

---

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Instituto de Biociências**  
**Departamento de Botânica**

**M 19**

---

Universidade Federal do R. G. S.  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
Departamento de Botânica  
BIBLIOTECA

**Morfologia e anatomia foliar de algumas espécies do gênero *Relbunium* (Rubiaceae - Rubiaceae) - Secção I (*sensu* Ehrendorfer)**

Universidade Federal do R. G. S.  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
Departamento de Botânica  
BIBLIOTECA

Cléo Rodrigo Bressan

Orientadora: Eliana C. M. Nunes

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Biociências  
Departamento de Botânica  
BIBLIOTECA

Porto Alegre

1997

---

Universidade Federal do R. G. S.  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
Departamento de Botânica  
BIBLIOTECA

Universidade Federal do R. G. S.  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
Departamento de Botânica  
BIBLIOTECA

## Índice:

1. Introdução .....	2
2. Material e Métodos .....	4
3. Resultados	
3.1. Aspectos morfológicos e anatômicos das espécies observadas	
3.1.1. <i>R. nigro-ramosum</i> .....	7
3.1.2. <i>R. richardianum</i> .....	8
3.1.3. <i>R. equisetoides</i> .....	9
3.1.4. <i>R. vile</i> .....	10
3.1.5. <i>R. hypocarpium</i> .....	11
3.1.6. <i>R. rupestre</i> .....	12
3.1.7. <i>R. gracillimum</i> .....	13
3.1.8. <i>R. indecorum</i> .....	14
3.1.9. <i>R. buxifolium</i> .....	15
3.1.10. <i>R. noxium</i> .....	16
3.1.11. <i>R. valantioides</i> .....	17
3.1.12. <i>R. paulense</i> .....	18
3.2. Aspectos gerais das estruturas secretoras e excretoras	
3.2.1. Hidatódio.....	19
3.2.2. Células Secretoras.....	21
3.2.3. Cristais.....	21
4. Discussão.....	23
5. Conclusões.....	29
6. Bibliografia.....	32
7. Anexos.....	37

## 1. INTRODUÇÃO

A família Rubiaceae Juss., mundialmente distribuída, constitui-se numa das maiores famílias do Reino Vegetal, com 637 gêneros e cerca de 10.700 espécies (Mabberley, 1987 *apud* Robbrecht, 1988). A tribo Rubieae constitui-se de 15 gêneros incluindo-se entre estes o gênero *Relbunium* (Endl.). De acordo com Robbrecht (1988), esta é a tribo da família Rubiaceae que possui o maior grau de especialização ao hábito herbáceo.

O gênero *Relbunium* possui distribuição predominantemente neotropical com muitas das suas espécies encontradas nas regiões subtropicais e temperadas da América do Sul, especialmente no sul do Brasil, Uruguai e Argentina, possuindo seu centro de diversificação no sul do Brasil (Ehrendorfer, 1955; Porto & Mariath, 1975; Porto *et alii*, 1977; Winge *et alii*, 1980)

Ehrendorfer (1955), baseando-se exclusivamente em aspectos morfológicos, realiza uma ampla revisão do gênero *Relbunium*, analisando taxonomicamente 30 espécies até então descritas e reunindo dados sobre ecologia e distribuição geográfica das mesmas, agrupando-as em secções, subsecções e séries, além disso, lança algumas hipóteses sobre a provável evolução do gênero. A secção I (*sensu* Ehrendorfer), abordada neste trabalho, caracteriza-se basicamente por apresentar folhas involucrais e estípulas iguais, podendo estas últimas, eventualmente, serem reduzidas.

Pesquisas relacionadas com a atividade da regulação gênica (Schiengold, 1985; Freitas, 1989), análise eletroforética e cromatográfica (Schiengold, 1985; Bonato *et alii*), isoesterásica (Motta, 1981; Cavalli - Molina, 1984) e isozímica (Cavalli, 1976; Detoni, 1976; Cavalli - Molina *et alii*, 1989), foram realizadas para o gênero *Relbunium*.

Mariath (1974) e Porto *et alii* (1977) estabelecem dados sobre a taxonomia e a distribuição de espécies de *Relbunium*, bem como sobre o desenvolvimento das estruturas reprodutoras de *Relbunium hypocarpium*, enquanto a reprodução desta espécie foi esclarecida por Mariath (1990).

Estudos pertinentes à morfologia e anatomia (Mariath, 1979; Nunes *et alii*, 1994) sugerem que dados morfo-anatômicos tanto quantitativos como qualitativos auxiliam no esclarecimento da sistemática do gênero. Holm (1907) ir fere que estudos

sobre a morfologia e a anatomia são de utilidade para distinguir gêneros e espécies vagamente descritos ou insuficientemente comparados. Vários autores consideram imprescindível para o estabelecimento de espécies a inclusão de dados anatômicos na descrição destas (Accorsi, 1948; Metcalfe & Chalk, 1979; Verdcourt, 1958; Dickson, 1970; Koek-Noorman, 1977; Tilney *et alii*, 1988).

O presente trabalho tem por objetivos analisar algumas espécies da secção I do gênero *Relbunium* quanto aos seus aspectos morfo-anatômicos foliares finalizando desta forma os estudos que abrangem as três secções propostas para o gênero por Ehrendorfer (1955).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico deste trabalho abrange as seguintes espécies da seção I do gênero *Relbunium*: *R. nigro-ramosum* Ehrendf., *R. richardianum* (Gill. ex Hook. et Arn.) Hicken, *R. equisetoides* (Cham. et Schlecht.) Ehrendf., *R. vile* (Cham. et Schlecht.) K. Schum., *R. hypocarpium* (L.) Hemsl., *R. rupestre* (Gardn.) Ehrendf., *R. gracillimum* Ehrendf., *R. indecorum* (Cham. et Schlecht.) Ehrendf., *R. buxifolium* K. Schum., *R. noxium* (St. Hil.) K. Schum., *R. valantoides* (Cham. et Schelecht.) K. Schum., *R. paulense* Standl.. Espécies pertencentes à 10 outros gêneros da tribo Rubieae foram analisadas quanto à ocorrência do hidatódios, e são as seguintes: *Asperula hirta* Ram., *Crucianella rupestris* Juss., *Cruciata laevipes* Opiz, *Didymaea mexicana* Hook. f., *Galium mollugo* L., *Mericarpacea vaillantoides* Boiss., *Phuopsis stylosa* Jackson, *Rubia angustifolia* L., *Sherardia arvensis* L. e *Valantia hispida* L.

Este trabalho, refere-se as folhas do sétimo nó, pois de acordo com Motta (1981), em *Relbunium hypocarpium* todas as bandas esterásicas presentes em órgãos adultos estão ativadas nas folhas à partir do sexto nó. Folhas e estípulas foram consideradas equivalentes, já que na tribo Rubieae as estípulas são foliáceas assemelhando-se morfológica e anatomicamente às folhas verdadeiras (Bremekamp, 1966; Dempster, 1973; Jeune, 1980; Robrecht & Puff, 1986; Robrecht, 1988).

Para fins de comparação quanto ao tamanho dos pêlos ocorrentes na lâmina, estipulou-se três categorias: pêlos curtos (<300  $\mu\text{m}$ ), pêlos médios (300 - 600  $\mu\text{m}$ ) e longos (>600  $\mu\text{m}$ ).

A forma da lâmina foliar e sua venação foram descritos segundo a classificação proposta por Hickey (1973). O cálculo da densidade e do índice estomático, bem como a classificação do tipo de estômatos, foram realizados segundo o proposto por Wilkinson (1979).

As observações morfológicas foram realizadas em plantas depositadas no herbário do Departamento de Botânica (ICN) , do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e em amostras de material coletado pela equipe participante do projeto *Relbunium*, as quais foram fixadas em FAA 70 Gl (Johansen, 1940) ou Allen Bowin II (Sass, 1940) e preservados em álcool 70 Gl. Estas

amostras encontram-se depositadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e também foram utilizadas para análise das estruturas anatômicas. O material coletado durante o andamento do projeto foi fixado em Glutaraldeído pH 6,4 e 7,2 (Gabriel, 1982) ou Allen Bowin II (Sass, 1940) e preservados em álcool 70 Gl. O material utilizado para o estudo das estruturas secretoras -hidatódio e células secretoras - em M.E.T. (Microscopia Eletrônica de Transmissão) e M.E.V. (Microscopia Eletrônica de Varredura) foi fixado em Glutaraldeído pH 7,2 e Tetróxido de Ósmio pH 7,2 e processado segundo Gabriel (1982) e O'Brien & McCully, (1981), respectivamente.

Lâminas semi-permanentes foram montadas em gelatina glicerínada com folhas diafanizadas em solução aquosa de hipoclorito de sódio em concentrações variadas (Handro, 1964; Felipe & Alencastro, 1966). Para confecção das lâminas permanentes utilizou-se desidratação em série alcoólica e inclusão em metacrilato (Rudell, 1967) e parafina (Johansen, 1940; Sass, 1940). Os cortes seriados obtidos com o uso de parafina, com espessura média de 10 micrômetros, foram distendidos em placa aquecedora (Marca Olidef CZ, modelo - V.V.) e aderidos às lâminas com adesivo de Bissing (Bissing, 1974), sendo corados com a técnica Safranina x Azul de Astra (Gerlach, 1977). Já as secções feitas em metacrilato, com espessura de 3-5 micrômetros, foram distendidos em banho histológico e corados com Azul de Toluidina, juntamente com a reação PAS (O'Brien & McCully, 1981). Todas as lâminas permanentes foram montadas utilizando-se Bálsamo do Canadá Sintético (Rhenohistol). Para as duas técnicas de inclusão utilizou-se micrótomo de guias para obtenção das secções (Marca Leitz, modelo 1400).

Utilizou-se para reações histoquímicas Sudan IV (Gerlach, 1977), Comassie Blue (Southworth, 1973), Vermelho de Rutênio (Southworth, 1973) e reativo de Steimetz modificado (Lima, 1963).

A análise morfológica foi realizada com o auxílio de microscópio estereoscópico (marca Wild, modelo M7A). Estudos anatômicos e representações foram obtidos com auxílio de microscópio óptico de campo claro (marca Leitz, modelo Dialux 20 EB) com câmara clara aclopada. As lâminas foram também observadas em microscópio óptico de polarização (marca Zeiss, modelo Amplival pol.). As fotomicrografias foram obtidas

utilizando o microscópios citados acoplando-se câmara fotográfica (Leitz, modelo Leica MD-2).

No material processado para M.E.V. utilizou-se ponto crítico e metalizador da marca Balzers, modelo CPD 030 e SCD 050 com sistema *sputtering*, respectivamente, e microscópio da marca Jeol, série 300. Para a M.E.T, utilizou-se ultramicrótomo da marca Reichert-Jung, modelo Ultracut - E, e microscópio da marca Zeiss, modelo EM 010.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. Aspectos morfológicos e anatômicos das espécies observadas**

##### **3.1.1. *R. nigro-ramosum* Ehrendf.**

Nesta espécie a folha apresenta-se com 4,3 a 9,7 mm de comprimento (graf. 01) e 1,7 a 3,3 mm de largura (gráf. 02), sendo levemente lanceolada, algumas vezes oblonga estreita ou elíptica estreita. As folhas variam de pilosas a escassamente pilosas, com pêlos curtos à médios (gráf. 03) normalmente dispersos por toda a lâmina e orientados para o ápice na face adaxial, enquanto que na face abaxial estão restritos à nervura mediana, sem orientação definida e em geral maiores do que aqueles da face adaxial. A margem é inteira e plana, com pêlos geralmente voltados para baixo, ou, distendidos sem definir orientação. O ápice é levemente agudo, geralmente próximo de um ângulo reto. A base varia de aguda a obtusa (tab. 01, fig. 01). A venação foliar caracteriza-se como do tipo pinada camptódroma eucamptódroma.

A folha apresenta uma espessura média de 156,25  $\mu\text{m}$ . O parênquima paliçádico apresenta-se biestratificado com células curtas, sendo que a camada mais interna apresenta características intermediárias com o parênquima esponjoso, o qual é mais compactado do que na maioria das espécies observadas.

Feixes de ráfides em idioblastos morfológicamente diferenciados sempre ocorrem e geralmente apresentam-se levemente voltados para a margem podendo muitas vezes a densidade na lâmina foliar ser um pouco maior na metade basal da folha. Foi observada a ocorrência de pequenas ráfides nas células do parênquima paliçádico em todas as amostras, mas geralmente em baixa densidade. Muitas vezes observa-se a ocorrência de grande quantidade de pequenos monocristais epicuticulares, assemelhando-se à uma areia cristalina (tab. 02).

Os estômatos caracterizam-se geralmente como do tipo paracítico, apresentando densidade estomática que varia entre 106,4 a 225,9 est./mm<sup>2</sup>. O índice estomático observado nesta espécie apresenta uma variação de 26,1 a 31,1 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras, nesta espécie, ocorrem formando um grupamento apical e também dispersas pela lâmina em quantidade variada. As células que ocorrem dispersas pela lâmina podem muitas vezes formar pequenos grupos de 2 a 5 células.

A estrutura vascular do hidatódio está formada basicamente pela profusão dos elementos vasculares da nervura mediana. As nervuras laterais não apresentam nenhuma proliferação de elementos xilemáticos e geralmente conectam-se à vascularização do hidatódio (tab. 04).

### 3.1.2 - *R. richardianum* (Gill. ex Hook. et Arn.) Hicken

A folha possui 3,7 a 6,6 mm de comprimento (gráf. 01) e 0,8 a 1,6 mm de largura (gráf. 02), apresentando o maior índice da razão comprimento/largura. Caracteriza-se como oblonga estreita ou, algumas vezes, levemente elíptica-estreita. Geralmente não possui indumento, no entanto, apresentam-se algumas vezes com poucos pêlos dispersos e de tamanho médio à curto (gráf. 03). A margem é inteira, plana e levemente espessada em toda a sua extensão. O ápice foliar é comumente agudo, raramente ultrapassa 90° e a base foliar caracteriza-se como aguda (tab. 01, fig. 01). A venação foliar é do tipo pinada camptódroma eucamptódroma.

A folha possui uma espessura média de 117,3 µm e é possível inferir-se que a epiderme voltada para a face adaxial tem maior espessura (21,2 µm) do que a epiderme abaxial (14,7 µm), o mesmo ocorrendo comparando-se o parênquima paliçádico com o parênquima esponjoso (gráf. 04). O parênquima paliçádico é uniestratificado possuindo células alongadas. Já o parênquima esponjoso, apresenta células com forma irregular, formando grandes espaços intercelulares e, desta forma, distinguindo-se perfeitamente do parênquima paliçádico.

Os feixes de ráfides em idioblastos ocorrem distribuídos por toda a lâmina paralelamente à nervura mediana (fig. 17). Pequenas ráfides nas células do parênquima paliçádico quase sempre ocorrem e em pequena quantidade. Os monocristais na epiderme são raros, enquanto agregados epicuticulares são comuns, mas em baixa densidade (tab. 02).

A folha é anfiestomática e os estômatos classificam-se predominantemente como do tipo paracítico, além de ocorrer também o tipo paralelocítico, demonstrando uma densidade que varia entre 146,7 a 257,2 est./mm<sup>2</sup> na face abaxial (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras ocorrem somente formando um agrupamento apical com número variado de células.

A estrutura vascular do hidatódio, assim como em *R. nigro-ramosum*, está formada basicamente pela profusão dos elementos vasculares da nervura mediana. As nervuras laterais podem ou não conectarem-se à vascularização do hidatódio, porém não apresentando proliferação de elementos xilemáticos (tab. 04).

### 3.1.3 - *R. equisetoides* (Cham. et Schlecht.) Ehrendf.

A folha é reduzida à uma escama triangular e sempre glabra. Mede 1,7 a 1,9 mm de comprimento (gráf. 01) e 0,8 a 1,0 mm de largura (gráf. 02). A margem é inteira, plana e com colênquima bem desenvolvido (similar ao da nervura mediana). O ápice é agudo (tab. 01, fig. 01). Apresentam, assim como a maioria das espécies da secção, venação do tipo pinada camptódroma eucamptódroma.

O mesofilo apresenta-se indiferenciado com células aproximadamente isodiamétricas. Diferente das demais espécies, apresenta células evidentemente mais altas na porção da epiderme voltada para a face abaxial que na aquela voltada para a face adaxial.

