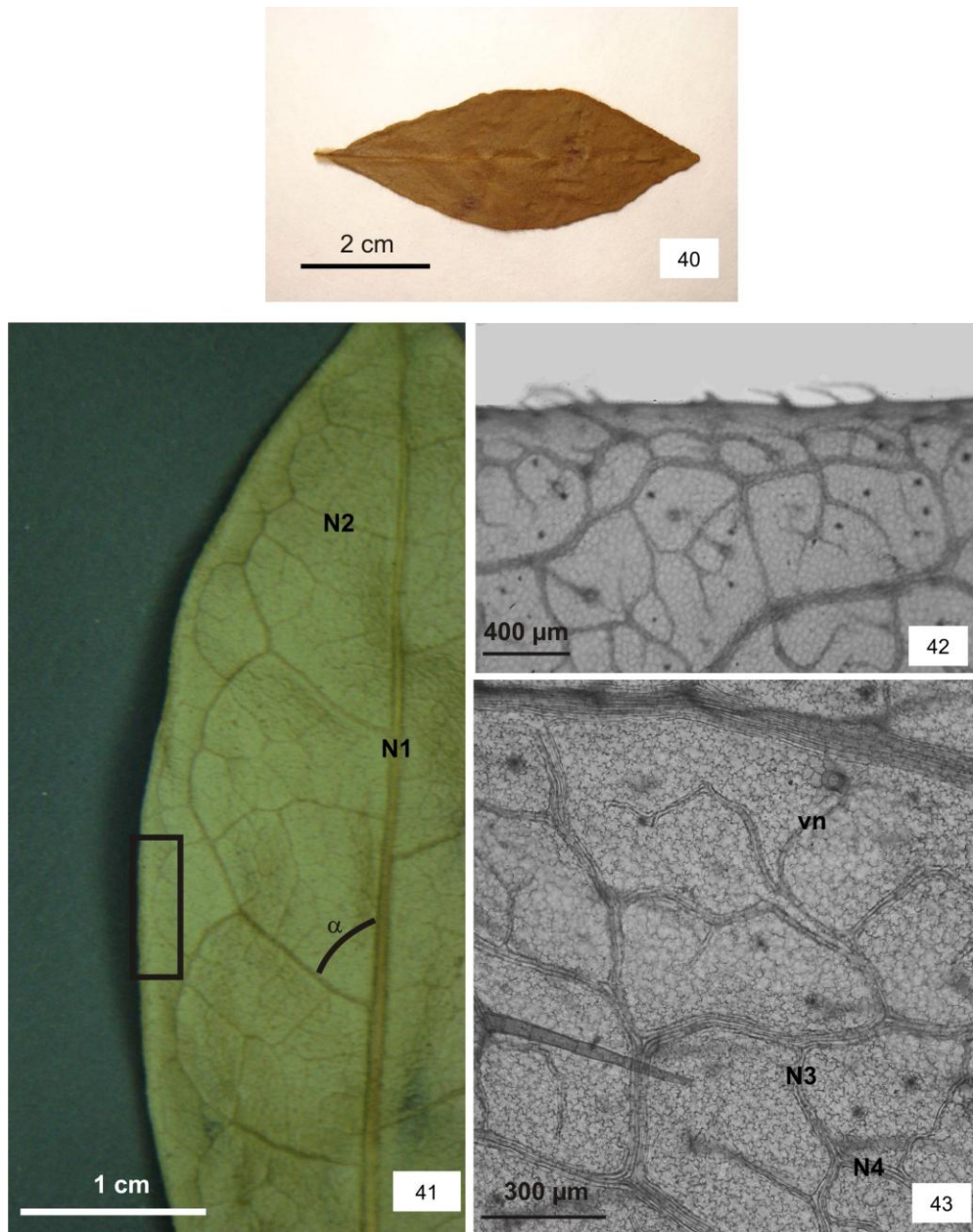
Figuras 28-31. Eletromicrografias de superfície de lâminas foliares de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **28-29.** Superfície abaxial de folhas de sol e sombra, respectivamente. Folhas de sol com maior densidade estomática **30-31.** Superfície adaxial de folhas de sol e sombra, respectivamente, evidenciando estrias epicuticulares (setas), mais acentuadas em folha de sol. Legenda: pas: parede anticlinal sinuosa.



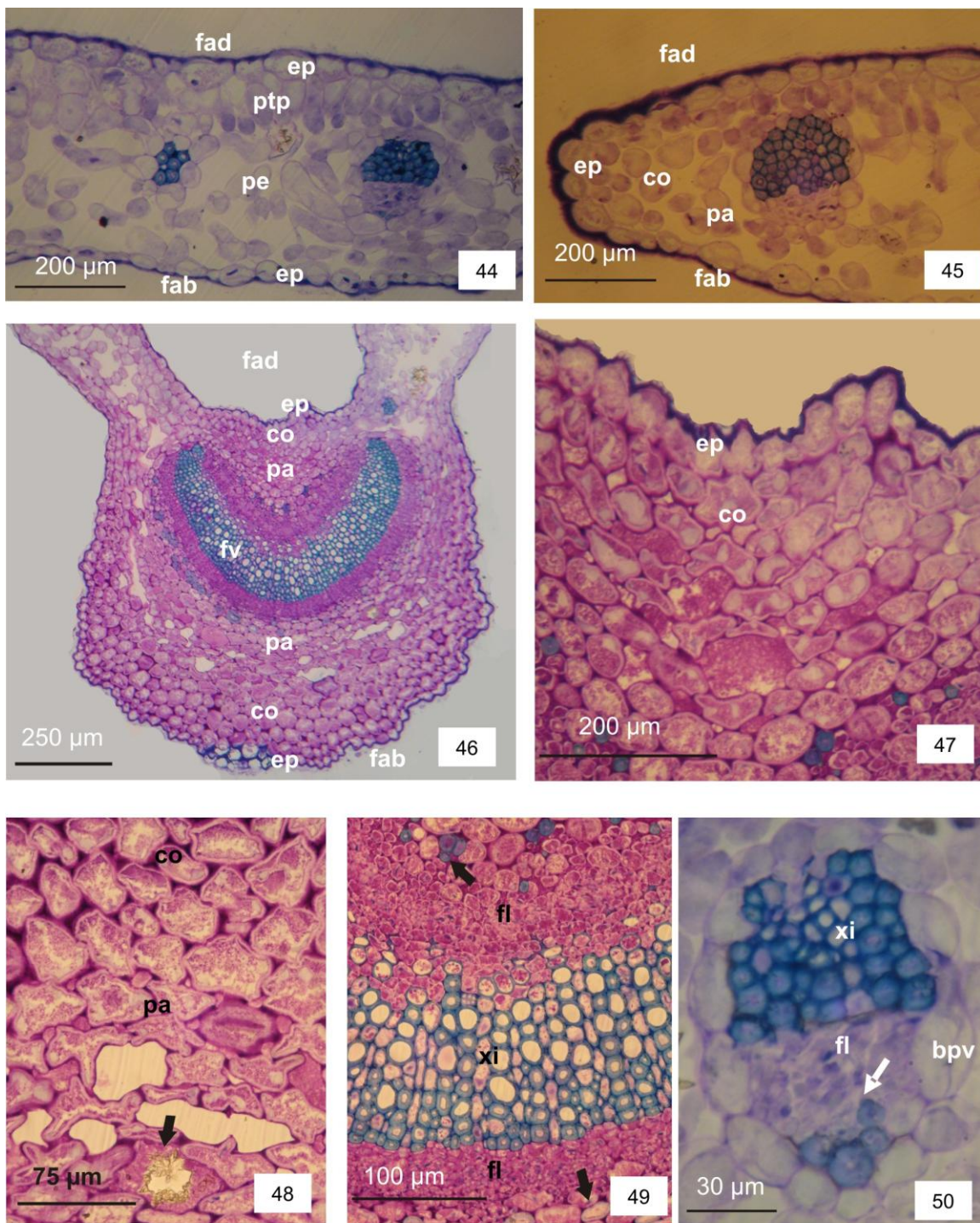
Figuras 32 - 36. Fotomicrografias de secções transversais do pecíolo de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **32 - 33.** Aspecto geral de sol e de sombra, respectivamente. Setas indicam feixes vasculares de pequeno calibre, paralelos ao feixe vascular principal. **34.** Detalhe da epiderme com ornamentações epicuticulares e células colenquimáticas. **35.** Detalhe da periderme, formada em pecíolos de crescimento secundário e colênquima adjacente. **36.** Células do parênquima. Seta indica drusa. Legenda: co - colênquima; ep - epiderme; fab - face abaxial; fad - face adaxial; fv - feixe vascular; pa - parênquima; pd - periderme



