

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

TAGIANE ARIOLI

**MORFO-ANATOMIA FOLIAR DE TRÊS
ESPÉCIES REÓFITAS ARBUSTIVAS DO
VALE DO ITAJAÍ, SANTA CATARINA**

FLORIANÓPOLIS, SC

2006

TAGIANE ARIOLI

**MORFO-ANATOMIA FOLIAR DE TRÊS
ESPÉCIES REÓFITAS ARBUSTIVAS DO
VALE DO ITAJAÍ, SANTA CATARINA**

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: Dra: Marisa Santos

FLORIANÓPOLIS, SC

2006

Arioli, Tagiane

Morfo-anatomia foliar de três espécies reófitas arbustivas do Vale do Itajaí, Santa Catarina

f. 121; figs, tabs.

Orientador: Dra. Marisa Santos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas.

Bibliografia: f. 121.

1. reófitas; 2. anatomia foliar; 3. *Raulinoa echinata*; 4. *Sebastiana schottiana*; 5. *Phyllanthus sellowianus*.

"A dúvida é o princípio da sabedoria."
Aristóteles

"Só é útil o conhecimento que nos torna melhores"
Sócrates

Dedico essa Dissertação à minha querida nona Leonora, exemplo de mulher forte e batalhadora, que em todos os momentos de sua vida esteve ao meu lado, cuidando, ensinando e amando.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força sempre presente.

A toda minha família, por todo apoio e incentivo aos estudos.

À professora Dra. Marisa Santos, pela dedicação e orientação em todos os momentos do trabalho e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao professor Dr. Ademir Reis pela ajuda na escolha das espécies, pelo auxílio nas coletas e pelas discussões “reofíticas”.

Às professoras Dra. Áurea Maria Randi e Dra. Maria Terezinha Silveira Paulilo, pelas discussões fisiológicas.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelos ensinamentos.

À Vera Zapellini secretária da Pós-Graduação, pela sua atenção, disposição e gentileza.

Ao professor Dr. Luís Rios de Moura Baptista, exemplo de Biólogo, por me incentivar a fazer o Mestrado, e por todo conhecimento que transmitiu pacientemente demonstrando verdadeiro amor à natureza.

Aos colegas do laboratório de Anatomia Vegetal pelo auxílio.

A Carol por toda ajuda nos estudos anatômicos e sua presença sempre alegre.

Ao Sérgio, pela ajuda na prática laboratorial, pelas conversas na interminável fila do RU, enfim, pela alegre companhia tornando o trabalho mais agradável.

Ao Alexandre Siminski pela ajuda nas análises estatísticas.

A Ciça e à Thais, não só pelas inúmeras caronas, mas por toda conversa durante o percurso e pela grande amizade que se formou.

A Helô, que mesmo distante estava presente, por toda sabedoria e amizade.

À Rô e ao Douglas pelos inúmeros empréstimos do computador, pelas caronas e por toda força que sempre me deram.

À Nancy, uma amiga sempre presente e disposta a ajudar nos momentos mais difíceis.

A Valéria, por toda sabedoria e apoio em todos os momentos.

Especialmente ao Fer, por sempre me incentivar em meus estudos.

Aos meus dois filhos Montu e Brisa, pela recepção sempre muito calorosa, por todas as brincadeiras, lambidas e momentos do mais puro e sincero amor.

À minha nona Leonora, que em todos os momentos da minha vida me ajudou e incentivou nos estudos.

A todos que de alguma maneira ajudaram na realização deste trabalho.

Ao FUNPESQUISA-UFSC pelos recursos financeiros que viabilizaram o desenvolvimento da pesquisa.

A CAPES pela concessão da bolsa.

RESUMO

Reófitas são espécies vegetais confinadas aos leitos de rios e riachos de fortes corredeiras, crescendo acima do nível das inundações, mas não além do alcance da ocorrência regular das rápidas enchentes. A morfo-anatomia foliar de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan (Rutaceae), *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) e *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) foi investigada objetivando compreender a adaptação destas espécies às peculiaridades do hábitat reofítico. Folhas totalmente expandidas foram coletadas nos Rios Itajaí-Açu e Itajaí do Norte, no Estado de Santa Catarina, em períodos de cheia e de vazante. Foram feitas análises *in vivo* e testes histoquímicos. Amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 e desidratadas em série etílica. Amostras, para microscopia óptica, foram infiltradas em parafina e coradas com azul de astra/fucsina básica ou safranina/fast-green. Usou-se HMDS para secagem das amostras para estudo ultra-estrutural. Dados morfométricos tiveram número mínimo amostral determinado e foram comparados por análise de variância (*R. echinata*) ou por teste *t* (*S. schottiana* e *P. sellowianus*). As folhas das três espécies são dorsiventrais, sendo hipoestomáticas em *R. echinata* e *S. schottiana* e anfiestomáticas em *P. sellowianus*. A epiderme é uniestratificada e os estômatos são anomocíticos em *R. echinata* e paracíticos nas outras duas espécies. Características marcantes comuns nas três espécies: estenofilia (índice foliar: 2,7 a 3,5, em *R. echinata*, menor em folhas de sol de período de vazante; 4,9 a 5,0, em *S. schottiana*; 3,9 a 5,2, em *P. sellowianus*, maior nas cheias); presença de suberina nas paredes periclinais internas das células epidérmicas. Área foliar, em *R. echinata* varia apenas com a exposição ao sol, nas outras duas espécies varia com o fluxo do rio; a densidade estomática varia com o fluxo do rio nas três espécies. Em *R. echinata* células-guarda dispostas acima do

nível das demais células epidérmicas (hidromorfismo), mas com átrio externo evidente (xeromorfismo). *S. schottiana* tem superfície epidérmica convexa e células subsidiárias papilosas formando cavidade externa ao poro (xeromorfismo). Em *S. schottiana* e *P. sellowianus* destacam-se as microesculturas da superfície epidérmica (ceras epicuticulares), com propriedades hidrofóbicas e antiaderente, importante nas cheias, e refletora da irradiação solar, útil na vazante. As espessuras dos tecidos do mesofilo variam com a intensidade luminosa e com o fluxo do rio em *R. echinata*, mantendo-se invariável nas outras duas espécies. São descritas e discutidas: cavidades secretoras com óleos e idioblastos com cristais de fosfato de cálcio, em *R. echinata*; laticíferos articulados anastomosados, com óleos no látex, em *S. schottiana* e *P. sellowianus*; fibras gelatinosas, conferindo maior flexibilidade, em *S. schottiana*; compostos fenólicos e antraquinona, em *P. sellowianus*.

Palavras-chave: reófitas, anatomia foliar, *Raulinoa echinata*, *Sebastiania schottiana*, *Phyllanthus sellowianus*.

ABSTRACT

Rheophytes are plant species which are confined to the beds of swift-running streams and rivers, growing above the inundation level but not beyond the regular occurrence of flash floods. The leaf's morfoanatomy of *Raulinoa echinata* R.S.Cowan (Rutaceae), *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) and *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) was investigated with the focus to understand the species adaptation to the peculiarities of the rheophytic habitat. Totally expanded leaves were collected from Itajaí-Açu River and Itajaí do Norte River, in the north of Santa Catarina State, at low water and flood periods. Analyses *in vivo* and tests histochemistry were made. Samples were fixed in glutaraldehyde 2,5%, in 0,1M phosphate buffer (pH 7,2) and dehydrated with graded ethanol. Samples, for light microscopy, had been infiltrated in paraffin and stained with blue of basic astra/fucsina or safranin/fastgreen. For SEM, the pieces were immersed in HMDS and were then dried and coated with gold. For morphometric data have determined amostral minimum number and have been compared by analysis of variance (*R. echinata*) or by test *t* (*S. schottiana* and *P. sellowianus*). The leaves of the three species are dorsiventral, hypostomatic in *R. echinata* and *S. schottiana* and amphistomatic in *P. sellowianus*. The epidermis has single layer of cells and the estomata are anomocytic type in *R. echinata* and paracytic type in the others two species. Characteristics that more evident in the three species: stenophylls (leaf index: 2,7 to 3,5, in *R. echinata*, decrease in sun leaves of low water period; 4,9 to 5,0, in *S. schottiana*; 3,9 to 5,2, in *P. sellowianus*, increase in flood period); presence of suberin in the internal periclinal walls of the epidermis cells. In *R. echinata* foliar area varies only with the exposition to the sun and in the others two species varies with the river's flow; stomatal density varies with river's flow in the three species. In *R. echinata* the guard cells are arranged above of

the epidermis cells level (hydromorphic characteristic), but with evident outer cavity (xeromorphic characteristic). *S.schottiana* has convex epidermal surface and papillose subsidiary cells forming outer cavity at the pore (xeromorphic characteristic). In *S.schottiana* and *P. sellowianus* the microsculptures of the epidermis surface (epicuticular waxes) are distinguished, with hydrofobic properties and anti-adherent, important in floods, and reflecting of the solar irradiation, useful in the low water period. In *R. echinata*, the mesophyll's tissues thicknesses change with light intensity and river's flow, it is invariable in the others two species. Here are described and commented: secretory cavities with oils and idioblasts with crystals of calcium phosphate, in *R. echinata*; articulated laticifers anastomosing, with oils in the latex, in *S.schottiana* and *P. sellowianus*; gelatinous fibers, conferring the most flexibility, in *S.schottiana*; phenolics compounds and anthraquinones, in *P. sellowianus*.

Keywords: rheophytes, leaf anatomy, *Raulinoa echinata*, *Sebastiana schottiana*, *Phyllanthus sellowianus*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figs. 1-3.** Localização das áreas de estudo. **Fig. 1.** Mapa de localização do Estado de Santa Catarina (Comitê do Itajaí, 2004). **Fig. 2.** Mapa das Bacias Hidrográficas do Estado de Santa Catarina; note, em branco, a Bacia do Itajaí (Comitê do Itajaí, 2004). **Fig. 3.** Mapa da Bacia Hidrográfica do Rio Itajaí-Açu. (Atlas de Santa Catarina, 1986). Setas indicam Rio Itajaí do Norte (seta branca) e Rio Itajaí-Açu (seta preta)..... 14
- Fig. 5.** *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, ocorrente nas margens do Rio Itajaí-Açu, destacando a presença de espinhos (setas)..... 42
- Fig.6.** *Raulinoa echinata* R.S.Cowan evidenciando os ramos flexuosos (seta)..... 42
- Fig. 7.** Ramo de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, com destaque às folhas estreitas e alongadas e ápice retuso (seta)..... 42
- Figs. 8-9.** Secções paradérmicas da epiderme na face adaxial de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de cheia, vistas em MO. **Fig. 8.** Folha de sol. **Fig. 9.** Folha de sombra. Cabeças de seta indicam campos primários de pontoação. Barras: 50 µm..... 43
- Figs. 10-11.** Secções paradérmicas da epiderme na face abaxial de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, vistas em MO, evidenciando estômatos (setas) e campos primários de pontoação (cabeças de setas). **Fig. 10.** Folha de sol. **Fig. 11.** Folha de sombra. Barras: 50 µm..... 43
- Figs. 12-13.** Secções transversais de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, evidenciando, em MO, as células-guarda localizadas acima do nível das células vizinhas. **Fig. 12.** Folha de sol, secção transverso-mediana do estômato. **Fig. 13.** Folha de sombra, secção transverso-polar do estômato. Barras: 10 µm. Legenda: ce-célula epidérmica; cg-célula-guarda; cse-câmara sub-estomática; mc-membrana cuticular; p-poro..... 43
- Figs. 14-17.** Vistas frontais da epiderme na face abaxial de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, em MEV. **Figs. 14 e 16.** Folhas de sol. **Figs. 15 e 17.** Folhas de sombra. **Figs. 14-15.** Aspecto geral da superfície com os estômatos. Barras: 100 µm. **Figs. 16-17.** Detalhe da estrutura estomática. Barras: 10 µm. Legenda: cs-cavidade secretora; o-ostíolo; p-poro..... 44
- Figs. 18-21.** Secções transversais da lâmina foliar de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, em MO, coradas com safranina/fast-green. **Fig. 18-19.** Período de vazante. **Fig. 20-21.** Período de cheia. **Figs. 18 e 20.** Folhas de sol. **Figs. 19 e 21.** Folhas de sombra. Barras: 50 µm. Legenda: cr-cristais; cs-cavidade secretora; fab-face abaxial; fad-face adaxial; pp-parênquima paliçádico; pe- parênquima esponjoso..... 45
- Figs. 22-24.** Cavidade secretora no mesofilo de *Raulinoa echinata* R. S. Cowan, do período de vazante. **Fig. 22.** Imagem em MEV. **Fig. 23.** Representação esquemática. **Fig. 24.** Representação esquemática da superfície epidérmica em área correspondente a mesma estrutura secretora da Figura 23. Note a conformação das células epidérmicas, com evidentes campos primários de pontoação nas paredes anticlinais (seta). Barras: 50 µm. Legenda: cs-cavidade secretora; e-estômato; pe-parênquima esponjoso..... 46

- Figs. 25–26.** Detalhes do mesofilo de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, destacando a presença de cristais, em MEV. **Fig. 25.** Folha de sol. Barra: 100µm. **Fig. 26.** Folha de sombra. Barra: 50µm. Legenda: a-amido; cr-cristais..... 47
- Fig. 27.** Espectro da microanálise química, em EDX/MEV, referente aos cristais observados na Figura 25, com correspondente tabela especificando a quantificação proporcional dos elementos químicos detectados..... 47
- Figs. 28-31.** Secções transversais de nervuras medianas de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan. **Fig. 28.** Imagem em MEV. Barra: 200µm. **Figs. 29-30.** Fotomicrografias em MO, coradas com safranina/fast-green. **Figs. 28-30.** Período de vazante. **Fig. 31.** Período de cheia. **Figs. 29 e 31.** Folhas de sol. **Fig. 30.** Folha de sombra. Barras: 50 µm. Legenda: co-colênquima; fi-fibras; fab-face abaxial fad-face adaxial; fl-floema; pac-parênquima aclorofilado colapsado; x-xilema..... 48
- Figs. 32-33.** Secções transversais de bordo de folhas de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan do período de vazante. **Fig. 32.** Imagem em MEV. Barra: 100 µm. **Fig. 33.** Fotomicrografia em MO, secção corada com safranina/fast-green. Barra: 50µm. Legenda: cs-cavidade secretora; cr-cristais; sv-sistema vascular..... 49
- Figs. 34-35.** Secções transversais de pecíolo de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan. **Fig. 34.** Em MO, corado com safranina-fast-green, do período de cheia. **Fig. 35.** Face adaxial em MEV, do período de vazante. Barras: 50µm. Legenda: cs-cavidade secretora; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; t-tricomas; x-xilema..... 49
- Figs. 36-39.** *Sebastiana schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 36.** Indivíduos desta espécie (seta), em ilhas rochosas no leito do Rio Itajaí do Norte, associados a *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. **Figs. 36-37.** Período de vazante. **Fig. 38.** Período de cheia. **Fig. 39.** Ramo evidenciando a estenofilia (seta) 63
- Figs. 40-42.** Secções transversais de mesofilo de folhas de *Sebastiana schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 40.** Período de cheia; secção corada com azul de astra/fucsina básica. **Figs. 41-42.** Período de vazante, secções seqüenciais coradas com safranina/fast-green, destacando os laticíferos articulados anastomosados. Barras: 50 µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; la-laticífero; mc-membrana cuticular; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico..... 64
- Figs. 43-44.** Secções transversais de folhas de *Sebastiana schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 43.** Epiderme na face adaxial, em MEV; do período de cheia. Barra: 50µm. **Fig. 44.** Epiderme na face abaxial, em MO; secção corada com safranina/fast-green; do período de vazante. Barra: 5µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato, ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; pe-parênquima esponjoso pp-parênquima paliçádico..... 65
- Figs. 45-47.** Secções paradérmicas de folhas de *Sebastiana schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 45 e 47.** Período de cheia. **Fig. 46.** Período de vazante. **Fig. 45.** Vista frontal da epiderme na face adaxial, em MO. **Figs. 46-47.** Vista frontal da epiderme na face abaxial em MO. Barras: 50 µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato..... 65
- Fig. 48.** Imagem da superfície epidérmica de folhas de *Sebastiana schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., da face adaxial do período de vazante, em MEV. Barra: 20µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares..... 66

- Figs. 49-50.** Imagens em MEV da epiderme, na face abaxial, de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 49.** Vista frontal; período de cheia. **Fig. 50.** Secção transversal; período de vazante. Barras: 10µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato; lce-lume da célula epidérmica..... 66
- Figs. 51-55.** Secções transversais de nervura mediana de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 51.** Período de vazante. **Fig. 52.** Período de cheia. **Fig. 53.** Detalhe de tecidos da face adaxial; secção *in vivo*. **Fig. 54.** Detalhe do sistema vascular. **Fig. 55.** Fibras gelatinosas. Barras: **Figs. 51-54** – 50µm; **Fig. 55** – 10µm. **Figs. 51 e 54.** Secções coradas com safranina/fast-green. **Figs. 52 e 55.** Secções coradas com azul de astra/fucsina básica. Legenda: bp-bainha parenquimática; co-colênquima anelar; cr-cristais; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fi-fibras ; fl-floema; x-xilema..... 67
- Figs. 56-57.** Secções transversais do bordo de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 56.** Folha do período de vazante, corada com safranina-fast-green. **Fig. 57.** Folha do período de cheia corada com azul de astra/fucsina básica. Barras: 50µm. Legenda: co-colênquima anelar; ep-epiderme; mc-membrana cuticular; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico..... 68
- Figs. 58-59.** Secções transversais do pecíolo de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 58.** Período de cheia, corada com safranina/fast-green; note o feixe vascular central e dois menores laterais (setas). **Fig. 59.** Tecidos periféricos, período de vazante, *in vivo*. Barras: 50µm. Legenda: co-clênquima anelar; cr-cristais; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; pc-parênquima colenquimatoso; x-xilema..... 68
- Figs. 60-63.** *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. no Rio Itajaí do Norte. **Fig. 60.** Período de vazante, espécie encontra-se fortemente aderida às rochas. **Fig. 61.** Período de cheia; indivíduos parcialmente submersos (seta). **Fig. 62.** Após período de cheia, indivíduos desprovidos de folhas. **Fig. 63.** Detalhe das folhas evidenciando a estenofilia (seta)..... 83
- Figs. 64-67.** Secções transversais de folha de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO. **Fig. 64, 66-67.** Período de vazante; secções coradas com safranina/fast-green. **Fig. 65.** Período de cheia; secção corada com azul de astra/fucsina básica. **Figs. 64-65.** Aspecto geral; Barras: 50µm. **Figs. 66-67.** Detalhes da face abaxial. Barras: 10µm. Legenda: cf-composto fenólico; cse-câmara subestomática; e-estômato; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; la-laticífero; mc-membrana cuticular; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico..... 84
- Figs. 68-69.** Secções paradérmicas de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO. **Fig. 68.** Período de vazante; face adaxial. **Fig. 69.** Período de cheia; face abaxial. Barras: 50µm. Legenda: e-estômato..... 85
- Figs. 70-71.** Vista frontal da superfície epidérmica de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MEV, do período de cheia, setas indicam ceras epicuticulares. Barras: 10µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato..... 85
- Figs. 72-73.** Secções paradérmicas de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO. **Fig. 72.** Microfotografia destacando o floema (*) acompanhados por laticíferos (setas). **Fig. 73.** Representação esquemática de laticífero articulado anastomosado. Barras: 50µm. Legenda: tne-terminação de nervura..... 85

- Figs.74-76.** Secções transversais da nervura mediana de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO, do período de cheia. **Fig. 74.** Secção corada com safranina/fast-green. Barra: 100µm. **Figs. 75-76.** Detalhes em secções *in vivo*, com reação de fluoroglucina e HCl. Barras: 50µm. Legenda: co-colênquima anelar; fi-fibras; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; x-xilema..... 86
- Fig. 77.** Secção transversal do bordo de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO, do período de cheia, secção corada com azul de astra/fucsina básica. Barra: 50µm. Legenda: co-colênquima anelar; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico..... 87
- Fig. 78.** Secção transversal do pecíolo de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO, do período de cheia, corada com safranina/fast-green. Barra: 100µm. Legenda: co-colênquima anelar; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; pa-parênquima; x-xilema..... 87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Área, índice e dimensões (comprimento e largura) de folhas de sol e de sombra de <i>Raulinoa echinata</i> R.S.Cowan, nos períodos de vazante e cheia do rio.....	27
Tabela 2. Densidade estomática e dimensões das células-guarda e do poro estomático de folhas de sol e de sombra de <i>Raulinoa echinata</i> R.S.Cowan, nos períodos de vazante e cheia do rio.....	31
Tabela 3. Espessuras da lâmina e estruturas constituintes de folhas de sol e de sombra de <i>Raulinoa echinata</i> R.S.Cowan, nos períodos de vazante e cheia do rio.....	36
Tabela 4. Área, dimensões (comprimento e largura) e índice de folhas de <i>Sebastiania schottiana</i> (Müll. Arg.) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.....	52
Tabela 5. Densidade estomática e dimensões das células-guarda e do poro estomático de folhas de <i>Sebastiania schottiana</i> (Müll. Arg.) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.....	57
Tabela 6. Espessuras da lâmina e estruturas constituintes de folhas de <i>Sebastiania schottiana</i> (Müll. Arg.) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia do rio.....	59
Tabela 7. Área, dimensões (comprimento e largura) e índice de folhas de <i>Phyllanthus sellowianus</i> (Klotzsch) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.....	70
Tabela 8. Densidade estomática e dimensões das células-guarda e do poro estomático de folhas de <i>Phyllanthus sellowianus</i> (Klotzsch) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.....	75
Tabela 9. Espessuras da lâmina e estruturas constituintes de folhas de <i>Phyllanthus sellowianus</i> (Klotzsch) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia do rio.....	79