A bainha perivascular, na maioria das vezes, possui pequenos monocristais em quantidade variável. Monocristais epicuticulares de vários tamanhos foram observados em todas as amostras ocorrendo sob a forma de agregados algumas vezes com dimensões bem maiores que os observados nas demais espécies. Feixes de ráfides não foram encontrados em nenhuma das amostras observadas ao microscópio de polarização. No entanto, idioblastos foram detectados em secções transversais analisadas ao microscópio óptico de campo claro (tab. 02).

*R. equisetoides*, assim como *R. richardianum*, apresenta estômatos distribuídos em ambas as faces.

As células secretoras geralmente não ocorrem nesta espécie, sendo observadas, eventualmente, próximos à lesões da folha.

A estrutura vascular do hidatódio assemelha-se à estrutura básica observada na maioria das espécies da secção I, apresentando uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla na nervura mediana e em menor grau nas nervuras laterais.

### 3.1.4 - *R. vile* (Cham. et Schlecht.) K. Schum.

As medidas foliares variam entre 4,5 a 9,5 mm de comprimento (gráf. 01) e 1,8 a 3,6 mm de largura (gráf. 02). A folha possui forma oblonga ou levemente elíptica, pilosa ou escassamente pilosa, porém o aspecto é glabrescente devido ao tamanho bastante reduzido e à forma de seus pêlos, que é tipicamente recurvada. Na face adaxial as folhas são geralmente glabras, porém algumas vezes ocorrem pêlos dispersos pela lâmina e voltados para o ápice. Na face abaxial são restritos à nervura mediana e dispõem-se ocasionalmente na mesma orientação. Na margem podem ocorrer uma ou mais fileiras de pêlos e estão geralmente orientados para o ápice e voltados para baixo. A margem é inteira, com aspecto rugoso devido à seus pêlos reduzidos (fig. 06) e geralmente recurvados. O ápice é basicamente arredondado, sutilmente mucronado. A base é comumente aguda (tab. 01, fig. 01). A venação foliar observada nesta espécie é a do tipo pinada camptódroma eucamptódroma.

A espessura foliar corresponde a 132,9  $\mu\text{m}$  verificando-se maior espessura da epiderme voltada para a face adaxial e do parênquima paliçádico, comparando-se com a epiderme voltada para a face abaxial e o parênquima esponjoso, respectivamente (gráf. 04). Verifica-se comumente uma biestratificação pouco definida do parênquima paliçádico e o parênquima esponjoso assemelha-se ao observado em *R. richardianum*.

Feixes de ráfides em idioblastos ocorrem por toda a lâmina paralelos à nervura mediana ou, eventualmente, levemente voltados para a margem. Algumas vezes a densidade desses cristais pode ser menor no terço basal da folha. Nota-se a ocorrência, por vezes, de ráfides nas células do parênquima paliçádico. Monocristais podem ocorrer em pequena quantidade dispondo-se na bainha perivascular e na epiderme. Cristais epicuticulares são comuns, mas quase sempre ocorrem em pequena quantidade (tab. 02).

Os estômatos ocorrem apenas na epiderme voltada para a face abaxial, sendo classificados como paracíticos e paralelocíticos. Esta espécie apresenta a mais alta densidade estomática, variando de 210,5 a 275,6 est./mm<sup>2</sup>, e a menor variabilidade observada (desvio padrão - percentual - de 13,40%). O índice estomático varia de 26,1 a 32,1 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras ocorrem sob a forma do agrupamento apical e podem ou não ocorrerem dispersas pela lâmina. Quando assim ocorrem, algumas vezes restringem-se aos 2/3 distais da folha.

Nesta espécie, a estrutura vascular do hidatódio é a do tipo mais comumente encontrado nas espécies observadas desta secção, apresentando uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana (tab. 04).

### 3.1.5 - *R. hypocarpium* (L.) Hemsl.

*R. hypocarpium* é a espécie que apresenta a lâmina foliar de maiores dimensões (9,8 a 22,1 mm de comprimento e 4,9 a 11,4 mm de largura) e um dos menores índices na razão entre comprimento e largura (gráf. 1 e 2). A folha é elíptica, algumas vezes tendendo à obovada estreita ou então oblonga. Apresenta densidade de pêlos bastante variável, mas geralmente é pilosa ou densamente pilosa com pêlos médios (gráf. 03) dispersos por toda a lâmina em ambas as faces, sendo que aqueles ocorrentes na face adaxial estão orientados ao ápice e os ocorrentes na face abaxial e no bordo orientam-se em direção à base. Na face abaxial, apesar de ocorrerem dispersos em toda a lâmina, localizam-se predominantemente sobre a nervura mediana. Possui margem inteira, muitas vezes com pêlos direcionados à base da folha. O ápice varia de obtuso à arredondado (em geral mucronado), raramente agudo. A base é na maioria das vezes aguda, mas algumas vezes pode ser obtusa (tab. 01, fig. 01). Quanto à venação foliar, geralmente classifica-se como do tipo pinada camptódroma eucamptódroma porém, eventualmente, pode-se observar a ocorrência de uma forma tendendo à pinada acródroma incompleta. As nervuras, assim como nas demais espécies, são do tipo colateral (fig. 05).

A espessura da folha é de 126,0  $\mu\text{m}$ , apresentando uma altura de 23,9  $\mu\text{m}$  para a epiderme adaxial e 17,0  $\mu\text{m}$  para a epiderme abaxial. O parênquima paliçádico e o esponjoso não apresentam diferenças relevantes quando comparados entre si quanto à espessura (gráf. 04). Evidencia-se uma predominância de uniestratificação do parênquima paliçádico, possuindo células muitas vezes alongadas. O parênquima esponjoso é semelhante ao descrito para *R. richardianum* (fig. 03).

Os feixes de ráfides ocorrem dispersos por toda a lâmina e, muitas vezes, levemente voltados para a margem. A ocorrência de pequenas ráfides nas células do parênquima paliádico é bastante comum nesta espécie, normalmente em quantidade expressiva. Cristais epicuticulares e monocristais na bainha perivascular geralmente ocorrem e em quantidade variável, enquanto monocristais epidérmicos podem ou não ocorrer (tab. 02).

Esta espécie possui estômatos predominantemente do tipo paralelocítico com a menor densidade estomática verificada (25,3 a 147,0 est./mm<sup>2</sup>) e a maior variabilidade (desvio padrão - percentual - de 70.58%). O índice estomático varia de 18,7 a 28,0 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras sempre ocorrem formando o agrupamento apical e muitas vezes estão dispersas pela lâmina podendo formar pequenos grupos de até 4 células (fig. 15).

A estrutura vascular do hidatódio apresenta uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla, tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana. Nesta espécie é mais comum a ocorrência de uma maior proliferação dos elementos xilemáticos nas nervuras laterais do que na nervura mediana (tab. 04, fig. 09).

### 3.1.6 - *R. rupestre* (Gardn.) Ehrendf.

A folha possui comprimento de 2,7 a 6,4 mm (gráf. 01) e largura de 1,6 a 2,4 mm (gráf. 02), de forma oblonga ou, algumas vezes, levemente ovada estreita, as menores são geralmente elípticas. São predominantemente pilosas, com pêlos médios (gráf. 03) geralmente restritos à nervura mediana quando ocorrentes na face adaxial, podendo algumas vezes estarem distribuídos pela lâmina e voltados para o ápice. Quando ocorrentes na face abaxial, ocorrem sempre restritos à nervura mediana e raramente apresentam orientação definida. A margem é inteira e claramente revoluta com pêlos voltados para baixo. O ápice é obtuso mucronado, geralmente próximo de um ângulo reto, porém algumas folhas podem apresentar ápice agudo. A base é obtusa podendo, em alguns casos, caracterizar-se como aguda (tab. 01, fig. 01).

*R. rupestre* possui uma espessura foliar de 143,50 µm, sendo a face da epiderme voltada para a face adaxial mais espessa do que a porção desta voltada para a face

abaxial, notando-se também uma maior espessura do parênquima paliçádico quando comparado ao parênquima esponjoso (gráf. 04). O mesofilo apresenta uma biestratificação do parênquima paliçádico e possui células pouco alongadas. O parênquima esponjoso assemelha-se ao padrão já descrito anteriormente para a maioria das espécies desta secção (fig. 04).

Os feixes de ráfides ocorrem dispersos por toda a lâmina orientados paralelamente à nervura mediana, raramente encontram-se voltadas para a margem. As ráfides nas células do parênquima paliçádico e os monocristais na bainha perivascular são bastante comuns, porém, as primeiras, ocorrem quase sempre em pequena quantidade. Podem ocorrer, apesar de serem raros, cristais epidérmicos e epicuticulares em pequena quantidade (tab. 02).

Os estômatos são do tipo paralelocíticos e possuem uma densidade estomática de 143,6 a 248,2 est./mm<sup>2</sup>. O índice estomático varia de 24,6 a 32,3 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras ocorrem formando o agrupamento apical e dispersas isoladamente pela lâmina em número variado. Raramente observa-se a ocorrência de pequenos agrupamentos ou células pareadas dispersas.

O hidatódio em *R. rupestre* apresenta a estrutura vascular característica da secção I, apresentando uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana (tab. 04).

### 3.1.7 - *R. gracillimum* Ehrendf.

A folha possui 6,3 a 12,1 mm de comprimento (gráf. 01) e 2,6 a 4,2 mm de largura (gráf. 02), apresenta forma obovada estreita à oblanceolada, variando de pilosas à densamente pilosas, com pêlos médios (gráf. 03) dispersos por toda a lâmina em ambas as faces. Na face abaxial os pêlos ocorrem preferencialmente sobre a nervura mediana e em geral não possuem uma orientação característica, enquanto na face adaxial, distribuem-se mais homoganeamente sobre a lâmina e direcionam-se ao ápice. A margem é inteira e os pêlos encontram-se voltados para baixo, sem evidenciar qualquer orientação. O ápice é obtuso mucronado e a base aguda, variando entre normal e cuneada (tab. 01, fig. 01).

A uniestratificação do parênquima paliçádico é bem evidente, possui células alongadas e uma clara definição com o parênquima esponjoso. Esta espécie foi a única que apresentou o parênquima esponjoso mais espesso que o paliçádico (gráf. 04).

Os feixes de ráfides distribuem-se por toda a lâmina e podem estar levemente voltados à margem ou paralelos à nervura mediana. A ocorrência de ráfides em células do parênquima paliçádico é bastante expressiva. Monocristais na bainha perivascular são raros e ocorrem, algumas vezes, em pequena quantidade. Na epiderme apesar da baixa densidade, quase sempre estão presentes (tab. 02).

Os estômatos ocorrentes em *R. gracillimum* são dos tipos paracítico e paralelocítico, possuindo uma densidade estomática de 77,0 a 161,1 est./mm<sup>2</sup> e índice estomático de 23,3 a 29,3 (gráf 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras ocorrem dispersas pela lâmina e formando o agrupamento apical, sendo comumente mais alongadas que as observadas na maioria das espécies.

A estrutura vascular do hidatódio apresenta o tipo de formação mais comumente encontrado nas espécies observadas da secção, apresentando uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla, tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana (tab. 04).

### 3.1.8. *R. indecorum* (Cham. et Schlecht.) Ehrendf.

A folha possui 6,1 a 10,9 mm de comprimento (gráf. 01) e 1,6 a 3,2 mm de largura (gráf. 02), geralmente oblanceolada, algumas vezes aproximando-se de elíptica estreita e mais raramente oblonga estreita. Comumente são glabras, mas algumas vezes podem ocorrer pêlos curtos (gráf. 03) dispersos por toda a lâmina e orientados para o ápice na face adaxial. Quando ocorrentes na face abaxial restringem-se à nervura mediana e normalmente não apresentam orientação definida, enquanto que na margem estão voltados para baixo e orientados à base. O ápice é obtuso mucronado, eventualmente agudo. A base caracteriza-se como aguda normal (tab. 01, fig. 01).

Esta espécie possui a menor espessura foliar dentre as espécies (115,0 µm). Assim como nas demais espécies, também verifica-se maior espessura da epiderme voltada para a face adaxial comparando-a com a porção desta ocorrente na face abaxial, bem como o parênquima paliçádico levemente mais espesso do que o parênquima

esponjoso (gráf. 04). A estratificação do mesofilo de *R. indecorum* é similar a observada em *R. nigro-ramosum*.

Feixes de ráfides ocorrem dispersos por toda lâmina distribuindo-se paralelamente à nervura mediana. Algumas vezes podem estar levemente voltados para a margem. Ráfides em células do parênquima paliçádico sempre ocorrem, porém a densidade é bastante variável. Monocristais na bainha perivascular e sobre a cutícula ocorrem ocasionalmente sem grande expressão (tab. 02).

A densidade estomática varia de 87,6 a 153,0 est./mm<sup>2</sup>, apresentando estômatos do tipo paralelocíticos que ocorrem apenas na epiderme voltada para a face abaxial. O índice estomático varia de 24,7 a 31,5 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras ocorrem sob a forma de agrupamento apical e dispersas pela lâmina geralmente de maneira isolada. Estas células, assim como em *R. gracillimum*, são mais alongadas que as observadas em outras espécies do gênero.

O hidatódio apresenta o tipo de estrutura vascular mais comumente encontrado nas espécies observadas da secção, apresentando profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana (tab. 04).

### 3.1.9. *R. buxifolium* K. Schum.

A folha desta espécie apresenta um comprimento de 6,5 a 11,3 mm (gráf. 01) e largura de 2,6 a 4,8 mm (gráf. 02), é geralmente elíptica, podendo ser levemente ovada estreita ou oblonga, com aspecto glabrescente ou esparsamente pilosa com pêlos curtos (gráf. 03). Esses ocorrem somente sobre a nervura mediana em ambas as faces, sendo que aqueles localizados na face adaxial estão orientados ao ápice e, os ocorrentes na face abaxial, à base. A margem é inteira com pêlos voltados para baixo e orientados à base. O ápice é obtuso e evidentemente mucronado e a base é obtusa normal. Esta espécie foi a que apresentou a maior diferença relativa entre os pêlos da face abaxial e adaxial (tab. 01, fig. 01).

*R. buxifolium* apresenta a maior espessura foliar constatada entre as espécies (278,8 µm) em virtude de seu espesso mesofilo (parênquima paliçádico com 118,0 µm e parênquima esponjoso com 114,5 µm). A epiderme voltada para a face adaxial também mostra-se mais espessa do que a voltada para a face abaxial (gráf. 04). O parênquima

paliçádico não apresenta uma estratificação muito clara (bi e uniestratificado) e o parênquima esponjoso assemelha-se ao de *R. richardianum*.

Os feixes de ráfides ocorrem dispersos por toda a lâmina e muitas vezes encontram-se levemente voltados para a margem. Geralmente ocorre uma pequena quantidade de células do parênquima paliçádico apresentando ráfides. Monocristais epidérmicos e epicuticulares podem ser ocasionalmente encontrados (tab. 02).

A folha é hipoestomática e possui uma densidade estomática que varia de 109,9 a 205,1 est./mm<sup>2</sup>. Os estômatos classificando-se como do tipo paralelocítico. O índice estomático varia de 30,8 a 33,8 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

Células secretoras ocorrem formando o agrupamento apical e também encontram-se dispersas pela lâmina, geralmente formando pequenos grupos de 2 a 3 células ou, ocasionalmente, com um número maior de células.

O padrão de vascularização observado no hidatódio de *R. buxifolium* assemelha-se ao comumente observado na secção, apresentando uma proliferação de elementos xilemáticos tanto na nervura mediana como nas nervuras laterais (tab. 04).

### 3.1.10. *R. noxium* (St. Hil.) K. Schum.

A folha possui medidas de comprimento e largura significativas comparado-as às demais espécies (8,6 a 14,2 mm e 5,1 a 6,5 mm, respectivamente), (gráf. 01 e 02). A forma observada é elíptica, variando de esparsamente pilosa à pilosa, com pêlos médios (graf. 03) dispersos por toda a lâmina em ambas as faces. Na epiderme voltada para a face abaxial dispõem-se, preferencialmente, sobre as três principais nervuras e orientam-se para a base, enquanto que aqueles ocorrentes na epiderme voltada para a face adaxial orientam-se para o ápice. A margem é inteira, podendo ser levemente revoluta, com pêlos direcionados à base e voltados para baixo. O ápice é obtuso mucronado e a forma da base varia de aguda a obtusa, algumas vezes é acuminada (tab. 01, fig. 01).