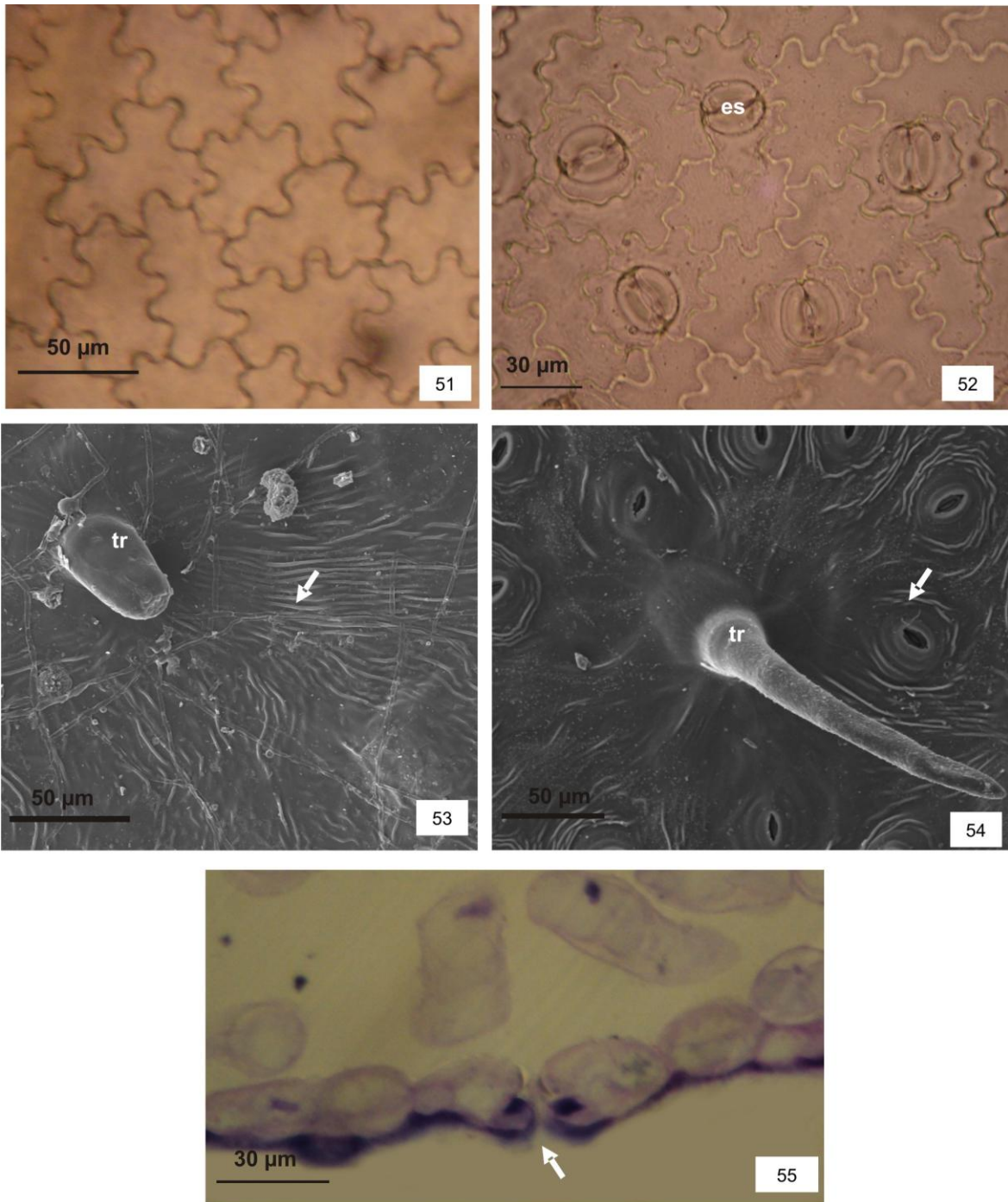
Figuras 37-39. Fotomicrografias de secções transversais do pecíolo de *Brunfelsia pauciflora* Benth. **37.** Detalhe dos tecidos do feixe vascular principal do tipo bicolateral. Seta indica fibra. **38.** Detalhe do câmbio vascular, entre o xilema e o floema abaxial. **39.** Feixe vascular de menor calibre, do tipo anficrival. Legenda: bpv: bainha perivascular; cv- câmbio vascular; fl- floema; xi- xilema.



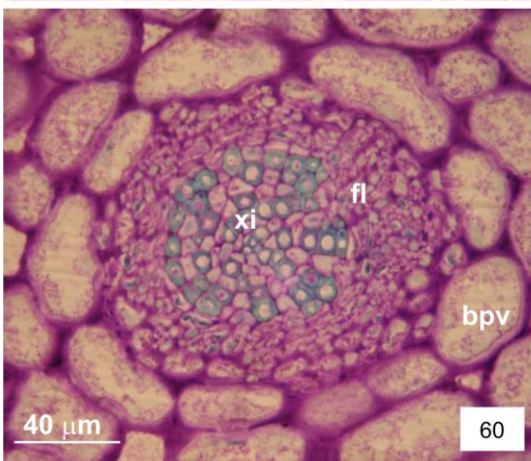
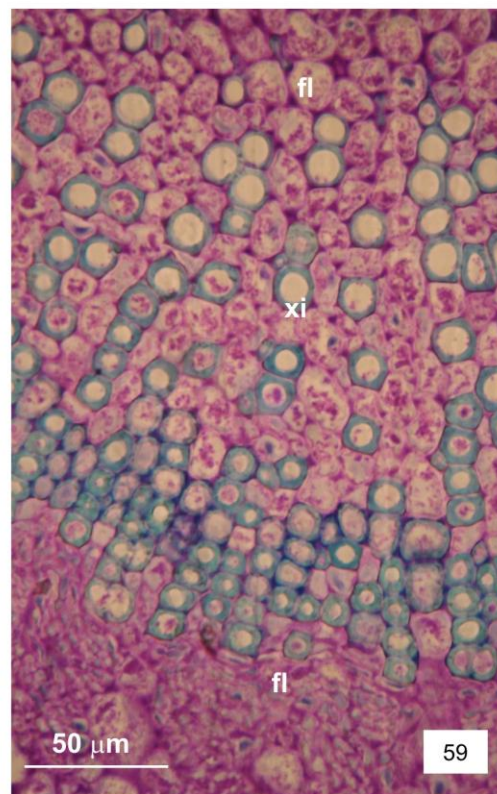
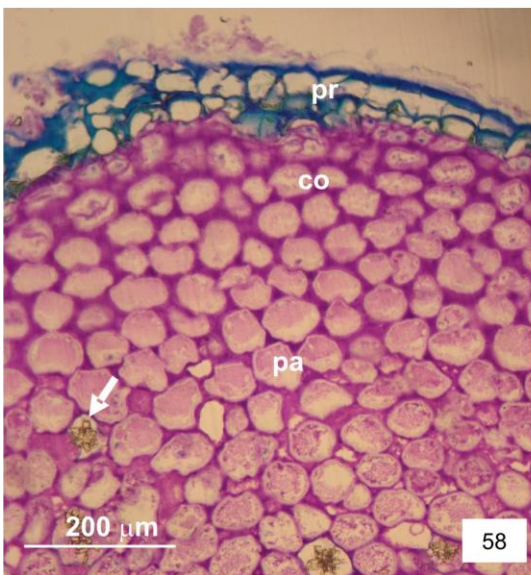
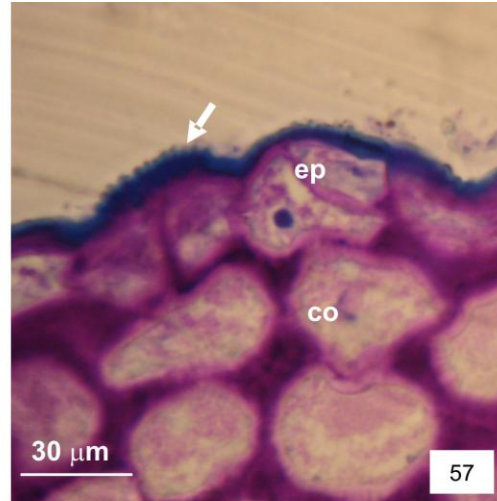
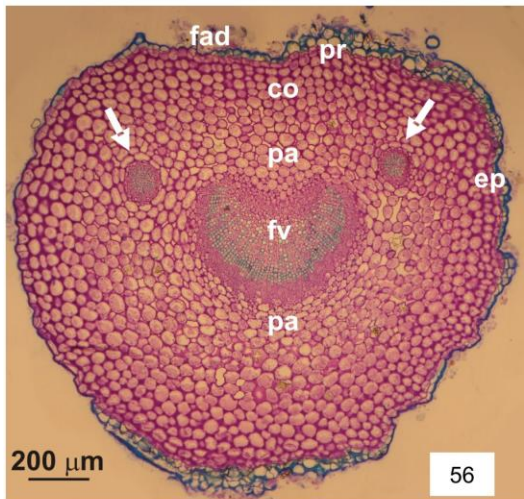
Figuras 40-43. Folha de *Brunfelsia brasiliensis* L.B.Sm. & Downs. **40.** Aspecto geral. **41.** Detalhe da face abaxial da lâmina foliar evidenciando nervação pinada, camptódroma-broquidrodoma. **42-43.** Detalhes da nervação em lâminas diafanizadas. **42.** Última nervação marginal em laços completos (corresponde à região indicada por retângulo preto na figura 41). **43.** Areólas com desenvolvimento completo e forma triangular ou quadrangular. Legenda: α - ângulo de divergência entre nervura primária e secundária; N1- nervura primária; N2- nervura secundária; N3- nervura terciária; N4- nervura quaternária; vn- vênula.