SUMÁRIO

RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	XI
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	XIII
LISTA DE TABELAS	XVII
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA.....	10
3. OBJETIVOS.....	12
3.1. Objetivo Geral	12
3.2. Objetivos Específicos.....	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS	13
4.1. Área de estudo	13
4.1.1. Hidrografia.....	13
4.1.2. Geomorfologia.....	15
4.1.3. Clima	15
4.1.4. Vegetação	16
4.2. Material de estudo	16
4.2.1. Descrição das espécies e aspectos ecológicos.....	16
<i>Raulinoa echinata</i> R. S. Cowan. (Rutaceae)	16
<i>Sebastiana schottiana</i> (Müll. Arg.) Müll. Arg (Euphorbiaceae).....	17
<i>Phyllanthus sellowianus</i> (Klotzsch) Müll. Arg. (Euphorbiaceae)	18
4.3. Procedimentos de coleta.....	18
4.3.1 Preparação do Material e Procedimentos de Análise	19
4.3.1.1. Morfologia Foliar.....	19
4.3.1.2. Área e Índice Foliar	20
4.3.1.3. Estudo Estrutural em Microscopia Óptica	20
4.3.2. Estudo dos Estômatos	20
4.3.2.1. Preparação de lâminas.....	20
4.3.2.2. Distribuição e estrutura dos estômatos.....	21
4.3.2.3. Dimensões das células-guarda e do poro estomático	21
4.3.2.4. Densidade estomática.....	21
4.3.3. Estudo da Lâmina Foliar e do Pecíolo	22
4.3.3.1. Preparação do material.....	22
4.3.3.2. Estudo estrutural da lâmina foliar e do pecíolo.....	23
4.3.3.3. Espessuras das estruturas da lâmina foliar	23
4.3.4. Testes histoquímicos.....	23
4.3.5. Estudo ultra-estrutural	24
4.3.6. Análise estatística	24

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1. <i>Raulinoa echinata</i> R. S. Cowan.....	26
5.1.1. Características gerais da espécie.....	26
5.1.2. Morfologia foliar	26
5.1.2.1. Área e Índice foliar	27
5.1.3. Anatomia da Folha.....	28
5.1.3.1. Epiderme	29
5.1.3.2. Mesofilo	35
5.1.3.3. Nervura mediana.....	39
5.1.3.4. Bordo	41
5.1.3.5. Pecíolo	41
5.2. <i>Sebastiania schottiana</i> (Müll. Arg.) Müll. Arg.....	49
5.2.1. Características gerais da espécie.....	50
5.2.2. Morfologia foliar	50
5.2.2.1. Área e índice foliar.....	51
5.2.3. Anatomia da folha.....	52
5.2.3.1. Epiderme.....	52
5.2.3.2. Mesofilo	58
5.2.3.3. Nervura Mediana	60
5.2.3.4. Bordo	61
5.2.3.5. Pecíolo	61
5.3. <i>Phyllanthus sellowianus</i> (Klotzsch) Müll. Arg.....	69
5.3.1. Características gerais	69
5.3.2. Morfologia foliar	69
5.3.2.1 Área e Índice foliar	70
5.3.3. Anatomia da folha.....	71
5.3.3.1. Epiderme.....	71
5.3.3.2. Mesofilo	77
5.3.3.3. Nervura Mediana	80
5.3.3.4. Bordo	81
5.3.3.5. Pecíolo	81
5.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS	88
6. CONCLUSÕES	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

1. INTRODUÇÃO

As reófitas constituem um grupo particular de vegetação ribeirinha, incluindo plantas confinadas às margens pedregosas de córregos e rios com fluxos rápidos, determinados pela geomorfologia e relevo do curso acima. Estas plantas crescem acima do nível da água, sem distanciar-se muito das margens, e caracterizam-se por resistir às enxurradas originadas por chuvas fortes na área da cabeceira do rio (Van Steenis, 1981).

O termo reófito foi empregado pela primeira vez, em 1932, por Van Steenis, do Rijks-herbarium (Holanda), para designar espécies de plantas que são restritas ou exclusivas de corredeiras e cascatas, nos leitos de rios e riachos (Klein, 1979). As reófitas foram reconhecidas inicialmente na Malásia, atualmente são encontradas em diversas partes do mundo, porém, nos trópicos sempre úmidos são mais abundantes (Van Steenis, 1981).

De acordo com Rodrigues & Leitão-Filho (2000) há uma complexidade de fatores atuando na condição ribeirinha, definindo uma heterogeneidade do ambiente, que se constitui como um mosaico de condições ecológicas distintas. Os autores mencionam que esse mosaico se torna ainda mais complexo quando se considera a dinâmica sucessional das formações ribeirinhas. Estas apresentam particularidades em função das alterações vegetacionais promovidas pela elevação do curso d'água, com conseqüente deposição de sedimentos, soterramento ou retirada da serapilheira e do banco de sementes e pelas diferentes respostas das espécies ao encharcamento, que atuam como elementos naturais de perturbação nas áreas ribeirinhas.

Portanto, o termo ribeirinho representa melhor a diversidade de condições ecológicas desse ambiente, que é a característica mais marcante dessas áreas do

entorno de cursos d'água, definindo uma condição que foi moldada pelas características geológicas, geomorfológicas, hidrológicas, hidrográficas, climáticas e outras, podendo as características de solo e de vegetação serem conseqüências dessa interação complexa (Rodrigues & Leitão-Filho, 2000).

As reófitas, conforme Van Steenis (1981), têm sido reunidas em três grandes grupos, os quais compreendem: reófitas hidrofíticas, reófitas torrentículas e reófitas de solo. As reófitas hidrofíticas são plantas frágeis, com raízes tuberosas ou fibrosas, permanentemente submersas, porém com folhas flutuantes, freqüentemente com formato estreito e alongado. Nas reófitas torrentículas as partes vegetativas, folhas ou frondes pinatissectas, ficam permanentemente submersas em águas turbulentas e semi-anualmente as partes férteis tornam-se emergentes. O maior número de espécies encontra-se no grupo das reófitas de solo, a maioria confinada às zonas ribeirinhas de leitos de rios e riachos. Estas plantas geralmente apresentam-se como pequenos ou médios arbustos, mais raramente árvores, com folhas simples, raramente pinadas ou digitadas, que, apenas quando o rio está em cheia, ficam total ou parcialmente submersas. As três espécies aqui investigadas são reófitas de solo.

O fato das reófitas ocorrerem sob condições especiais – cascatas, corredeiras e solos rochosos – determina que estas plantas tenham que ser altamente especializadas e adaptadas a viver sob estas adversidades ambientais. Klein (1979) salienta que as raízes destas plantas fixas sobre as rochas devem enfrentar não só as fortes correntezas, provocadas pelas enchentes periódicas, quando estão submersas, mas também os intensos raios solares incidentes sobre as rochas, quando as águas estão rasas.

Van Steenis (1987) esclarece que grupo biológico é aquele que reúne organismos que compartilham um ambiente ecológico restrito, sem que estejam relacionados sistematicamente, o que poderia ser denominado de grupo ecológico. Os representantes de cada grupo biológico compartilham algumas características notáveis, tais como solo, clima, hábitat, simbiose, forma de vida, etc, características estas particularmente relacionadas ao ambiente, razão pela qual o autor prefere o termo grupo biológico em vez de grupo ecológico. Neste sentido, de acordo com Van Steenis (1981, 1987), as reófitas formariam um grupo biológico de plantas equivalente à epífita, hidrófita, halófitas, xerófitas, etc., mas que apresenta características morfo-fisiológicas especializadas, as quais possibilitam a sobrevivência sob determinadas condições ambientais comuns.

Na maioria dos grupos biológicos o agenciador principal do ambiente é relativamente bem definido, tais como: seca, insolação, salinidade do solo, etc. Muitas evidências têm sido descritas nas investigações estruturais e fisiológicas relacionando os grupos biológicos com seu hábitat (Napp-Zinn, 1984; Sculthorpe, 1967; Fahn & Cutler, 1992; Lambers *et al.*, 1998). Assim, por exemplo, são freqüentes as referências à suculência em xerófitas (Fahn & Cutler, *op cit.*; Altesor *et al.*, 1994), às glândulas de sal em halófitas (Levitt, 1980; Hanagata, 1999; Santos & Almeida, 2000) e ao aerênquima em hidrófitas (Lersten & Gunning, 1975; Sculthorpe, *op cit.*; Bona & Alquini, 1995).

As características adaptativas das reófitas não são tão evidentes, o que pode ter contribuído para que este grupo biológico tenha recebido menos atenção que outros. Van Steenis (1981) destaca algumas características morfológicas destas plantas: sistema radicular forte e bem desenvolvido, apto para desempenhar uma proteção no movimento dos cascalhos e seixos rolados, ou sistema radicular

resistente, permitindo uma boa aderência às rochas; caules rijos e resistentes, porém flexíveis, apresentando-se vergados, resistindo às tensões das correntes de água; folhas ou folíolos, em geral, estreitos ou lanceolados; provavelmente floração e frutificação rápidas. Portanto, como referido pelo autor, os diversos órgãos vegetativos e reprodutivos, precisam adaptar-se às condições de tal ambiente. Estas adaptações fundamentam-se nas características morfo-anatômicas e fisiológicas, sobre as quais poucos estudos têm dedicado maior aprofundamento. Geralmente, como em Klein (1979) e Van Steenis (1981) os dados restringem-se à morfologia geral do órgão, como é o caso da estenofilia (folhas estreitas e longas). Com relação à estrutura anatômica dos órgãos, nas espécies deste grupo biológico, raros são os trabalhos, estando praticamente limitados a investigações com pteridófitas ocorrentes no Japão, tais como Kato & Imaichi (1992a), Imaichi & Kato (1993), Usukura *et al.* (1994) e Tsukaya (2002).

Muitas dúvidas permanecem em termos de adaptação das reófitas, como salientado por Van Steenis (1981), entre elas: Porque as reófitas estão confinadas apenas às regiões de intensa correnteza? Qual a causa da forma foliar estenófila? Pode ser demonstrada por experimentos sua resistência às correntes d'água? O que determina a flexibilidade dos ramos? Que mecanismos apresentam para dispersão de sementes? O desafio em investigações com este grupo parece ser compreender que modificações simples podem ter possibilitado a adaptação de algumas espécies a esse hábitat peculiar.

Na relação planta-ambiente, geralmente as variações morfo-anatômicas mais expressivas são observadas nas folhas (Fahn, 1978; Dickison, 2000). Gutschick (1999) ressalta que a diversidade estrutural das folhas, associada a fatores abióticos e bióticos, ocorre tanto dentro de um mesmo indivíduo, quanto

entre indivíduos do mesmo táxon. Considerando as particularidades do ambiente, onde ocorrem as reófitas, as folhas devem apresentar características morfo-anatômicas que possibilitem adequada capacidade funcional, durante as cheias ou as vazantes do rio. Isto porque, no período de cheia, as folhas estão parcial ou totalmente submersas em águas barrentas, e no período de vazante as mesmas folhas estão sujeitas à alta exposição à luz e ao calor.

Portanto, tendo em vista que a folha é composta de três tipos de sistemas de tecidos—epiderme, mesofilo e tecidos vasculares (Fahn, 1978; Menezes *et al.*, 2003), as características estruturais destes poderão apontar evidências adaptativas às condições ambientais peculiares das reófitas. Gutschick (1999) refere que os fatores abióticos e bióticos refletem-se em alterações nas características estruturais das folhas, tais como: área foliar, densidade estomática, distribuição dos estômatos entre faces abaxial e adaxial, abertura estomática, tricomas e compostos químicos para defesa e diversas outras estruturas microscópicas internas e externas (histologia do mesofilo, área e espessura da lâmina foliar).

A epiderme, por ser o tecido que está em contato direto com o ambiente, como comenta Cutter (1978), pode apresentar modificações estruturais como resposta aos fatores ambientais, tornando esse tecido bastante estudado. Muitas investigações têm concentrado atenção ao contorno das paredes anticlinais das células epidérmicas, à espessura da camada epidérmica, à espessura da membrana cuticular, à variação na deposição de ceras epicuticulares, à localização dos estômatos (face adaxial e/ou abaxial), à variação na estrutura e à densidade estomática.

O contorno das paredes anticlinais, ou seja, o padrão apresentado por estas, quando observadas em vista frontal, varia com a intensidade de luz. Com relação a

este aspecto, diversas pesquisas têm demonstrado tendência ao aumento de sinuosidade sob condições de menor irradiação solar (Napp-Zinn, 1984; Vieira, 1995). Da mesma forma a intensidade luminosa também afeta a espessura do tecido epidérmico e da cutícula (Reed & Tukey, 1981; Raven *et al.*, 2000), aumentando a espessura sob maior luminosidade, como estratégia para reduzir a intensidade de luz, tornando-a adequada à ativação dos cloroplastos (Rôças *et al.*, 2001). A espessura da membrana cuticular desempenha importante papel na redução da irradiação incidente na folha (Dickison, 2000; Larcher, 2000), e relaciona-se à redução da perda de água (Haberlandt, 1928; Gutschick, 1999). Por outro lado, em hidrófitas submersas a cutícula tende a reduzir muito a espessura, um dos fatores que assegura maior penetração de luz (Napp-Zinn, 1984; Sculthorpe, 1967). Alquini *et al.* (2003) salientam que a cutina (substância que constitui a cutícula) e as ceras são barreiras contra fungos, bactérias e insetos e, em condições ambientais mais severas, a cera tem papel importante quando a cutina não é suficiente. Ceras depositadas sobre a cutícula impermeabilizam a epiderme (Fahn, 1978) e também auxiliam na reflexão da irradiação solar (Dickison, 2000). Envolvendo reófitas, há poucos registros sobre as características das células epidérmicas (conformação das paredes anticlinais, espessura do tecido, espessura da cutícula ou presença de cera). Estudos com espécies pteridófitas reófitas, comparadas com espécies não reófitas, têm mostrado que nas primeiras as células epidérmicas são menos lobadas e tem maior deposição de ceras epicuticulares (Kato & Imaichi, 1992a; Imaichi & Kato, 1993). Porém, Kato & Imaichi (1992b), investigando uma espécie pteridófita reófito facultativa, com formas reófitas e não-reófitas, constataram a mesma variação quanto aos lobos, mas a deposição de ceras é maior nas formas não-reófitas.

Aspectos estruturais e morfométricos referentes aos estômatos também são importantes na relação planta-ambiente. Os estômatos estão relacionados a importantes processos fisiológicos da planta, sendo os locais de trocas de oxigênio e gás carbônico, para a respiração e a fotossíntese, e ainda os locais de difusão de vapores d'água na transpiração (Cutter, 1978; Romero-Aranda *et al.*, 1994). Estas estruturas são aberturas na epiderme, freqüentes nas partes aéreas fotossintetizantes, principalmente na lâmina foliar, mas também são encontrados, em menor número, nos pecíolos, caules jovens e partes florais (Esau, 1976; Alquini *et al.*, 2003). Diversos estudos relacionam distribuição, densidade, condutância estomática, dimensões dos estômatos e taxa de transpiração com parâmetros ambientais, tais como umidade relativa, temperatura do ar e intensidade de luz (Parkhurst, 1978; Muchow & Sinclair, 1989; Ferris & Taylor, 1994).

Os estômatos podem ocorrer em ambas as faces da folha ou somente em uma delas, porém, geralmente predominam ou estão restritos à face abaxial das folhas (Esau, 1976; Cutter, 1978; Maueth, 1988; Peat & Fitter, 1994). Parkhurst (1978) referindo-se a plantas terrestres, relata que a distribuição dos estômatos está associada com a espessura da folha. Conforme o autor, folhas espessas tendem a ser anfiestomáticas, enquanto folhas delgadas tenderiam a ser hipoestomáticas. Em hidrófitas, observa-se a epiestomatia nas folhas flutuantes (Napp-Zinn, 1984). Haverá alguma tendência preferencial no posicionamento dos estômatos nas reófitas? Que características estruturais e/ou ultra-estruturais e fisiológicas poderiam ser evidenciadas nos estômatos e associadas a adaptação à submersão, durante as cheias do rio? E como enfrentam a situação oposta, durante a vazante ficando expostas à intensa luminosidade?

Outro aspecto da estrutura estomática, que pode ser associado ao ambiente, é o posicionamento em relação às demais células epidérmicas. As células estomáticas podem encontrar-se no mesmo nível das demais células epidérmicas, estarem elevadas em relação a estas ou em depressões (Esau, 1976; Cutter, 1978; Alquini *et al.*, 2003). Em hidrófitas existe tendência dos estômatos estarem elevados (Sculthorpe, 1967). Em espécies xéricas, quando há maior exposição ao sol, há tendência ao aprofundamento, como forma de reduzir a evaporação durante a abertura estomática (Fahn & Cutler, 1992). A perda excessiva de água também pode ser minimizada com a redução do tamanho das células e do poro dos estômatos (Abrans *et al.*, 1992). Como referido anteriormente, as reófitas estão sujeitas a condições, ora similares às hidrófitas, ora similares às xerófitas, portanto é preciso investigar a estrutura e ultra-estrutura de modo a compreender como se adaptam a tais circunstâncias.

O número de estômatos por área varia amplamente em diferentes partes da mesma folha e em diferentes folhas da mesma planta, sendo influenciada pelas condições ambientais (Esau, 1976; Murtaza & Paul, 1989). Entre as variáveis ambientais, que têm sido associadas às variações na densidade estomática, encontram-se a altitude, o estresse hídrico, a concentração de CO₂ e a intensidade luminosa (Woodward, 1986, 1987; Woodward & Bazzaz, 1988; Rowland-Bamford *et al.*, 1990; Malone *et al.*, 1993; Silva *et al.*, 1999). A densidade estomática é fixada durante os estádios iniciais do desenvolvimento da folha (Paoletti & Gellini, 1993). As condições de fluxo do rio influiriam na densidade estomática das reófitas?

As características adaptativas das estruturas epidérmicas às condições ambientais geralmente são acompanhadas por adaptações também dos tecidos do mesofilo. O mesofilo, caracterizado pela abundância de cloroplastos e um sistema

de grandes espaços intercelulares, pode ser relativamente homogêneo ou diferenciado em parênquimas paliçádico e esponjoso (Esau, 1976). A especialização do tecido paliçádico, determinando uma maior eficiência fotossintética, deve-se, não somente ao maior número de cloroplastos nas células, mas também às dimensões de sua superfície celular livre (Fahn, 1978). As características histológicas do mesofilo influenciam na interceptação de luz, afetando o balanço de energia e a difusão de gases (DeLucia *et al.*, 1996). A maior exposição das folhas à luz eleva a espessura da lâmina foliar e do mesofilo (Mauseth, 1988; Syvertsen *et al.*, 1995; Lambers *et al.*, 1998; Dickison, 2000; Rôças *et al.*, 2001). Porém, a variação na intensidade luminosa pode afetar não apenas a espessura da folha, mas também a área foliar. A área foliar tende a ser menor em folhas mais expostas ao sol do que folhas de sombra (Mauseth, 1988; Dickison, 2000). Imaichi & Kato (1993), estudando o desenvolvimento foliar em pteridófitas reófitas, sugerem que as modificações morfológicas relativas ao desenvolvimento estão associadas ao curto período de ontogênese. Kato & Imaichi (1992a) constataram o fenômeno de heterocronia, ou seja, um menor desenvolvimento das células epidérmicas em espécies reófitas, quando comparadas com outras não-reófitas.

Assim, o conhecimento morfo-anatômico das folhas de reófitas, encontradas nos leitos de rios e riachos de Santa Catarina, poderá auxiliar na compreensão das características adaptativas que possibilitam estas espécies viverem em ambientes adversos. Tais conhecimentos poderão embasar programas que visem à conservação destes habitats peculiares e, por conseqüência, a preservação das próprias espécies que mantêm estes ecossistemas. Três espécies foram escolhidas para serem investigadas: *Raulinoa echinata* (Rutaceae), *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae) e *Phyllanthus sellowianus* (Euphorbiaceae).

2. JUSTIFICATIVA

A vegetação de mata ciliar constitui um dos mais importantes ecossistemas, fazendo parte da Floresta Atlântica *latu sensu*. Nas últimas décadas, em função do intenso desmatamento, têm aumentado o escoamento superficial das águas, e como conseqüência, a erosão em diversos locais nos leitos dos rios. Klein (1979) refere que as reófitas contribuem para evitar ou minimizar a erosão nos leitos dos rios e riachos. A vegetação ciliar têm sido constantemente degradada, e a restauração destas áreas, bem como um possível manejo, envolvem um conhecimento biológico de espécies que vivem nesses locais, ou seja, das reófitas.

A alteração destes ecossistemas, seja pelo desmatamento ou por construções de represas, estas prioritariamente em locais onde se encontram as reófitas, tem colocado muitas destas espécies sob ameaça de extinção, tendo em vista que geralmente são restritas a locais com características ambientais muito peculiares.

As três espécies de reófitas escolhidas para serem investigadas encontram-se em distintos locais no leito do rio, isso determina diferentes níveis de submersão durante as cheias. *Raulinoa echinata* localiza-se em pontos mais elevados, sendo a espécie que mais se afasta da margem do rio, em relação às outras duas espécies, logo, durante as cheias essa espécie dificilmente fica completamente submersa. *Sebastiania schottiana* encontra-se no leito do rio, mas mantendo-se próximo a borda, com alguns indivíduos sobre rochas, e durante as cheias fica mais submersa que a espécie anterior. *Phyllanthus sellowianus* é a espécie que mais avança no leito do rio, também ocorrendo sobre ilhas rochosas, juntamente com *S. schottiana* ou em pontos isolados, ficando completamente submersa na época das cheias. Estes gradientes de localização determinando níveis de submersão são importantes,

pois podem possibilitar um melhor entendimento das estratégias das reófitas para sobreviverem nas condições adversas impostas pelos períodos de cheias e vazantes.