A espessura da folha é de 139,4 µm, sendo que a epiderme voltada para a face adaxial apresenta-se mais espessa do que a localizada na face abaxial e os tecidos fotossintetizantes praticamente se equivalem em relação à espessura (gráf. 04). Observa-se uma clara definição do parênquima paliçádico, que é predominantemente uniestratificado e constitui-se de células evidentemente alongadas.

Os feixes de ráfides ocorrem dispersos por toda a lâmina e geralmente apresentam-se levemente voltados para a margem. As ráfides em células do parênquima paliçádico, assim como os monocristais na bainha perivascular e nas células epidérmicas podem ser detectados, muitas vezes, em grande quantidade. Eventualmente pode-se observar escassos cristais epicuticulares (tab. 02).

Os estômatos apresentam-se predominantemente como do tipo paralelocítico, com uma densidade estomática variando entre 94,5 e 193,1 est./mm<sup>2</sup>, sempre restritos à face abaxial. O índice estomático observado nesta espécie apresentou uma variação de 31 a 39,2 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras ocorrem sob a forma do agrupamento apical e, ainda, dispersas pela lâmina isoladamente ou formando pequenos grupos de duas ou mais células.

Nesta espécie, a vascularização do hidatódio apresenta o padrão predominantemente encontrado nas espécies desta secção, possuindo uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana (tab. 04).

### **3.1.11. *R. valantioides* (Cham. et Schelecht.) K. Schum.**

*R. valantioides* possui folhas com 5,5 a 10,5 mm de comprimento (gráf. 01) e 3,5 a 6,1 mm de largura (gráf. 02), geralmente ovada, podendo ser elíptica larga. Muitas vezes apresenta-se densamente pilosa, com pêlos longos (gráf. 03) distribuídos por toda a lâmina e voltados para o ápice quando ocorrentes na face adaxial e restritos às três principais nervuras apresentando uma orientação indefinida na face abaxial. Na margem, que é inteira, encontram-se estendidos no plano da lâmina (fig. 08). O ápice varia entre agudo e obtuso (geralmente próximo de um ângulo reto), quando obtuso, na maioria das vezes é mucronado. A base caracteriza-se como obtusa (tab. 01, fig. 01).

A espessura foliar desta espécie é de 120,1 µm e possui a maior espessura observada tanto para a epiderme voltada para a face adaxial quanto para a epiderme voltada para a face abaxial entre as espécies (29,4 µm e 24,8 µm, respectivamente). As espessuras dos parênquimas paliçádico e esponjoso também demonstram-se elevadas quando comparadas com as demais espécies (gráf. 04). O parênquima paliçádico é

predominantemente uniestratificado com células alongadas, enquanto o parênquima esponjoso assemelha-se ao descrito para *R. richardianum*.

Os feixes de ráfides ocorrem por toda a lâmina e geralmente estão voltados para a margem (fig. 18). Ráfides em células do parênquima paliádico e monocristais em células da bainha perivascular ocorrem variadamente, assim como a densidade com que se apresentam. Cristais epicuticulares são comuns, porém sempre em quantidade reduzida (tab. 02).

*R. valantioides* possui estômatos somente na epiderme localizada na face abaxial, do tipo paracítico e paralelocítico, com uma densidade estomática variando de 127,0 a 160,7 est./mm<sup>2</sup>. O índice estomático observado varia de 24,6 a 31,6 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

Células secretoras ocorrem formando agrupamento apical e dispersas pela lâmina podendo formar pequenos grupos que podem, eventualmente, apresentar até 7 ou 8 células.

A estrutura vascular do hidatódio também apresenta o padrão mais comumente encontrado nas espécies observadas da secção, apresentando uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana (tab. 04).

### 3.1.12. *R. paulense* Standl.

Esta espécie possui a lâmina foliar com a menor largura (0,9 a 1,3 mm) quando comparada com as demais (gráf. 02). O comprimento foliar corresponde à 3,5 a 5,3 mm (gráf. 01), com forma foliar comumente elíptica estreita, algumas vezes oblonga estreita e mais raramente levemente lanceolada. É esparsamente pilosa com pêlos bastante curtos e cônicos restritos à margem e à porção apical da nervura mediana na face adaxial. Observa-se que no primeiro caso orientam-se à base e, no segundo, ao ápice. Na epiderme voltada para a face abaxial são raros, e quando presentes, ocorrem somente sobre a nervura mediana na porção mais basal desta. A margem é inteira, muitas vezes revoluta. O ápice é marcadamente agudo e afilado, aproximando-se à forma acuminada. Apesar de *R. vile* também apresentar pêlos claramente cônicos, estes diferem dos

encontrados em *R. paulense* pela forma recurvada não observada nesta espécie (fig. 07). A base apresenta-se como aguda normal (tab. 01, fig. 01).

Dados mensurais sobre a anatomia desta espécie bem como descrições qualitativas sobre a estrutura interna da folha não estão aqui relatados em virtude do estado de conservação das amostras deste material, inviabilizando a confecção de lâminas.

Os feixes de ráfides ocorrem dispersos por toda a lâmina com disposição paralela à nervura mediana. É comum encontrar-se ráfides em células do parênquima paliádico, no entanto, sua densidade é variável. Cristais epidérmicos podem ocorrer em pequena quantidade e cristais epicuticulares são bastante raros (tab. 03).

Os estômatos são do tipo paracítico, ocorrentes somente na face abaxial da folha com uma densidade estomática média de 164,93 est./mm<sup>2</sup>. O índice estomático observado varia de 27,8 a 35,2 (gráf. 05 e 06, tab. 03).

As células secretoras ocorrem formando o agrupamento apical e dispersas pela lâmina podendo formar pequenos grupos de 2 ou mais células.

Nesta espécie a estrutura vascular do hidatódio está formada unicamente pela nervura mediana, não sendo observada conexão de nervuras laterais à proliferação xilemática no ápice da nervura mediada (tab. 04).

### **3.2. Aspectos gerais das estruturas secretoras e excretoras**

#### **3.2.1. Hidatódio**

Em todas as espécies do gênero *Relbunium* e também em outros gêneros analisados da tribo Rubieae, observou-se a ocorrência de um hidatódio no ápice das folhas. No gênero *Relbunium* o hidatódio está presente na face adaxial do ápice foliar, evidenciando-se pela profusão dos elementos xilemáticos sob a forma de um "pincel" na porção apical da nervura mediana e pela presença de poros aquíferos na região mais distal da face adaxial do ápice foliar.

Na maioria das espécies da secção I, além da nervura mediana, podem também contribuir de forma significativa para a formação da estrutura vascular do hidatódio duas nervuras laterais, que fusionam-se à nervura mediana no ápice foliar formando uma

estrutura vascular única. Em algumas espécies a contribuição destas nervuras laterais é insignificante ou não ocorre.

A bainha perivascular está presente somente na face abaxial da estrutura vascular do hidatódio, enquanto que na face adaxial ela está ausente permitindo uma comunicação apoplástica direta entre os elementos vasculares e os poros aquíferos localizados na face adaxial (fig. 11 e 12).

Entre os elementos vasculares e a epiderme da face adaxial, ocorre uma pequena quantidade de tecido epitemático caracterizado por células de forma bastante irregular. Estas células formam um tecido bastante frouxo e com grandes espaços intercelulares que viabilizam a comunicação apoplástica dos traqueídeos diretamente com os poros aquíferos. A densidade de cloroplastídios e o aspecto das células epitemáticas na microscopia óptica são semelhantes às do parênquima esponjoso. Porém, diferentemente destas, nota-se nas células epitemáticas, quando observadas em MET, a presença de um grande número de projeções digitiformes nas paredes de suas células (fig. 13 e 14).

Estas projeções digitiformes são de natureza primária e pode-se notar uma camada mais hialina próximo à membrana plasmática da célula. Sua localização na célula e suas dimensões são variadas entre as espécies. Observa-se, associada à estas projeções, uma grande quantidade de RER e de mitocôndrias.

As células parenquimáticas do xilema, que estão diretamente associadas aos traqueídeos, apresentam uma estrutura citológica similar à das células epitemáticas. A forma das células do parênquima xilemático varia gradativamente da forma alongada para a forma irregular característica do tecido epitemático à medida que aproxima-se da região mais distal do ápice.

Os poros aquíferos assemelham-se morfológicamente aos estômatos (fig. 10), diferindo-se apenas por possuir uma forma geralmente um pouco mais ovalada e distribuem-se nas regiões mais distais da face adaxial do ápice foliar. Em espécies anfiestomáticas como *R. equisetoides* e *R. richardianum*, a diferenciação morfológica entre os poros aquíferos e os estômatos verdadeiros não é muito evidente.

O processo de secreção da água através do hidatódio, denominado de gutação, pôde ser observado em condições naturais em *R. hypocarpium* e *R. richardianum*, ocorrendo geralmente à noite ou nas primeiras horas da manhã.

### 3.2.2. Células Secretoras

A presença de células secretoras na lâmina foliar foi detectada em todas as espécies observadas de *Relbunium* em sua epiderme voltada para a face abaxial, exceto em *R. equisetoides*, onde foram constatadas somente em áreas da lâmina foliar que haviam sofrido lesões. Em todas as espécies que as apresentam, estas localizam-se na região apical formando um agrupamento de 10 a 30 células. Em muitas espécies também distribuem-se irregularmente pela lâmina foliar de forma isolada e em pequenos agrupamentos de 2 a 3 células (em algumas espécies estes agrupamentos dispersos pela lâmina podem, eventualmente, estarem compostos por mais de 15 células) (fig 15).

As células secretoras diferenciam-se das células epidérmicas ordinárias devido às suas grandes dimensões e pela ausência de sinuosidade nas suas paredes anticlinais, caracterizando-se citologicamente pela presença de um número elevado de pequenos vacúolos que ocupam quase a totalidade do lume celular (fig. 16). O uso do reativo Staimetz modificado e Sudan IV evidenciou nestes compartimentos celulares a presença de grande quantidade de substâncias lipofílicas, indicando que sejam provavelmente óleos essenciais.

A utilização de Comassie Blue em células vivas evidenciou a presença de grande quantidade de plastídios distribuídos perifericamente ao lume celular e que reagiram intensamente ao reagente para proteínas.

Em secções transversais, além de confirmar a localização dos plastídios, o uso deste reagente indicou a presença de grande quantidade de substâncias proteicas localizadas aparentemente no retículo endoplasmático da célula, sugerindo a possibilidade de uma secreção dessa natureza ocorrendo juntamente com a secreção de compostos lipofílicos.

### 3.2.3. Cristais

Na secção estudada, observou-se a ocorrência de cristais aparentemente de oxalato de cálcio na forma de ráfides, monocristais e formas agregadas destes últimos. As ráfides podem apresentar-se sob dois padrões: em idioblastos claramente evidenciados pelo seu tamanho e com agulhas dispendo-se em feixes bem ordenados (fig. 19); ou como pequenas agulhas desordenadas e com distribuição regular em células

do parênquima paliçádico (fig. 21), podendo eventualmente tais células apresentarem-se levemente maiores do que as demais. Os monocristais podem ser encontrados em células da bainha perivascular, em células epidérmicas e, ainda, sobre a cutícula.

A densidade dos idioblastos contendo grandes feixes de ráfides na lâmina foliar é variável entre as espécies, assim como suas dimensões. Estão localizados no mesofilo em posição intermediária entre os parênquimas paliçádico e esponjoso, sendo que as células adjacentes ao idioblasto dispõem-se radialmente em relação à este, podendo algumas vezes apresentar uma quantidade maior de amido de assimilação em seus cloroplastídios quando comparado com as demais células fotossintetizantes (fig. 20).

Monocristais ocorrentes na bainha perivascular (fig. 22) e na epiderme (fig. 23) são os menos freqüentes, estando ausentes ou ocorrendo em pequena quantidade na maioria das espécies. Sua forma varia entre esférica, ovada, prismática, rômbrica ou irregular. Os monocristais epidérmicos são verificados em ambas as faces da folha e na face abaxial nota-se uma disposição preferencial em células do aparelho estomático, especialmente nas células-guarda.

Os cristais epicuticulares (fig. 24) possuem morfologia bastante variada, porém é comum a forma irregular de pequenos monocristais que, ocasionalmente, assemelham-se a uma areia cristalina ou formam agregados que eventualmente são superiores a 500 $\mu$ m. Cristais rômbricos ou prismáticos também são encontrados sobre a cutícula.

#### 4. DISCUSSÃO

Todas espécies analisadas do gênero *Relbunium* apresentaram folhas simples, sésseis, opostas e com margem inteira, dispostas em verticilos de quatro peças onde duas destas correspondem à estípulas foliáceas. A presença de estípulas foliáceas é comum à todas as espécies da tribo Rubieae (Bremekamp, 1966; Dempster, 1973; Jeune, 1980; Rutishauser, 1983).

As dimensões e a forma da lâmina foliar são variáveis entre as espécies e bastante úteis para uma melhor caracterização dessas. A maioria das espécies apresentaram lâmina foliar dimensões entre 5 a 15 mm 1 a 10 mm de largura, expressando uma razão comprimento/largura variável de 1,5 a 4,5. Em *R. equisetoides*, uma das espécies que se destaca quanto às suas dimensões, verifica-se que as folhas são reduzidas à pequenas escamas triangulares. *R. hypocarpium* apresenta dimensões foliares acima da média verificada na secção, enquanto que em *R. richardianum*, *R. rupestre* e *R. paulense* possuem geralmente folhas menores que a média. As dimensões médias das espécies da secção I é superior aqueles relatados por Nunes *et alii* (1994) para a secção III.

A forma da lâmina foliar predominantemente encontrada nas espécies trabalhadas é elíptica, comumente aproximando-se à forma oblonga, concordando com o descrito por Mariath (1979) para duas espécies do gênero. Este caráter é relevante para a taxonomia, uma vez que distingue algumas espécies. A forma do ápice foliar demonstrou pouca variabilidade intraespecífica, também viabilizando sua utilização na taxonomia e possibilitando reunir as espécies desta secção em basicamente dois agrupamentos, independente do ângulo apical apresentado: espécies de ápice mucronado e espécies de ápice não mucronado. A base foliar é uma característica de grande variação, caracterizando-se na maioria das espécies como aguda, podendo apresentar-se, algumas vezes, em *R. gracillimum* e em *R. indecorum* como decurrente, conforme verificado em *R. hirtum* e *R. hypocarpium* (Mariath, 1979).

A textura da folha é distinta na secção, demonstrando, muitas vezes, uma variabilidade intraespecífica bastante reduzida, o que auxilia na caracterização de

algumas espécies. A utilização deste caráter na taxonomia já foi enfatizada por Hickey (1973).

O grau de pilosidade é bastante variado, ocorrendo desde espécies com folhas totalmente glabras (como por exemplo *R. equisetoides* e muitas vezes *R. richardianum*) até outras densamente pilosas, concordando com o descrito por Ehrendorfer (1955). A viabilidade de se utilizar esta característica na taxonomia do gênero já foi salientada por Porto & Mariath (1975), Mariath (1979) e Nunes *et alii* (1994).

A maioria das espécies possuem maior densidade de pêlos na face abaxial da lâmina foliar. Quando presentes na face adaxial, apresentam distribuição variada com uma tendência, muitas vezes, a uma disposição homogênea na região apical e a uma restrição à nervura mediana na região basal. Em *R. buxifolium*, *R. paulense* e, muitas vezes, em *R. rupestre*, os pêlos ocorrem somente sobre a nervura mediana. É possível verificar-se que tais tricomas possuem uma orientação preferencial em direção ao ápice foliar. Na face abaxial, em algumas espécies, os pêlos distribuem-se por toda a lâmina, porém a densidade é geralmente maior sobre a nervura mediana e, em alguns casos, também sobre as nervuras secundárias bem desenvolvidas. Em outras espécies, os pêlos restringem-se às nervuras. A predominância de pêlos sobre a nervura mediana na face abaxial com orientação em direção ao ápice, foi descrito para espécies da secção III (Nunes *et alii*, 1994).

Observando-se a disposição dos pêlos na margem foliar, nota-se que ocorrem sob quatro diferentes orientações: distendidos perpendicularmente à margem; voltados para baixo e direcionados ao ápice; voltados para baixo e direcionados à base; e voltados para baixo e perpendiculares à margem. Nota-se, muitas vezes, a presença de estados intermediários aos descritos acima.