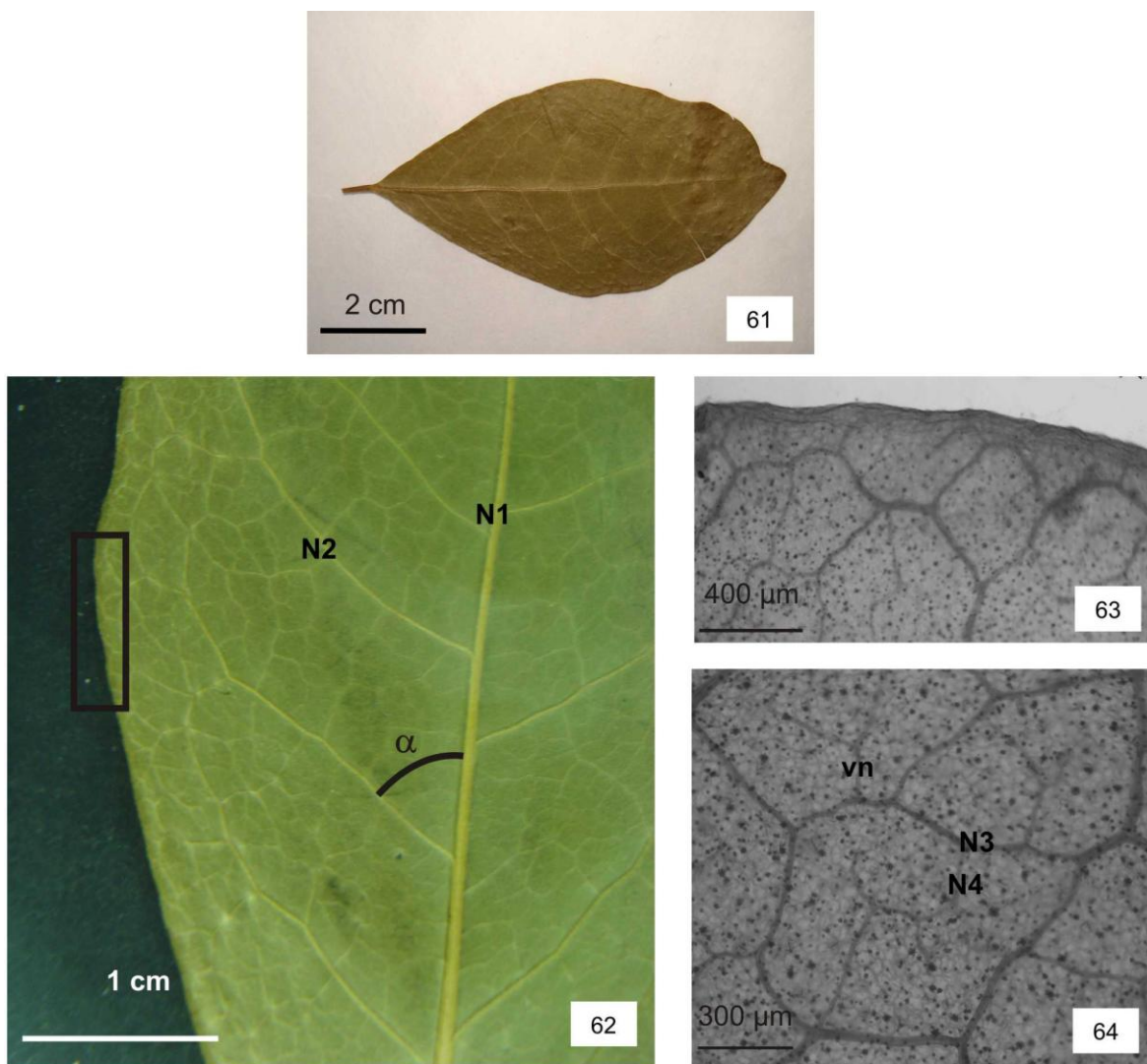
Figuras 44 - 50. Fotomicrografias de seções transversais de lâminas foliares de *Brunfelsia brasiliensis* L. B. Sm. & Downs. **44.** Lâmina foliar dorsiventral. **45.** Tecidos constituintes do bordo foliar. **46.** Aspecto geral da nervura mediana. **47.** Detalhe dos tecidos adaxiais da nervura mediana. **48.** Tecidos adaxiais da nervura mediana localizados entre epiderme e feixe vascular. Seta indica drusa. **49.** Detalhe do feixe bicolateral aberto da nervura mediana. Setas indicam fibras. **50.** Detalhe da nervura secundária. Setas brancas indicam fibras. Legenda: bpv - bainha perivascular; co - colênquima; ep - epiderme; fl - floema; fv - feixe vascular; pa - parênquima; pe - parênquima esponjoso; ptp - parênquima tendendo a paliçadico; xi- xilema.



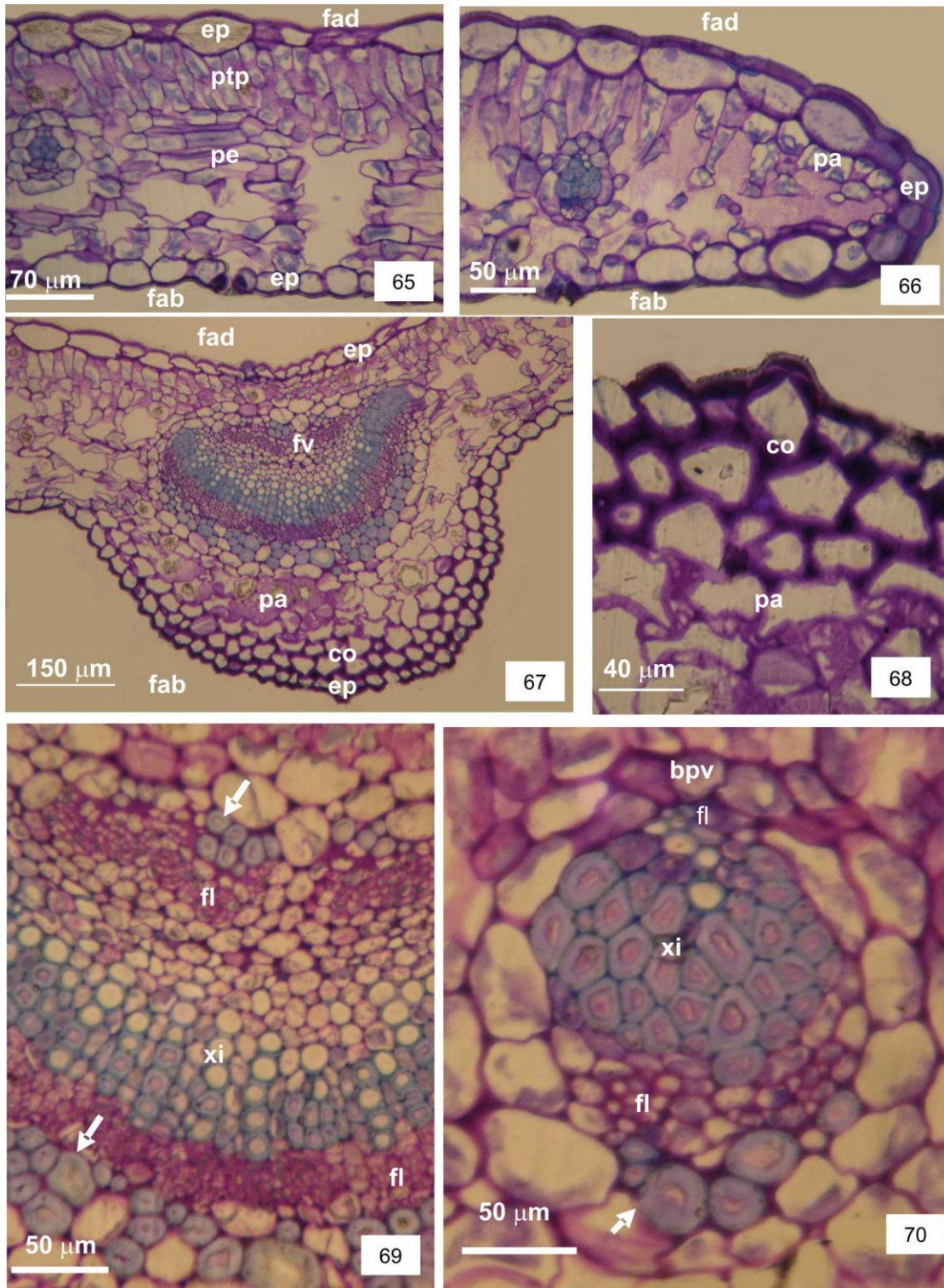
Figuras 51 - 55. Lâminas foliares de *Brunfelsia brasiliensis* I. B. Sm. & Downs. **51 - 52.** Fotomicrografias de vistas frontais da epiderme com paredes anticlinais sinuosas. **51.** Face adaxial. **52.** Face abaxial com estômatos paracíticos. **53 - 54.** Eletromicrografias de superfície epidérmica adaxial e abaxial, respectivamente. Setas indicam ornamentações epicuticulares, mais acentuadas na face adaxial. **55.** Fotomicrografia de secção transversal face abaxial, evidenciando estômato elevado (seta). Legenda: ep- epiderme; tr- tricoma