Além disso, há registros de potencial medicinal destas espécies, porém suas características estruturais e funcionais são desconhecidas. *Phyllanthus sellowianus* é uma planta com efeitos analgésicos mais eficazes que a aspirina e o paracetamol (Miguel *et al.*, 1996; Meyre-Silva *et al.*, 1998) e utilizada na medicina popular na África do Sul, como hipoglicêmica e diurética (Hnatyszyn *et al.*, 2002). *Sebastiania schottiana* têm compostos com propriedades antiespasmódicas (Calixto *et al.*, 1986; Cechinel Filho, 1991). Extratos de *Raulinoa echinata* têm apresentado bons resultados na inibição de formas do *Trypanossoma cruzi*, visando o tratamento da Doença de Chagas (Biavatti, 2001). Além disso, *R. echinata* é uma espécie endêmica de Santa Catarina, de ocorrência muito restrita (Cowan & Smith, 1973; Klein, 1979).

Assim, investigações morfo-anatômicas e fisiológicas são relevantes para melhor compreender as adaptações das reófitas, contribuindo para o entendimento da biologia destas espécies. Tais conhecimentos poderão embasar programas que visem à conservação destes habitats peculiares e, por conseqüência, a preservação das próprias espécies que mantêm estes ecossistemas.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar os aspectos morfo-anatômicos das folhas de *Raulinoa echinata* R. S. Cowan (considerando folhas de sol e de sombra), *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. e *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em períodos de cheia e de vazante do rio, visando melhor compreender as adaptações das reófitas às peculiaridades do ambiente onde ocorrem.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar morfológica e histologicamente a lâmina foliar e o pecíolo;
- Determinar a área e o índice foliar;
- Determinar a densidade estomática, o comprimento e a largura da célula-guarda e do poro estomático;
- Determinar a espessura da lâmina foliar, da epiderme e dos tecidos do mesofilo;
- Inferir sobre aspectos ecofisiológicos, com base nos dados morfométricos e estruturais obtidos, que possibilitam às plantas adaptarem-se ao hábitat peculiar em que se encontram as reófitas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. ÁREA DE ESTUDO

O material foi coletado nos rios Itajaí-Açu e Itajaí do Norte (Figs. 1-3), pertencentes à Bacia do Rio Itajaí-Açu, como é referida no Atlas de Santa Catarina (1986), ou à Bacia do Rio Itajaí, como é tratada pelo Comitê Itajaí (2004).

A Bacia do Itajaí, conforme o Comitê Itajaí (2004) é a maior bacia da vertente Atlântica do Estado de Santa Catarina e sua paisagem é dividida em três compartimentos naturais: o Alto, o Médio e o Baixo Vale do Itajaí. Localiza-se na unidade fisiográfica Litoral e Encostas de Santa Catarina, entre as coordenadas 26°27' e 27°53' de latitude Sul e 48°38' e 50°29' de longitude Oeste. Atualmente, de acordo com o mesmo Comitê, está distribuída por 47 municípios, possuindo cerca de 15.500 Km² (16,15% do território catarinense e 0,6% da área nacional).

4.1.1. HIDROGRAFIA

O maior curso d'água da Bacia do Itajaí é o Rio Itajaí-Açu, suprido por 54 rios e ribeirões. Três rios são os principais tributários do Rio Itajaí-Açu: o Rio Itajaí do Norte ou Hercílio, que desemboca no Rio Itajaí-Açu, no município de Ibirama; o Rio Benedito, no município de Indaial; e o Rio Itajaí-Mirim, em Itajaí. Além destes ainda há outros dois tributários, Rio Itajaí do Oeste e Rio Itajaí do Sul. Desta forma a Bacia está constituída por diversas sub-bacias, entre elas a Sub-bacia Itajaí do Norte ou Hercílio com 3.315 Km e a Sub-bacia Itajaí-Açu com 2.794 Km. Os dados referidos foram obtidos em Comitê Itajaí (2004).

Figs. 1-3. Localização das áreas de estudo. **Fig. 1.** Mapa de localização do Estado de Santa Catarina (Comitê do Itajaí, 2004). **Fig. 2.** Mapa das Bacias Hidrográficas do Estado de Santa Catarina; note, em branco, a Bacia do Itajaí (Comitê Itajaí, 2004). **Fig. 3.** Mapa da Bacia Hidrográfica do Rio Itajaí-Açu. (Atlas de Santa Catarina, 1986). Setas indicam Rio Itajaí do Norte (seta branca) e Rio Itajaí-Açu (seta preta).

4.1.2. GEOMORFOLOGIA

Os dados geomorfológicos, a seguir descritos, foram obtidos em Comitê Itajaí (2004).

No Alto Vale do Itajaí, que compreende a área desde as nascentes dos rios Itajaí do Sul e Itajaí do Oeste até o Salto dos Pilões, existem altiplanos, esculpidos sobre rochas sedimentares. A erosão dos rios corrói a paisagem em função do desgaste escalonado dos vários pacotes de rochas sedimentares. Dentre estes, o Rio Itajaí do Norte tem maior poder de erosão porque deságua abaixo do afloramento granítico e suas águas apresentam uma velocidade de escoamento maior, desgastando os terrenos sedimentares, menos resistentes e com maior poder de transporte.

No Médio Vale do Itajaí, área que circunda o curso médio do rio Itajaí-Açu, desde o Salto dos Pilões até o Salto Weissbach, existe uma transição, onde o rio corre por entre rochas metamórficas do Complexo Granulítico de Santa Catarina. Os afluentes do rio, neste trecho, originam-se nas escarpas do altiplano do planalto sedimentar. Em virtude da topografia acidentada, os rios apresentam alto poder erosivo e transportador, carregando grande quantidade de sedimentos, conferindo, ao Rio Itajaí-Açu, uma cor turva quase permanente.

4.1.3. CLIMA

O clima da Bacia do Itajaí é do tipo Cfa, de acordo com a classificação Köeppen, ou seja, mesotérmico úmido (subtropical úmido), com distribuição quase uniforme das chuvas por todos os meses. O clima da Bacia do Rio Itajaí também é influenciado pela existência de altas Serras a Oeste e Sul que, no inverno, protegem dos ventos frios vindos do Sudoeste e, no verão, atuam no sentido de elevar a

temperatura. A temperatura média anual é de 20,1 °C, com grande amplitude térmica. A umidade média relativa do ar é de 84%. A precipitação total anual média é de 1.596,2 mm e a média anual de dias, com precipitação, é de 152,4 dias. As informações descritas foram obtidas em Comitê Itajaí (2004).

4.1.4. VEGETAÇÃO

O Vale do Itajaí é coberto pelas seguintes regiões fitoecológicas: Floresta Ombrófila Densa ou Floresta Atlântica (70%), no Baixo, Médio e Alto Vale; Floresta Ombrófila Mista ou Floresta com Araucária (28%), predominando no Alto Vale e Pequenos mosaicos de Estepe ou Campos Naturais (1%), também no Alto Vale (Comitê do Itajaí, 2004) . As reófitas integram a vegetação ribeirinha, nas margens dos rios e riachos do Estado de Santa Catarina (Smith *et al.*, 1988). Este grupo biológico integra a vegetação da Floresta Atlântica.

4.2. MATERIAL DE ESTUDO

Foram coletadas folhas (lâminas foliares e pecíolos), totalmente expandidas (3º ao 5º nó), de indivíduos adultos de *Raulinoa echinata*, no Rio Itajaí-Açu, e de *Sebastiania schottiana* e *Phyllanthus sellowianus* no Rio Itajaí do Norte.

4.2.1. DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES E ASPECTOS ECOLÓGICOS

***Raulinoa echinata* R. S. Cowan. (Rutaceae)**

Segundo Cowan & Smith (1973), esta espécie endêmica e reófita é parte integrante da vegetação arbustiva, que se desenvolve ao longo das margens e ilhas rochosas, freqüentemente inundadas durante as cheias, nas partes encachoeiradas do Rio Itajaí-Açu. É um arbusto glabro, de 2-3 m de altura, conhecido como cutia-de-espinho. Os troncos são finos e flexuosos, com espinhos (râmulos laterais

modificados), de 8-21 mm de comprimento. Alguns ramos são desarmados (sem espinhos). As folhas são firme-cartáceas, oblanceoladas até oblongo-oblanceoladas, com ápice arredondado, às vezes levemente retuso, e base atenuado-cuneada. As lâminas foliares têm 2,3-6 cm de comprimento e 6-15 mm de largura. As nervuras são levemente salientes. Os pecíolos têm 3-5 mm de comprimento. Inflorescências são racemosas e sésseis e os frutos são do tipo cápsula.

Os indivíduos desta espécie, nos períodos de vazante do rio, estão expostos à luz, podendo algumas folhas mais internas ser sombreadas pelas externas, ou então, sombreadas pela vegetação vizinha (observação a campo).

***Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg (Euphorbiaceae)**

As características gerais dessa espécie e dados ecológicos são encontradas em Smith *et al.* (1988). A espécie, conhecida popularmente como sarandi, sarandi-vermelho, saranduba, assobio-de-macaco, é comumente arbusto, glabro, do grupo das reófitas, de 2-3,5 m de altura. Tem distribuição muito ampla, freqüente até abundante, descontínua, encontrada praticamente ao longo das corredeiras de todos os rios do Sul do Brasil. A espécie é heliófita, higrófitas até xerófitas, adaptada às variações extremas de umidade ou seca. Os caules e ramos, eretos ou ascendentes, espinhosos, quase pretos, lenticelados, são rijos, mas flexíveis, adaptados para resistirem às correntezas das águas durante o período das enchentes (Smith *et al.*, 1988). As folhas são sub-coriáceas, subespatuladas, obtusas ou subobtusas, inteiras, longo-estreitadas na base, com nervuras laterais evidentes, apresentando 1-4 cm de comprimento e 3,5-8 mm de largura. Os pecíolos têm 2-4 mm de comprimento. As estípulas são ovado-triangulares, cedo caídas. Apresenta espigas terminais sobre raminhos curtíssimos e frutos do tipo cápsula.

Os indivíduos desta espécie, nos períodos de vazante do rio, estão totalmente expostos à luz, com pouca probabilidade de autosombreamento entre as folhas.

***Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. (Euphorbiaceae)**

Smith *et al.* (1988) descrevem a espécie, incluindo dados ecológicos. Segundo estes autores a espécie é um arbusto, glabro, do grupo das reófitas, com 2 a 3 m de altura, conhecido popularmente como sarandi-branco, sarandi, filanto. Têm distribuição ampla, porém descontínua e irregular, ao longo das margens ou ilhas rochosas dos rios, no Rio Itajaí e nos rios da Bacia do Prata, constituindo a vegetação dominante. A espécie é heliófita, higrófita até xerófita, adaptada às variações freqüentes de condições extremas, umidade e estio. Apresenta ramos compridos e rijos, mas flexíveis, que resistem às correntezas das águas durante as enchentes, e raminhos delgados e sinuosos. As plantas estão fixas firmemente ao substrato, uma vez que se desenvolvem preferencialmente nos locais de corredeiras e cachoeiras dos rios, onde são observados no leito muitos blocos rochosos. As folhas são estreito-elípticas, delgadas, planas, com face inferior pálida e nervuras laterais evidentes, apresentando 3-4 (até 7) cm de comprimento. Perto do ápice dos ramos as folhas são reduzidas a escamas. As estípulas são decíduas estreito-triangulares. As flores, numerosas, são díclinas e estão localizadas, em fascículos, nas axilas da folhas. O fruto é uma cápsula globosa, com sementes quase lisas.

Os indivíduos desta espécie, nos períodos de vazante do rio, estão totalmente expostos à luz, sem ocorrer autosombreamento das folhas.

4.3. PROCEDIMENTOS DE COLETA

Foram coletadas no total cerca de 30 folhas totalmente expandidas, de diferentes locais da copa, de pelo menos 3 indivíduos adultos de cada espécie, em

cada um dos dois períodos considerados (vazante e cheia do rio). No caso de *R. echinata*, foram coletadas folhas de sol, de 3 indivíduos mais expostos à luz, e folhas de sombra, de 3 indivíduos mais sombreados; para *S. schottiana* e *P. sellowianus*, como os indivíduos estão mais expostos à luz, foram consideradas apenas folhas de sol. As coletas foram realizadas no período de vazante (maio de 2004) e no período de cheia do rio (janeiro de 2005).

Assim, foram considerados 8 tratamentos para cada parâmetro analisado: 1. *R. echinata* – folhas de sol – vazante; 2. *R. echinata* – folhas de sombra – vazante; 3. *R. echinata* – folhas de sol – cheia; 4. *R. echinata* – folhas de sombra – cheia; 5. *S. schottiana* – vazante; 6. *S. schottiana* – cheia; 7. *P. sellowianus* – vazante; 8. *P. sellowianus* – cheia. Exsicatas de *Raulinoa echinata*, *Sebastiana schottiana* e *Phyllanthus sellowianus*, foram depositadas no Herbário Flor –UFSC.

Exsicatas de *Raulinoa echinata*, *Sebastiana schottiana* e *Phyllanthus sellowianus* foram depositadas no Herbário Flor –UFSC.

O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos, dentro de recipiente sob refrigeração (caixa de isopor com gelo), para o transporte até o laboratório, onde foi mantida em geladeira, para posterior utilização.

4.3.1 PREPARAÇÃO DO MATERIAL E PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE

4.3.1.1. Morfologia Foliar

A descrição da morfologia foliar foi realizada de acordo com a proposta de classificação de Hickey (1979), utilizando material fresco ou conservado, em sacos plásticos, sob refrigeração.

4.3.1.2. Área e Índice Foliar

A determinação da área foliar foi realizada em 30 folhas de cada um dos três indivíduos de cada tratamento. Para cada folha, o contorno foi delineado em papel com massa constante (tamanho ofício padrão 75g/m²). 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 (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).

4.3.1.3. Estudo Estrutural em Microscopia Óptica

As amostras para este estudo foram retiradas de três folhas, de cada um dos três indivíduos dos dois tratamentos de cada espécie. Foram feitas observações em Microscópio Óptico (MO), marca Zeiss-Jena, modelo Loboal 4, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFSC. Fotomicrografias foram obtidas em microscópio óptico Leica MPS 30 DMLS, no mesmo Laboratório.

4.3.2. ESTUDO DOS ESTÔMATOS

4.3.2.1. Preparação de lâminas

Para estudo dos estômatos foi utilizado material fresco ou conservado sob refrigeração. Secções paradérmicas, na região média da lâmina foliar, em ambas faces, foram feitas à mão-livre, com auxílio de lâmina de barbear, para confecção de

lâminas semipermanentes, com gelatina-glicerinada (Kaiser, 1880 – *apud* Kraus & Arduin, 1997). Diversas secções foram feitas na face de ocorrência de estômatos.

4.3.2.2. Distribuição e estrutura dos estômatos

Utilizando amostras preparadas, para vista frontal em microscopia óptica, foi registrada a ocorrência dos estômatos, de modo a classificar as folhas da espécie como epi, hipo ou anfiestomáticas. Além da distribuição, foi também classificado o tipo de estrutura estomática, com base na literatura pertinente, tal como a minuciosa classificação dos estômatos apresentada por Wilkinson (1979).

4.3.2.3. Dimensões das células-guarda e do poro estomático

A determinação das dimensões das células-guarda 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 a determinação das dimensões do poro também foi considerado o eixo longitudinal e o transversal, quando em vista frontal da superfície epidérmica.

Para as medições, as imagens foram projetadas, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico, sobre o papel e aferida com escala micrométrica, de modo a apresentar os resultados em micrômetros.

4.3.2.4. Densidade estomática

A contagem do número de estômatos por área foi feita em microscópio óptico, utilizando lâminas preparadas para observações em vista frontal da superfície epidérmica, considerando-se apenas as zonas intercostais. As imagens foram projetadas, com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio óptico, sobre área

delimitada conhecida (200x200 μm). Os dados obtidos foram apresentados em número de estômatos por mm^2 .

4.3.3. ESTUDO DA LÂMINA FOLIAR E DO PECÍOLO

4.3.3.1. Preparação do material

Para o estudo da folha, foram considerados o terço médio da lâmina foliar (nervura mediana, bordo e região entre estas) e o terço médio do pecíolo. Estas regiões foram seccionadas transversalmente e algumas longitudinalmente, para elucidar dúvidas sobre características estruturais. Para isso, pequenas amostras do material coletado foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas. Após o material foi lavado, por 3 vezes em tampão fosfato de sódio e, a seguir, desidratado em série etílica gradual. Após a desidratação algumas amostras foram infiltradas em parafina para confecção de lâminas permanentes.

Para infiltração em parafina, conforme Johansen (1940), o material, após desidratação, passou por xilol (3 vezes). Após a infiltração em parafina, em estufa (60°C), foram montados blocos, como apoio para as amostras, as quais foram seccionadas em micrótomo de rotação Leica – RM 2125 RT, com 15 μm de espessura. Foi utilizado o adesivo de Bissing (Bissing, 1974) para fixação das secções sobre a lâmina. As secções foram distendidas sobre chapa aquecedora (40°C). Após a secagem das lâminas com as amostras foram feitas as colorações com safranina/fast-green (Johansen, 1940) e azul de astra/fucsina básica (Luque *et al.*, 1996 *apud* - Kraus & Arduin, 1997) e posteriormente, a montagem entre lâmina-lamínula com bálsamo do Canadá sintético.

4.3.3.2. Estudo estrutural da lâmina foliar e do pecíolo

Foi feita análise dos tecidos que constituem a lâmina foliar (nervura mediana, bordo, epiderme e mesofilo) e dos tecidos que constituem o pecíolo.

4.3.3.3. Espessuras das estruturas da lâmina foliar

Foram determinadas as espessuras da epiderme, do mesofilo e tecidos constituintes do mesmo para as três espécies: *R. echinata* (folhas de sol e sombra, coletadas em períodos de vazante e cheia), *P. sellowianus* (períodos de vazante e cheia) e *S. schottiana* (períodos de vazante e cheia).

As imagens das secções transversais da lâmina foliar foram projetadas em folha de papel, com auxílio de câmara clara acoplada em microscópio óptico. Os limites de abrangência das estruturas foram delimitados e as medições foram aferidas com escala micrométrica, de modo a apresentar os resultados em micrômetros.

4.3.4. TESTES HISTOQUÍMICOS

Os testes histoquímicos foram realizados com materiais frescos seccionados transversalmente, com auxílio de lâminas de barbear. Para a detecção de compostos químicos foram utilizados: reativo de Steimetz original (Costa, 1982), para identificação de suberina, lignina, cutina, celulose, mucilagem, amido, compostos fenólicos, compostos antraquinônicos; Cloreto férrico (Costa, 1982), para identificação de lignina e compostos fenólicos; Sudan IV (Costa, op.cit.), para detecção de óleos e cutina; floroglucinol/ HCl (Costa, op.cit.), para detecção de lignina; tionina (Purvis *et al.*, 1964 – apud Kraus & Arduin, 1997), para detecção de mucilagem; ácidos clorídrico, sulfúrico e acético (Evans, 1989), para detecção da natureza química dos cristais.

4.3.5. ESTUDO ULTRA-ESTRUTURAL

Amostras de folhas de *R. echinata*, *S. schottiana* e *P. sellowianus* foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M, em pH 7,2, por 3 horas, lavadas por 3 vezes em tampão fosfato de sódio e desidratadas em série etílica gradual. Após a desidratação, o material foi imerso em hexametildesilazane (HMDS), por ½ hora, como meio substitutivo de ponto crítico de CO₂ que, pelo processo de sublimação, reduz a tensão superficial, evitando o colapso das estruturas (Bozzola & Russel, 1991). Algumas amostras não foram tratadas com substâncias químicas, sendo apenas secas em estufa, a 40°C. As amostras secas foram aderidas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador marca Baltec, modelo CED030. As amostras foram observadas e documentadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), marca Phillips, modelo XL30, pertencente ao Laboratório de Materiais da UFSC. Para a microanálise química foi usado detector de raios-X de Si-Li com janela de Be, com sistema Link-Oxford EDX, acoplado ao MEV.

4.3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O número mínimo amostral foi calculado 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 (Sokal & Rohlf, 1969). Para *R. echinata* foi aplicado Análise de Variância reunindo os dados das quatro variáveis (sol, sombra, vazante, cheia). Para *S. schottiana* e *P. sellowianus* as médias obtidas foram comparadas por teste t (ao nível de significância de 5%).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, são descritas e discutidas as características estruturais de cada uma das três espécies em relação às condições que o hábitat reofítico proporciona, considerando períodos de vazante e cheia do rio.

Posteriormente, são apresentadas considerações relacionando as espécies com a localização específica de cada uma delas, mais na margem – *Raulinoa echinata*, avançando mais no leito do rio – *Phyllanthus sellowianus* e intermediária – *Sebastiania schottiana*. Durante as cheias, *R. echinata* mantém-se parcialmente emersa, enquanto *P. sellowianus* está mais sujeita às adversidades proporcionadas pelas enxurradas, podendo ficar totalmente submersa, e *S. schottiana* encontra-se em nível de submersão intermediário entre os de *R. echinata* e de *P. sellowianus*. Durante a vazante do rio, em consequência da localização, também é *P. sellowianus* a espécie que se encontra mais exposta à intensa irradiação solar.

Finalmente, são comentadas as características morfo-anatômicas consideradas mais relevantes na adaptação destas espécies, pertencentes a distintos táxons, porém integrantes de um mesmo grupo biológico – reófitas.

5.1. *Raulinoa echinata* R. S. COWAN

5.1.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ESPÉCIE

R. echinata, arbusto pertencente à família Rutaceae, encontra-se nas margens encachoeiradas do Rio Itajaí-Açu. A espécie é endêmica deste rio, embora se apresentando de forma descontínua ou rara (Cowan & Smith, 1973; Klein, 1980). Os indivíduos estão sujeitos a muitas adversidades proporcionadas pelas constantes enxurradas resultantes das fortes chuvas. Algumas plantas dessa espécie reófitas, embora sempre marginais, estão localizadas: ou avançando um pouco no leito pedregoso do rio, onde se encontram mais expostos à irradiação solar; ou avançando para junto da vegetação ribeirinha, sendo sombreados pelo dossel de outras espécies. Qualquer que seja sua localização, estão sujeitas à parcial submersão quando ocorrem as enchentes.