O tamanho dos pêlos é também bastante variável, inclusive nos indivíduos da mesma espécie. Porém em algumas é uma característica estável. As espécies apresentam pêlos unicelulares, assim como os descritos por Mariath (1979) e Nunes *et alii* (1994). A relação quanto ao tamanho diferencial destes apêndices epidérmicos entre as faces é quase inexpressiva, sendo levemente maiores na face abaxial.

O padrão de venação preoeminantemente encontrado é a do tipo pinada camptódroma eucamptódroma - broquidódroma, aproximando-se ao padrão descrito para algumas espécies do gênero (Mariath, 1979).

As secção I caracteriza-se por apresentar células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas, concordando com o descrito para o gênero *Relbunium* (Mariath, 1979; Nunes *et alii*, 1994), bem como para a família Rubiaceae (Accorsi, 1948; Robbrecht & Puff, 1986). Geralmente não denota-se grau diferencial dessa sinuosidade quando comparadas as faces foliares. Em *R. vile*, *R. indecorum* e *R. noxium* esta característica é bastante variada em ambas as faces. Na face abaxial, verifica-se que as células epidérmicas dispostas sobre as nervuras de maior desenvolvimento apresentam um aspecto mais retilíneo e alongado. Eventualmente, esta forma ocorre em menor intensidade na face adaxial.

A epiderme é uniestratificada e verifica-se um aspecto quadrangular de suas células em secção transversal, sendo as células da face abaxial de menores dimensões que as da face adaxial, concordando com a literatura para o gênero.

As espécies analisadas são caracteristicamente hipoestomáticas. Tal classificação é relatada para a família (Metcalf & Chalk, 1957). Em *R. equisetoides*, a ocorrência de estômatos na face adaxial provavelmente esteja relacionada com a reduzida área para troca gasosa na epiderme abaxial, que resulta do diminuto tamanho da lâmina e da presença de expressiva quantidade de tecido colenquimático sob a nervura mediana e nos bordos. Além disso, a folha dispõem-se paralelamente ao caule, o que ocasiona menor exposição da face adaxial às correntes de ar, possivelmente reduzindo a taxa de transpiração nesta face. Espécies anfiestomáticas no gênero são mencionadas por Nunes *et alii* (1994).

Os estômatos, nas espécies desta secção, classificam-se como do tipo paracítico ou paralelocítico, concordando com o descrito por Accorsi (1944). O índice estomático pode ser utilizado como auxílio para a classificação das espécies. A densidade estomática apresenta baixa estabilidade intraespecífica, evidenciando um alto grau de desvio entre as amostras de uma mesma espécie. No entanto, a densidade média entre as espécies mostra-se relativamente distinta e é possível, em alguns casos, também denotar importância para caracterizá-las.

A presença de células secretoras (Esau, 1965) no gênero *Relbunium* foi detectada na epiderme abaxial da lâmina foliar de espécies da tribo Rubieae por diversos autores (Dempster (1973), Rousseau (1953), Metcalfe & Chalk (1979), Porto & Mariath (1975), Mariath (1979), Nunes *et alii* (1994). A ocorrência destas é constante em todas as espécies trabalhadas, exceto em *R. equisetoides*.

A metodologia utilizada evidenciou nas células secretoras a presença de grande quantidade de substâncias lipofílicas, provavelmente óleos essenciais, concordando com o observado por Rousseau (1953) e Mariath (1979). O grande número de plastídios observados periféricamente nestas células secretoras possivelmente estejam envolvidos com a síntese de terpenóides, mais especificamente monoterpenóides, diterpenóides e tetraterpenóides (McGarvey & Croteau, 1995) que são, juntamente com outras classes derivadas do isopreno, os componentes mais importantes dentre as substâncias lipofílicas secretadas pelas plantas (Fahn, 1979).

Na secção estudada do gênero *Relbunium*, observou-se a ocorrência de cristais de oxalato de cálcio na forma de feixes de ráfides, monocristais e formas agregadas destes últimos. A ocorrência de feixes de ráfides caracteriza não somente o gênero *Relbunium* mas também toda a subfamília Rubioideae (Bremekamp, 1966; Robbrecht & Puff, 1986; Robbrecht, 1988). Sua densidade é variável entre as espécies analisadas, assim como suas dimensões. As células adjacentes ao idioblasto dispõem-se radialmente em relação à este, podendo, algumas vezes, apresentar uma quantidade maior de amido de assimilação em seus cloroplastídios quando comparado com as demais células destes tecidos.

Monocristais distribuídos na bainha perivascular e na epiderme são os menos freqüentes desta secção. Na maioria das espécies ocorrem em pequena quantidade ou estão ausentes. Monocristais epidérmicos são verificados em ambas as faces da folha e assemelham-se morfológicamente aos observados na bainha perivascular. Na face abaxial nota-se uma disposição preferencial em células do aparelho estomático, especialmente nas células-guarda. *R. noxium* foi a espécie que apresentou a maior densidade de monocristais, tanto na bainha perivascular quanto na epiderme.

O mesofilo é bifacial, concordando com o descrito por Mariath (1979) e Nunes *et alii* (1994), e o parênquima paliçádico pode apresentar-se uni ou biestratificado. O parênquima paliçádico pode apresentar-se, na mesma folha de algumas espécies, tanto uni como biestratificado. No parênquima esponjoso geralmente a estratificação é de difícil determinação. A proporção da espessura entre os parênquimas paliçádico e esponjoso mantém uma relação aproximada de 1:1 em todas as espécies analisadas (gráfico 3). Essa característica do mesofilo também foi relatada para espécies da secção III do gênero por Nunes *et alii* (1994).

A presença de hidatódio, assim como alguns aspectos de sua estrutura anatômica, já foram verificadas nas demais secções do gênero (Mariath, 1979; Nunes *et alii*, 1994), demonstrando-se portanto, como uma estrutura freqüente no gênero *Relbunium*.

A estrutura do epitema, juntamente com a aparente ausência de células da bainha perivascular na face adaxial, possibilita a comunicação dos traqueídeos diretamente com os poros aquíferos, permitindo o fluxo apoplástico da água desde os elementos vasculares até o meio externo. A densidade de cloroplastídios e o aspecto das células do epitema na microscopia óptica são similares as do parênquima esponjoso. Porém a presença de um grande número de projeções digitiformes nas paredes de suas células, observadas na MET, caracteriza-as claramente como células de transferência (Gunning & Pate, 1969; Perrin, 1971; Fahn, 1979; Fahn, 1990; Maeda & Maeda, 1988), indicando que estas podem, ainda, apresentar uma função importante na absorção seletiva de substâncias constituintes da solução proveniente dos elementos vasculares (Fahn, 1979). Algumas características anatômicas observadas, como a presença de uma bainha perivascular entre outras, demonstram uma semelhança estrutural destes hidatódios com os descritos para Asteraceae (Lersten & Curtis, 1985) e Rosaceae (Curtis & Lersten, 1986).

As células parenquimáticas diretamente associadas aos traqueídeos apresentam da mesma forma que no epitema, uma grande quantidade de projeções digitiformes na parede celular, sendo provavelmente homólogas às células de transferência do tipo C descritas por Pate & Gunning (1969). A presença de grande quantidade de mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso, indicam uma alta

atividade no metabolismo respiratório e na produção de proteínas, conforme sugerido por Maeda & Maeda (1987).

Os poros aquíferos assemelham-se morfológicamente aos estômatos, porém à diferença destes, permanecem na maioria das plantas constantemente abertos (Lersten & Curtis, 1985) permitindo a passagem da água no momento da gutação, a qual, ocorre sob pressão da raiz (segundo vários autores *apud* Fahn, 1979). Este fenômeno foi observado em *R. hypocarpium* e *R. richardianum* nos momentos em que a taxa de transpiração está muito reduzida devido à alta umidade atmosférica, o que ocasiona a formação de pressão positiva no interior xilema.

O padrão de vascularização do hidatódio permite agrupar as espécies desta secção em basicamente dois grupos: espécies com hidatódio originado à partir de três ou mais nervuras - nervura mediana e outras laterais- e espécies com formação do hidatódio basicamente a partir da nervura mediana (assemelhando-se à estrutura vascular descrita para espécies da secção III (Nunes, 1994). O primeiro padrão, aparentemente, caracteriza as espécies da secção I. Apenas três espécies apresentaram estrutura vascular do segundo tipo, sendo portanto uma característica útil para a caracterização das mesmas.

## 5. CONCLUSÕES

As espécies apresentaram uma grande variabilidade especialmente quanto aos aspectos morfológicos da folha, porém diversos aspectos anatômicos também demonstraram ser de grande utilidade na taxonomia do gênero, podendo auxiliar também no esclarecimento das relações filogenéticas entre as espécies. A análise das características morfo-anatômicas da folha na altura do sétimo nó permite concluir que:

- A forma do limbo foliar é variável na secção, predominando a forma elíptica. Algumas espécies possuem formas distintas que as caracterizam;

- O ápice foliar possui forma variada, permitindo separar as espécies em basicamente dois grupos de utilidade taxonômica: espécies com ápice mucronado e espécies de ápice não mucronado;

- A forma da base é geralmente aguda, no entanto, algumas espécies apresentam este caráter diferenciado;

- As dimensões da lâmina foliar, assim como a razão comprimento/largura são características com grande variação interespecífica, demonstrando utilidade na taxonomia do gênero;

- O grau de pilosidade varia na secção desde espécies caracteristicamente glabras até outras densamente pilosas;

- A distribuição dos pêlos ocorre sob diferentes padrões, no entanto, observa-se uma tendência à uma distribuição homogênea na face adaxial e uma predominância sobre a nervura mediana na face abaxial;

- O comprimento dos pêlos podem caracterizar algumas espécies;

- A orientação dos pêlos nas diferentes partes da lâmina foliar é uma característica variável na secção e pode ser utilizado na taxonomia;

- A ocorrência e o padrão de distribuição das células secretoras na lâmina foliar é uma característica bastante variável entre as espécies;

- As dimensões das células secretoras, especialmente o comprimento, diferem na secção e possuem uma variação interespecífica que as torna útil para a sistemática do gênero;

- A densidade estomática possui alta variabilidade intraespecífica, enquanto que o índice estomático é mais constante e possibilita sua utilização para diferenciar as espécies que possuem valores mais contrastantes;

- Os estômatos são do tipo paracítico e paralelocítico. Apesar de ocorrer normalmente as duas formas numa mesma folha, geralmente se observa predominância de uma delas;

- As espécies da secção são caracteristicamente hipoestomáticas, com exceção de *R. equisetoides*, algumas vezes *R. richardianum* e mais raramente *R. nigro-ramosum* que podem caracterizar-se como anfiestomáticas;

- Todas as espécies apresentam células epidérmicas sinuosas, sendo o grau de sinuosidade diferenciado;

- Excetuando-se *R. equisetoides*, todas as demais apresentam mesofilo bifacial, possuindo um parênquima paliçádico que varia de uni a biestratificado;

- Os feixes vasculares são do tipo colateral, possuindo uma bainha perivascular unisseriada inclusive nas nervuras menores;

- A maioria das espécies apresentaram venação foliar do tipo pinada camptódroma eucamptódroma, com exceção de *R. noxium* e *R. valantoides* que apresentam venação do tipo pinada acródroma imperfeita.

- A ocorrência e o padrão de distribuição dos feixes de ráfides na lâmina foliar é diferencial entre as espécies e pode ser utilizado na taxonomia da secção;

- A ocorrência de monocristais na epiderme e na bainha perivascular, assim como cristais epicuticulares de forma variada podem ser úteis para a sistemática;

- Estrutura secretora do tipo hidatódio foi verificada em todas os gêneros da tribo Rubieae analisados, indicando que esta estrutura talvez seja comum à todas as espécies da tribo;

- O padrão de vascularização do hidatódio permite separar as espécies em dois grupos básicos: espécies com vascularização do hidatódio originada à partir de três ou mais nervuras - nervura mediana e laterais - e espécies com vascularização originada basicamente à partir da nervura mediana.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- ACCORSI, W.R. 1944. II. A Ocorrência das Células Anexas dos Estômatos na Família Rubiaceae. **Anais Esc. Sup Agric. "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, 7: 157-75.
- ACCORSI, W.R. 1948. Características morfológicas anatômicas e citológicas da epiderme inferior da folha das Rubiáceas. **Lilloa**, 16: 5 - 59.
- BISSING, D.R. 1974. Haupt's gelatin adhesive mixed with formalin for affixing paraffin sections to slides. **Stain Tech.**, 49 (2): 116-7.
- BONATO, S.L. *et alii*. Systematics of genus *Relbunium* (Rubiaceae - Rubiaceae) based on cladistic analysis of chromatographic, electrophoretic and morphologic data. (não publicado).
- BREMEKAMP, C.E.B. 1966. Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. **Acta bot. neerl.**, Amsterdam, 15: 1-33.
- CAVALLI, S. S. 1976. **Divergência isozímica e relações evolutivas entre espécies do gênero *Relbunium* (Rubiaceae)**. Porto Alegre, Curso de Pós-graduação em Genética da UFRGS. 179 f. Tese maestr. gen.
- CAVALLI-MOLINA, S. 1984. **Variabilidade genética em populações naturais de *Relbunium hypocarpium* (Rubiaceae)**. Porto Alegre, Curso de Pós-graduação em Genética da UFRGS. 230f. Tese dout. gen.
- CAVALLI-MOLINA, S.; MOTTA, V.E.P.; SCHIENGOLD, M. & WINGE, H. 1989. Identical isoenzyme patterns in sib plants of *Relbunium hypocarpium* (Rubiaceae). **Rev. Brasil. Gen.**, 12 (2): 361-8.
- CURTIS, J.D. & LERSTEN, N.R. 1986. Hydathode anatomy in *Potentilla palustris* (Rosaceae). **Nord. J. Bot.**, 6: 793-96, struct 057.
- DEMPSTER, L.T. 1973. The polygamous species of the genus *Galium* (Rubiaceae) section Lophogalium, of Mexico and South Western United States. **Univ. Calif. Publs. Bot.**, Bekerley, v.64, p.1-35.

- DETONI, M. L. 1976. **Estudo quimiotaxonômico e filogenético do gênero *Relbunium* Rubiaceae**. Porto Alegre, Curso de Pós-graduação em Genética da UFRGS. 130 f. Tese maestr. gen.
- DICKSON, W.C. 1970. Comparative morphological studies in Dilleniaceae, V. Leaf anatomy. **J. Arn. Arbor.**, 51 (1): 89 - 113.
- EHRENDORFER, F. 1955. Revision of de genus *Relbunium* ( ENDL. ) BENTH. et HOOK (Rubiaceae - Galieae). **Bot. Jb.**, 76 (4): 516-53.
- ESAU, K. 1965. **Plant anatomy**. 2.ed. New York, John Wiley. 767p.
- FAHN, A. 1979. **Secretory Tissues in Plants**. Academic Press, London. 302p.
- FAHN, A. 1990. **Plant Anatomy**. 4. ed. Oxford, Pergamon Press. 588p.
- FREITAS, L.B. 1989. **Contribuição da regulação gênica para a variabilidade izoenzimática de GOT (Glutamato - oxaloacetato transaminase) em *Relbunium hypocarpium* (Rubiaceae)**. Porto Alegre, Curso de Pós - graduação em Genética da UFRGS. 151f. Diss. maestr. gen.
- GABRIEL, B.L. 1982. **Biological Electron Microscopy**. New York, Van Nostrand Reinhold Company Inc. 264p.
- GERLACH, D. 1977. **Botanische Mikrotechnik**. Stuttgart, Georg-Thienne Verlag, 314p.
- GUNNING, B. E. S. & PATE, J. S. 1969. "Transfer cells" Plant cells with wall ingrowths, specialized in relation to short distance transport of solutes - their occurrence, structure and development. **Protoplasma**, 68: 107-133
- HANDRO, W. 1964. Contribuição ao estudo da nervação foliar. **Anais Acad. Bras. Cienc.**, 36 (4): 479-99.
- HICKEY, L.J. 1973. Classification on the architecture of Dicotyledoneus leaves. **Amer. J. Bot.**, 60 (1): 17-33.
- HOLM, T. 1907. Rubiaceae: anatomical studies of North American representatives of *Cephalanthus*, *Oldenlandia*, *Houstonia*, *Mitchella*, *Diodia* and *Galium*. **Bot. Gaz.**, 43 (3): 153 - 89.