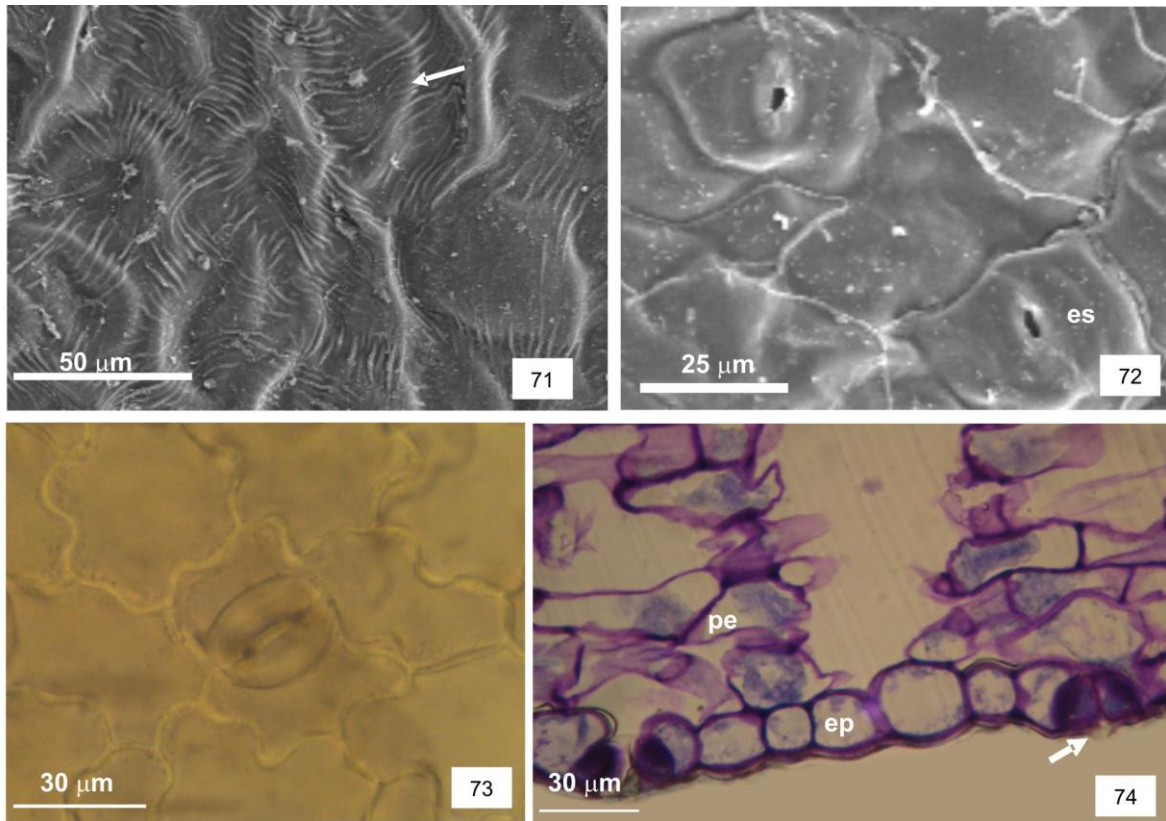
Figuras 56-60. Fotomicrografias de seções transversais de pecíolo de *Brunfelsia brasiliensis* L.B. Sm. & Downs. **56.** Aspecto geral do pecíolo; adaxial e abaxialmente já com periderme e lateralmente ainda permanece epiderme. Setas indicam nervuras de menor calibre. **57.** Detalhe de tecidos periféricos; epiderme com ornamentações epicuticulares (seta). **58.** Detalhe de tecidos abaxiais. Seta indica drusa. **59.** Tecidos do feixe vascular principal, do tipo bicolateral. **60.** Feixe vascular de menor calibre, do tipo anicribal. Legenda: bpv: bainha perivascular; co- colênquima; ep - epiderme; fad - face adaxial; fl - floema; fv - feixe vascular pa - parênquima ; pd - periderme.



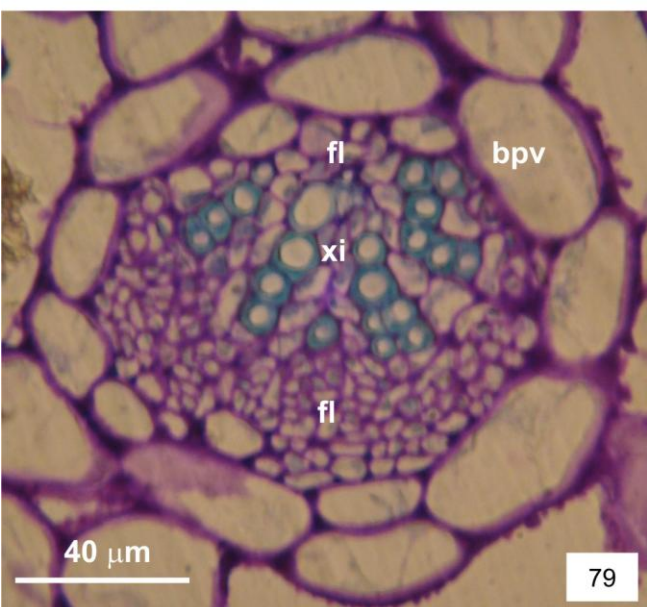
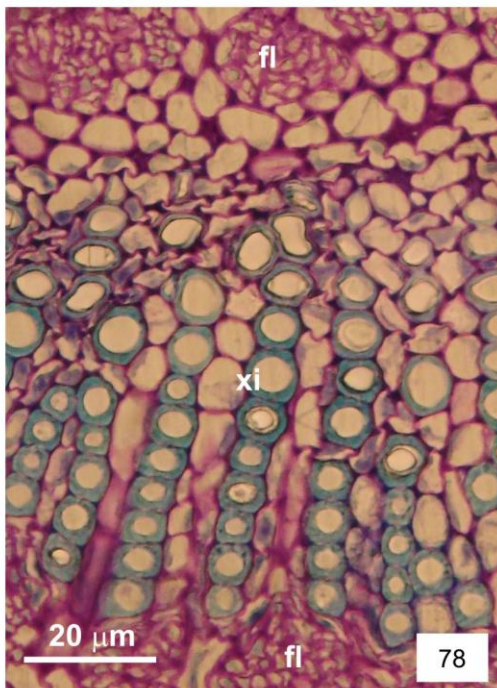
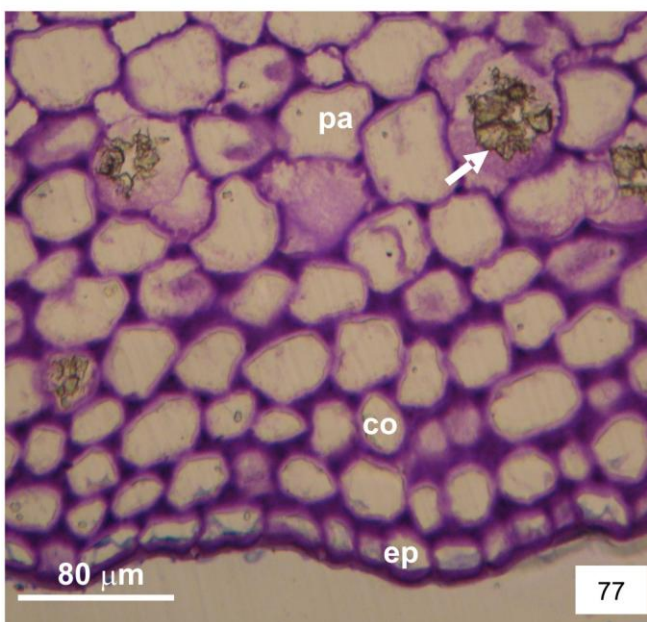
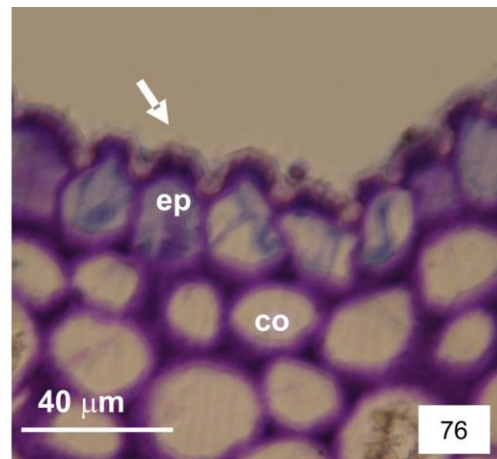
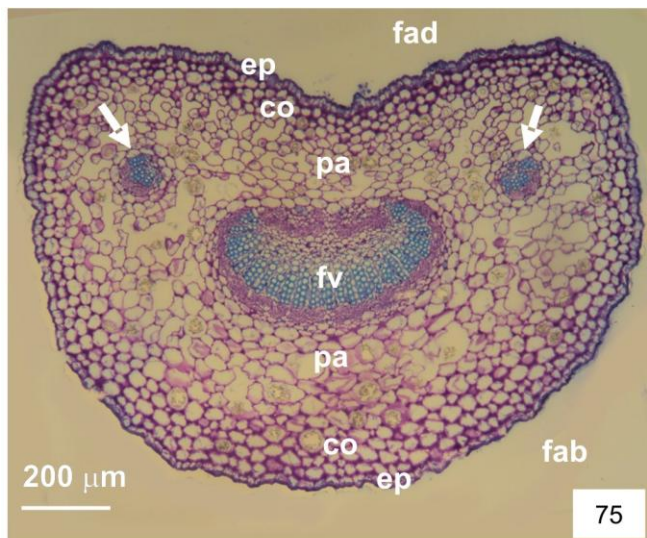
Figuras 61-64. Folhas de *Brunfelsia australis* Benth. **61.** Aspecto geral. **62.** Detalhe da face abaxial de lâmina foliar evidenciando nervação pinada, camptódroma-broquidrodoma. **63-64.** Detalhe da nervação e lâminas foliares diafanizadas. **63.** Última nervação marginal em laços completos (corresponde à região indicada por retângulo preto na figura 62). **64.** Areólas com desenvolvimento completo e forma pentagonal ou poligonal. Legenda: α - ângulo de divergência entre nervura primária e secundária; N1-nervura primária; N2-nervura secundária; N3- nervura terciária; N4- nervura quaternária; vn- vênula.