A espécie possui características morfológicas típicas de reófitas. O caule apresenta espinhos (Fig. 5), seus ramos são flexuosos (Fig. 6), e as folhas são alongadas e estreitas (Figs. 5 e 6), evidenciando a estenofilia, característica que permite o deslizamento da água sobre a lâmina foliar sem rompê-la com facilidade. As características estruturais, juntamente com fatores fisiológicos, devem desempenhar importante papel na sobrevivência dessa espécie mediante as adversidades proporcionadas pelo ambiente em que se encontra.

5.1.2. MORFOLOGIA FOLIAR

As folhas de *R. echinata* (Fig. 7), em relação ao eixo caulinar, de onde se originam, apresentam orientação apical, ou seja, com o ápice direcionado para cima. Conforme Cowan & Smith (1973), as folhas da espécie são firme-cartáceas, oblanceoladas até oblongo-oblanceoladas, com ápice arredondado, às vezes

levemente retuso, e base atenuado-cuneada. A folha desta espécie, seguindo os critérios propostos por Hickey (1979), pode ser classificada como sendo constituída por lâmina simples e simétrica, com forma obovada do tipo oblanceolada, com ápice, geralmente retuso, e, por vezes, emarginado, e a base cuneada.

5.1.2.1. Área e Índice foliar

A área foliar de *R. echinata* varia de 4,6 a 7 cm², em média, dependendo do tratamento considerado (Tab. 1). Entre folhas de sol e sombra são constatadas diferenças significativas, tanto entre folhas coletadas no período de vazante do rio, quanto no período de cheia. Folhas de sol tendem a ser menores que folhas de sombra.

Tabela 1. Área, índice e dimensões (comprimento e largura) de folhas de sol e de sombra de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, nos períodos de vazante e cheia do rio.

	Vazante		Cheia	
	sol	sombra	sol	sombra
Área foliar (cm ²)	5,12±1,75 ab	6,98±1,85 c	4,56±1,04 a	5,60±1,24 b
Índice foliar	2,75±0,30 a	3,47±0,61 b	3,17±0,44 b	3,33±0,51 b
Comprimento (cm)	4,35±0,66 a	5,71±0,94 c	4,67±0,62 a	5,16±0,55 b
Largura (cm)	1,59±0,23 ab	1,66±0,24 b	1,48±0,17 a	1,57±0,18 ab

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Conforme Taiz & Zeiger (2004), uma menor área foliar determina uma redução na taxa de transpiração, conservando, efetivamente, um suprimento de água limitado por um período mais longo. Por outro lado, Lee *et al.* (1996) ressaltam

que, em locais sombreados, a expansão da área foliar aumenta a superfície receptora de luz. Portanto, em *R. echinata* evidencia-se a plasticidade da folha em resposta à intensidade luminosa, encontrando-se folhas mais amplas quando sombreadas pela vegetação ribeirinha.

Folhas de sombra coletadas em períodos de vazante e comparadas com aquelas de cheia mostraram diferenças na área foliar, não ocorrendo o mesmo com as folhas de sol (Tab. 1). Provavelmente, as folhas de sombra da vazante conseguiram uma maior expansão da lâmina foliar em virtude de não estarem submersas e/ou sujeitas à turbulência do rio. Por outro lado, o período de cheia contribui para uma renovação dos nutrientes do substrato, favorecendo o desenvolvimento foliar do período subsequente (vazante).

Os dados apresentados na Tab. 1., evidenciam que a variação encontrada na área foliar depende essencialmente da variação no comprimento da folha. Este fato é de grande importância para assegurar a estenofilia nas folhas de *R. echinata*. De acordo com Imaichi e Kato (1992), estenofilia é uma adaptação morfológica que reduz a probabilidade de rompimento das lâminas foliares em espécies de habitats reofíticos, onde há inundações de águas fortes e rápidas. Estes autores, estudando espécies reófitas e não-reófitas, observaram que quando as plantas estão submersas durante as cheias, as folhas das reófitas permanecem intactas, enquanto as de não-reófitas são destruídas por injúrias mecânicas.

5.1.3. ANATOMIA DA FOLHA

As folhas de *R. echinata* são dorsiventrais e hipoestomáticas. De acordo com Metcalfe & Chalk (1957), folhas dorsiventrais são comuns na família Rutaceae.

5.1.3.1.Epiderme

A epiderme de *R. echinata* é uniestratificada. As células epidérmicas, em vista frontal, apresentam-se com paredes anticlinais retas a sub-retas, nas duas faces (Figs. 8-11), sem mostrar distinções nos tratamentos (sol, sombra, vazante, cheia).

Os estômatos são estruturas essenciais aos processos fisiológicos da planta, sendo os locais de trocas de oxigênio e gás carbônico, para a respiração e a fotossíntese, e também os locais de difusão de vapores d'água na transpiração (Eames & MacDaniels 1947; Cutter, 1978; Romero-Aranda *et al.*, 1994; Dickison, 2000).

Em *R. echinata*, os estômatos (Figs. 10-17) estão restritos à face abaxial da lâmina foliar. Conforme Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1957), em Rutaceae, ocorrem vários tipos de estômatos, os quais podem possuir variáveis arranjos das células subsidiárias. Metcalfe & Chalk (1979) referem o tipo paracítico para os representantes de Rutaceae. Na espécie em estudo, embora não tenha sido investigada a ontogênese dos estômatos, percebe-se, em torno das células-guarda, células epidérmicas em número e formas variáveis, tratando-se, portanto, do tipo anomocítico (Figs. 10-11).

As células-guarda posicionam-se acima do nível das demais células epidérmicas (Figs. 12-13). Na literatura, é comum referência de estômatos elevados como característica hidromorfa (Napp-Zinn, 1984; Dickison, 2000). Entretanto, em *R. echinata* ocorre um evidente átrio externo, entre o poro e o ostíolo (Fig. 12, 16-17), em todos tratamentos. Esta característica usualmente tem sido associada ao xerofitismo, pois quando há limitação do suprimento hídrico, as plantas tendem a proteger a abertura estomática, aprofundando os estômatos e reduzindo a

transpiração (Eames & MacDaniels 1947; Fahn & Cutler 1992). A presença de um átrio externo ao ostíolo, como ocorre em *R. echinata*, também representa uma estratégia de redução das taxas de transpiração, pois há um microclima intermediário aos meios interno e externo. Portanto, essa espécie, que por vezes está parcialmente submersa e por vezes exposta à intensa irradiação solar, reúne características hidro e xeromorfas, como resposta às peculiaridades impostas pelo ambiente reofítico.

Dados morfométricos como densidade estomática, tamanho das células-guarda e do poro têm sido investigados por diversos autores, pois estes variam com as condições ambientais tais como umidade, temperatura e luz e estão relacionados com o equilíbrio das taxas de transpiração (Parkhurst, 1978; Muchow & Sinclair, 1989). A densidade estomática é altamente variável, dependendo do ambiente que a folha está durante a divisão e alongamento das células (Muchow & Sinclair, 1989).

O número médio de estômatos por unidade de área, em *R. echinata*, apresenta variação entre folhas de indivíduos submetidos a diferentes intensidades luminosas, porém apenas em períodos de cheia (Tab. 2). A densidade estomática é menor nas folhas de sombra em períodos de cheia, em relação aos demais tratamentos. De acordo com Malone *et al.* (1993), o aumento da densidade estomática com o aumento da intensidade de luz pode ser uma adaptação da planta para uma maior captação de CO₂. Cao (2000), analisando o efeito da luz em doze espécies lenhosas, constata que a densidade estomática aumenta em resposta a maior intensidade de luz. Duz *et al.* (2004) e Fermio Jr. *et al.* (2004) constatam um aumento da densidade estomática em plantas que crescem sob maior irradiação. Vieira (1995), estudando *Bauhinia radiata*, observa que, em folhas de sol, a densidade estomática é maior. O aumento da densidade estomática associada a

menor distância entre os estômatos reduz a transpiração (Larcher, 2000). O fato de que entre folhas de sol e de sombra, no período de vazante, na espécie em estudo, não ter mostrado diferenças, pode ser decorrente de que, apesar da distinção na exposição direta à luz solar, não pode ser descartada a incidência indireta resultante da reflexão dos raios solares pela superfície da água, mais límpida e calma. No período de cheia, as águas turbulentas e barrentas, reduzem ou mesmo não propiciam tal reflexão, hipótese que pode ser reforçada com a constatação da distinção entre folhas de sombra dos períodos de vazante e de cheia (Tab.2).

Tabela 2. Densidade estomática e dimensões das células-guarda e do poro estomático de folhas de sol e de sombra de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, nos períodos de vazante e cheia do rio.

	Vazante		Cheia	
	sol	sombra	sol	sombra
Densidade estomática (estômatos/mm ²)	240,0±38,00 b	262,2±55,65 b	256,3±38,15 b	198,5±39,98 a
Comprimento da célula-guarda (µm)	29,5±2,79 b	27,5±2,69 a	30,9±2,26 b	31,1±2,11 b
Largura da célula-guarda (µm)	9,9±1,59 b	8,5±1,97 a	9,6±1,53 ab	9,2±1,28 ab
Comprimento do poro estomático (µm)	14,3±2,22 ab	13,9±1,75 a	14,5±2,00 ab	15,5±1,68 b
Largura do poro estomático (µm)	8,2±1,54 b	7,0±1,59 a	9,4±2,06 c	9,4±1,53 c

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os estômatos mostram maiores dimensões nas folhas de sol comparadas com as de sombra, mas apenas no período de vazante (Tab. 2). Também se evidencia diferença significativa no comprimento das células-guarda em folhas de

sombra coletadas em diferentes períodos de regime de fluxo do rio (Tab. 2). Segundo Abrans *et al.* (1992), quando há aumento da intensidade luminosa no ambiente, a perda de água pode ser minimizada pela redução do tamanho das células-guarda. Vieira (1995), estudando a anatomia foliar de *Bauhinia radiata* Vell. em ambientes de sombra e de luz, constatam redução no tamanho dos estômatos. Duz (2001), estudando plantas crescendo em diferentes intensidades luminosas, registra para *B. australis* a diminuição do tamanho dos estômatos com o aumento de luminosidade. Fermino Jr. *et al.* (2004), estudando espécies arbóreas climácicas e pioneiras, constatam que o comprimento das células-guarda é maior em espécies de sombra (climácicas), porém a largura não reflete a incidência solar.

Os resultados obtidos para o comprimento do poro estomático indicam a influência do regime de fluxo do rio apenas em folhas de sombra, enquanto a largura é afetada tanto entre folhas de sol, quanto entre folhas de sombra (Tab. 2). Conforme Larcher (2000), o grau de abertura estomática altera-se com o desenvolvimento ontogenético da planta, ajustando-se continuamente às oscilações dos fatores ambientais. Esse mesmo autor ressalta que a causa para uma redução no grau de abertura estomática pode estar associada a uma redução da intensidade luminosa, ao ar seco, ao déficit hídrico e/ou às temperaturas extremas. Os resultados verificados em *R. echinata* indicam que, durante a ontogênese da estrutura estomática, há influências das condições de vazante-cheia, entretanto, estas estão associadas a outros fatores, tais como reflexão solar, teor de nutrientes do substrato, temperatura e umidade do ar.

Outra característica de fundamental importância na relação planta-ambiente, assegurando o equilíbrio hídrico interno, é a qualidade de impermeabilização e reflexão solar exercida pelo tecido de revestimento. De acordo com Holloway (1980),

a cutícula é uma membrana extracelular contínua, constituída de substâncias lipídicas, que recobre a superfície externa das partes aéreas protegendo-as do ambiente. A cutícula contribui para o controle de perda hídrica das células (Eames & MacDaniels 1947; Gutschick, 1999), desempenhando importante função na reflexão dos raios solares, protegendo os tecidos da excessiva radiação (Dickison, 2000). Depósitos de ceras epicuticulares, bem como ceras intracuticulares, juntamente com a cutícula, podem determinar a hidrofobia da superfície epidérmica (Mauseth, 1988). Cutícula espessa e densos depósitos de ceras epicuticulares foram características encontradas em pteridófitas reófitas, por Imaichi & Kato (1992) e Kato & Imaichi (1992b). Conforme estes autores, isto constitui importante adaptação ao hábitat que alterna dias de ampla exposição ao sol com dias de submergência, evitando excessiva transpiração ou repelindo a entrada de água, respectivamente. Imaichi e Kato (1992), comparando duas espécies de pteridófitas, *Osmunda lancea* (reófito) e *O. japonica* (não-reófito), constatam distinções na deposição de ceras epicuticulares, havendo um acúmulo tardio e de forma diferenciada na ontogênese da espécie reofítica.

A epiderme em *R. echinata* é delimitada externamente por uma delgada membrana cuticular (Fig. 12-13). Na análise ultra-estrutural da superfície da espécie em estudo raramente foram encontrados depósitos de ceras epicuticulares e, quando presentes, apresentavam-se bastante esparsos. Portanto, conforme dados da literatura, esta reófito parece mostrar-se pouco protegida, tanto para evitar desidratação em períodos de maior exposição (vazantes do rio), quanto para evitar absorção excessiva de água quando a planta pode ficar parcialmente submersa em períodos de cheias.

Entretanto, nas paredes periclinais internas e anticlinais das células epidérmicas de *R. echinata* há deposição de suberina, a qual deve ter um papel relevante na impermeabilização, isolando os tecidos mais internos durante as cheias do rio. Diversos trabalhos têm registrado a presença de suberina em paredes celulares desempenhando importante barreira ao fluxo apoplástico, como consequência de suas propriedades impermeabilizantes. Ryser (1992), estudando a epiderme de sementes de *Gossypium*, refere que a suberina, assim como as ceras, é hidrofóbica, e por essa razão, constitui uma barreira potencial no transporte de substâncias presentes nos espaços entre paredes de células vizinhas, havendo possibilidade de fluxo de assimilados apenas via simplasto, através de plasmodesmas. A presença destas lamelas suberizadas, interrompidas apenas onde se localizam os plasmodesmas, também tem sido registradas em células da bainha Kranz, sendo considerada como uma barreira ao fluxo apoplástico de CO₂ (Hattersley & Browning, 1981; Ueno, 1995; Santos, 2002).

Vistas frontais na superfície epidérmica das folhas de *R. echinata*, em MO, revelam intensa presença de campos primários de pontoações nas paredes anticlinais (Fig. 8-9, 11). Tal constatação corrobora com a hipótese de que a presença de suberina nas paredes das células epidérmicas deve ter função impermeabilizante. Wergin *et al.* (1975), estudando nectários foliares do algodoeiro, constata grande concentração de plasmodesmas em campos primários de pontoação, entre células floemáticas e secretoras, atribuindo a isto significativa funcionalidade no transporte simplástico dos açúcares. Investigações ultra-estruturais, em microscopia eletrônica de transmissão, das células epidérmicas de *R. echinata*, certamente revelariam a presença de plasmodesmas nos campos

primários de pontoação, os quais são fundamentais para possibilitar a via simplástica, assegurando a troca metabólica entre as células.

5.1.3.2. Mesofilo

R. echinata apresenta folhas dorsiventrais, com mesofilo constituído por parênquimas paliçádico e esponjoso (Figs. 18-21). O parênquima paliçádico, voltado para face adaxial, é formado por células estreitas e alongadas, justapostas, distribuídas em um estrato, exceto próximo à nervura mediana, quando tende à formação de um segundo estrato celular, cujas células são menos alongadas. O parênquima esponjoso, localizado na face abaxial da lâmina foliar, mostra amplos espaços intercelulares.

O parênquima paliçádico é mais espesso em folhas de sol do que em folhas de sombra, tanto no período de vazante quanto no período de cheia do rio, sendo mantida a espessura do parênquima esponjoso (Tab. 3). Este espessamento, em *R. echinata*, é resultante do alongamento das células paliçádicas, não ocorrendo aumento no número de estratos celulares. As folhas de hábitat sombreado possuem o tecido paliçádico menos desenvolvido que folhas de sol (Eames & MacDaniels 1947; Dickison, 2000). Fermino-Jr. (2004) ressalta que o parênquima paliçádico, em *Guapira opposita*, altera-se conforme o gradiente de luz, estando mais desenvolvido à medida que aumenta a luz. Provavelmente, *R. echinata* está respondendo ao fator luminosidade, apresentando maior desenvolvimento do parênquima paliçádico nas folhas de sol quando comparadas com as folhas de sombra, indo ao encontro das informações registradas na literatura. Além disto, o parênquima paliçádico é o responsável pela maior espessura de lâminas foliares mais expostas ao sol, em relação às de sombra, formadas no período de cheia (Tab. 3). Esau (1959) refere que a proporção dos tecidos esponjoso e paliçádico variam com o hábitat.

Características anatômicas contrastantes podem ser encontradas em folhas da mesma planta exposta a regimes luminosos diferentes (Taiz & Zeiger, 2004). Em *R. echinata* constata-se que a maior intensidade luminosa atua estimulando a plasticidade em apenas um dos tecidos clorofilados, ou seja, alongando as células do parênquima paliçádico. Porém, este mesmo fator abiótico também mostra relação na redução da espessura das células epidérmicas no período de vazante.

Tabela 3. Espessuras da lâmina e estruturas constituintes de folhas de sol e de sombra de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, nos períodos de vazante e cheia do rio.

	Vazante		Cheia	
	sol	sombra	sol	sombra
Lâmina foliar (μm)	247,0 \pm 23,97a	256,6 \pm 15,90ab	268,4 \pm 28,93b	246,9 \pm 23,34a
Mesofilo (μm)	212,1 \pm 23,52ab	215,6 \pm 14,82ab	227,0 \pm 30,81b	207,2 \pm 21,86a
Parênquima paliçádico (μm)	64,5 \pm 7,38b	57,1 \pm 7,26a	77,8 \pm 15,62c	64,6 \pm 9,11b
Parênquima esponjoso (μm)	147,6 \pm 21,08ab	158,5 \pm 16,95b	149,2 \pm 23,40ab	142,6 \pm 19,09a
Epiderme na face adaxial (μm)	20,6 \pm 2,63a	22,9 \pm 2,95b	22,9 \pm 3,81b	21,1 \pm 3,60ab
Epiderme na face abaxial (μm)	14,3 \pm 2,31a	18,1 \pm 2,30b	18,5 \pm 2,32b	18,64 \pm 2,68b

Nota: n=30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Folhas de sol de *R. echinata* mostraram-se mais espessas que as de sombra no período de cheia, bem como quando comparadas com folhas de sol do período de vazante (Tab. 3). Quando excluídas as espessuras da epiderme, verifica-se que a espessura total do mesofilo é afetada pela intensidade de exposição à luz,

porém não pelo regime de fluxo do rio. Vários trabalhos (Napp-Zinn, 1984; Mauseth, 1988; Syvertsen *et al.*, 1995; Lambers *et al.*, 1998; Dickison, 2000) mencionam que a maior exposição das folhas à luz eleva a espessura da lâmina foliar e do mesofilo. Entretanto, os dados obtidos para *R. echinata* apontam para importância de considerar-se as espessuras dos diferentes tecidos constituintes da lâmina foliar, pois quando somados podem não refletir os efeitos ambientais (sol-sombra ou vazante-cheia).

Os dados referentes às espessuras do parênquima paliçádico apontam para influência dos fatores ambientais relativos aos períodos de vazante e de cheia sobre o desenvolvimento deste tecido do mesofilo, quando comparadas folhas mais expostas ao sol ou mais protegidas pela vegetação circundante, determinando um alongamento das células no período de cheia (Tab. 3). Porém, somente as folhas de sombra tiveram o parênquima esponjoso afetado pelo regime de fluxo do rio, mostrando menor espessura no período de cheia (Tab. 3). Portanto, o maior espessamento do parênquima paliçádico, associado ao aumento da espessura da epiderme e manutenção da espessura do parênquima esponjoso, conduziram a um aumento da espessura da lâmina nas folhas coletadas em período de cheia, relativamente àquelas do período de vazante. Porém, apesar da influência do fluxo do rio sobre a espessura dos tecidos parenquimáticos em folhas de sombra, isto não é evidenciado nos dados referentes à espessura total da lâmina foliar, exatamente porque nas cheias há aumento na espessura do paliçádico e redução do esponjoso (Tab. 3).

Grande quantidade de grãos de amido (Fig. 25) é observada nas células do parênquima esponjoso. O amido está associado com a pressão osmótica em células-guarda, como comentam Taiz & Zeiger (2004), nestas a hidrólise do amido

em açúcares solúveis causa um decréscimo no potencial osmótico, aumentando a pressão osmótica das células-guarda; no processo inverso, a síntese do amido reduz a concentração de açúcares, resultando no aumento do potencial osmótico da célula. Como *R. echinata* está sujeita à variação das condições ambientais, é possível que esta elevada concentração de amido tenha importância, não só nas atividades metabólicas, propiciando fonte de energia, mas também se relacione com a manutenção do potencial hídrico das células.

No mesofilo ocorrem cavidades (Figs. 18-20, 22-23) delimitadas por células secretoras. A reação positiva com Sudan IV revelou que estas estruturas secretam óleos. A presença de cavidades secretoras é referida na literatura como manchas translúcidas em folhas de espécies de Rutaceae (Solereeder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1957). Vistas frontais da superfície epidérmica de *R. echinata*, possibilitam evidenciar a presença sub-adjacente das cavidades secretoras, mostrando ausência de estômatos e distinta conformação das células epidérmicas (Fig. 24); a transparência é favorecida pela redução da altura destas células epidérmicas (Fig. 19).