- JEUNE, B. 1980. Croissance des feuilles et stipules du *Galium palustre* L. subsp. *elongatum* (Presl.) Lange et valeur phylogénique de ces données de morphogénèse. *Adansonia*, Paris, v.19, n.4, p.451-465.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York, McGraw-Hill. 523p.
- KOEK-NOORMAN, J. 1977. Systematische Holzanatomie einiger Rubiaceen. *Ber. Deutsch. Bot. Ges. Bol.*, 90: 183 - 90.
- LERSTEN, N.R. & CURTIS, J. D. 1985. Distribution and anatomy of hydathodes in Asteraceae. *Bot. Gaz.*, 146 (1): 106-14.
- LIMA, C. 1963. **Elementos de Botânica. Guia para trabalhos práticos**. Belo Horizonte
- MAEDA, E. & MAEDA, K. 1987. Ultrastructural Studies of Leaf Hydathodes: I. Wheat (*Triticum aestivum*) leaf tips. *Japan. Jour. Crop Sci.*, 56 (4): 641-51.
- MAEDA, E. & MAEDA, K. 1988. Ultrastructural Studies of Leaf Hydathodes: II. Rice (*Oryza sativa*) leaf tips. *Japan. Jour. Crop Sci.*, 57 (4): 733-42.
- MARIATH, J.E.A. 1974. Nota prévia sobre o gênero *Relbunium* (Endl) Hook. f. (Rubiaceae) no Rio Grande do Sul. In: SEMANA UNIVERSITÁRIA GAÚCHA DE DEBATES BIOLÓGICOS, 15. Porto Alegre, 14 - 20 out. 1973. *Anais ...* Porto Alegre, Sociedade de Biologia do Rio Grande do Sul. p. 14 - 22.
- MARIATH, J.E.A. 1979. **Morfologia e anatomia de *Relbunium hypocarpium* (L.) Hemsl. e *Relbunium hirtum* (Lam.) K. Schum. (Rubiaceae - Rubiaceae) do Morro Santana, Porto Alegre, RS, Brasil**. 170f. Tese (Mestr. -Botânica) UFRGS, Porto Alegre. (não publicada).
- MARIATH, J.E.A. 1990. **Ontogenia, embriologia e biologia floral de *Relbunium hypocarpium* (L.) Hemsl. e *Relbunium hirtum* (Lam.) K. Schum. (Rubiaceae - Rubiaceae) do Morro Santana, Porto Alegre, RS, Brasil**. Porto Alegre, Curso de Pós - graduação em Botânica da USP. 176f. Tese dout. bot.
- McGARVEY, D. J. & CROTEAU, R. 1995. Terpenoid Metabolism. *The Plant Cell*, 7: 1015 - 1026.

- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons**. 2.a ed. Oxford, Claredon Press, v.2, p.759-776.
- MOTTA, V.E.P. 1981. **Desenvolvimento ontogenético e modificações dos padrões isoesterásicos de *Relbunium hypocarpium* (Rubiaceae)**. 178f. Tese (Mestr. - Genética) UFRGS, Porto Alegre. (não publicada).
- NUNES, E.C.M.; MARIATH, J.E.A. & OLIVEIRA, P.L. 1994. Morfologia e Anatomia da folha de espécies da secção III (sensu Ehrendorfer) do gênero *Relbunium* (Rubiaceae - Rubiaceae). **Iheringa**, Sér. Bot., Porto Alegre, (44): 113-49.
- O'BRIEN, T.P. & McCULLY, M.E. 1981. **The study of plant structure principles and selected methods**. Australia, Termarcaphi Pty Ltd. 345p.
- PATE, J. S. & GUNNING, B. E. S. 1969. Vascular transfer cells in angiosperm leaves. A taxonomic and morphological survey. **Protoplasma** 68: 135 - 156.
- PERRIN, A. 1971. Présence de "cellules de transfert" au sein de l'épithème de quelques hydathodes. **Z. Pflanzenphysiol. Bd. 65. S:** 39 - 51.
- PORTO, M.L., MARIATH, J.E.A., DETONI, M.L., CAVALLI, S.S., WINGE, H., EHRENDORFER, F.. 1977. New species of *Relbunium* (Rubiaceae) from Brazil, with notes on flavonoid and peroxidases patterns. **Plant. Syst. Evol.**, 128: 177 - 93.
- PORTO, M. L. & MARIATH, J. E. A. 1975. Taxonomia numérica de algumas entidades do gênero *Relbunium* (ENDL.) HOOK. Fil. (Rubiaceae). **Iheringa**, 20: 3-16.
- ROBRECHT, E. & PUFF, C. 1986. A survey of the Gardenieae and related tribes (Rubiaceae). **Bot. Jahrb. Syst.** 108 (1): 3-137.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical Woody Rubiaceae. **Opera Bot. Belg.**, Meise, 1. 271p
- ROUSSEAU, J. 1953. Localization des cellules sécrétrices chez quelques Rubiacées. **Bull. Soc. Bot. France**, 100: 36-9.

- RUDELL, C.L. 1967. **Hydroxyethyl methacrylate combined with polyethylene glycol 400 and water; an embedding medium for routine 1-2 micron sectioning.** College of Fisheries, University of Washington 98105.
- RUTISHAUSER, R. von. 1983. Leaf whorls and stipules in th Rubieae (Rubiaceae). **Acta Bot. Neerl.** 32 (4): 360-1.
- SASS, J.E. 1940. **Elements of botanical microtechnique.** New York, McGraw - Hill. 222p
- SCHIENGOLD, M. 1985. **Efeito da regulação gênica na variabilidade isoesterásica de *Relbunium hypocarpium* (Rubiaceae).** Porto Alegre, Curso de Pós - graduação em Genética da UFRGS. 188f. Diss. maestr. gen.
- SOUTHWORTH, D. 1973. Cytochemical reactivity of pollen walls. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, 21: 73 - 80
- TILNEY, P.; WYK, A.E.von & KOK, P.D.F. 1988. The taxonomic significance of anatomical characters of the stem in southern African species of *Canthium* sensu lato (Rubiaceae). **S. Afr. J. Bot.**, 54 (6): 585-95.
- VERDCOURT, B. 1958. Remarks on the classification of the Rubiaceae. **Bull. Jard. Bot. Etat Brux.**, 28: 209 - 90.
- WILKINSON, H. P. 1979. The plant surface - mainly leaf. *In*: METCALFE, C. R. & CHALK, L. ed. **Anatomy of the dicotyledons.** 2. ed. Oxford, Clarendon Press. p. 97-165.
- WINGE et al. 1980. Estudos ontogenéticos e populacionais em *Relbunium hypocarpium* (Rubiaceae). *In*: Congresso Latinoamericano de Genética, 4. Congresso Argentino de Genética, 10. Mendoza, 21-27 set. 1979. **Actas...** s. l., s. ed., v. 2. p.303-12.

	Lâmina	Margem	Ápice	Base	C (mm)	L (mm)	C/L
<i>R. nigro-ramosum</i>	Levemente lanceolada, algumas vezes oblonga estreita, e mais raramente elíptica estreita.	Inteira, podendo algumas vezes ser ciliada (com pêlos perpendiculares à margem).	Levemente agudo, geralmente próximo de um ângulo reto.	Varia entre aguda e obtusa.	7,0 s=2,7	2,5 s=0,8	2,8 s=0,4
<i>R. richardianum</i>	Oblonga estreita, algumas vezes levemente elíptica estreita.	Inteira, sempre glabra e levemente espessada em toda a extensão da folha.	Agudo, raramente ultrapassando 90°.	Aguda decurrente.	5,1 s=1,5	1,2 s=0,4	4,4 s=0,9
<i>R. equisetoides</i>	Folha reduzida à uma escama triangular.	Inteira, sem pêlos e com forte espessamento (similar ao da nervura mediana)	Agudo	—	1,8 s=0,1	0,9 s=0,1	1,9 s=0,2
<i>R. vile</i>	Oblonga ou levemente elíptica.	Margem inteira, com aspecto de rugosidade devido aos pêlos reduzidos característicos da espécie.	Basicamente arredondado, possuindo apenas uma pequena saliência na ponta.	Aguda, variando de normal à levemente decurrente.	7,0 s=2,5	2,7 s=0,9	2,6 s=0,4
<i>R. hypocarpium</i>	Elíptica, algumas vezes tendendo à obovada estreita ou então oblonga.	Inteira, muitas vezes com pêlos voltados para a base da folha.	Varia de obtuso à arredondado (em geral mucronado), raramente agudo.	Geralmente aguda, mas algumas vezes pode ser obtusa.	16,0 s=6,1	8,2 s=3,3	2,0 s=0,4
<i>R. rupestre</i>	Oblonga, elípticas ou, algumas vezes, levemente ovada estreita. Folhas menores são geralmente elípticas.	Inteira e revoluta, geralmente com pêlos voltados para baixo perpendicularmente à margem.	Obtuso mucronado, geralmente próximo de um ângulo reto, alguns poucos podem ser agudos.	Geralmente obtusa decurrente, podendo algumas vezes ser aguda.	4,6 s=1,8	2,0 s=0,4	2,2 s=0,5
<i>R. gracillimum</i>	Varia de obovada estreita à oblanceolada.	Inteira, muitas vezes com pêlos voltados para baixo e para a base	Obtuso mucronado.	Aguda, variando entre normal ou cuneada.	9,2 s=2,9	3,4 s=0,8	2,7 s=0,4
<i>R. indecorum</i>	Geralmente oblanceolada, algumas vezes aproximando-se de elíptica estreita e mais raramente oblonga estreita.	Inteira, com pêlos voltados para baixo e para a base.	Obtuso mucronado e alguns poucos agudos.	Aguda normal.	8,5 s=2,4	2,4 s=0,8	3,5
<i>R. buxifolium</i>	Geralmente elíptica, podendo ser também levemente ovada estreita ou oblonga.	Inteira, com pêlos voltados para baixo e para a base.	Obtuso, algumas vezes chegando a ser arredondado. Ápice da nervura bem saliente.	Obtusa normal ou levemente decurrente.	8,9 s=2,4	3,7 s=1,1	2,4 s=0,4
<i>R. noxium</i>	Elíptica.	Inteira, podendo ser levemente revoluta, com pêlos voltados para a base.	Obtuso mucronado.	Variando de aguda à obtusa, e algumas vezes acuminada.	11,4 s=2,8	5,8 s=0,7	2,4 s=0,4
<i>R. valantoides</i>	Varia entre ovada (maioria) à elíptica larga.	Margem inteira e ciliada (com pêlos perpendiculares à margem).	Varia entre agudo, acuminado e obtuso, geralmente próximo de um ângulo reto. Quando obtuso é geralmente mucronado.	Obtusa decurrente.	8,0 s=2,5	4,8 s=1,3	1,7 s=0,2
<i>R. paulense</i>	Elíptica estreita, algumas vezes oblonga estreita e, mais raramente, levemente lanceolada.	Inteira podendo possuir pêlos voltados para a base.	Marcadamente agudo e alongado, semelhante à um ápice acuminado.	Aguda normal.	4,4 s=0,9	1,1 s=0,2	2,2 s=0,5

Tabela 01: Forma e dimensões da lâmina foliar de algumas espécies da secção I do gênero *Rebunium*.

Tabela 02: Tipos de cristais, sua ocorrência e distribuição na lâmina foliar de algumas espécies da secção I do género *Relbunium*.

	Feixes de ráfides em idioblastos	Ráfides em células do mesofilo	Monocristais na bainha perivascular	Monocristais na epiderme	Monocr. ou agregados epicuticulares
<i>R. nigro-ramosum</i>	Sempre ocorrem e geralmente apresentam-se levemente voltados para a margem, podendo muitas vezes a densidade ser um pouco maior na metade basal da lâmina foliar.	Sempre ocorrem, mas geralmente em uma quantidade não muito expressiva.	Não foi observado nas amostras.	Não foi observado nas amostras.	Muitas vezes em grande quantidade, mas de tamanho bastante reduzido, como uma arca cristalina.
<i>R. richardianum</i>	Ocorrem distribuídos por toda a lâmina paralelamente à nervura mediana.	Quase sempre ocorre, mas em pequena quantidade.	Não foi observado nas amostras.	Muito raro.	Sempre ocorrem mas em pequena quantidade.
<i>R. equisetoides</i>	Não foram encontrados em nenhuma das amostras observadas ao microscópio de polarização, no entanto, idioblastos foram detectados em secções transversais analisadas ao microscópio óptico de campo claro.	Não foi observado nas amostras.	Geralmente presentes e em quantidade variável.	Não foi observado nas amostras.	Geralmente possui grande quantidade de monocristais e tamanho bastante variado.
<i>R. vile</i>	Ocorrem por toda a lâmina paralelos à nervura mediana ou, eventualmente, levemente voltados para a margem, algumas vezes a densidade destes cristais pode ser menor no terço basal da folha.	Algumas vezes pode ocorrer em pequenas quantidade.	Muito raro, e quando ocorre é em quantidade bem reduzida.	Muito raro.	Quase sempre ocorrem mas em pequena quantidade.
<i>R. hypocarpium</i>	Distribuem-se por toda a lâmina e muitas vezes levemente voltados para a margem.	Sempre ocorre, geralmente em grande quantidade.	Geralmente ocorre e em quantidade variável.	Pode ou não ocorrer e a quantidade é variável.	Sempre ocorre, e muitas vezes em grande quantidade.
<i>R. rupestre</i>	Ocorrem dispersos por toda a lâmina orientados paralelamente à nervura mediana, raramente encontram-se voltadas para a margem.	Quase sempre ocorre, mas em pequena quantidade.	Geralmente ocorre e em grande quantidade.	Raros, e quando aparecem é em pequena quantidade.	Raros, mas algumas vezes podem ocorrer em pequena quantidade.
<i>R. gracillimum</i>	Distribuem-se por toda a lâmina e podem estar levemente voltados à margem ou paralelos à nervura mediana.	Sempre ocorre, geralmente em grande quantidade.	Raros, e quando ocorrem é em pequena quantidade.	Quase sempre ocorrem em pequena quantidade.	Não foi observado nas amostras.
<i>R. indecorum</i>	Ocorrem dispersos por toda lâmina orientados paralelamente à nervura mediana. Algumas vezes podem estar levemente voltados para a margem.	Sempre ocorre, mas a quantidade é variável.	Pode ou não ocorrer, e quando ocorrem é em pequena quantidade.	Não foi observado nas amostras.	Pode ou não ocorrer, e quando ocorrem é em pequena quantidade.
<i>R. buxifolium</i>	Ocorrem dispersos por toda a lâmina e muitas vezes encontram-se levemente voltados para a margem.	Geralmente ocorre, mas em pequena quantidade.	Não foi observado nas amostras.	Muito raro.	Muito raro.
<i>R. noxium</i>	Distribuem-se por toda a lâmina foliar e geralmente apresentam-se levemente voltados para a margem.	Sempre ocorre, geralmente em grande quantidade.	Sempre ocorrem, geralmente em grande quantidade.	Sempre ocorre e geralmente em grande quantidade.	Podem ou não ocorrer, e quando ocorrem é em pequena quantidade.
<i>R. valantioides</i>	Ocorrem distribuídos por toda a lâmina e geralmente estão voltados para a margem.	Pode ou não ocorrer e em quantidade variável.	Pode ou não ocorrer, e quando ocorrem é em quantidade reduzida.	Não foi observado nas amostras.	Geralmente ocorrem em quantidade reduzida.
<i>R. paulense</i>	Ocorrem dispersos por toda a lâmina com dispendo-se paralelamente à nervura mediana.	Sempre ocorre, mas a quantidade é variável.	Não foi observado nas amostras.	Pode ou não ocorrer, mas quando ocorre é em pequena quantidade.	Raros.

	Densidade Estomática (est./ mm <sup>2</sup> )	Índice Estomático	Classificação
<i>R. nigro-ramosum</i>	106,4 a 225,9	26,1 a 33,1	Predominantemente paracítico
<i>R. richardianum</i>	146,7 a 257,2	26,8 a 33,4	Predominantemente paracítico
<i>R. vile</i>	210,5 a 275,6	26,1 a 32,1	Paracítico ou paralelocítico
<i>R. hypocarpium</i>	25,3 a 147,0	18,7 a 28,0	Predominantemente paralelocítico
<i>R. rupestre</i>	143,6 a 248,2	24,6 a 32,3	Predominantemente paralelocítico
<i>R. gracillimum</i>	77,0 a 161,1	23,3 a 29,3	Paracítico ou paralelocítico
<i>R. indecorum</i>	87,6 a 153,0	24,7 a 31,5	Predominantemente paralelocítico
<i>R. buxifolium</i>	109,9 a 205,1	30,8 a 33,8	Predominantemente paralelocítico
<i>R. noxium</i>	94,5 a 193,2	31,0 a 39,1	Predominantemente paralelocítico
<i>R. valantioides</i>	127,0 a 160,7	22,1 a 30,0	Paracítico ou paralelocítico
<i>R. paulense</i>	106,8 a 223,1		Predominantemente paracítico

Tabela 03: Densidade estomática, índice estomático e classificação dos estômatos ocorrentes na lâmina foliar de algumas espécies da secção I do gênero *Relbunium*.