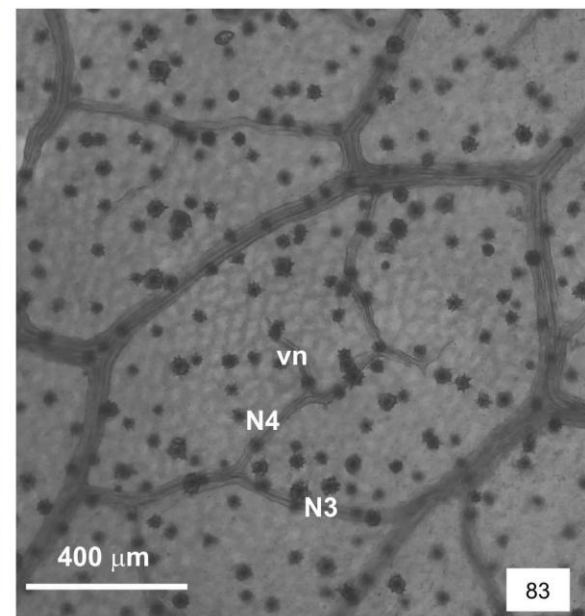
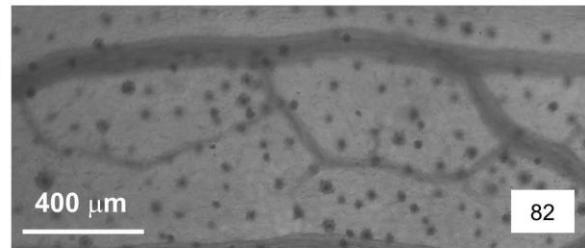
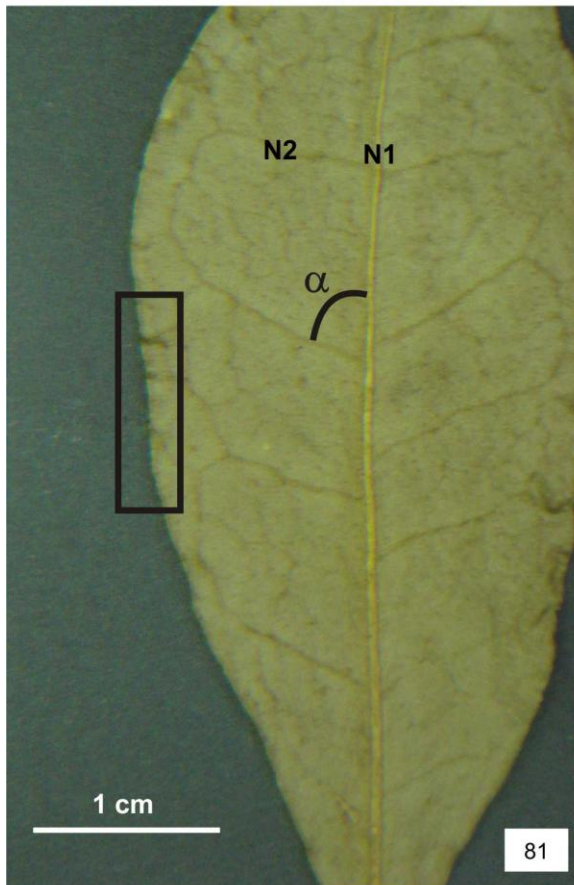
Figuras 65-70. Fotomicrografias de secções transversais de lâminas foliares de *Brunfelsia australis* Benth. **65.** Aspecto geral da lâmina foliar dorsiventral. **66.** Bordo foliar. **67.** Aspecto geral da nervura mediana. **68.** Detalhe de tecidos periféricos adaxiais da nervura mediana. **69.** Detalhe do feixe vascular bicolateral aberto da nervura mediana. Setas indicam fibras. **70.** Detalhe de uma nervura secundária. Seta branca indica fibras. Legenda: bpv- bainha perivascular; co-colênquima; ep-epiderme; fab - face abaxial; fad- face adaxial; fl - floema; fv - feixe vascular; pa- parênquima; pe- parênquima esponjoso; ptp- parênquima tendendo a paliçádico; xi- xilema



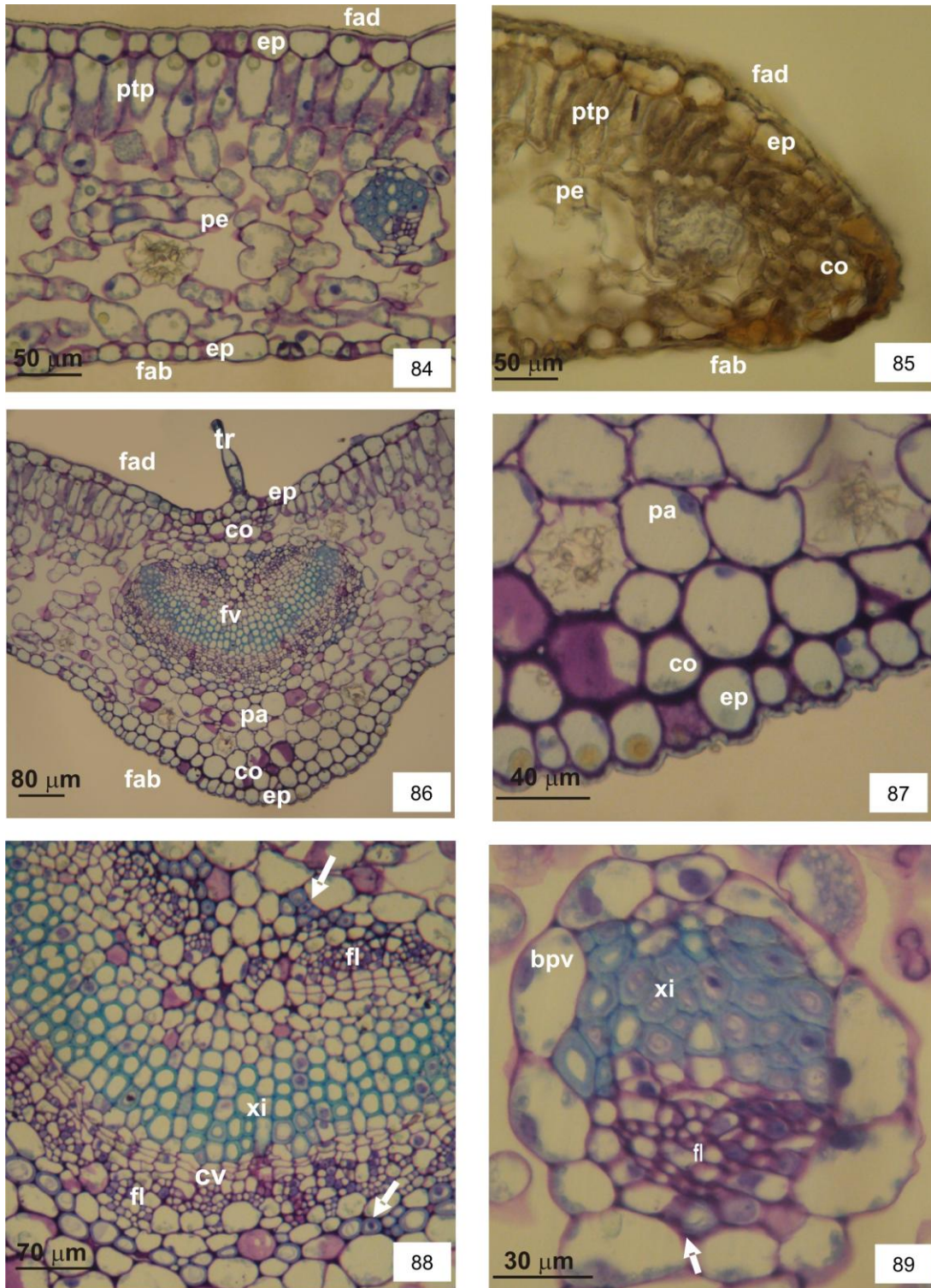
Figuras 71-74. Lâmina foliar de *Brunfelsia australis* Benth. **71-72.** Eletromicrografias de vistas frontais **71.** Face adaxial com estrias epicuticulares (seta). **72.** Face abaxial, com estômatos e superfície lisa (sem ornamentações epicuticulares). **73.** Fotomicrografias de vista frontal da face abaxial, com estômato paracítico. **74.** Fotomicrografia de secção transversal evidenciando tecidos abaxiais. Setas indicam estômatos. Legenda: ep-epiderme; pe- parênquima esponjoso.