Cristais encontram-se fartamente distribuídos em idioblastos do mesofilo (Figs. 20, 25-26). Solereeder (1908) e Metcalfe & Chalk (1957) mencionam a presença de cristais agrupados no mesofilo de numerosas espécies de Rutaceae. Microanálises químicas, com energia dispersiva de raio-X, em Microscópio Eletrônico de Varredura, revelaram que estes cristais, em *R. echinata*, contêm grande quantidade de fósforo e cálcio, sendo que o primeiro sempre apresenta percentagens relativas similares ao segundo, como se verifica no exemplo apresentado no espectro e na tabela da Figura 27. Usualmente, as plantas apresentam cristais cuja natureza química é oxalato de cálcio, porém outros sais de

cálcio podem ser encontrados (Metcalf & Chalk, 1983). Raramente a literatura menciona a presença de fosfato de cálcio na forma cristalina, como feito por Arnott & Pautard (1970, *apud* Macnish *et al.*, 2003). Conforme Taiz & Zeiger (2004) íons fosfatos são absorvidos pelas raízes e incorporados em uma variedade de compostos orgânicos, incluindo açúcares, fosfatos, fosfolipídios e nucleotídeos. Segundo estes autores, o fósforo está diretamente relacionado ao armazenamento de energia e integridade estrutural, principalmente das membranas vegetais. Assim, o fósforo é um elemento essencial ao crescimento e desenvolvimento das plantas sendo exigido em quantidades relativamente pequenas, porém à medida que vai sendo aproveitado pela planta necessita ser repostado (Mello *et al.*, 1989). Os cristais de *R. echinata* podem estar associados à manutenção dos processos fisiológicos vitais, durante os períodos de cheia, bem como com a disponibilização de reserva extra para períodos pós-cheias, quando as atividades metabólicas devem ser mais intensas, de modo a assegurar os processos reprodutivos em períodos favoráveis. Por outro lado, as substâncias constituintes destes cristais, presentes em grande quantidade na planta, podem ter interesse medicinal. Extratos de *R. echinata* têm apresentado bons resultados na inibição de formas do *Trypanosoma cruzi*, visando o tratamento da Doença de Chagas (Biavatti, 2001). Os princípios ativos podem não ter relação com as estruturas aqui registradas, porém a detecção destas aponta para necessidade de investigações em outras áreas de estudos.

5.1.3.3. Nervura mediana

A nervura mediana de *R. echinata*, em secção transversal (Figs. 28-31), apresenta-se convexa na face abaxial e quase plana na face adaxial. O sistema vascular está constituído por dois feixes vasculares colaterais, um maior, em forma de ferradura, com xilema e floema bastante desenvolvidos, apresentando o floema

voltado para face abaxial, e outro feixe menor em disposição inversa ao primeiro, isto é, com floema voltado para face adaxial (Figs. 29-31). Cordões de fibras delimitam externamente o floema, mais amplamente na face abaxial (Figs. 28-31). Entre o xilema e floema observa-se freqüentemente a presença de câmbio vascular, caracterizando a formação de elementos vasculares secundários, aspecto reforçado pela típica disposição radiada dos elementos do xilema (Fig. 31). Na literatura há registros da presença de faixa cambial em folhas de algumas outras espécies vegetais, como, por exemplo, no gênero *Ocotea* (Santos, 1986).

As células epidérmicas reduzem de tamanho na face abaxial e apresentam a superfície crenada (Figs. 30-31). Sob a epiderme ocorre colênquima angular, limitado a um ou dois estratos celulares na face adaxial (Figs. 29-30) e mais desenvolvido na face abaxial (Figs. 30-31). O clorênquima é contínuo com o mesofilo, na face adaxial, sendo que apenas nas folhas de sol mantém-se em paliçada, porém com células mais curtas (Figs. 29-30). Poucas células parenquimáticas aclorofiladas ocorrem entre este clorênquima e as fibras floemáticas. Porém, na face abaxial, há maior número de células aclorofiladas, com evidentes espaços intercelulares esquizógenos; muitas destas células apresentam-se colapsadas (Fig. 30) ou mesmo ausentes, dando lugar a espaços intercelulares lisíginos. Este aspecto pode ter relevância quando a folha estiver submersa durante períodos de cheia do rio, pois assegurariam uma reserva de ar, funcionando como um aerênquima amplamente referido na literatura para hidrófitas (Eames & MacDaniels 1947; Metcalfe & Chalk 1957; Napp-Zinn 1984; Mauseth, 1988). Diversas investigações têm demonstrado que a ocorrência de morte celular nos vegetais pode tratar-se não de mera necrose passiva, mas de um processo de apoptose, ou seja, uma morte celular programada por processos ativos (Drew *et al.*,

2000a e 2000b; Kim *et al.*, 2000). Assim, em *R. echinata* o parênquima aclorofilado estaria sujeito ao processo de apoptose, resultando na formação de lacunas intercelulares na nervura mediana, as quais podem, então, funcionar como reservatórios de ar, fato que pode ser vantajoso caso as folhas estejam submersas em períodos de cheia.

Na região da nervura central também são encontrados as cavidades secretoras e os cristais, como descritos no mesofilo.

5.1.3.4. Bordo

As características histológicas do bordo foliar de *R. echinata* assemelham-se ao mesofilo, distinguindo-se apenas pela presença de um estrato de células aclorofiladas colenquimáticas (Figs. 32-33).

5.1.3.5. Pecíolo

O pecíolo, em *R. echinata*, apresenta-se com a face adaxial plana, melhor evidenciado em secção transversal (Fig. 34). A epiderme é uniestratificada, com presença, na face adaxial, de tricomas unicelulares pontiagudos (Fig. 35). Sob a epiderme ocorre colênquima anelar, seguido de parênquima aclorofilado até o sistema vascular. O sistema vascular, como descrito para nervura mediana, está constituído por dois feixes vasculares colaterais, em disposição oposta, separados por poucas células parenquimáticas, não caracterizando, portanto, um feixe anficrival. No córtex destaca-se a grande quantidade de cavidades secretoras e cristais, com idênticas características às descritas anteriormente.

Fig. 4. Rio Itajaí-Açú, em Apiúna, localidade de São Pedro, em período de cheia. Seta indica a vegetação marginal, constituída por reófitas, entre elas *Raulinoa echinata* R.S.Cowan.

Fig.6. *Raulinoa echinata* R.S.Cowan evidenciando os ramos flexuosos (seta).

Fig. 5. *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, ocorrente nas margens do Rio Itajaí-Açú, destacando a presença de espinhos (setas).

Fig. 7. Ramo de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, com destaque às folhas estreitas e alongadas e ápice retuso (seta).

Figs. 8-9. Secções paradérmicas da epiderme na face adaxial de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de cheia, vistas em MO. **Fig. 8.** Folha de sol. **Fig. 9.** Folha de sombra. Cabeças de seta indicam campos primários de pontoação. Barras: 50 µm.

Figs. 10-11. Secções paradérmicas da epiderme na face abaxial de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, vistas em MO, evidenciando estômatos (setas) e campos primários de pontoação (cabeças de setas). **Fig. 10.** Folha de sol. **Fig. 11.** Folha de sombra. Barras: 50 µm.

Figs. 12-13. Secções transversais de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, evidenciando, em MO, as células-guarda localizadas acima do nível das células vizinhas. **Fig. 12.** Folha de sol, secção transverso-mediana do estômato. **Fig. 13.** Folha de sombra, secção transverso-polar do estômato. Barras: 10 µm. Legenda: ce-célula epidérmica; cg-célula-guarda; cse-câmara sub-estomática; mc-membrana cuticular; p-poro.

Figs. 14-17. Vistas frontais da epiderme na face abaxial de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, em MEV. **Figs. 14 e 16.** Folhas de sol. **Figs. 15 e 17.** Folhas de sombra. **Figs. 14-15.** Aspecto geral da superfície com os estômatos. Barras: 100 µm. **Figs. 16-17.** Detalhe da estrutura estomática. Barras: 10 µm. Legenda: cs-cavidade secretora; o-ostíolo; p-poro.

Figs. 18-21. Secções transversais da lâmina foliar de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan, em MO, coradas com safranina/fast-green. **Fig. 18-19.** Período de vazante. **Fig. 20-21.** Período de cheia. **Figs. 18 e 20.** Folhas de sol. **Figs. 19 e 21.** Folhas de sombra. Barras: 50 μm . Legenda: cr–cristais; cs–cavidade secretora; fab–face abaxial; fad–face adaxial; pp–parênquima paliçádico; pe–parênquima esponjoso.

Figs. 22-23. Cavidade secretora no mesofilo de *Raulinoa echinata* R. S. Cowan, do período de vazante. **Fig. 22.** Imagem em MEV. **Fig. 23.** Representação esquemática. **Fig. 24.** Representação esquemática da superfície epidérmica em área correspondente a mesma estrutura secretora da Figura 23. Note a conformação das células epidérmicas, com evidentes campos primários de pontoação nas paredes anticlinais (seta). Barras: 50 µm. Legenda: cs-cavidade secretora; e-estômato; pe-parênquima esponjoso.

Figs. 25–26. Detalhes do mesofilo de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan, do período de vazante, destacando a presença de cristais, em MEV. **Fig. 25.** Folha de sol. Barra: 100 μ m. **Fig. 26.** Folha de sombra. Barra: 50 μ m. Legenda: a-amido; cr-cristais.

Fig. 27. Espectro da microanálise química, em EDX/MEV, referente aos cristais observados na Figura 25, com correspondente tabela especificando a quantificação proporcional dos elementos químicos detectados.

Figs. 29-31. Secções transversais de nervuras medianas de folhas de *Raulinoa echinata* R.S. Cowan. **Fig. 28.** Imagem em MEV. Barra: 200µm. **Figs. 29-30.** Fotomicrografias em MO, coradas com safranina/fast-green. **Figs. 28-30.** Período de vazante. **Fig. 31.** Período de cheia. **Figs. 29 e 31.** Folhas de sol. **Fig. 30.** Folha de sombra. Barras: 50 µm-

. Legenda: co-colênquima; fi-fibras; fab-face abaxial fad-face adaxial; fl-floema; pac-parênquima aclorofilado colapsado; x-vilema

Figs. 32-33. Secções transversais de bordo de folhas de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan do período de vazante. **Fig. 32.** Imagem em MEV. Barra: 100 µm. **Fig. 33.** Fotomicrografia em MO, secção corada com safranina/fast-green. Barra: 50µm. Legenda: cs-cavidade secretora; cr-cristais; sv-sistema vascular.

Figs. 34-35. Secções transversais de pecíolo de *Raulinoa echinata* R.S.Cowan. **Fig. 34.** Em MO, corado com safranina-fast-green, do período de cheia. **Fig. 35.** Face adaxial em MEV, do período de vazante. Barras: 50µm. Legenda: cs-cavidade secretora; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; t-tricomas; x-xilema.

5.2. *Sebastiania schottiana* (MÜLL. ARG.) MÜLL. ARG.

5.2.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ESPÉCIE

Sebastiania schottiana (Fig. 36-39) é uma reófito encontrada ao longo das margens encachoeiradas de rios de corredeiras, compondo a vegetação ribeirinha. Klein (1980) refere que é a espécie mais importante na vegetação que acompanha as margens dos rios do Vale do Itajaí, em quase toda sua extensão, predominando na maior parte dos agrupamentos, bem como apresentando distribuição mais uniforme em toda a região. Alguns indivíduos ocorrem em ilhas rochosas no leito do rio, ficando parcialmente submersos, nos períodos de cheia, e expostos à intensa irradiação, nos períodos de vazante. A arquitetura dos ramos e disposição das folhas não confere autosombreamento e não são sombreados pela vegetação vizinha.

Esta espécie possui características morfológicas típicas de reófitas, tais como: ramos flexíveis (Fig. 37-38); folhas estreitas e longas (Fig. 39). Tais características têm sido mencionadas na literatura (Van Steenis, 1981 e Smith *et al.*, 1988) como de grande importância para sobrevivência de determinadas espécies mediante as adversidades encontradas no ambiente reofítico. Durante as enxurradas, a flexibilidade evita a quebra dos ramos e a estenofilia favorece o deslizar da água sobre a lâmina, evitando seu rompimento. Van Steenis (1987) comenta que *S. schottiana* perde suas folhas durante as cheias, no presente estudo foi observado que isto pode ocorrer, porém muitas folhas permanecem, mesmo após fortes enxurradas.

5.2.2. MORFOLOGIA FOLIAR

Smith *et al.* (1988) classificaram as folhas de *S. schottiana* como: sub-coriáceas, subespatuladas, obtusas ou subobtusas, inteiras, longo-estreitadas na

base. De acordo com os termos propostos por Hickey (1979) para descrição da arquitetura foliar, as folhas desta espécie são: simples, simétricas, oblongas, ápice obtuso, por vezes mucronado, com base aguda, margem lisa e textura cartácea.

5.2.2.1. Área e índice foliar

As folhas de *S. schottiana* apresentam área foliar de 1,2 a 1,7 cm², variando com o período de fluxo do rio, sendo maior no período de vazante (Tab. 4). Possivelmente, quando a planta está sujeita ao estresse determinado pela submersão parcial, em períodos de cheias, as folhas podem ter sua expansão reduzida ou mesmo interrompida. Em período imediatamente após as cheias, constata-se a presença de muitas folhas jovens em fase de expansão nos ápices dos ramos. Isto aponta para o fato de que, durante o período de vazante, condição oposta a primeira (cheia), a folha deve ter um crescimento acelerado, conduzindo a uma maior expansão da lâmina foliar. Tal evidência vem ao encontro às constatações referidas por Van Steenis (1981) de que as reófitas devem ter rápido desenvolvimento durante os períodos favoráveis.

As folhas de *S. schottiana* variam de 3,3 a 3,6 cm de comprimento e 0,6 a 0,7 cm de largura (Tab. 4). Smith *et al.* (1988) mencionam que as folhas desta espécie têm 1-4 cm de comprimento e 0,35-0,8 cm de largura, portanto dimensões com maior amplitude de variação do que as encontradas no presente estudo. Os autores não referem se foram consideradas, como na atual investigação, apenas folhas totalmente expandidas, assim talvez a inclusão de folhas jovens possa ter ampliado a variação.

Tabela 4. Área, dimensões (comprimento e largura) e índice de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.

Tratamento	Vazante	Cheia
------------	---------	-------

Área foliar (cm ²)	1,70 ± 0,29 a	1,23 ± 0,33 b
Índice Foliar	4,92 ± 0,40 a	5,02 ± 1,07 a
Comprimento (cm)	3,29 ± 0,33 a	3,60 ± 0,39 b
Largura (cm)	0,67 ± 0,07 a	0,59 ± 0,09 b

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

Entre as folhas analisadas constata-se maior comprimento naquelas de período de cheia do rio, porém maior largura nas de período de vazante (Tab. 4).

Apesar das variações observadas nas dimensões, comprimento e largura da lâmina foliar de *S. schottiana*, em diferentes condições do fluxo do rio, o índice foliar mantém-se (Tab. 4). Os dados confirmam a acentuada estenofilia, característica esta de grande relevância para as reófitas, pois permite um deslizamento da água sobre a lâmina foliar, nos períodos de cheia, sem rompê-la.

5.2.3. ANATOMIA DA FOLHA

As folhas de *S. schottiana* são dorsiventrais e hipoestomáticas, características que, conforme Metcalfe & Chalk (1957), são comumente encontradas em folhas dos representantes de Euphorbiaceae.

5.2.3.1. Epiderme

A folha de *S. schottiana* apresenta epiderme uniestratificada (Figs. 40-44).

Em vista frontal, as células epidérmicas de *S. schottiana* exibem paredes anticlinais quase retas, em ambas as faces (Figs. 45-47). De acordo com Metcalfe & Chalk (1957), a família Euphorbiaceae apresenta a epiderme consistindo de células com paredes anticlinais retas ou sinuosas. Diversas pesquisas têm demonstrado a

variação intraespecífica das características da epiderme, com tendência ao aumento de sinuosidade sob condições de menor irradiação solar (Napp-Zinn, 1984), também espécies mais exposta ao sol podem ter paredes mais retas e aquelas mais sombreadas mostram paredes mais sinuosas (Machado & Santos, 2004). Como esta espécie mantém todas folhas expostas ao sol, os resultados conferem com a literatura, quer quanto às características da família, quer relativas à luminosidade.

A parede periclinal externa das células epidérmicas das folhas de *S. schottiana* apresenta-se usualmente convexa (Figs. 40-44 e 48). A convexidade das células epidérmicas têm sido mencionada na literatura como adaptação à maior captação de luz por plantas onde a incidência luminosa é reduzida. Haberlandt (1928) sugere que as folhas podem usar a epiderme como mecanismo de direcionamento de luz. A epiderme é transparente à luz visível e suas células são freqüentemente convexas (Taiz & Zeiger, 2004), podendo atuar como lentes, cujas propriedades de condução da luz podem afetar o desempenho fotossintético (Vogelmann *et. al.*, 1996). Considerando que a espécie em estudo, pelo menos em períodos de vazante, teria razões contrárias ao referido por estes autores, ou seja, deveria reduzir a intensidade luminosa. Portanto, esta característica deve estar associada a outras, como a esculturação da superfície, de modo a corroborar funcionalmente na adaptação às condições do meio ou tratar-se de aspecto com função “em suspenso”. Conforme Dickison (2000), as adaptações das estruturas vegetais promovem o bem-estar à planta no hábitat, porém, em alguns casos, o significado funcional de uma característica estrutural particular não é conhecido e pode estar suspenso.

Na superfície das folhas de *S. schottiana* evidencia-se uma camada cuticular (Fig. 40), porém destaca-se a elaborada esculturação, determinada pela presença

de ceras epicuticulares (Figs. 42, 44, 45-46, 48-50). Cutícula espessa, bem como os depósitos de ceras epicuticulares auxiliam na reflexão do excesso de irradiação solar, impermeabilizando a epiderme de modo a reduzir a perda hídrica interna e também exercendo controle sobre a quantidade de luz que segue para o interior da folha (Fahn, 1978; Reed & Tukey, 1981; Gutschick, 1999; Dickison, 2000). Kato & Imaichi (1992a) e Imaichi e Kato (1992), estudando pteridófitas reófitas comparadas com outras de terras secas, registram densos depósitos de ceras epicuticulares e uma cutícula bastante espessa em reófitas. Os autores salientam que estas características conferem melhor tolerância à seca ou à repulsão hídrica, dependendo de quando estão expostas ao ar, em dias ensolarados, ou submersas, na turbulência do rio.

As ceras epicuticulares observadas em *S. schottiana* mostram esculturas distintas nas duas faces da lâmina foliar. Para a família Euphorbiaceae são referidas estriações cuticulares na epiderme (Metcalf & Chalk, 1957). Na face adaxial, em *S. schottiana*, os depósitos de ceras podem ser erroneamente interpretados como rugosidades da superfície cuticular, quando observados em microscopia óptica (Fig. 45). Entretanto, imagens em microscopia eletrônica de varredura (Fig. 48) deixam evidente que se tratam de acúmulos de ceras sobre a superfície epidérmica. A deposição de ceras mostra uma configuração bem mais complexa e mais intensa na face abaxial (Figs. 46, 49 e 50), em relação à adaxial.

Barthlott (1990) esclarece alguns aspectos da multifuncionalidade das microesculturas observadas na superfície das células epidérmicas, relativas aos aspectos ecológicos, incluindo estriações e deposições de ceras epicuticulares. O autor destaca que a superfície esculturada hidrofóbica mostra habilidades de: repelir água; evitar aderência de partículas sólidas que são lixiviadas com a água ou o

vento (efeito anti-contaminante); refletir a irradiação solar; aumentar a turbulência das correntes de ar sobre a superfície foliar, facilitando o resfriamento interno. Portanto, a esculturação das ceras epicuticulares em *S. schottiana* parece ser de grande valia para adaptação desta espécie ao hábitat reofítico. Há necessidade de repelir a água e evitar aderência de partículas suspensas durante as enxurradas. Por outro lado, em períodos de vazante a irradiação solar torna-se mais intensa, devendo ser refletida, o que reduz o excesso de luz e calor que chega ao interior da folha. O intenso calor, ao qual as plantas estão submetidas neste período, também deve ser amenizado pelo resfriamento determinado pela turbulência das correntes de ar sobre a irregularidade das microesculturas conferido pelas ceras epicuticulares presentes em *S. schottiana*.

Nas paredes periclinais internas das células epidérmicas de *S. schottiana* há uma fina camada de suberina, a qual deve contribuir com a impermeabilização interna durante as cheias do rio. A suberina atua como barreira química ao fluxo apoplástico, de modo a direcionar o fluxo de assimilados através de plasmodesmos (Ryser, 1992; Hattersley & Browning, 1981; Ueno, 1995; Santos, 2002).

Entre as características epidérmicas que merecem especial atenção na relação planta-ambiente ainda destacam-se os estômatos. Estas estruturas asseguram as necessidades fisiológicas essenciais à sobrevivência da planta, tais como trocas gasosas, para a respiração e a fotossíntese, e difusão de vapores d'água, para ascensão da seiva (Eames & MacDaniels 1947; Cutter, 1978; Romero-Aranda *et al.*, 1994; Dickison, 2000).

Nas folhas de *S. schottiana* os estômatos estão restritos à face abaxial, e as células-guarda estão localizadas no mesmo nível das demais células epidérmicas, embora mostrem uma cavidade externa ao poro, determinada pelo reduzido

tamanho das células-guarda e forma papilosa das células subsidiárias (Fig. 44). Estômatos posicionados na face abaxial da lâmina foliar, bem como aprofundados e/ou constituindo depressões da superfície através de papilas ou outras ornamentações cuticulares podem favorecer a redução da perda hídrica durante a abertura estomática em ambientes xéricos (Wilkinson, 1979; Napp-Zinn, 1984; Fahn & Cutler, 1992; Dickison, 2000; Larcher, 2000). A epiderme da folha de *S. schottiana* está diretamente exposta ao sol durante a vazante, assim as características estruturais dos estômatos devem favorecer a adaptação dessa planta às peculiaridades do hábitat reofítico.