Tabela 04: Estrutura vascular do hidatódio em algumas espécies da secção I do gênero *Relbunium*.

<i>Estrutura vascular do hidatódio</i>	
<i>R. nigro-ramosum</i>	Está formada basicamente pela profusão dos elementos vasculares da nervura mediana. As nervuras laterais não apresentam nenhuma proliferação de elementos xilemáticos e geralmente conectam-se à vascularização do hidatódio.
<i>R. richardianum</i>	Forma-se basicamente a partir da profusão dos elementos vasculares da nervura mediana. As nervuras laterais podem ou não conectarem-se à vascularização do hidatódio, porém não apresentando nenhuma proliferação de elementos xilemáticos.
<i>R. equisetoides</i>	Apresenta uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla na nervura mediana e em menor grau nas nervuras laterais.
<i>R. vile</i>	Apresenta uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana.
<i>R. hypocarpium</i>	Apresenta uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana. Nesta espécie é comum a ocorrência de uma maior proliferação dos elementos xilemáticos nas nervuras laterais que na nervura mediana.
<i>R. rupestre</i>	Evidencia uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana.
<i>R. gracillimum</i>	Apresenta uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana.
<i>R. indecorum</i>	Apresenta profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana.
<i>R. buxifolium</i>	Apresenta uma proliferação de elementos xilemáticos tanto na nervura mediana como nas nervuras laterais.
<i>R. noxium</i>	Possui uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana.
<i>R. valantioides</i>	Apresenta uma profusão de elementos xilemáticos bastante ampla tanto nas nervuras laterais como na nervura mediana.
<i>R. paulense</i>	Está formada unicamente pela nervura mediana, não sendo observada conexão de nervuras laterais à proliferação xilemática do ápice da nervura mediada.

## 7.2. Gráficos

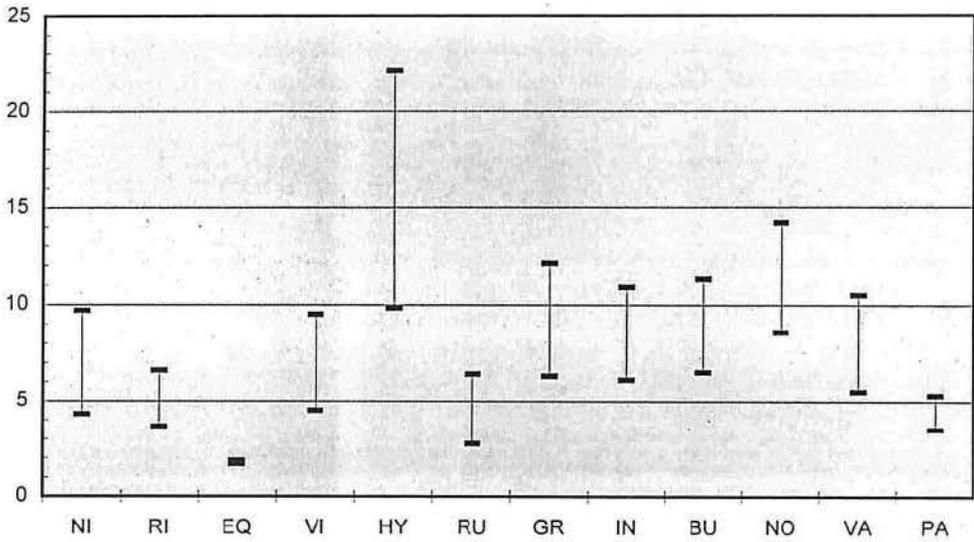


Gráfico 01: Variação do comprimento da lâmina foliar de espécies da secção I do género *Relbunium*.

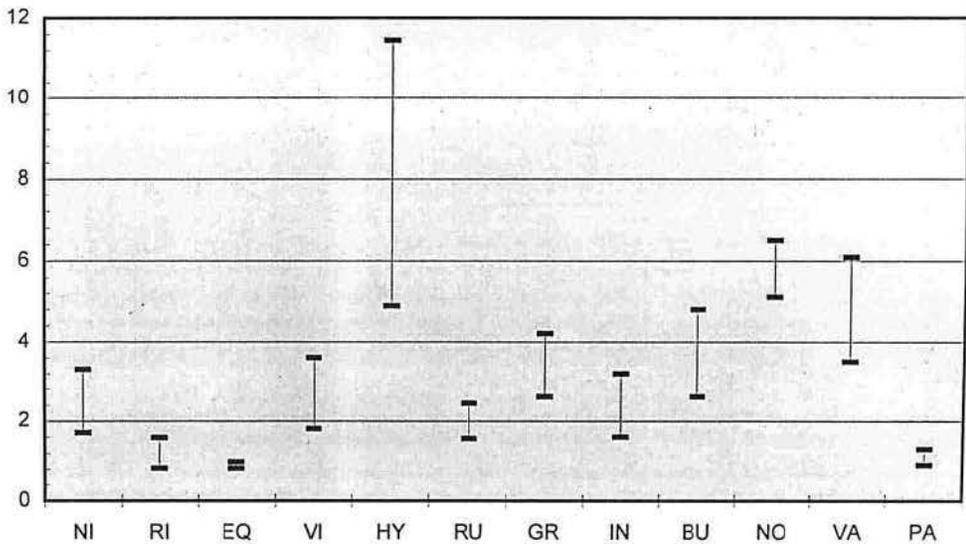


Gráfico 02: Variação da largura da lâmina foliar de espécies da secção I do género *Relbunium*.

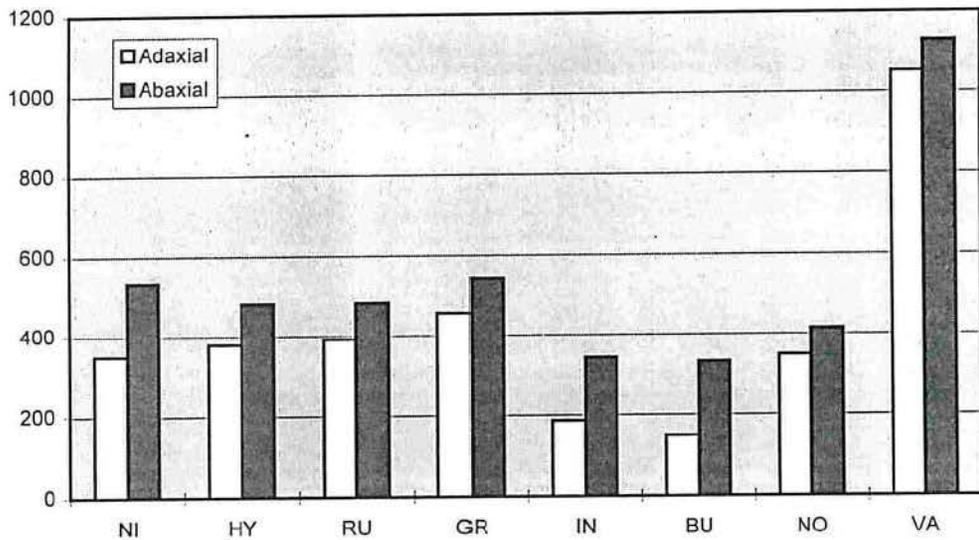


Gráfico 03: Comprimento médio dos pêlos de ambas as faces da lâmina foliar de espécies da secção I do gênero *Relbunium*.

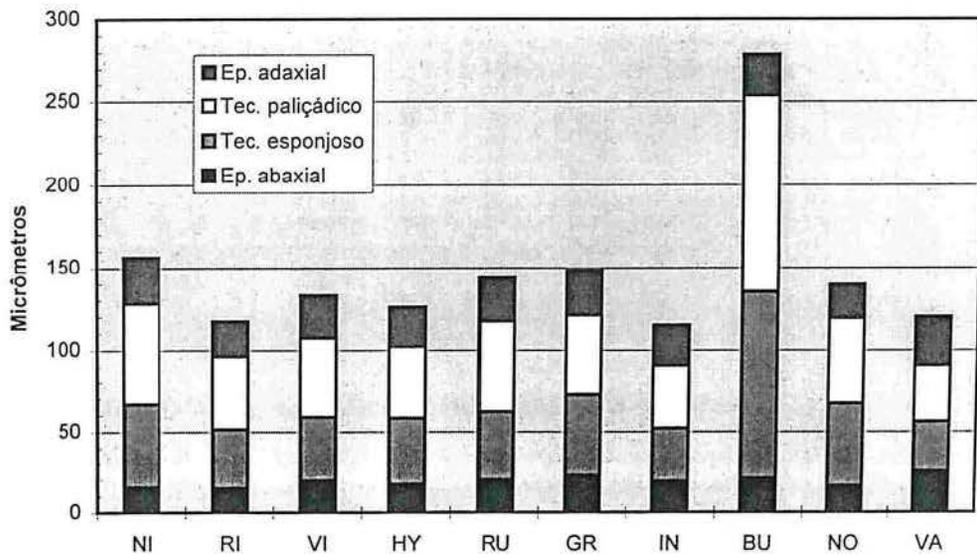


Gráfico 04: Dimensões médias do parênquima paliçádico, parênquima esponjoso e epiderme em ambas as faces da folha de espécies da secção I do gênero *Relbunium*.

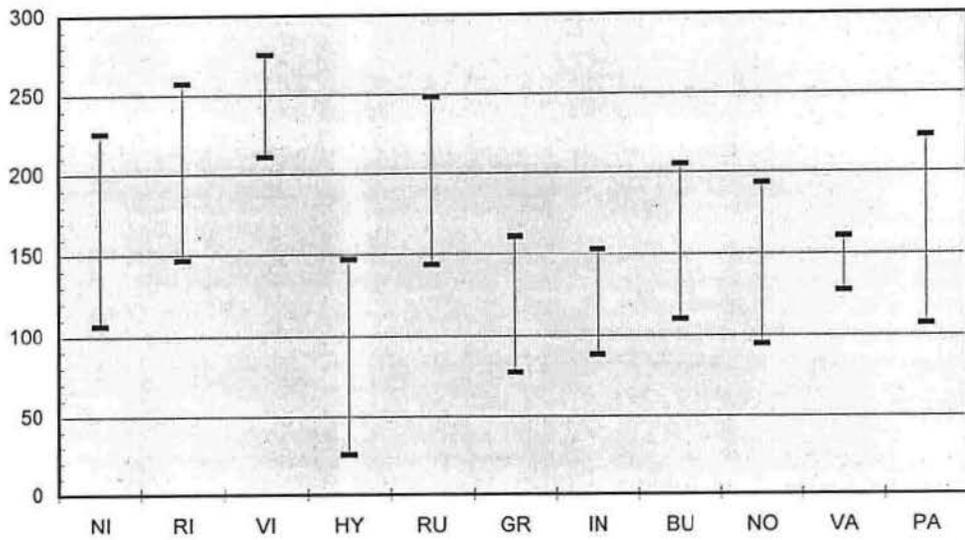


Gráfico 05: Variação da densidade estomática em espécies da secção I do género *Relbunium*.

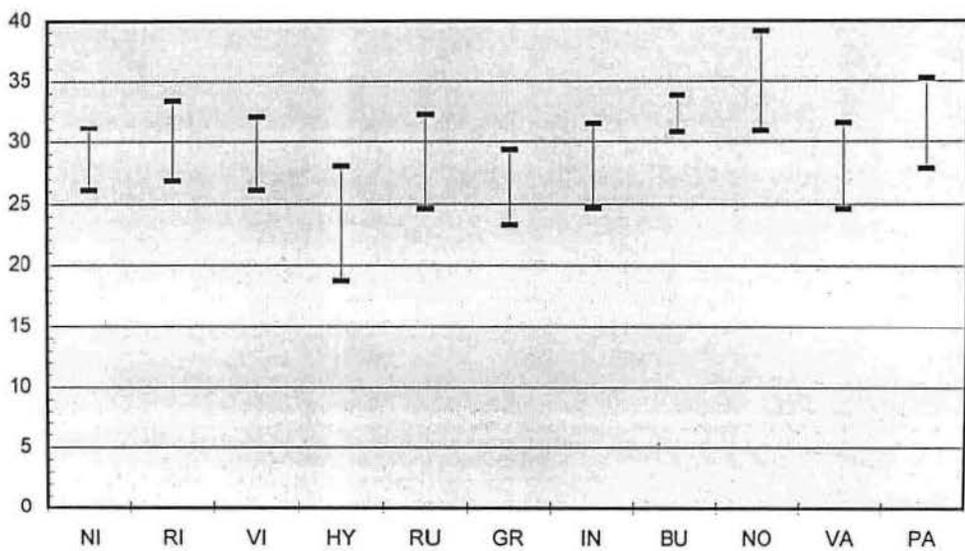


Gráfico 06: Variação do índice estomático em espécies da secção I do género *Relbunium*.

7.3. Figuras

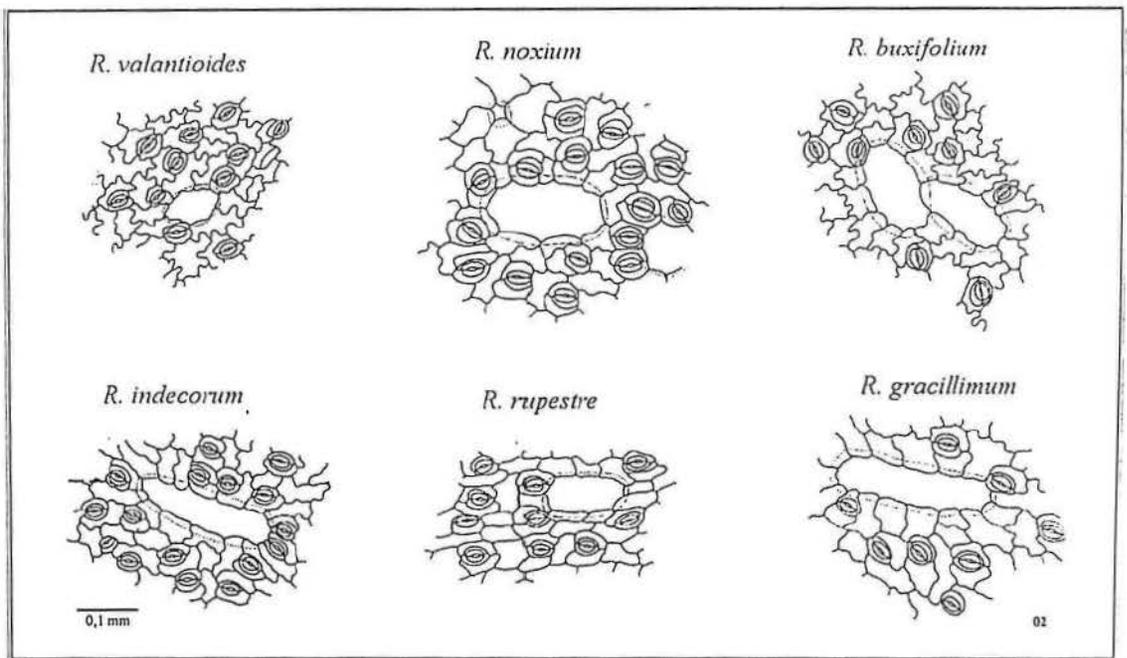
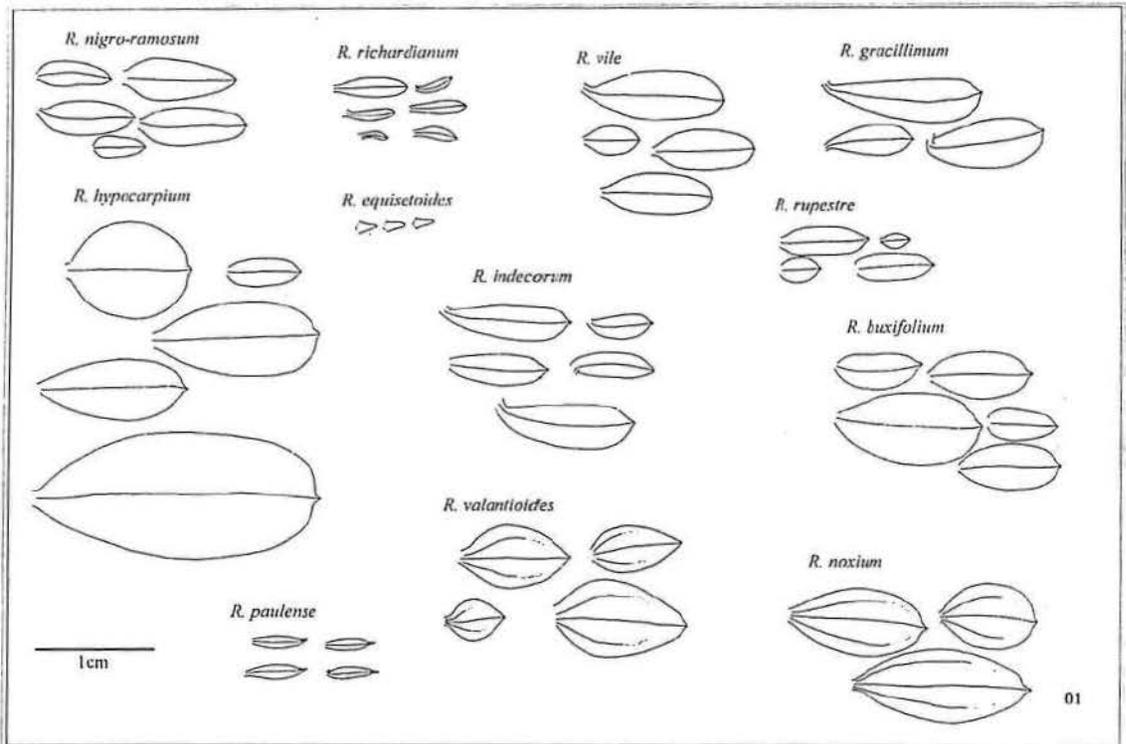


Fig. 01: Forma e tamanho das folhas de espécies da secção I do gênero *Relbunium*.