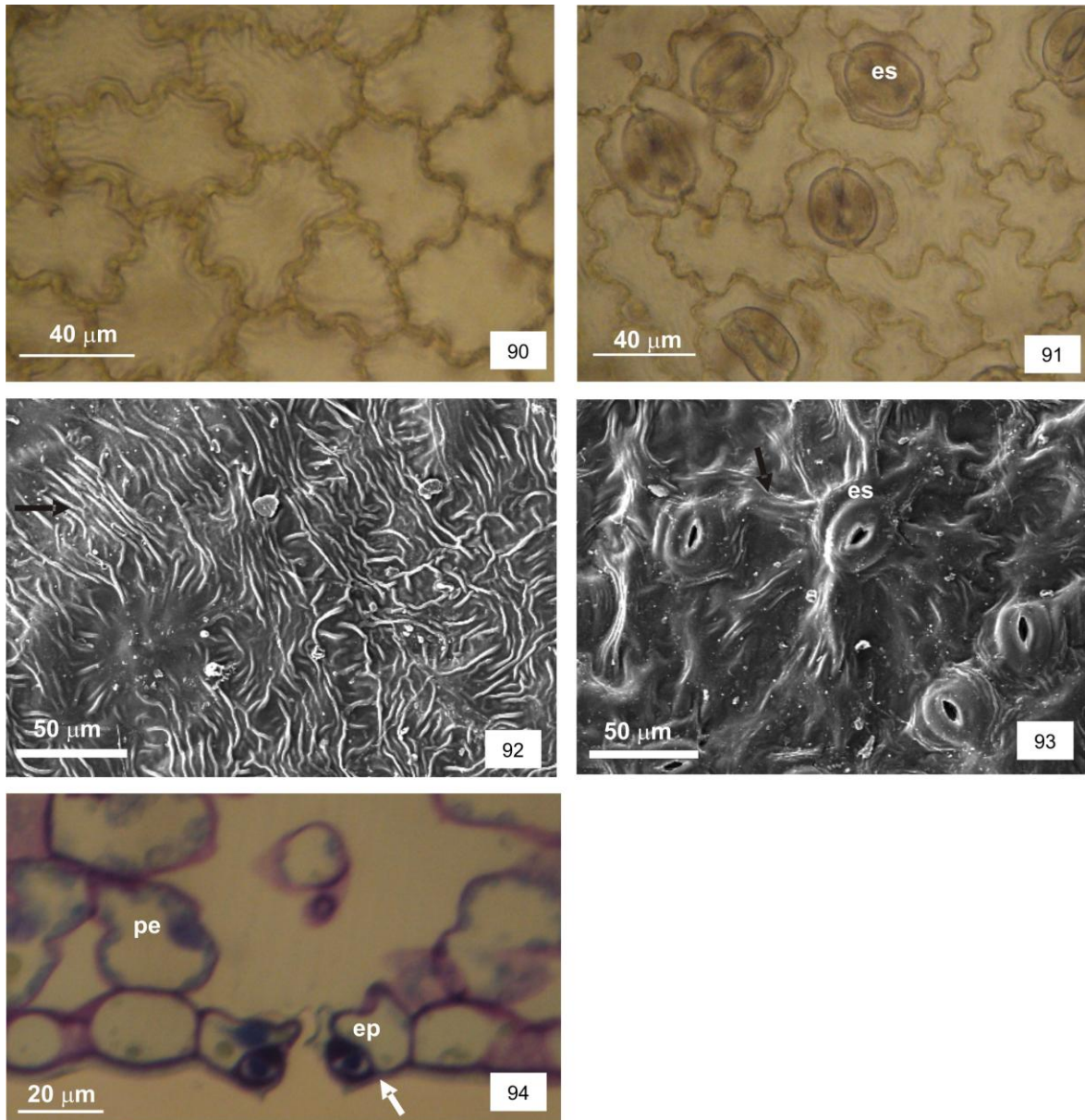
Figuras 75-79. Fotomicrografias de secções transversais do pecíolo de *Brunfelsia australis* Benth. **75.** Aspecto gera. setas indicam nervuras de menor calibre. **76.** Detalhe da epiderme com ornamentações epicuticulares (seta) e colênquima adjacente. **77.** Detalhe de tecidos abaxiais. Seta indica drusa. **78.** Detalhe dos tecidos do feixe vascular principal do tipo biclateral. **79.** Detalhe do feixe de menor calibre do tipo biclateral. Legenda: bpv- bainha perivascular; co - colênquima; ep - epiderme; fab- face abaxial; fad- face adaxial; fl- floema; fv- feixe vascular; pa - parênquima



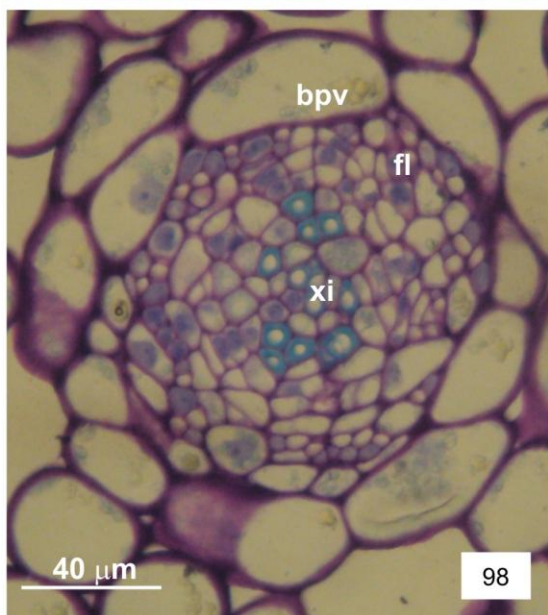
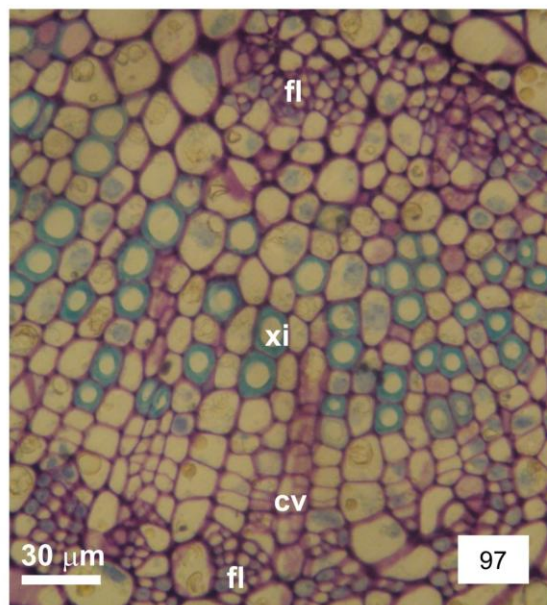
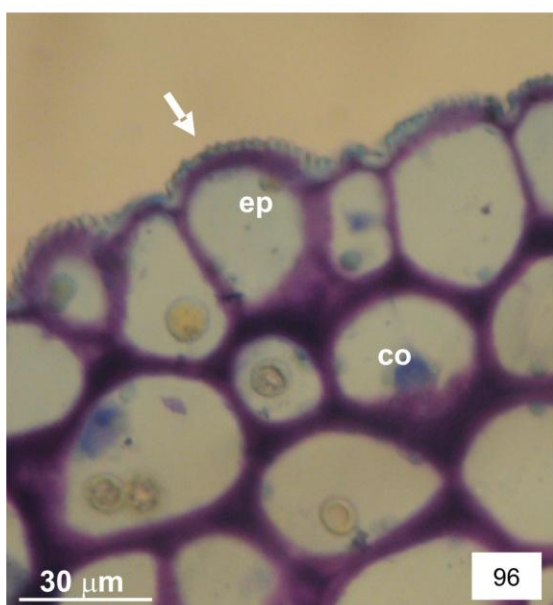
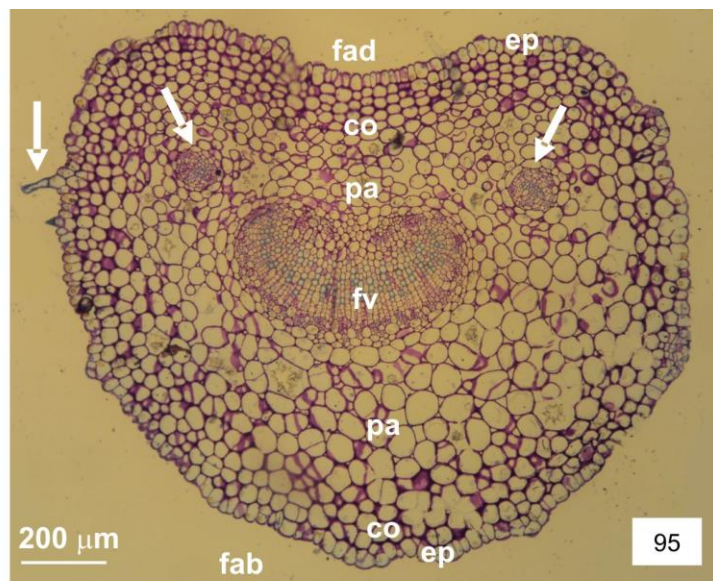
Figuras 80-83. Folhas de *Brunfelsia pilosa* Plowman. **80.** Aspecto geral. **81.** Detalhe da face abaxial de lâmina foliar evidenciando nervação pinada, camptódroma-broquidrodoma. **82-83.** Nervação das lâminas foliares diafanizadas. **82.** Última nervação marginal fimbriada (corresponde à região indicada por retângulo preto na figura 81). **83.** Areólas com desenvolvimento completo e forma quadrangular ou pentagonal. Legenda: α - ângulo de divergência entre nervura primária e secundária; N1-nervura primária; N2-nervura secundária; N3- nervura terciária; N4- nervura quaternária; vn- vênula.