Solereeder (1908) e Metcalfe & Chalk (1957) referem que em Euphorbiaceae ocorrem vários tipos de estômatos; Wilkinson (1979) menciona os tipos anomocítico, paracítico, anisocítico e paralelocítico para os representantes da família. Os estômatos de *S. schottiana* são paracíticos, entretanto a intensa deposição de ceras epicuticulares na área estomática, deixando aparente apenas pouco mais que o poro estomático (Fig. 49), dificulta a definição estrutural, mesmo em microscopia óptica (Fig. 46-47), fato este observado em amostras de ambos tratamentos.

As condições de fluxo do rio influenciam na quantidade de estômatos por área da folha, bem como nas dimensões destas estruturas. A densidade estomática e a largura das células-guarda em *S. schottiana* (Tab. 5) mostram-se maiores no período de cheia em relação à vazante do rio; as dimensões do poro estomático mantêm-se.

Tabela 5. Densidade estomática e dimensões das células-guarda e do poro estomático de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.

Tratamento	Vazante	Cheia
------------	---------	-------

Densidade estomática (n° de estômatos/mm²)	280,00 ± 42,32 b	318,62 ± 78,37 a
Comprimento da célula-guarda (µm)	21,27 ± 1,96 a	21,90 ± 2,41 a
Largura da célula-guarda (µm)	4,51 ± 0,93 b	5,30 ± 0,96 a
Comprimento do poro estomático (µm)	12,00 ± 1,98 a	12,00 ± 2,13 a
Largura do poro estomático (µm)	3,68 ± 0,82 a	3,97 ± 1,00 a

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

A densidade estomática é influenciada pelas condições ambientais (Esau, 1976; Murtaza & Paul, 1989), sendo fixada durante os estádios iniciais do desenvolvimento da folha (Paoletti & Gellini, 1993). Diversos estudos têm demonstrado que o aumento da intensidade luminosa determina aumento na densidade estomática (Allard *et al.* 1991; Abrans *et al.* 1992; Ashton & Berlyn, 1994; Vieira, 1995; Lee *et al.* 1997; Duz *et al.* 2004). A maior largura das células-guarda, deixando os estômatos com forma mais circular, também têm sido atribuída à maior exposição solar, como referido por Wilkinson (1979). Na espécie em estudo observa-se redução da densidade estomática justamente quando as plantas estão mais expostas à irradiação solar, ou seja, no período de vazante. Voleníková & Tichá (2001) constatam que as condições nutricionais do meio afetaram mais a densidade estomática do que a irradiação luminosa. Talvez a densidade estomática, bem como a largura dos estômatos, em *S. schottiana*, tenha sido influenciada mais intensamente por condições nutricionais do que pela irradiação solar. Cabe ressaltar que as coletas de folhas de *S. schottiana*, consideradas como do período de cheia, sempre foram feitas quando o nível do rio já estava baixando, tornando-se acessível tal evento. Este também deve ser o período de desenvolvimento das folhas, o qual

deve ser rápido pela necessidade de aumentar as atividades metabólicas, favorecidas pelo suprimento nutricional propiciado pela turbulência durante as cheias do rio. Van Steenis (1981) menciona a rapidez no crescimento das reófitas em períodos favoráveis.

5.2.3.2. Mesofilo

O mesofilo de *S. schottiana* é formado por parênquimas paliçádico e esponjoso (Figs. 40-42). Na face adaxial, ocorre um típico parênquima paliçádico formado por células estreitas e alongadas, bastante justapostas e distribuídas em um único estrato. Sob a epiderme, na face abaxial, também ocorrem células em paliçada, porém alongando-se somente cerca de um terço da altura do parênquima paliçádico adaxial; as células estão dispostas mais frouxamente, por vezes com alguns espaços intercelulares, razão que aproxima este tecido das características do parênquima esponjoso. O parênquima esponjoso é formado por células de tamanho e forma irregulares, com poucos espaços intercelulares. Metcalfe & Chalk (1957) refere que o mesofilo nos representantes de Euphorbiaceae está constituído por um parênquima paliçádico, com um a dois estratos celulares, e parênquima esponjoso.

As espessuras da lâmina foliar de *S. schottiana* e dos tecidos constituintes do mesofilo (Tab. 6) não são afetados pela variação do fluxo do rio (vazante e cheia). O aumento na espessura da epiderme, na face abaxial, em folhas do período de vazante não chega a afetar a espessura total da lâmina foliar (Tab. 6), embora, provavelmente, desempenhe o papel de reduzir a penetração da irradiação solar refletida pela superfície da água e/ou rochas onde a planta está enraizada, protegendo assim os tecidos do mesofilo.

Tabela 6. Espessuras da lâmina e estruturas constituintes de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia do rio.

Tratamento	Vazante	Cheia
Lâmina foliar (μm)	167,18 \pm 20,83 a	169,14 \pm 13,07 a
Mesofilo (μm)	141,04 \pm 19,55 a	143,25 \pm 12,38 a
Parênquima paliçádico adaxial (μm)	80,91 \pm 10,15 a	82,98 \pm 8,19 a
Parênquima esponjoso + parênquima paliçádico abaxial (μm)	60,13 \pm 12,61 a	60,27 \pm 14,09 a
Epiderme - face adaxial (μm)	12,69 \pm 2,64 a	13,85 \pm 2,27 a
Epiderme - face abaxial (μm)	13,46 \pm 1,44 a	12,04 \pm 1,64 b

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

Nas folhas de *S. schottiana* encontram-se laticíferos do tipo articulado anastomosado (Figs. 41-42). Estas estruturas secretoras seguem entre as células parenquimáticas do mesofilo em várias direções, dificultando muitas vezes compreender a configuração tridimensional, fato facilitado pelo acompanhamento de diversas secções seriadas. Metcalfe & Chalk (1957) ao referir a presença de laticíferos na família Euphorbiaceae, citam vários gêneros, entre estes *Sebastiania*. Solereder (1908) refere que os laticíferos livres no mesofilo algumas vezes se estendem até a epiderme, fato que pode ser constatado em *S. schottiana* (Figs. 41-42). Laticíferos articulados são característicos de Euphorbiaceae (Fahn, 1978). Fahn (1978 e 1979) classifica os laticíferos como sendo do tipo células laticíferas (laticíferos não-articulados) ou vasos laticíferos (laticíferos articulados, constituídos por células interligadas), ambos podendo apresentar-se ramificados ou não. Quando os laticíferos articulados ramificam-se, o autor usa o termo anastomosado. O autor cita gêneros de Euphorbiaceae entre os exemplos dos tipos não-articulados

ramificado e articulado anastomosado, por onde circula o látex. Haberlandt (1928) e Fahn (1979) citam a presença de partículas constituídas de óleos, taninos, cristalóides protéicos e grãos de amido, suspensas no látex. Nos laticíferos de *S. schottiana* constatou-se a presença de óleos entre outras substâncias. Com relação ao látex, secreção presente nestas estruturas, Fahn (1978, 1979) relata diversas funções atribuídas na literatura, entre elas regular o balanço hídrico e o transporte de oxigênio, mas destaca proteção a herbivoria e aos microorganismos.

5.2.3.3. Nervura Mediana

A nervura mediana da folha de *S. schottiana* apresenta-se convexa em ambas as faces (Fig. 51-52). Sob a epiderme, observa-se colênquima, do tipo anelar (Figs. 51-53). O sistema vascular é constituído por um feixe vascular, do tipo colateral (Figs. 51-52), delimitado adaxial e abaxialmente por fibras gelatinosas (Figs. 51-52 e 54-55).

As fibras gelatinosas caracterizam-se por apresentar parede celular não lignificada na camada mais interna, denominada camada G (Tomlinson, 2003; Yamamoto, 2004; Clair *et al.*, 2005; Tomlinson & Fisher, 2005; Yamamoto *et al.*, 2005), tal como observado em *S. schottiana* (Fig. 55). Conforme estes autores, a camada G é constituída por alto grau de celulose, determinando a relevância funcional das fibras em resistir às tensões. Clair *et al.* (2005) ressalta que a composição química e a estrutura é que dão as propriedades macroscópicas de resistência à tensão. Yamamoto (2004) e Yamamoto *et al.* (2005) constatam que as propriedades físicas da camada G estão relacionadas com plantas que crescem sob grande estresse de tensão. Em *S. schottiana* as fibras gelatinosas devem exercer

importante função mecânica na manutenção estrutural da folha durante os períodos de turbulência do rio.

Contornando o feixe vascular e as fibras que o acompanham, ocorre uma bainha de células parenquimáticas aclorofiladas (Figs. 51-52), onde são encontrados cristais (Fig. 54) constituídos de oxalato de cálcio. Metcalfe & Chalk (1957) referem à presença de bainha parênquimática em algumas espécies de Euphorbiaceae. Esses autores mencionam ainda, que cristais em formas solitárias ou agrupadas podem ocorrer em folhas de representantes da família.

Haberland (1928) menciona a presença de traqueídes terminais em *Sebastiania*. Em *S. schottiana* constatou-se a presença de elementos traqueais, constituídos por elementos de vaso curtos e ramificados, nas terminações de nervuras.

5.2.3.4. Bordo

As características histológicas do bordo das folhas de *S. schottiana* assemelham-se àquelas descritas para o mesofilo, distinguindo-se apenas pela presença de poucas células colenquimáticas subepidérmicas (Figs. 56-57).

5.2.3.5. Pecíolo

No pecíolo de *S. schottiana* (Fig. 58-59), sob a epiderme, ocorre cerca de três estratos de colênquima, seguidos por parênquima colenquimatoso, cujas células são mais ou menos isodiamétricas e de paredes espessadas. Neste parênquima ocorrem alguns espaços intercelulares esquizógenos, porém a característica mais marcante é a presença de grandes cristais (Fig. 59), constituídos de oxalato de cálcio, os quais também estão presentes no parênquima floemático. O sistema vascular (Fig. 58) está constituído por um feixe vascular, amplo e central,

ladeado por dois menores, os quais por vezes estão quase fusionados ao principal. Contornando o sistema vascular ocorrem fibras de paredes pouco espessadas e provavelmente não lignificadas, tendo em vista que não evidenciaram reações positivas como constatado nos elementos de vaso, tanto no pecíolo quanto na nervura mediana, e nas fibras gelatinosas presentes nas nervuras. Latíciferos estão presentes principalmente na porção mais interna do córtex, aproximando-se das fibras que contornam o sistema vascular.

Figs. 36-39. *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 36.** Indivíduos desta espécie (seta), em ilhas rochosas no leito do Rio Itajaí do Norte, associados a *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. **Figs. 36-37.** Período de vazante. **Fig. 38.** Período de cheia. **Fig. 39.** Ramo evidenciando a estenofilia (seta).

Figs. 40-42. Secções transversais de mesofilo de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 40.** Período de cheia; secção corada com azul de astra/fucsina básica. **Figs. 41-42.** Período de vazante, secções seqüenciais coradas com safranina/fast-green, destacando os laticíferos articulados anastomosados. Barras: 50 µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; la-laticífero; mc-membrana cuticular; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico.

Figs. 43-44. Secções transversais de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 43.** Epiderme na face adaxial, em MEV; do período de cheia. Barra: 50µm. **Fig. 44.** Epiderme na face abaxial, em MO; secção corada com safranina/fast-green; do período de vazante. Barra: 5µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato, ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; pe-parênquima esponjoso pp-parênquima paliçádico.

Figs. 45-47. Secções paradérmicas de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 45 e 47.** Período de cheia. **Fig. 46.** Período de vazante. **Fig. 45.** Vista frontal da epiderme na face adaxial, em MO. **Figs. 46-47.** Vista frontal da epiderme na face abaxial em MO. Barras: 50 µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato.

Fig. 48. Imagem da superfície epidérmica de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., da face adaxial do período de vazante, em MEV. Barra: 20µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares.

Figs. 49-50. Imagens em MEV da epiderme, na face abaxial, de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. **Fig. 49.** Vista frontal; período de cheia. **Fig. 50.** Secção transversal; período de vazante. Barras: 10µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato; lce-lume da célula epidérmica.

Figs. 51-55. Secções transversais de folhas de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 51.** Período de vazante. **Fig. 52.** Período de cheia. **Fig. 53.** Detalhe de tecidos da face adaxial; secção *in vivo*. **Fig. 54.** Detalhe do sistema vascular. **Fig. 55.** Fibras gelatinosas. Barras: **Figs. 51-54** – 50µm; **Fig. 55** – 10µm. **Figs. 51 e 54.** Secções coradas com safranina/fast-green. **Figs. 52 e 55.** Secções coradas com azul de astra/fucsina básica. Legenda: bp-bainha parenquimática; co-colênquima anelar; cr-cristais; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fi-fibras ; fl-floema; x-xilema.

Figs. 56-57. Secções transversais do bordo de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 56.** Folha do período de vazante, corada com safranina-fast-green. **Fig. 57.** Folha do período de cheia corada com azul de astra/fucsina básica. Barras: 50µm. Legenda: co-colênquima anelar; ep-epiderme; mc-membrana cuticular; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico.

Figs. 58-59. Secções transversais do pecíolo de *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., em MO. **Fig. 58.** Período de cheia, corada com safranina/fast-green; note o feixe vascular central e dois menores laterais (setas). **Fig. 59.** Tecidos periféricos, período de vazante, *in vivo*. Barras: 50µm. Legenda: co-colênquima anelar; cr-cristais; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; pc-parênquima colenquimatoso; x-xilema.

5.3. *Phyllanthus sellowianus* (KLOTZSCH) MÜLL. ARG.

5.3.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS

P. sellowianus (Figs. 60-63) é uma reófito arbustiva, pertencente à família Euphorbiaceae, que ocorre ao longo das margens encachoeiradas e em ilhas rochosas dos rios do Vale do Itajaí, como referido por Smith *et al.* (1988) e Klein (1980). Localiza-se no leito do rio, distante da margem, ficando bastante exposta ao sol em períodos de vazante (Fig. 60) e podendo ser encoberta, total ou parcialmente, pelas águas turbulentas do rio em cheias (Fig. 61). Em período pós-cheia os indivíduos da espécie em estudo muitas vezes estão totalmente destituídos de folhas (Fig. 62).

Esta reófito possui ramos flexuosos (Fig. 60), cujas folhas exibem estenofilia (Fig. 63). Smith *et al.* (1988) menciona folhas reduzidas a escamas perto dos ápices. Nas amostras analisadas constatou-se, nas terminações dos ramos, especialmente em períodos pós-cheias, muitos primórdios foliares, aproximados pelo reduzido desenvolvimento dos entrenós. Tal evidência indica que a adaptação da planta ao hábitat reofítico inclui um rápido desenvolvimento no período de emersão da parte aérea.

5.3.2. MORFOLOGIA FOLIAR

Conforme Smith *et al.* (1988), as folhas de *P. sellowianus* são estreito-elípticas, delgadas, planas, com face inferior pálida. De acordo com a classificação proposta por Hickey (1979), as folhas de *P. sellowianus* são simples, simétricas, obovadas com ápice retuso, base aguda, margem lisa e textura membranácea.

5.3.2.1 Área e Índice foliar

As folhas de *P. sellowianus* apresentam uma menor área foliar no período de vazante (Tab. 7). A intensidade luminosa pode afetar a área foliar, determinando um menor desenvolvimento em folhas mais expostas ao sol, o que pode favorecer a redução da transpiração (Napp-Zinn, 1984; Mauseth, 1988; Dickison, 2000). Van Steenis (1981) ressalta que reófitas devem ter rápido desenvolvimento durante os períodos favoráveis. Imaichi & Kato (1993) sugerem que o curto período de ontogênese deve influenciar as características morfológicas nas reófitas, tal como redução do desenvolvimento. Assim, a menor área foliar no período de vazante pode ter sido afetada pela necessidade de rápida complementação estrutural possibilitando a funcionalidade no período favorável, somando-se a isto a vantagem da redução da transpiração quando há maior exposição a irradiação solar. As diferenças observadas na área foliar estão diretamente associadas ao comprimento das folhas (Tab. 7).

Tabela 7. Área, dimensões (comprimento e largura) e índice de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.

Tratamento	Vazante	Cheia
Área Foliar (cm²)	4,67 ± 1,22 b	5,56 ± 1,05 a
Índice Foliar	3,86 ± 1,03 b	5,20 ± 0,51 a
Comprimento (cm)	5,02 ± 1,07 b	6,05 ± 0,48 a
Largura (cm)	1,34 ± 0,26 a	1,17 ± 0,14 b

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As folhas de *P. sellowianus*, conforme Smith *et al.* (1988), têm 3-4 (até 7) cm de comprimento. Os resultados obtidos (Tab. 7) mostram dimensões dentro destes valores, entretanto, constata-se que o tamanho varia com as condições do fluxo do rio. As folhas são mais longas e mais estreitas no período de cheias, fato que determina um maior índice foliar, ou seja, uma estenofilia mais acentuada.

É importante ressaltar que as folhas coletadas no período de cheia (lembrando que as coletas eram realizadas imediatamente pós-cheias, no início da redução do nível do rio) estavam completamente submersas, fato que aponta para importância da estenofilia na resistência à turbulência, pois certamente aquelas com menor índice foliar, devem ter sido destruídas.

5.3.3. ANATOMIA DA FOLHA

As folhas de *P. sellowianus* podem ser consideradas dorsiventrais, com base nas características do mesófilo e, embora se mostrem anfiestomáticas, são raros os estômatos na face adaxial. Metcalfe & Chalk (1957) mencionam a ocorrência usual de folhas dorsiventrais para a família Euphorbiaceae, sendo raro, mas podendo ocorrer folhas anfiestomáticas, fato constatado na espécie em estudo.

5.3.3.1. Epiderme

A folha de *P. sellowianus* apresenta epiderme uniestratificada (Figs. 64-67).

Em vista frontal, a epiderme exhibe células poligonais com paredes anticlinais quase retas, em ambas as faces (Figs. 68-69). Os representantes de Euphorbiaceae, conforme Metcalfe & Chalk (1957), mostram configuração sinuosa ou reta, tal como a observada na presente espécie. Napp-Zinn (1984) esclarece que folhas mais expostas ao sol tendem a reduzir a sinuosidade ou mesmo mostrarem paredes anticlinais retas. Assim, *P. sellowianus*, espécie sob intensa irradiação solar,

pelo menos em períodos de vazante, segue a tendência usualmente observada nas plantas, conforme a literatura, sem mostrar diferenças em função do fluxo do rio.

A superfície das folhas de *P. sellowianus* mostra uma camada cuticular delgada (Fig. 67), porém destaca-se a elaborada esculturação proporcionada pela presença de ceras epicuticulares (Figs. 70-71).

Metcalfe & Chalk (1957) referem ocorrência de estriações cuticulares em Euphorbiaceae. Entretanto, imagens da superfície epidérmica de *P. sellowianus*, em microscopia eletrônica de varredura (Figs. 70-71), deixam evidente que nesta espécie as irregularidades verificadas em microscopia óptica tratam-se de acúmulos de cera sobre a superfície epidérmica.

Cutícula delgada é característica hidromorfa (Eames & MacDaniels, 1947; Roth, 1976). Por outro lado, depósitos de ceras epicuticulares têm sido associados ao xeromorfismo, pois auxiliam na reflexão do excesso de irradiação solar, impermeabilizando a epiderme de modo a reduzir a perda hídrica interna e também exercendo controle sobre a quantidade de luz que segue para o interior da folha (Reed & Tukey, 1981; Fahn & Cutler, 1992; Gutschick, 1999; Dickison, 2000). Kato & Imaichi (1992a) e Imaichi e Kato (1992) referem à presença de ceras epicuticulares em pteridófitas reófitas, atribuindo a estas estruturas importância funcional relativa à melhor tolerância à seca ou à repulsão hídrica, dependendo do fluxo do rio.

De acordo com Bartloth (1990), a superfície esculturada por depósitos de ceras epicuticulares é hidrofóbica e desempenha diversas funções, tais como, repelir a água, evitar a aderência de partículas sólidas, refletir a irradiação solar e ainda resfriar a superfície promovendo corrente de ar sobre a mesma.

Portanto, a delgada camada cuticular, característica hidromorfa, observada em *P. sellowianus* associada à presença de ceras epicuticulares, característica

xeromorfa, devem favorecer a adaptação de *P. sellowianus* às adversidades encontradas no hábitat reofítico, ou seja, com períodos de condições extremas determinadas pela variação no fluxo do rio.

Nas paredes periclinais internas das células epidérmicas de *P. sellowianus* constata-se a presença de suberina, que juntamente com as ceras epicuticulares deve contribuir impermeabilizando os tecidos internos durante as cheias do rio. Ryser (1992) menciona esta substância para epiderme de sementes de *Gossypium*, sendo, entretanto, mais comum, na literatura, referências a presença de suberina em outros tecidos vegetais. A suberina atua como barreira química ao fluxo apoplástico, direcionando o fluxo de assimilados através dos plasmodesmos (Hattersley & Browning, 1981; Ryser, 1992; Ueno, 1995; Santos, 2002).

Nas células epidérmicas de *P. sellowianus* é freqüente a presença de compostos fenólicos preenchendo quase totalmente o lúmen celular (Fig. 64). Os compostos fenólicos ocorrem em vacúolos, citoplasma e paredes de células isoladas, idioblastos, ou mesmo em várias células de determinados tecidos (Mauseth, 1988) e fazem parte do metabolismo secundário das plantas (Castro & Machado, 2003). Devido à grande diversidade química, os compostos fenólicos, desempenham várias funções nos vegetais, agindo na defesa contra herbívoros e patógenos, reduzindo o crescimento de plantas competidoras (Lambers *et al.*, 1998; Taiz & Zeiger, 2004). As folhas de *P. sellowianus* mostram-se usualmente integras, sem sinais de herbivoria e/ou ação de patógenos, o que pode ser determinado pela presença destes compostos. Outro fato a ressaltar é que geralmente os indivíduos desta espécie estão isolados ou formando ilhas de vegetação no leito do rio, juntamente com *S. schottiana*. Talvez estas substâncias possam inibir o crescimento

de outras espécies, embora não se possa perder de vista que poucas estariam aptas à sobrevivência nestas condições inóspitas.