Fig. 02: Células secretoras na face abaxial da lâmina foliar de algumas espécies do gênero *Relbunium*.

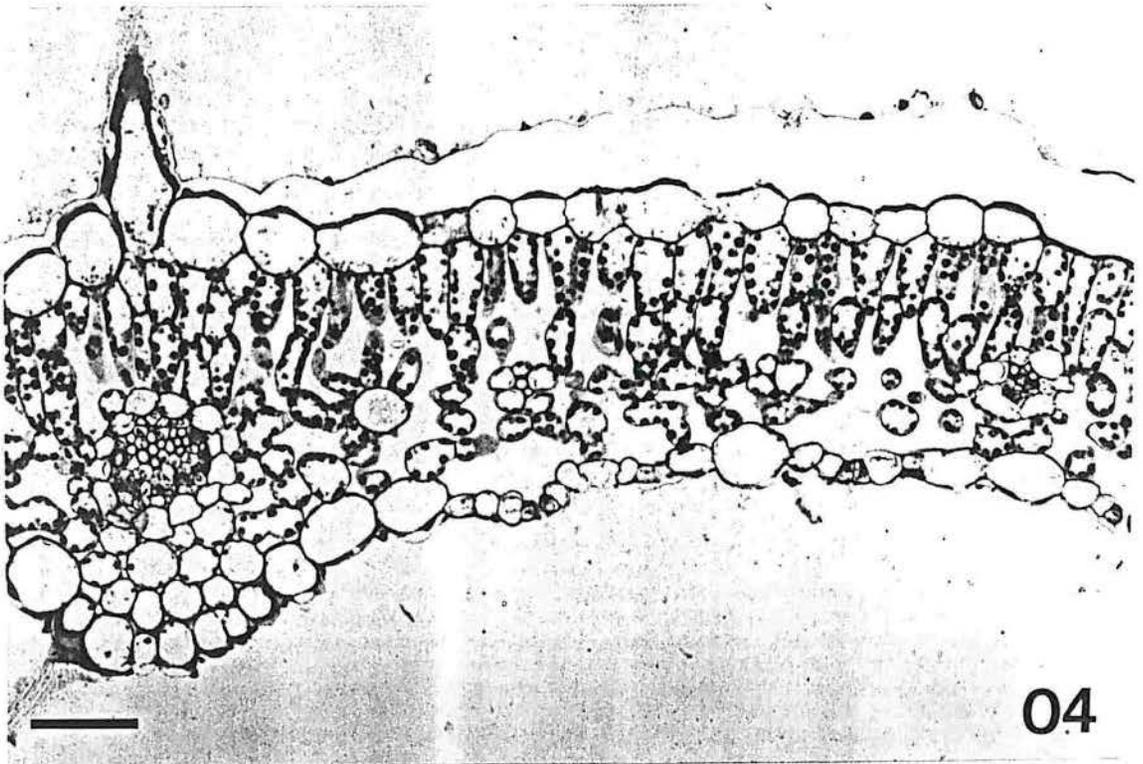
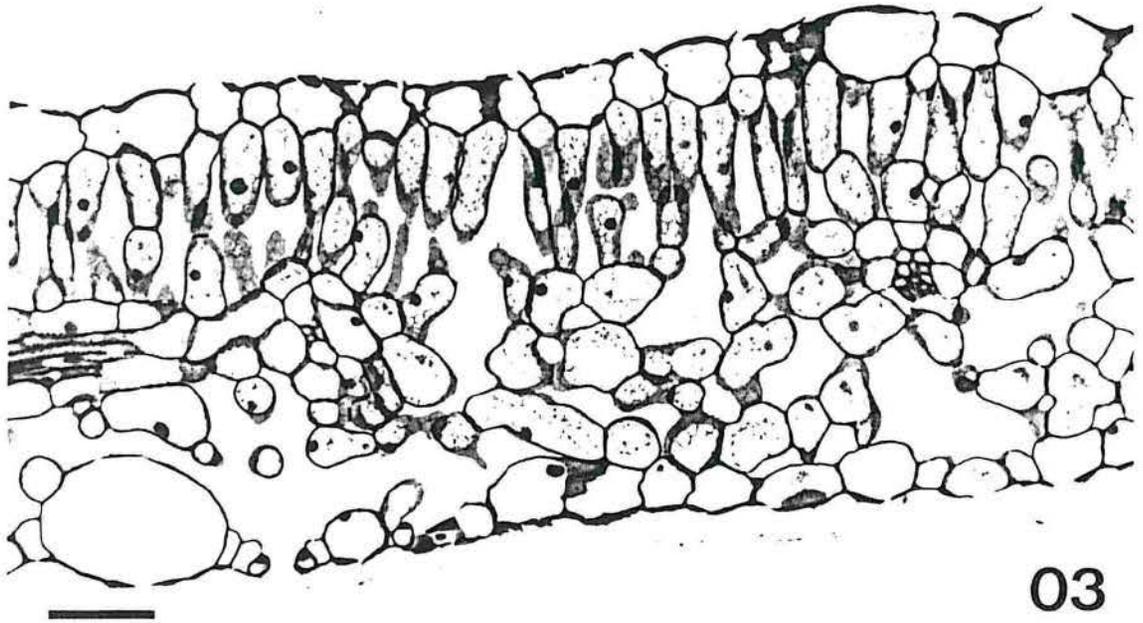


Fig. 03: Secção transversal na região mediana da lâmina foliar de *R. hypocarpium* (escala: 50 $\mu$ m).

Fig. 04: Secção transversal na região mediana da lâmina foliar de *R. rupestre* (escala: 50 $\mu$ m).

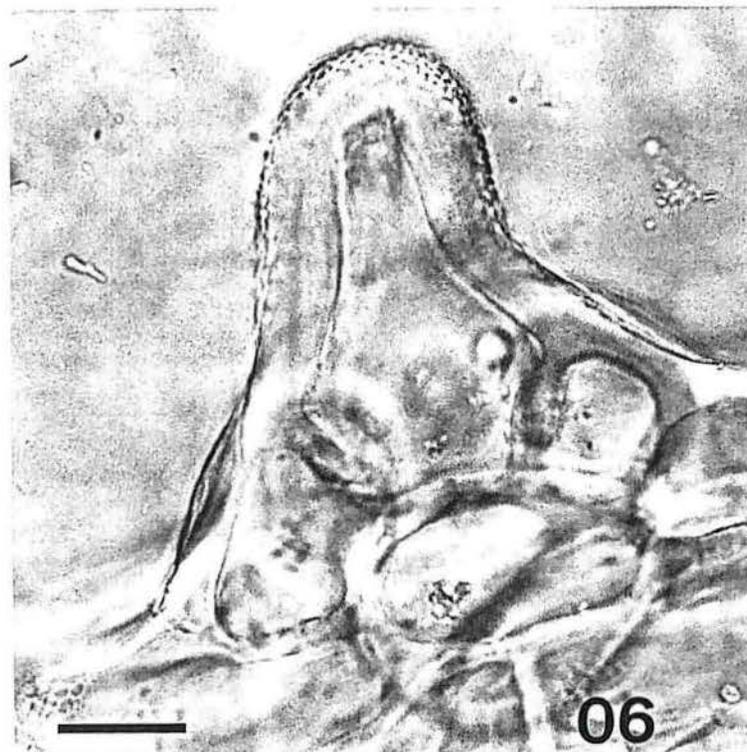
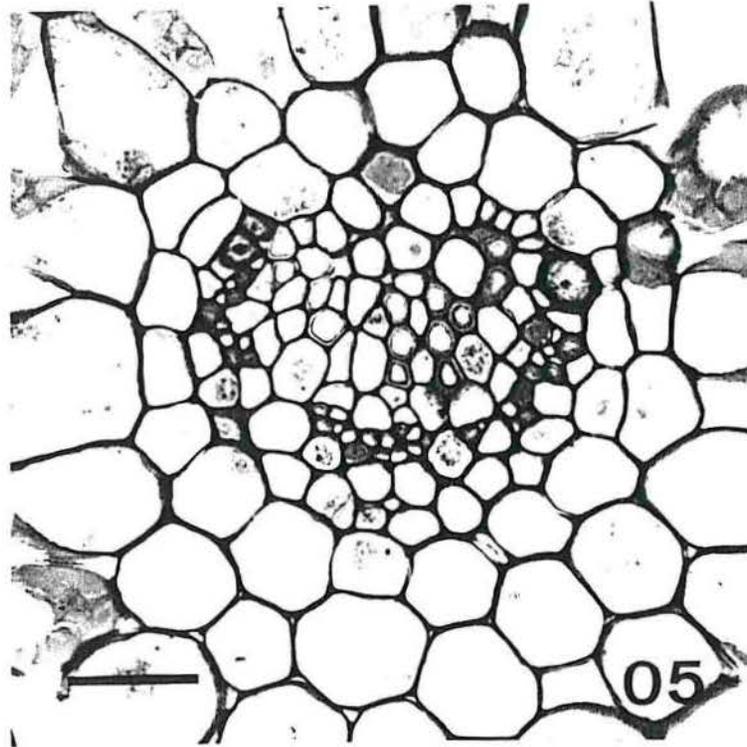


Fig. 05: Secção transversal, na região mediana, da nervura primária da lâmina foliar de *R. hypocarpium* (escala: 25  $\mu$ m).

Fig. 06: Pêlo na margem foliar de *R. vile* (escala: 25  $\mu$ m).

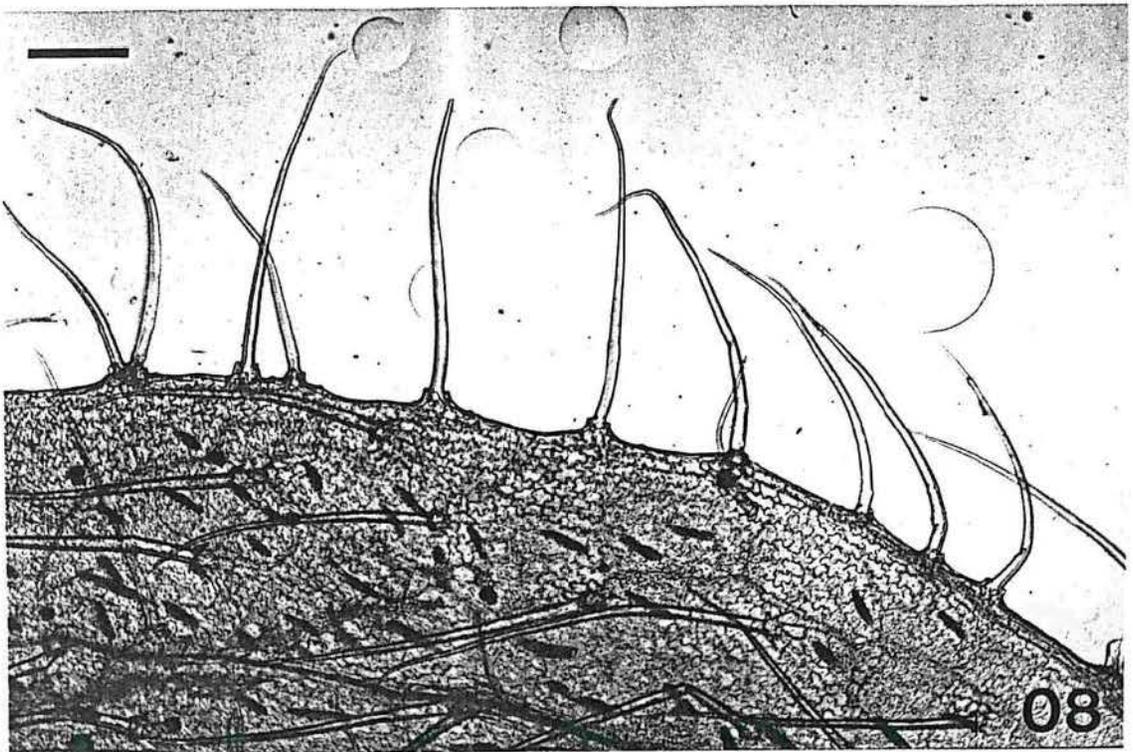
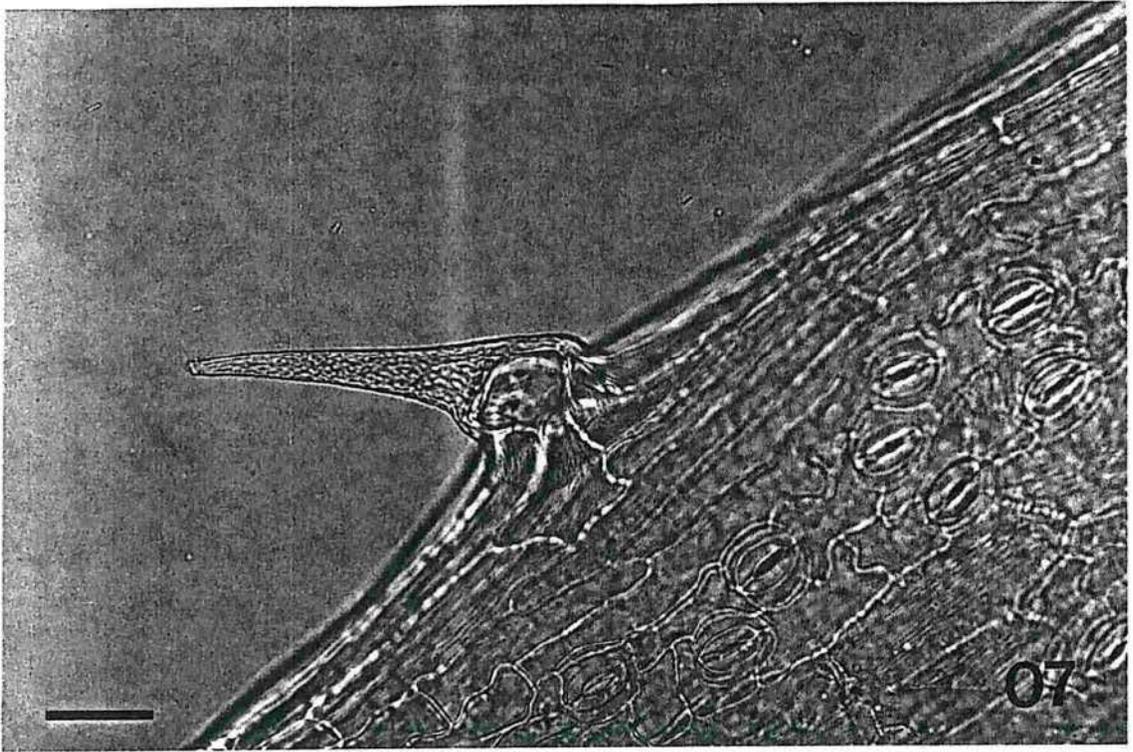


Fig. 07: Pêlo cônico na margem foliar de *R. paulense* (escala: 50  $\mu\text{m}$ ).