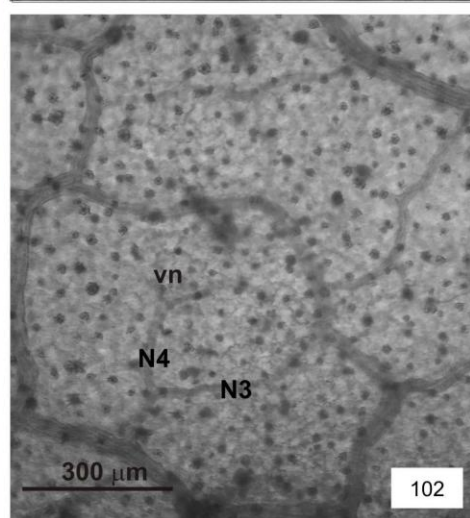
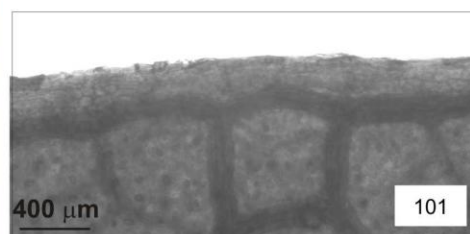
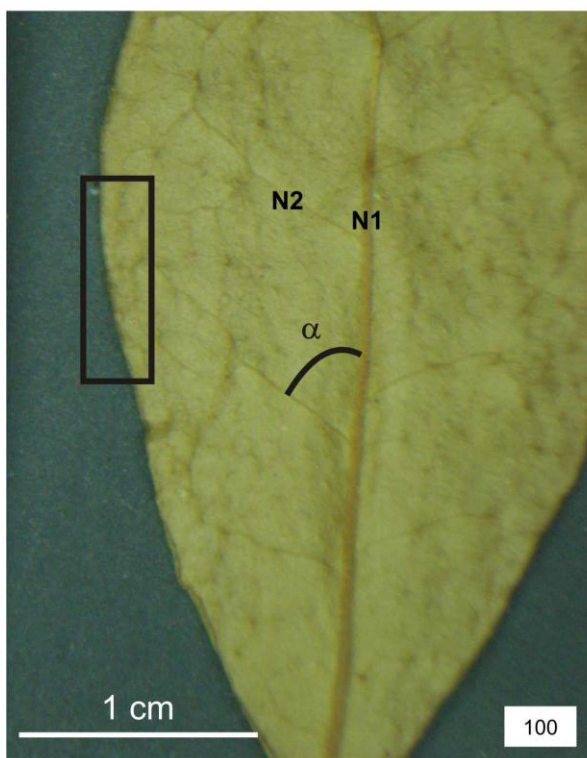
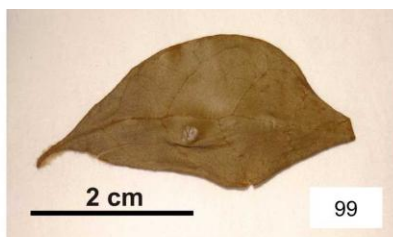
Figuras 84-89. Fotomicrografias de secções transversais de lâminas foliares de *Brunfelsia pilosa* Plowman. **84.** Aspecto geral da lâmina foliar dorsiventral. **85.** Bordo foliar. **86.** Aspecto geral da nervura mediana. **87.** Detalhe dos tecidos abaxiais da nervura mediana. **88.** Detalhe do feixe vascular bicolateral aberto da nervura mediana. Setas indicam fibras. **89.** Detalhe de uma nervura secundária. Seta branca indica fibras. Legenda: bpv- bainha perivascular; co-colênquima; cv - câmbio vascular; ep -epiderme; fab - face abaxial; fad - face adaxial; fl - floema; fv - feixe vascular; pa - parênquima; pe- parênquima esponjoso; ptp - parênquima tendendo a paliádico; tr- tricoma; xi- xilema



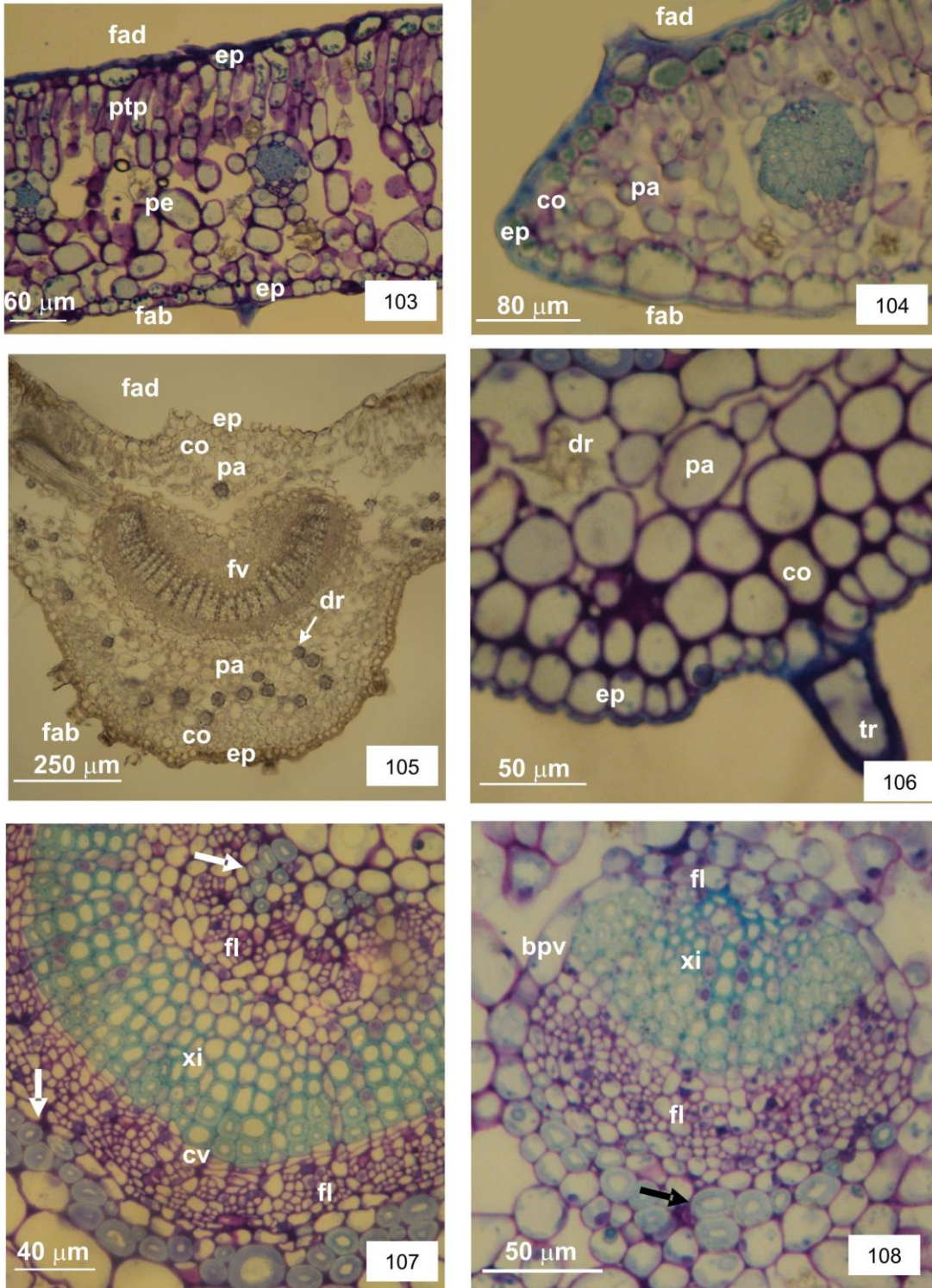
Figuras 90-94. Lâminas foliares de *Brunfelsia pilosa* Plowman. **90-91.** Fotomicrografias de vistas frontais apresentando células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas. **90.** Face adaxial. **91.** Face abaxial, com estômatos do tipo paracítico. **92-93.** Eletromicrografias da superfície epidérmica com estrias epicuticulares (setas). **92.** Face adaxial. **93.** Face abaxial. **94.** Fotomicrografia de secção transversal de tecidos abaxiais, evidenciando estômato (seta). Legenda: ep - epiderme; es - estômato; pe - parênquima esponjoso.



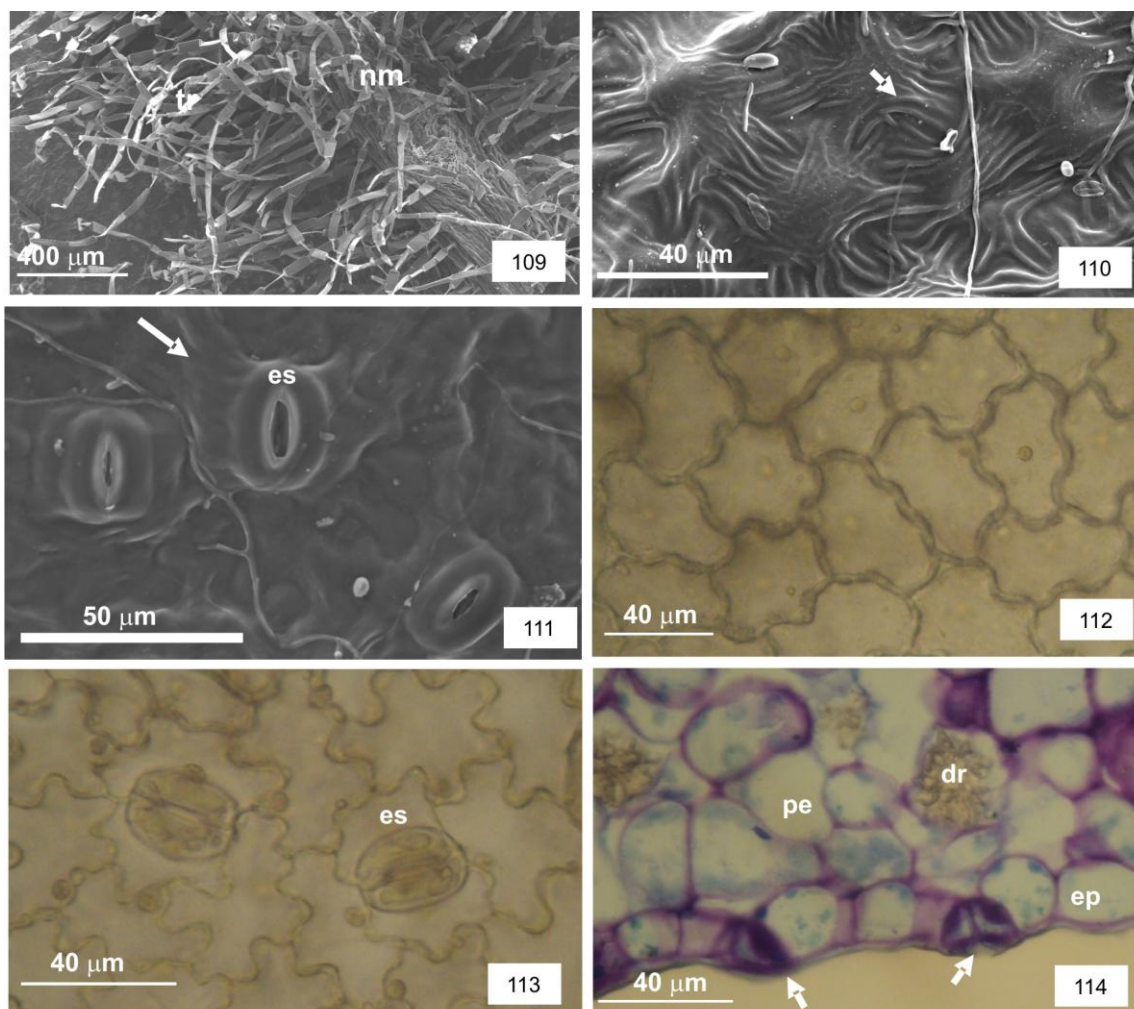
Figuras 95 - 98. Fotomicrografias de seções transversais de pecíolo de *Brunfelsia pilosa* Plowman. **95.** Aspecto geral. Setas brancas indicam feixes vasculares de menor calibre; seta escura indica tricoma. **96.** Detalhe da epiderme com ornamentações epicuticulares (seta) e colênquima. **97.** Tecidos do feixe vascular principal do tipo bicolateral. **98.** Feixe vascular de menor calibre do tipo anficrival. Legenda: bpv - bainha perivascular; co - colênquima; cv - câmbio vascular; ep - epiderme; fab - face abaxial; fad - face adaxial; fl - floema; fv - feixe vascular; pa - parênquima; xi - xilema.