Nas células epidérmicas de *P. sellowianus* ainda podem ser evidenciadas formas cristalinas, em material *in vivo*, cuja natureza química foi identificada como sendo antraquinona. A antraquinona é um composto orgânico que mostra muitos usos industriais, em geral na indústria de celulose, sua principal função é acelerar as reações de remoção da lignina da madeira, fazendo com que sejam mais rápidas e seletivas, permitindo que as fibras se individualizem mais facilmente (Foelkel, 2005). Tona *et al.* (2004) investigando várias espécies de plantas, incluindo *Phyllanthus niruri* e outras Euphorbiaceae, menciona que a atividade antiplasmodial, no combate à malária, o princípio ativo está relacionado a várias substâncias, entre elas a antraquinona. A importância medicinal de *P. sellowianus* já têm sido objeto de investigação fitoterápica, tal como os efeitos analgésicos (Miguel *et al.*, 1996; Meyre-Silva *et al.*, 1998) hipoglicêmicos e diuréticos (Hnatyszyn *et al.*, 2002). A constatação de antraquinona aponta para a importância de mais estudos farmacológicos com *P. sellowianus*.

Na relação planta-ambiente, os estômatos são estruturas epidérmicas que também merecem especial atenção. São os locais onde ocorrem as trocas gasosas e também a difusão de vapores d'água (Eames & MacDaniels 1947; Cutter, 1978; Romero-Aranda *et al.*, 1994; Dickison, 2000).

Os estômatos em *P. sellowianus* estão presentes em ambas as faces, embora raros na superfície adaxial, e são do tipo paracítico (Fig. 69), mostrando suas células no mesmo nível das demais células epidérmicas (Fig. 66). Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1957) referem para Euphorbiaceae vários tipos de

estômatos; Wilkinson (1979) menciona os tipos anomocítico, paracítico, anisocítico e paralelocítico para os representantes dessa família.

A densidade estomática em *P. sellowianus* mostra-se maior no período de cheia em relação à vazante do rio, verificando-se o inverso com relação ao comprimento das células-guarda e à largura do poro (Tab. 8).

Tabela 8. Densidade estomática e dimensões das células-guarda e do poro estomático de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia.

Tratamento	Vazante	Cheia
Densidade estomática (nº de estômatos/mm ²)	286,67 ± 59,04 b	349,63 ± 56,86 a
Comprimento da célula-guarda (µm)	24,10 ± 2,18 a	22,73 ± 2,78 b
Largura da célula-guarda (µm)	6,73 ± 1,30 a	6,48 ± 0,95 a
Comprimento do poro estomático (µm)	12,25 ± 1,63 a	11,68 ± 3,04 a
Largura do poro estomático (µm)	6,41 ± 1,25 a	4,83 ± 1,30 b

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

A densidade estomática é influenciada pelas condições ambientais (Esau, 1976; Murtaza & Paul, 1989), sendo fixada durante os estádios iniciais do desenvolvimento da folha (Paoletti & Gellini, 1993). Geralmente, tem sido constatado que o aumento da intensidade luminosa determina aumento na densidade estomática (Allard *et al.* 1991; Abrans *et al.* 1992; Ashton & Berlyn 1994; Vieira, 1995; Lee *et al.* 1997; Duz *et al.* 2004). Em *P. sellowianus* verifica-se o contrário, pois a irradiação solar é maior em períodos de vazante, quando se constata menor densidade estomática. Portanto, outros fatores devem estar intervindo. Voleníková & Tichá (2001) verificaram que condições nutricionais do meio podem afetar mais a

densidade estomática do que a irradiação luminosa. Disto deduz-se que talvez a condição nutricional do meio reofítico possa ter sido o determinante no aumento da densidade estomática em período de cheia quando o substrato deve estar mais rico em nutrientes, em decorrência das enxurradas e turbulências do rio.

As coletas de folhas de *P. sellowianus*, consideradas como do período de cheia, sempre foram feitas quando o nível do rio já estava baixando, tornando-se acessível tal evento. Van Steenis (1981) menciona a rapidez no crescimento das reófitas em períodos favoráveis. Portanto, a coleta, no presente estudo, correspondeu ao período de desenvolvimento das folhas, o qual deve ser rápido pela necessidade de aumentar as atividades metabólicas, favorecidas pelo suprimento nutricional propiciado pela turbulência durante as cheias do rio. Embora as análises tenham sido restritas às folhas totalmente expandidas, nas quais foram sempre encontrados estômatos totalmente formados, os dados indicam que nas folhas do período de cheia ocorre um menor alongamento das células-guarda (Tab. 8). Isto pode ter sido determinante na aproximação dos estômatos, levando a um aumento da densidade estomática. Embora, a determinação do índice estomático fosse mais efetiva para comprovar tal dado, optou-se pela não avaliação tendo em vista que, ecofisiologicamente, tal dado não traria contribuições relevantes. De acordo com Larcher (2000), o aumento da densidade estomática associada a menor distância entre os estômatos reduz a transpiração. Considerando-se que as folhas submersas de *P. sellowianus* não teriam tal necessidade, devido à reduzida exposição à luz, parece que esta característica pode estar suspensa do ponto de vista funcional. Entretanto, poderia favorecer quando, após as cheias, as mesmas folhas passam rapidamente a ficar mais expostas a altas irradiações solares. A redução da largura do poro estomático durante o período de cheia (Tab. 8) pode ser

determinado pelo provável não funcionamento desta estrutura, enquanto as folhas mantêm-se submersas.

5.3.3.2. Mesofilo

O mesofilo em folhas de *P. sellowianus* está constituído por parênquimas paliçádico e esponjoso (Figs. 64-65). Na face adaxial ocorre um parênquima paliçádico formado por células colunares justapostas, distribuídas em apenas um estrato. O parênquima esponjoso é formado por células de tamanho e forma irregulares. Metcalfe & Chalk (1957) mencionam a constituição do mesofilo de alguns gêneros de Euphorbiaceae, sem citar *Phyllanthus*, constituído por um parênquima paliçádico com um a dois estratos celulares e parênquima esponjoso.

No mesofilo das folhas de *P. sellowianus* encontram-se laticíferos do tipo articulado anastomosado (Figs. 72-73). Metcalfe & Chalk (1957) ao referirem a presença de laticíferos na família Euphorbiaceae, citam vários gêneros, porém não referem *Phyllanthus*. Laticíferos articulados são característicos de Euphorbiaceae (Fahn, 1978). Fahn (1978 e 1979) classifica os laticíferos como sendo dos tipos: células laticíferas (laticíferos não-articulados) ou vasos laticíferos (laticíferos articulados, constituídos por células interligadas), ambos podendo apresentar-se ramificados (anastomosados) ou não. O autor cita gêneros de Euphorbiaceae entre os exemplos dos tipos não-articulado ramificado e articulado anastomosado.

Em *P. sellowianus* os laticíferos seguem no mesofilo em várias direções, reunindo-se junto às nervuras e, então, seguem acompanhando o floema (Fig. 72). Solereder (1908) comenta que os laticíferos livres no mesofilo exibem forte relação com o sistema de assimilação. Haberlandt (1928) esclarece que os laticíferos captam os fotossintatos do parênquima paliçádico e, então, convergem seguindo junto às nervuras, distribuindo o látex para outras partes da planta. Metcalfe & Chalk

(1957) também mencionam a presença de laticíferos acompanhando as nervuras e livres no mesofilo, em Euphorbiaceae, característica constatada em *P. sellowianus*.

Em secções transversais do mesofilo de *P. sellowianus*, freqüentemente observam-se ramificações de laticífero, que podem ser facilmente confundidas com um estrato de células parenquimáticas aclorofiladas adjacentes e semelhantes às células epidérmicas (Fig. 67). Solereder (1908) refere que os laticíferos livres no mesofilo algumas vezes se estendem até a epiderme.

A parede das células laticíferas, em *P. sellowianus*, quando distantes das nervuras, geralmente mostram paredes mais delgadas, porém, quando acompanham nervuras exibem paredes mais espessadas, embora não lignificadas. Solereder (1908) menciona a ocorrência de paredes espessadas em laticíferos mais velhos e Haberlandt (1928) também refere que as paredes dos laticíferos geralmente são delgadas, exceto em *Euphorbia*, onde a parede é espessada e ao mesmo tempo extensível e elástica. Fahn (1979) descreve que as paredes dos laticíferos têm espessura similar às células parenquimáticas adjacentes, embora possam ser mais espessadas. Este autor ainda esclarece que a comunicação entre as células de laticíferos articulados ocorre por perfurações das paredes adjacentes de modo a comunicar os vacúolos das células por onde circula o látex.

No látex de *P. sellowianus* constatou-se partículas suspensas correspondendo a grãos-de-amido e também gotículas de óleos. Haberlandt (1928) e Fahn (1979) citam a presença de partículas constituídas de óleos, taninos, cristalóides protéicos e grãos de amido, suspensas no látex. Fahn (1978, 1979) relata que, na literatura, diversas funções são atribuídas ao látex, tais como regular o balanço hídrico e o transporte de oxigênio, mas destaca proteção a herbivoria e aos microorganismos. Em *P. sellowianus*, como já referido anteriormente ao tratar de

compostos fenólicos, suas folhas mostram-se sem sinais de herbivoria e/ou ação de patógenos, assim, a integridade estrutural pode estar sendo preservada tanto pelos compostos fenólicos, quanto pelo látex.

Dados referentes às espessuras da lâmina foliar de *P. sellowianus* e de seus tecidos constituintes (Tab. 9) indicam que os parênquimas paliçádico e esponjoso são afetados pela variação do fluxo do rio. Estes tecidos mostram maiores espessuras nas folhas coletadas em período de cheia em relação àquelas coletadas em período de vazante, porém o tecido de revestimento, em ambas faces, mantém-se similar nos dois períodos. O maior desenvolvimento dos tecidos do mesofilo determina um aumento na espessura total do mesofilo e conseqüentemente da lâmina foliar.

Tabela 9. Espessuras da lâmina e estruturas constituintes de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., nos períodos de vazante e cheia do rio.

Tratamento	Vazante	Cheia
Lâmina foliar (μm)	141,75 \pm 16,14 b	154,43 \pm 10,87 a
Mesofilo (μm)	107,90 \pm 15,81 b	120,84 \pm 7,96 a
Parênquima paliçádico (μm)	58,58 \pm 7,73 b	62,52 \pm 6,73 a
Parênquima esponjoso (μm)	49,32 \pm 11,86 b	58,32 \pm 5,60 a
Epiderme - face adaxial (μm)	21,23 \pm 3,14 a	20,45 \pm 2,73 a
Epiderme - face abaxial (μm)	12,63 \pm 3,42 a	13,14 \pm 2,58 a

Nota: n= 30 para cada parâmetro de cada tratamento. Letras diferentes, comparadas na horizontal, indicam diferenças estatisticamente significativas entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t.

Muitos pesquisadores (Mauseth, 1988; Syvertsen *et al.*, 1995; Lambers *et al.*, 1998; Dickison, 2000; Rôças *et al.*, 2001, por exemplo) fazem referências à correlação positiva entre a maior exposição das folhas à luz e as maiores espessuras de lâmina foliar e de mesofilo, especialmente de parênquima paliçádico. Em *P. sellowianus* constata-se uma correlação inversa, ou seja, quando há maior exposição (vazante) as folhas são menos espessas. O tecido fotossintético mostra estreita correlação com a capacidade fotossintética (Zagdanska & Kozdoj, 1994; Silva *et al.*, 2001). É possível, portanto, que no caso particular das reófitas, ou pelo menos desta espécie em questão, tal como já referido com relação à densidade estomática, as condições nutricionais do meio (substrato deve estar mais rico em nutrientes, em decorrência das enxurradas e turbulências do rio) tenham exercido maior influência do que a irradiação luminosa. Além disso, é justamente quando as águas do rio começam a reduzir seu nível que o tecido fotossintético deve aumentar sua capacidade de modo a possibilitar o rápido desenvolvimento da planta, assegurando o ciclo reprodutivo da espécie. Por outro lado, o parênquima esponjoso pode ter apresentado menor espessura no período de vazante por reduzir seus espaços intercelulares, o que pode ser evidenciado nas figuras 64 e 65. Conforme esclarecem Silva *et al.* (2001) com a redução dos espaços intercelulares ocorre uma redução na evaporação de água. Portanto, em *P. sellowianus* a redução de tais espaços no parênquima esponjoso favoreceria a redução da perda hídrica, quando da maior exposição à irradiação solar nos períodos de vazante do rio.

5.3.3.3. Nervura Mediana

A nervura mediana, de *P. sellowianus*, apresenta-se convexa em ambas faces (Figs. 74-75). Sob a epiderme, nas faces adaxial e abaxial, observa-se

colênquima (Figs. 74-76), cujos espessamentos variam do tipo anelar a angular. O feixe vascular (Figs. 74) é do tipo colateral. Fibras (Fig. 76) estão distribuídas em grupos descontínuos junto ao floema e também algumas adaxialmente, sendo estas de paredes pouco espessadas e lúmen mais amplo. Ocorre, ainda, um parênquima aclorofilado, o qual é limitado externamente pelo colênquima e internamente pelas fibras. Metcalfe & Chalk (1957) referem a presença de bainha parênquimática em algumas espécies de Euphorbiaceae. Em *P. sellowianus*, não se evidencia com clareza tal bainha, embora, na face abaxial, perceba-se uma maior concentração de grãos-de-amido nas células parenquimáticas adjacentes às fibras floemáticas. Grãos-de-amido estão presentes em muitas células do parênquima aclorofilado e do colênquima. Nestes dois tecidos também ocorrem células contendo grãos-de-amido e compostos fenólicos, outras somente com compostos fenólicos e outras com grãos-de-amido e compostos antraquinônicos.

5.3.3.4. Bordo

No bordo das folhas de *P. sellowianus* (Fig. 77) evidencia-se parênquima paliádico, parênquima esponjoso, mais compacto em ambos tratamentos (vazante e cheia). A sustentação é proporcionada por poucas células colenquimáticas subepidérmicas, embora os tecidos parenquimáticos devam colaborar nesta função, justificando, talvez, a razão da maior compactação do parênquima esponjoso.

5.3.3.5. Pecíolo

No pecíolo de *P. sellowianus* (Fig. 78), sob a epiderme uniestratificada, ocorre colênquima e mais internamente parênquima aclorofilado. Células contendo grãos-de-amido e compostos fenólicos, outras somente com compostos fenólicos e outras com grãos-de-amido e compostos antraquinônicos, estão presentes no

colênquima e no parênquima aclorofilado. No centro do pecíolo está localizado o feixe vascular colateral, em forma de meia-lua, contornado por fibras de paredes espessadas e lignificadas. Latífciferos estão presentes principalmente na porção mais interna do córtex.

Figs. 60-63. *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. no Rio Itajaí do Norte. **Fig. 60.** Período de vazante, espécie encontra-se fortemente aderida às rochas. **Fig. 61.** Período de cheia; indivíduos parcialmente submersos (seta). **Fig. 62.** Após período de cheia, indivíduos desprovidos de folhas. **Fig. 63.** Detalhe das folhas evidenciando a estenofilia (seta).

Figs. 64-65. Secções transversais de folha de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO. **Fig. 64, 66-67.** Período de vazante; secções coradas com safranina/fast-green. **Fig. 65.** Período de cheia; secção corada com azul de astra/fucsina básica. **Figs. 64-65.** Aspecto geral; Barras: 50µm. **Figs. 66-67.** Detalhes da face abaxial. Barras: 10µm. Legenda: cf-composto fenólico; cse-câmara subestomática; e-estômato; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; la-laticífero; mc-membrana cuticular; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico.

Figs. 68-69. Secções paradérmicas de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO. **Fig. 68.** Período de vazante; face adaxial. **Fig. 69.** Período de cheia; face abaxial. Barras: 50µm. Legenda: e-estômato.

Figs. 70-71. Vista frontal da superfície epidérmica de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MEV, do período de cheia, setas indicam ceras epicuticulares. Barras: 10µm. Legenda: ce-ceras epicuticulares; e-estômato.

Figs. 72-73. Secções paradérmicas de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO. **Fig. 72.** Microfotografia destacando o floema (*) acompanhados por laticíferos (setas). **Fig. 73.** Representação esquemática de laticífero articulado anastomosado. Barras: 50µm. Legenda: tne-terminação de nervura.

Figs.74-76. Secções transversais da nervura mediana de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO, do período de cheia. **Fig. 74.** Secção corada com safranina/fast-green. Barra: 100µm. **Figs. 75-76.** Detalhes em secções *in vivo*, com reação de fluoroglucina e HCl. Barras: 50µm. Legenda: co-colênquima anelar; fi-fibras; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; x-xilema.

Fig. 77. Secção transversal do bordo de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO, do período de cheia, secção corada com azul de astra/fucsina básica. Barra: 50µm. Legenda: co-colênquima anelar; ep-epiderme; fab-face abaxial; fad-face adaxial; pe-parênquima esponjoso; pp-parênquima paliçádico.

Fig. 78. Secção transversal do pecíolo de folhas de *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., em MO, do período de cheia, corada com safranina/fast-green. Barra: 100µm. Legenda: co-colênquima anelar; fab-face abaxial; fad-face adaxial; fl-floema; pa-parênquima; x-xilema.

5.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As características morfo-anatômicas das três reófitas analisadas, com distintas localizações, mais na margem ou avançando no leito do rio, evidenciam algumas adaptações destas espécies às condições do fluxo do rio. Ou seja, através dos tempos, a seleção de alguns indivíduos, de alguns táxons, que apresentavam características estruturais e fisiológicas aptas a suportar as condições adversas das cheias e vazantes, mantiveram-se dando origem às espécies hoje encontradas nas margens dos rios de corredeira, por vezes com distribuição muito restrita, como ocorre com *R. echinata*.

Como comenta Klein (1980), a vegetação, ao longo dos rios do Vale do Itajaí, está constituída por um pequeno número de espécies características e exclusivas, profundamente adaptadas ao ambiente adverso e variável, pois devem ter condições não só de enfrentar as fortes correntezas, determinadas por enchentes periódicas, como também suportar as inclemências provocadas pelas águas rasas, quando as rochas estão descobertas.

As freqüentes enchentes, com a agressividade das enxurradas que transportam muita matéria orgânica, enriquecendo o solo, também destroem a parte aérea das plantas, caso elas não tenham características morfo-anatômicas para serem flexíveis e deixar a água deslizar, sem ocorrer danos estruturais. No período de cheias é preciso manter reservas nutricionais internas, para que em períodos favoráveis possa ocorrer um rápido desenvolvimento de folhas, para novos estoques nutritivos, e de estruturas reprodutivas, para manutenção da espécie. Além disto, o real período favorável pode ser muito mais curto, pois o período de vazante também mostra adversidades, uma vez que a exposição à irradiação solar, que pode ser muito intensa se considerada a incidência solar direta somada a reflexão pela

superfície das águas mais calmas e, ainda, a irradiação absorvida pela reflexão das rochas. Ainda é preciso considerar-se que as espécies que avançam mais no leito do rio, como é o caso de *P. sellowianus*, estão mais sujeitas às adversidades dos dois períodos (cheia e vazante). Por outro lado, deve se considerar que o processo de seleção natural destas espécies pode ter chegado a tal nível que as populações atuais provavelmente necessitam desta alternância de condições ambientais para sobrevivência. Muitas das evidências morfo-anatômicas encontradas nas três espécies aqui analisadas têm sido encontradas em outros grupos biológicos, hidrófitas e xerófitas. É conhecido que hidrófitas não suportam climas secos, assim como muitas xerófitas não resistem a altos suprimentos hídricos. As reófitas, ao reunir algumas características comuns a estes dois grupos, tornam-se adaptadas a ambientes de condições muito particulares, os quais submetem às plantas a situações hídricas e xéricas extremas, sem as quais já não estariam aptas à sobrevivência.

Entre as características morfo-anatômicas encontradas nas três espécies, ou em duas delas, as mais expostas às variações das condições ambientais, algumas merecem destaque.

A estenofilia, observada nas três espécies, é fundamental para que durante as cheias a água deslize, sem romper a estrutura foliar, embora muitos indivíduos de *P. sellowianus*, os mais expostos, tornem-se destituídos de folhas neste período.

As fibras gelatinosas, junto ao sistema de nervuras, observadas em *S. schottiana*, espécie de localização intermediária no leito do rio, podendo ficar parcialmente submersa e, portanto, sujeita às enxurradas, confere maior flexibilidade estrutural às folhas. Sem dúvidas esta espécie é menos agredida durante as cheias

do que *P. sellowianus*, mas é provável que esta característica também favoreça a manutenção de suas folhas.

Os depósitos de ceras epicuticulares, cuja configuração destaca-se em duas das espécies, *S. schottiana* e *P. sellowianus*, indicam o quanto uma característica anatômica pode conferir propriedades importantes possibilitando adaptações a situações ambientais opostas. Quando as folhas estão submersas, devido à propriedade hidrofóbica, além de facilitar o deslizamento da água, exercem o efeito antiaderente das partículas suspensas na água; quando expostas à irradiação solar mais intensa, durante as vazantes, contribuem para reflexão da luz e do calor. Outro exemplo desta ação contrastante é o registro de suberina na parede periclinal interna das células epidérmicas, substância esta constatada nas três espécies investigadas. A suberina, substância hidrofóbica, pode impedir a infiltração de excesso de água via apoplástica, quando as folhas estão submersas, mas também pode evitar a perda hídrica interna, quando as folhas estão mais expostas.

Nas três espécies em estudo foram encontrados cristais e/ou metabólitos secundários que não agem diretamente nos processos vitais básicos (fotossíntese, respiração, entre outros), mas que podem desempenhar a importante função de defesa contra herbívoros e microorganismos patogênicos presentes no hábitat. Os metabólitos secundários que detêm herbívoros e/ou inibem patógenos têm sido usados pela humanidade por séculos (Lambers *et al.*, 1998). Portanto, a presença destas substâncias, algumas com raros registros de ocorrência, como os cristais de fosfato de cálcio em *R. echinata* e a antraquinona em *P. sellowianus*, ou mesmo outras, cuja natureza ainda não foi identificada nestas duas espécies e em *S. schottiana*, justificam a preservação destas espécies, bem como de suas condições ambientais, possibilitando assim investigações em outras áreas do conhecimento.

6. CONCLUSÕES

O conhecimento das características morfo-anatômicas das folhas de *R. echinata*, *S. schottiana* e *P. sellowianus*, considerando amostras coletadas dos dois períodos do fluxo do rio, vazante e cheia, possibilitou interpretações acerca da adaptação destas reófitas às peculiaridades do ambiente onde ocorrem. Nenhuma, entretanto, deve ser considerada como exclusiva de reófitas. Tratam-se de características hidromorfas e xeromorfas, reunidas, possibilitando a sobrevivência em condições adversas extremas, de submersão com turbulência ou de elevada exposição à irradiação solar. Do ponto de vista morfo-anatômico, é exatamente esta combinação estrutural que define este grupo biológico – Reófitas.

Além disso, o estudo contribuiu para um melhor conhecimento destas espécies, incluindo referências à identificação e localização de substâncias com raros registros de ocorrência.

A influência das condições de vazante e cheias sobre as espécies reófitas, provavelmente está associada a outros fatores ambientais como disponibilidade de nutrientes, temperatura, umidade e reflexão da irradiação solar.

Durante o processo evolutivo conseguiram permanecer as espécies com características aptas a suportar as inclemências do hábitat reofítico. Algumas características como estenofilia e fibras gelatinosas, entre outros, possivelmente estão colaborando na permanência e no estabelecimento das espécies reofíticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrans, M.C.; Kloeppel, B.D. & Kubiske, M.E. 1992. Ecophysiological and morphological responses to shade and drought in two contrasting ecotypes of *Prunus setorina*. **Tree Physiology**, **10**: 343-355.
- Allard, G.; Nelson, C.J. & Pallardy, S.G. 1991. Shade effects on growth of tall fescue: I. leaf anatomy and dry matter partitioning. **Crop Science**, **31**: 163-167.
- Alquini, Y.; Bona, C.; Boeger, M.R.T.; Costa, C.G. & Barros, C.F. 2003. Epiderme, p. 87-96. In: Glória, A. B. & Guerreiro, C.S.M. (eds.) 2003. **Anatomia Vegetal**. Viçosa, Editora UFV, 438p.
- Altesor, A.; Silva, C. & Ezcurra, E. 1994. Allometric neoteny and the evolution of succulence in cacti. **Botanical Journal of the Linnean Society**, **114**: 283-292.
- Ashton, P.M.S. & Berlyn, G.P. 1994. A Comparison of Leaf Physiology and Anatomy of *Quercus* (Section *Erythrobalanus*-Fagaceae) Species in Different Light Environments. **American Journal of Botany**, **81**: 589-597.
- Atlas de Santa Catarina**. 1986. Governo do Estado de Santa Catarina. Gabinete de Planejamento e Coordenação Geral. Rio de Janeiro: Aerofoto Cruzeiro. 173 p.
- Barthlott, W. 1990. Scanning electron microscopy of the epidermal surface in plants. **Scanning Electron Microscopy in Taxonomy and Functional Morphology**, **41**: 69-83.
- Biavatti, M.W. 2001. **Química e Bioatividade de *Raulinoa echinata*: espécie endêmica do Vale do Itajaí-SC**. Tese de doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Bissing, D.R. 1974. Haupt's Gelatin Adhesive Mixed with Formalin for Affixing Paraffin Sections to Slides. **Stain Technology**, **49**: 116-7.

- Bona, C. & Alquini, Y. 1995. Anatomia foliar de *Hydrocleis nymphoides* (Humb.& Willd) Buchenau (Limnocharitaceae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, **38**: 869-877.
- Bozzola, J.J. & Russel, L.D. 1991. **Electron Microscopy. Principles and Techniques for Biologists**. Boston, Jones and Barlett Publishers. 542p.
- Calixto, J.B. Yunes, R.A.; Miguel, O.G. 1986. Effects of *Sebastiania schottiana* extracts on isolated smooth-muscle contraction. **Planta Medica**, **6**: 444-445.
- Cao, K.F. 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. **Canadian Journal of Botany**, **78**: 1245-1253.
- Castro, M.M. & Machado, S.R. 2003. Células e Tecidos Secretores p. 179-204. In: Glória, A.B. & Guerreiro, C.S.M. (eds.). **Anatomia Vegetal**. Viçosa, Editora UFV, 438p.
- Cechinel-Filho, V. 1991. **Modificações da estrutura molecular da xantoxinila e estudo da atividade farmacológica dos derivados**. Dissertação (Mestrado em Química)-Curso de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 84p.
- Clair, B.; Thibaut, B. & Sugiyama, J. 2005. On the detachment of the gelatinous layer in tension wood fiber. **Japan Wood Research Society**, **51**: 218-221.
- Comitê Itajaí. 2004. Disponível em: <<http://www.comiteitajai.org.br/hp/bacia/localiza.php>>. Acesso em 13 de julho de 2004.
- Costa, A.F. 1982. **Farmacognosia**. Vol.III. Farmacognosia Experimental. 2^a Ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032p.
- Cowan, R.S. & Smith, L.B. 1973. **Rutáceas. Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, p. 47-50.

- Cutter, E.G. 1978. **Plant Anatomy**. Part 1: Cells and tissues. 2^a Ed. London, William Clowes & Sons, Limited. 315p.
- 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**. USA, Academic Press. 533p.
- Drew, M.C.; He, C.J. & Morgan, P.W. 2000a. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. **Trends in Plant Science**, **5**: 123-7.
- Drew, M.C.; He, C.J. & Morgan, P.W. 2000b. Ethylene-triggered cell death during aerenchyma formation in roots. In: Bryant, J.A.; Hughes, S.G. & Garland, J.M. (eds.) 2000. **Programmed Cell Death in Animals and Plants**. p.183-192.
- Duz, S.R. 2001. **Respostas de Crescimento de três Espécies Arbóreas da Floresta Atlântica à Variação na Quantidade de Luz**. Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal. Florianópolis, UFSC, 76p.
- Duz, S.R.; Siminski, A.; Santos, M. & Paulilo, M.T.S. 2004. Crescimento inicial de três espécies arbóreas da Floresta Atlântica em resposta à variação na quantidade de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, **27**: 587-596.
- Eames, A.J. & MacDaniels, L.H. 1947. **An Introduction to Plant Anatomy**. 2^a Ed. USA, McGraw-Hill Book Company, INC. 426p.
- Esau, K. 1959. **Anatomía Vegetal**. Barcelona, Ed. Omega, S.A. 729p.
- Esau, K. 1976. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda. 293p.
- Evans, W.C. 1989. **Trease and Evans' Pharmacognosy**. London, Baillière Tindall. p. 16-57.

- Fahn, A. 1978. **Anatomia Vegetal**. Madrid, H. Blume Ediciones. 643p.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press Inc.Ltd. 302p.
- Fahn, A. & Cutler, D.F. 1992. **Xerophytes**. Gebrüder Borntraeger, Germany. 176p.
- 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.
- Ferris, R. & Taylor, G. 1994. Stomatal Characteristics of four Native Herbs Following Exposure to Elevated CO₂. **Annals of Botany**, **73**: 447-453.
- Foelkel, C. 2005. Disponível em: <[http:// www.celso-foelkel.com.br](http://www.celso-foelkel.com.br)>. Acesso em 15 de dezembro de 2005.
- Gutschick, V.P. 1999. Biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. **New Phytologist**, **143**: 3-18.
- Haberlandt, G. 1928. **Physiological Plant Anatomy**. Reedição. London, Macmillan and Co., Limited. 777p.
- Hanagata, N.; Takemura, T.; Karube, I. & Dubinsky, Z. 1999. Salt/water relationships in mangroves. **Israel Journal of Plant Sciences**, **47**: 63-76.
- Hattersley PW & Browning AJ. 1981. Occurrence of the suberized lamella in leaves of Grasses of different photosynthetic types. I. In parenchymatous bundle sheaths and PCR ("Kranz") sheaths. **Protoplasma**, **109**: 371-401.
- Hickey, L.J. 1979. A revised classification of the architecture of Dicotyledonous leaves. In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (Ed.). **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. I. 2^a. Ed. Oxford, Clarendon Press. pp. 25-39.

- Holloway, P.J. 1980. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview. In: Cutler, D.F.; Alvin, K.L. & Price, C.E. (eds.) 1981. **The Plant Cuticle**. London, Academic Press, Linnean Society Symposium Series. Nº 10. p.1-32.
- Hnatyszyn, O.; Mino, J.; Ferraro, G. & Acevedo, C. 2002. The hypoglycemic effect of *Phyllanthus sellowianus* fractions in streptozotocin-induced diabetic mice. **Phytomedicine**, **9**: 556-559.
- Imaichi, R. & Kato, M. 1992. Comparative Leaf Development of *Osmunda lancea* and *O. japonica* (Osmundaceae): heterochronic origin of rheophytic sthenophylly. **The Botanical Magazine Tokyo**, **105**: 199-213.
- Imaichi, R. & Kato, M. 1993. Comparative leaf morphology of young sporophytes of rheophytic *Osmunda lancea* and dryland *O. japonica*. **Journal of Plant Research**, **106**: 37-45.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York, McGraw Hill Book Company, Inc. 523p.
- Kato, M. & Imaichi, R. 1992a. Leaf anatomy of tropical fern rheophytes with its evolutionary and ecological implications. **Canadian Journal of Botany**, **70**: 165-174.
- Kato, M. & Imaichi, R. 1992b. A broad-leaved variant of the fern rheophyte, *Tectaria lobbii*. **International Journal of Plant Science**, **153**: 212-216.
- Kim, J.W.; Won, J.; Sohn, S. & Joe, C.O. 2000. DNA-binding activity of the N-terminal cleavage product of poly(ADP-ribose) polymerase is required for UV mediated apoptosis. **Journal of Cell Science**, **113**: 955-61.
- Klein, R.M. 1979. **Reófitas no Estado de Santa Catarina, Brasil**. Anais da Sociedade Botânica do Brasil. XXX Congresso Nacional de Botânica, Campo Grande, MS-21 a 27 de janeiro, 1979. pp.159-169.

- Klein, R.M. 1980. Ecologia da Flora e Vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia**, **32**: 231-235.
- 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**. Springer-Verlag New York. 540p.
- Larcher, W. 2000. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos, Rima Artes e Textos. 531p.
- Lee, D.W.; Baskaran, K.; Mansor, M.; Mohamad, H. & Yap, S.K.1996. Irradiance and spectral quality affect Asian tropical rain forest tree seedling development. **Ecology**, **77**: 568-580.
- Lee, D.W.; Oberbauer, S.F.; Krishnapilay, B.; Mansor, M.; Mohamad, H. & Yap, S.K. 1997. Effects of irradiance and spectral quality on seedling development of two Southeast Asian *Hopea* species. **Oecologia**, **110**: 1-9.
- Lersten, N.R. & Gunning, J.L. 1975. Development of Air Passages, and Crystal distribution, in the Stem of *Bacopa caroliniana* (Scrophulariaceae). **Proceedings of the Iowa Academy of Sciences**, **82**: 109-112.
- Levitt, J. 1980. **Responses of plants to environmental stresses. vol. II. Water, Radiation, Salt and Other Stresses**. 2nd Ed. London, Academic Press, Inc. 607p.
- Machado, A.V. & Santos, M. 2004. Morfo-anatomia Foliar Comparativa de Espécies Conhecidas como Espinheira-Santa: *Maytenus ilicifolia* Mart., *Sorocea Bonplandii* Baillon e *Zollernia ilicifolia* Vog. **Insula** **33**: 1-11.
- Macnish, A.J.; Irving, D.E.; Joyce, D.C.; Vithanage, V.; Wearing, H.; Webb, R.I. & Frost, R.L. 2003. Identification of intracellular calcium oxalate crystals in *Chamelaucium uncinatum* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, **51**: 565-572.

- Malone, S.R.; Mayeux, H.S.; Johnson, H.B. & Polley, H.W. 1993. Stomatal density and aperture length in four plant species grown across a subambient CO₂ gradient. **American Journal of Botany**, **80**: 1413-1418.
- Mauseth, J.D. 1988. **Plant Anatomy**. USA, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 560p.
- Mello, F.A.F.; Brasil Sobrinho, M.O.C.; Arzolla, R.I.; Cobra Neto, A. & Kiehl, J.C. 1989. **Fertilidade do Solo**. Piracicaba, Ed. Livraria Nobel S.A. 400p.
- Menezes, N.L.; Silva, D.C.; Melo de Pinna, G.F.A. Folha. In: Glória, A. B. & Guerreiro, C.S.M. (eds.) 2003. **Anatomia Vegetal**. Viçosa, Editora UFV. pp.303-311.
- Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1957. **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. II. Oxford, University Press. p. 725-1500.
- Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol. I. 2^a Ed. Oxford, Clarendon Press, 294 p.
- Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1983. **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. II. Oxford, University Press. 297p.
- Meyre-Silva, C.; Mora, T.C; Biavatti, M.W.; Santos, A.R.S.; Dal-Magro, J.; Yunes, R.A. & Cechinel, V. 1998. Preliminary phytochemical and pharmacological studies of *Aleurites moluccana* leaves [L.] Willd. **Phytomedicine**, **5**: 109-113.
- Miguel, O.G; Calixto, J.B; Santos, A.R.S; Messana, I.; Ferrari, F.; Filho, V.C.; Pizzolatti, M.G. & Yunes, R.A. 1996. Chemical and preliminary analgesic evaluation of geraniin and furosin isolated from *Phyllanthus sellowianus*. **Planta Medica**, **62**: 146-149.
- 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.

- Murtaza, M.G. & Paul, N.K. 1989. Effect of nitrogen nutrition on the stomatal and anatomical characteristics of leaf of rape (*Brasica campestris* L.). **Bangladesh Journal of Botany**, **18**: 39-44.
- Napp-Zinn, K. 1984. **Handbuch der Pflanzenanatomie. VIII Anatomie des Blattes**, 2. Blattanatomie der Angiospermen, B. Experimentelle und ökologische Anatomie des Angiospermenblattes. Germany, Gbdr. Borntraeger. 520p.
- Paoletti, E. & Gellini, R. 1993. Stomatal density variation in beech and holm oak leaves collected over the last 200 years. **Acta Oecologia**, **14**: 173-178.
- Parkhurst, D.F. 1978. Adaptive significance of stomatal occurrence on one or both surfaces of leaves. **Journal of Ecology**, **66**: 367-383.
- 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**: 377-93.
- Raven, P.H.; Evert, R.F. & Eichorne, S.E. 2000. **Biologia Vegetal**. 6^a Ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara-Koogan S.A. 906p.
- Reed, D.W. & Tukey, Jr. H.B. 1981. Permeability of Brussels sprouts and carnation cuticles from leaves developed in different temperatures and light intensities. In: Cutler, D.F.; Alvin, K.L. & Price, C.E. (eds.) 1981. **The Plant Cuticle**. London, Academic Press, Linnean Society Symposium Series. N^o 10. pp. 267-278.
- 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.
- Rodrigues, R. R. & Leitão-Filho, H. F. 2000. **Matas Ciliares, conservação e recuperação**. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 320p.

- Romero-Aranda, R.; Cantó-Garay, R. & Martínez, P.F. 1994. Distribution and density of stomata in two cultivars of *Gerbera jamesonii* and its relation to leaf conductance. **Scientia Horticulturae**, **58**: 167-173.
- Roth, I. 1976. **Anatomia de las plantas superiores**. Caracas, Universidad Central de Venezuela, Ediciones de la Biblioteca, 357p.
- Rowland-Bamford, A.J. ; Nordenbrock, C.; Baker, J.T.; Bowes, G. & Allen, L.H. 1990. Changes in stomatal density in rice grow under various CO₂ regimes with natural solar irradiance. **Environmental and Experimental Botany**, **2**: 175-180.
- Ryser, U. 1992. Ultrastructure of the Epidermis of Developing Cotton (*Gossypium*) Seeds: Suberin, Pits, Plasmodesmata, and their Implication for Assimilate Transport into cotton Fibers. **American Journal of Botany**, **79**: 14-22.
- Santos, M. 1986. **Anatomia Foliar de espécies do Gênero Ocotea Aubl. (Lauraceae) ocorrentes no Rio Grande do Sul**. Dissertação de Mestrado em Botânica. Porto Alegre, UFRGS, 135 p.
- Santos, M. & Almeida, S.L. 2000. Anatomia de *Spartina* (Poaceae) da Ilha de Santa Catarina (Florianópolis, SC). **Insula**, **29**: 1-24.
- Santos, M. 2002. Organização Estrutural das Células Fotossintetizantes em Plantas C4. *In*: Bauer, M.E. & Jeckel-Neto, E.A. (Eds.) 2002. **Avanços em Biologia Celular**. Porto Alegre, Ed. EDIPUCRS, p.167-170.
- Sculthorpe, C.D. 1967. **The Biology of Aquatic Vascular Plants**. London, Edward Arnold Ltd. 609p.
- Silva, H.; Martínez, J. P.; Baginsky, C. & Pinto, M. 1999. Efecto del déficit hídrico en la anatomía foliar de seis cultivares de poroto *Phaseolus vulgaris*. **Revista Chilena de Historia Natural**, **72**: 219-235.

- Silva, H. ; Acevedo, E. & Silva, P. 2001. Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos em el secano árido mediterráneo de Chile. **Revista Chilena de Historia Natural**, **74**: 341-351.
- Smith, L.B.; Downs, R.J. & Klein, R.M. 1988. **Euforbiáceas. Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí. pp.39-41 e pp.302-305.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. 1969. **Biometry**. San Francisco. Freeman and Company, 776p.
- Solereder, H. 1908. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Oxford, Clarendon Press. 1183p.
- Syvertsen, J.P.; Lloyd, J.; Mc Conchie, C.; Kriedemann, P.E. & Farquhar, G.D. 1995. On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. **Plant, Cell and Environment**, **18**: 149-157.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004. **Fisiologia vegetal**. 4ª ed. Porto Alegre, Editora Artmed. 790 p.
- Tomlinson, P.B. 2003. Development of gelatinous (reaction) fibers in stems of *Gnetum gnemon* (Gnetales). **American Journal of Botany**, **90**: 965-972.
- Tomlinson, P.B & Fisher, J.B. 2005. Development of nonlignified fibers in leaves of *Gnetum gnemon* (Gnetales). **American Journal of Botany**, **92**: 383-389.
- Tona, L.; Cimanga, R.K.; Musuamba, C.T.; De Bruyne, T.; Apers, S.; Hernans, N.; Van Miert, S.; Pieters, L. ; Totté, J. & Vlietinck, A.J. 2004. In vitro antiplasmodial activity of extracts and fractions from seven medicinal plantas used in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethno-Pharmacology**, **93**: 27-32.
- Tsukaya, H. 2002. Leaf anatomy of a rheophyte, *Dendranthema yoshinaganthum* (Asteraceae), and of hybrids between *D. yoshinaganthum* and a closely related non-rheophyte, *D. indicum*. **Journal of Plant Research**, **115**: 329-333.

- Ueno, O. 1995. Occurrence of distinctive cells in leaves of C-4 species in *Arthraxon* and *Microstegium* (Andropogoneae-Poaceae) and the structural and immunocytochemical characterization of these cells. **International Journal of Plant Science**, **156**: 270-289.
- Usukura, M.; Imaichi, R. & Kato, M. 1994. Leaf morphology of a facultative rheophyte *Farfugium japonicum* var. *luchuense* (Compositae). **Journal of Plant Research**, **107**: 263-267.
- Van Steenis, C.G.G.J. 1981. **Rheophytes of the World**. The Netherlands, Alphenan den Rijn, Sijthoff & Noordhoff, 407p.
- Van Steenis, C.G.G.J. 1987. Rheophytes of the world: supplement. **Allertonia**, **4**: 267-330.
- Vieira, R.C. 1995. Anatomia da folha de *Bauhinia radiata* Vell. em diferentes ambientes. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, **38**: 63-107.
- Vogelmann, T.C.; Bornman, J.F. & Yates, D.J. 1996. Focusing of light by leaf epidermal cells. **Physiologia Plantarum** **98**: 43-56.
- Voleníková, M. & Tichá, I. 2001. Insertion profiles in stomatal density and sizes in *Nicotiana tabacum* L. plantlets. **Biologia Plantarum**, **44**: 161-165.
- Wergin, P.W.; Elmore, C.D.; Hanny, B.W. & Ingber, B.F. 1975. Ultrastructure of the Subglandular Cells from the Foliar Nectaries of Cotton in Relation to the Distribution of Plasmodesmata and the Symplastic Transport of Nectar. **American Journal of Botany**, **62**: 842-849.
- Wilkinson, H.P. 1979. The plant surface. Part I. Stomata. In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (Ed.). **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. I. 2^a Ed. Oxford, Claredon Press. pp. 97-117.
- Woodward, F.I. 1986. Ecophysiological studies on the shrub *Vaccinium myrtillus* L. taken from a wide altitudinal range. **Oecologia**, **70**: 580-586.

- Woodward, F.I. 1987. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels. **Nature**, **327**: 617-618.
- Woodward, F.I. & Bazzaz, F.A. 1988. The responses of stomatal density to CO₂ partial pressure. **Journal of Experimental Botany**, **39**: 1771-1781.
- Yamamoto, H. 2004. Role of the gelatinous layer on the origin of the physical properties of the tension wood. **Japan Wood Research Society**, **50**: 197-208.
- Yamamoto, H.; Abe, K.; Arakawa, Y.; Okuyama, T. & Gril, J. 2005. Role of the gelatinous layer (G-layer) on the origin of the physical properties of the tension wood of *Acer sieboldianum*. **Japan Wood Research Society**, **51**: 222-233.
- Zagdanska, B. & Kozdoj, J. 1994. Water stress-induced changes in morphology and anatomy of flag leaf of spring wheat. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, **63**: 61-66.