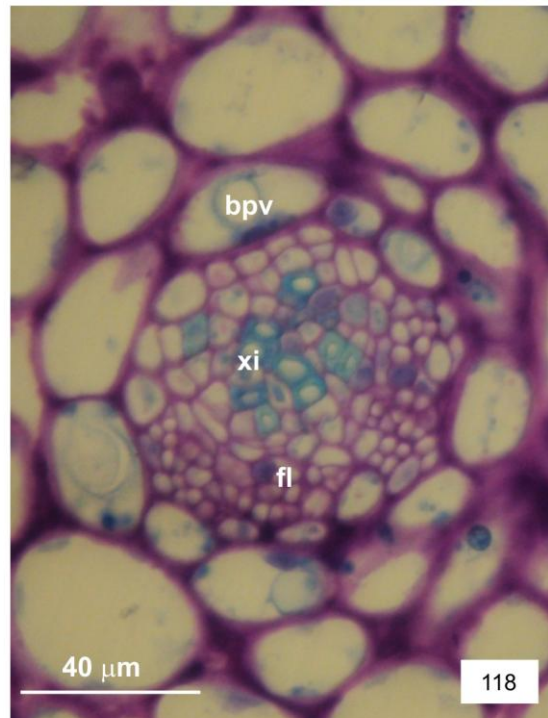
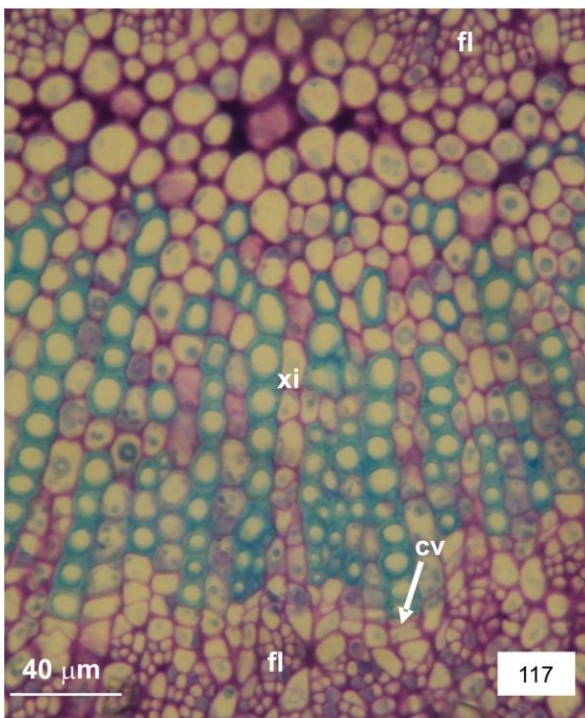
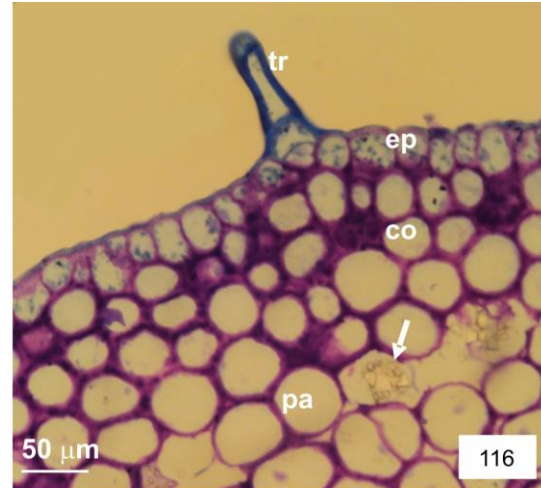
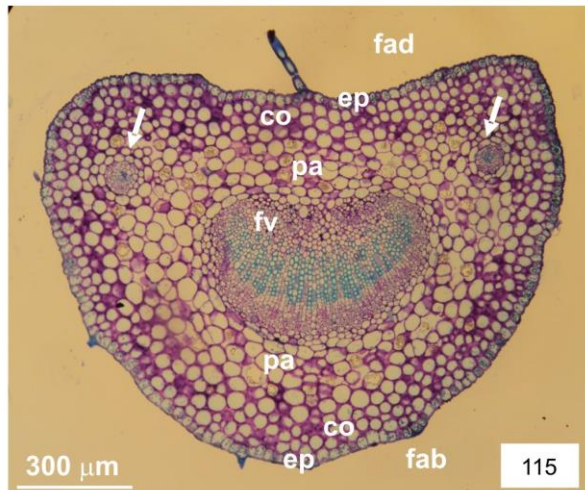
Figuras 99-102. Folhas de *Brunfelsia cuneifolia* J.A. Schmidt. **99.** Aspecto geral. **100.** Detalhe da face abaxial da lâmina foliar evidenciando nervação pinada, camptódroma-broquidrodoma. **101-102.** Detalhe da nervação de lâminas foliares diafanizadas. **101.** Última nervação marginal em laços completos (correspondendo à região indicada por retângulo preto na figura 100). **102.** Areólas com desenvolvimento completo e forma pentagonal ou poligonal. Legenda: α - ângulo de divergência entre nervura primária e secundária; N1 - nervura primária; N2 - nervura secundária; N3 - nervura terciária; N4 - nervura quaternária; vn- vênula.



Figuras 103-108. Fotomicrografias de secções transversais de lâminas foliares de *Brunfelsia cuneifolia* J.A. Schmidt. **103.** Aspecto geral da lâmina foliar dorsiventral. **104.** Bordo foliar. **105.** Aspecto geral da nervura mediana. **106.** Detalhe de tecidos abaxiais da nervura mediana. **107.** Detalhe do feixe vascular bicolateral da nervura mediana. Setas indicam fibras. **108.** Detalhe de uma nervura secundária. Seta indica fibras. Legenda: bpv- bainha perivascular; co- colênquima; cv- câmbio vascular; dr- drusa; ep- epiderme; fab- face abaxial; fad- face adaxial; fl- floema; fv- feixe vascular pa- parênquima; pe- parênquima esponjoso; ptp- parênquima tendendo a paliçádico; tr- tricoma; xi- xilema.



Figuras 109-114. Lâminas foliares de *Brunfelsia cuneifolia* J.A. Schmidt. **109-111.** Eletromicrografias de superfície de lâminas foliares. **109.** Região da nervura mediana, densamente pilosa na face abaxial. **110.** Região intercostal, face adaxial com estrias epicuticulares (seta). **111.** Região intercostal, face abaxial, com algumas estrias epicuticulares (seta) e estômatos. **112-113.** Fotomicrografias de vistas frontais, das faces adaxial e abaxial, respectivamente. Células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas. **114.** Fotomicrografia de secção transversal da face abaxial com estômatos (setas) tenuemente elevados. Legenda: dr - drusa; ep - epiderme; es - estômato; nm - nervura mediana; pe - parênquima esponjoso; tr - tricoma.



Figuras 115-118. Fotomicrografias de seções transversais de pecíolo de *Brunfesia cuneifolia* J.A. Schmidt. **115.** Aspecto geral. Setas indicam feixes vasculares de menor calibre. **116.** Detalhe de tecidos adaxiais. Setas indica idioblasto com drusa. **117.** Detalhe dos tecidos do feixe vascular principal, do tipo bicolateral. **118.** Detalhe do feixe vascular de menor calibre, do tipo colateral. Legenda: bpv- bainha perivascular; co- colênquima; cv- câmbio vascular; ep- epiderme; fab- face abaxial; fad- face adaxial; fl- floema; fv- feixe vascular; pa- parênquima; xi- xilema; tr - tricoma.