Fig. 08: Pêlos longos na lâmina foliar de *R. valantioides* (escala: 300  $\mu\text{m}$ ).

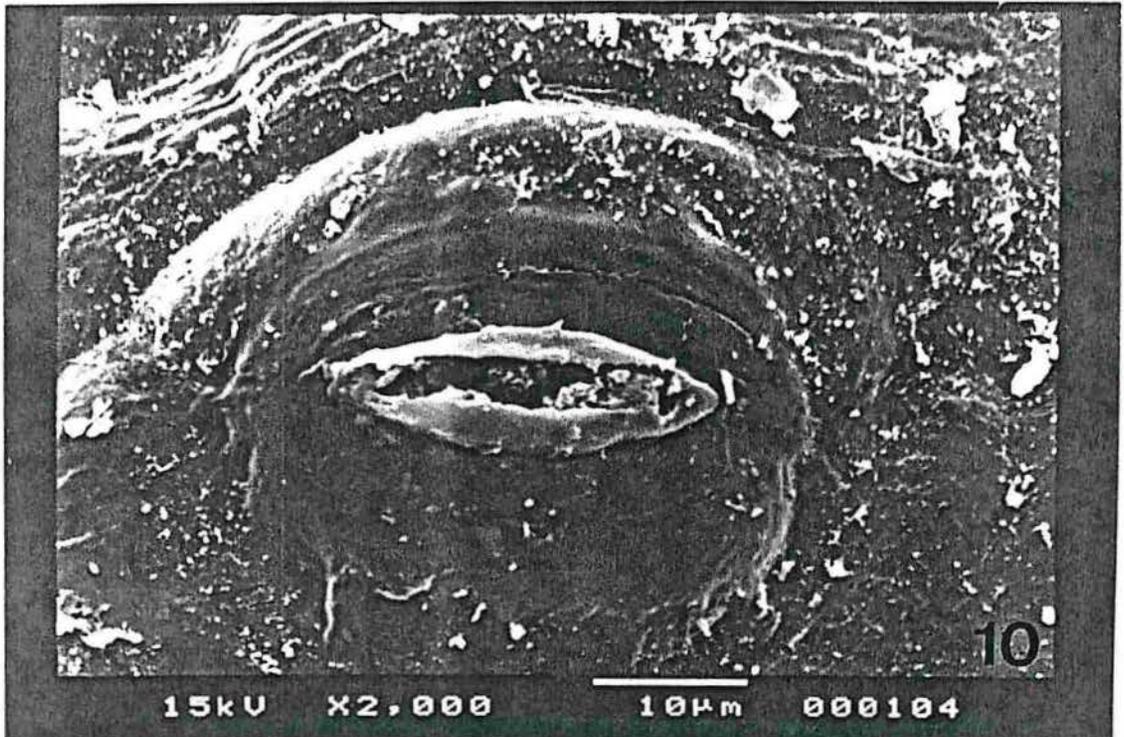
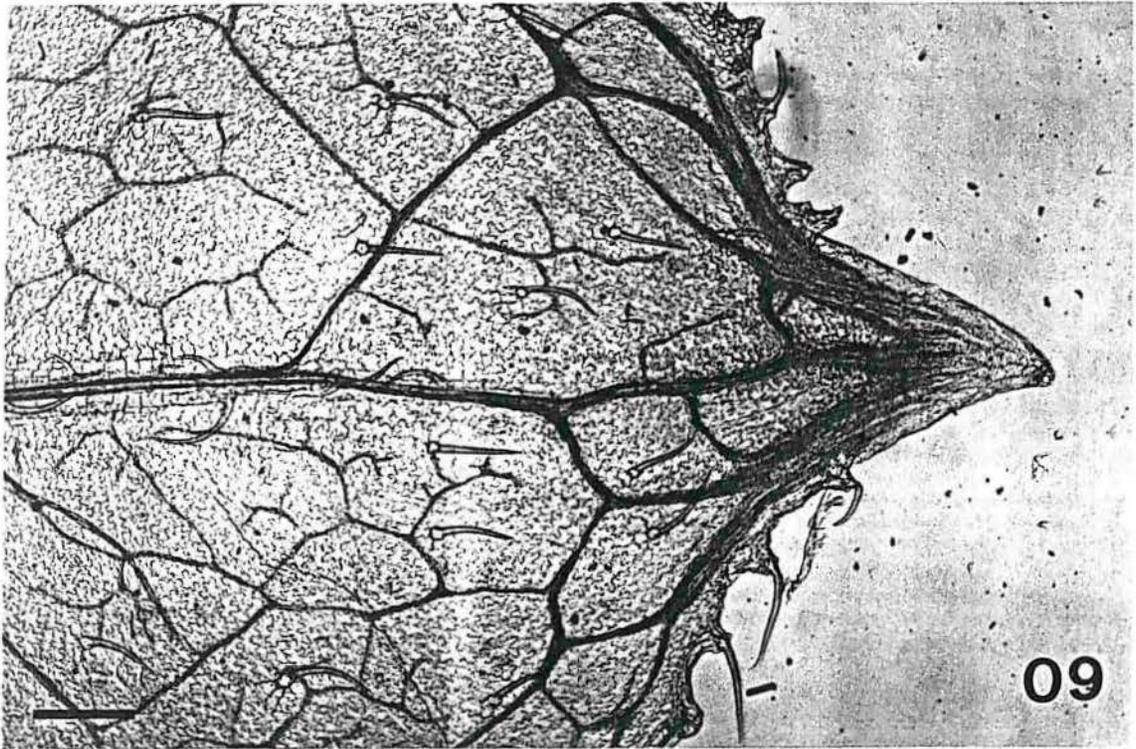


Fig. 09: Vista frontal da vascularização do hidatódio na região apical da folha de *R. hypocarpium* (escala: 300 µm).

Fig. 10: Imagem de um poro aquíífero de *R. hypocarpium* em um microscópio eletrônico de varredura (MEV).

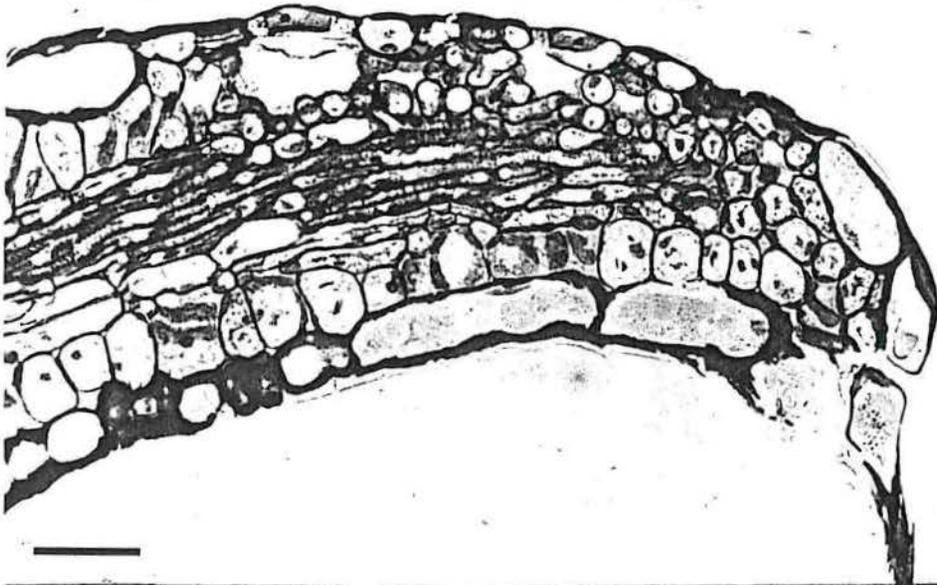
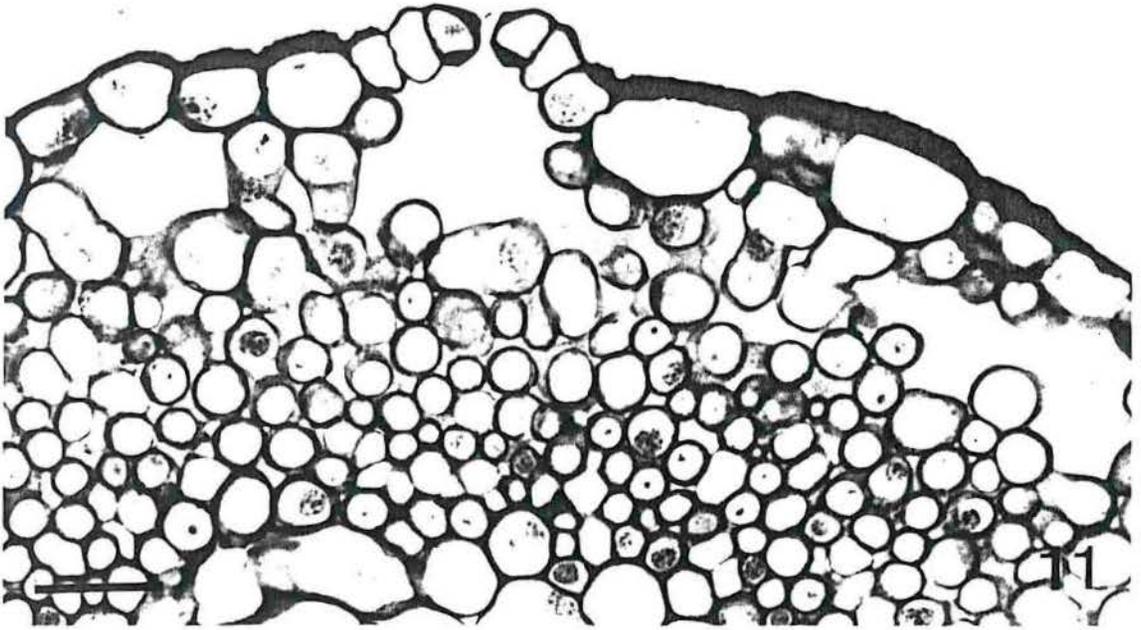


Fig. 11: Secção transversal do hidatódio no ápice foliar de *R. hypocarpium* (escala: 25 $\mu$ m).

Fig. 12: Secção longitudinal do hidatódio no ápice foliar de *R. hypocarpium* (escala: 50 $\mu$ m).

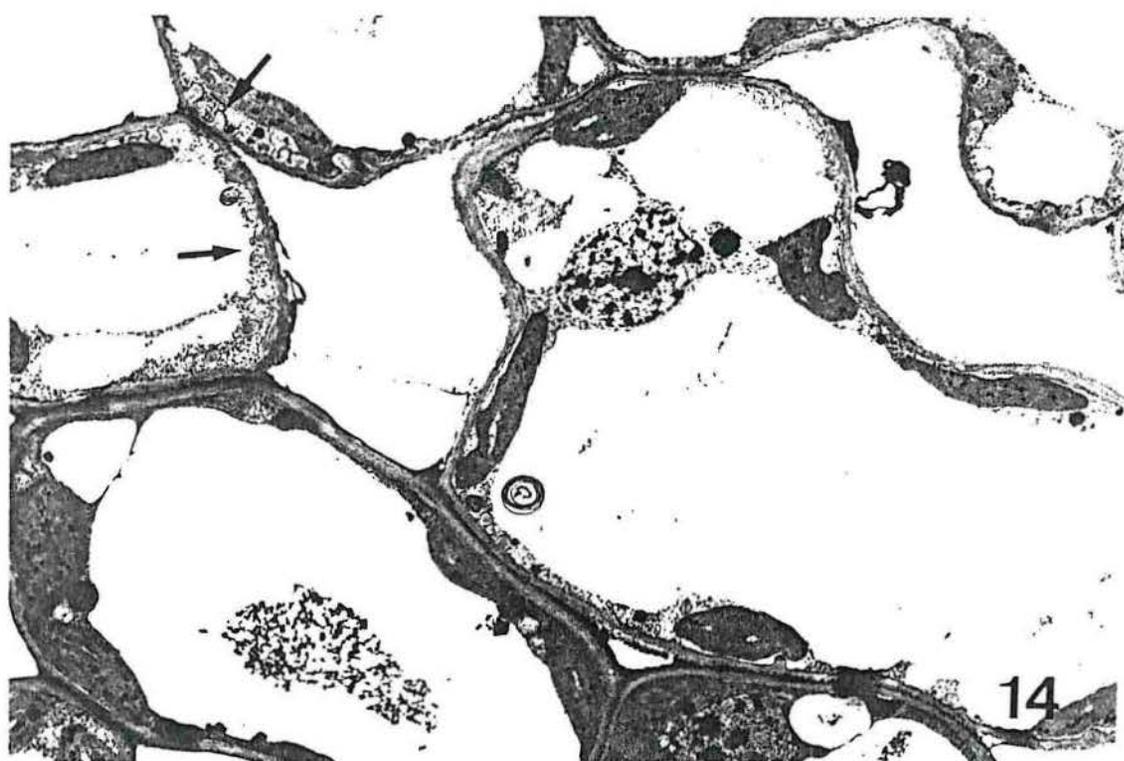
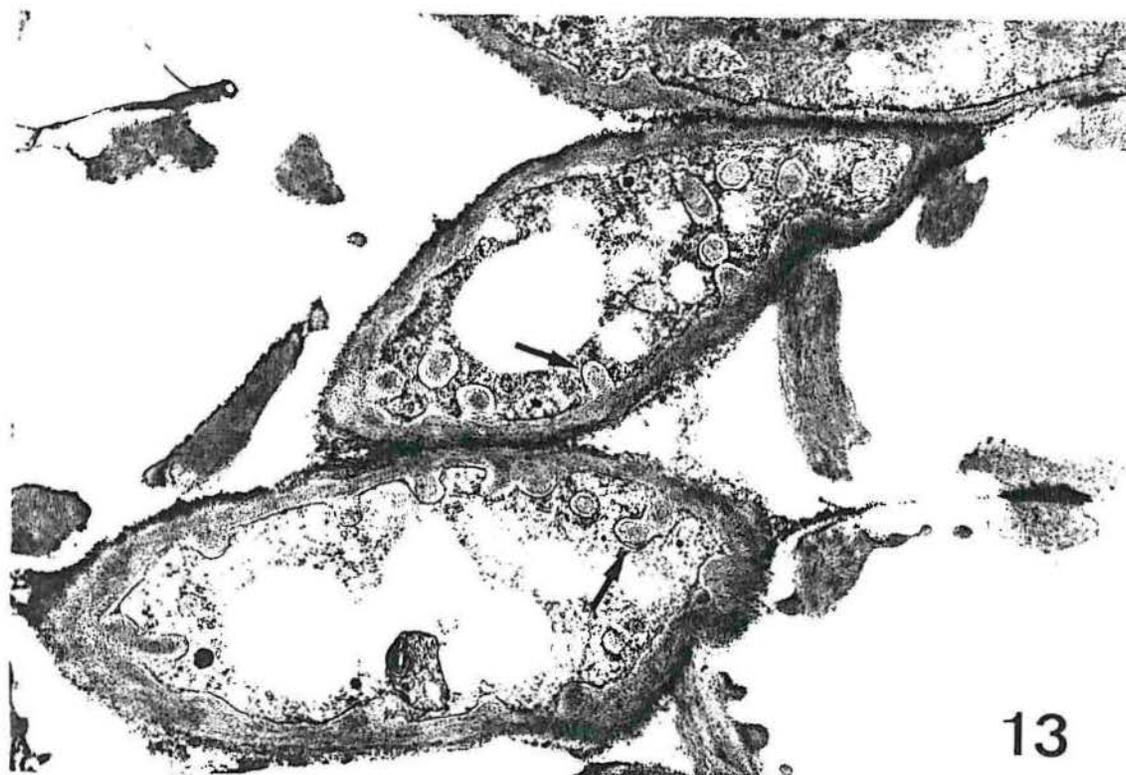
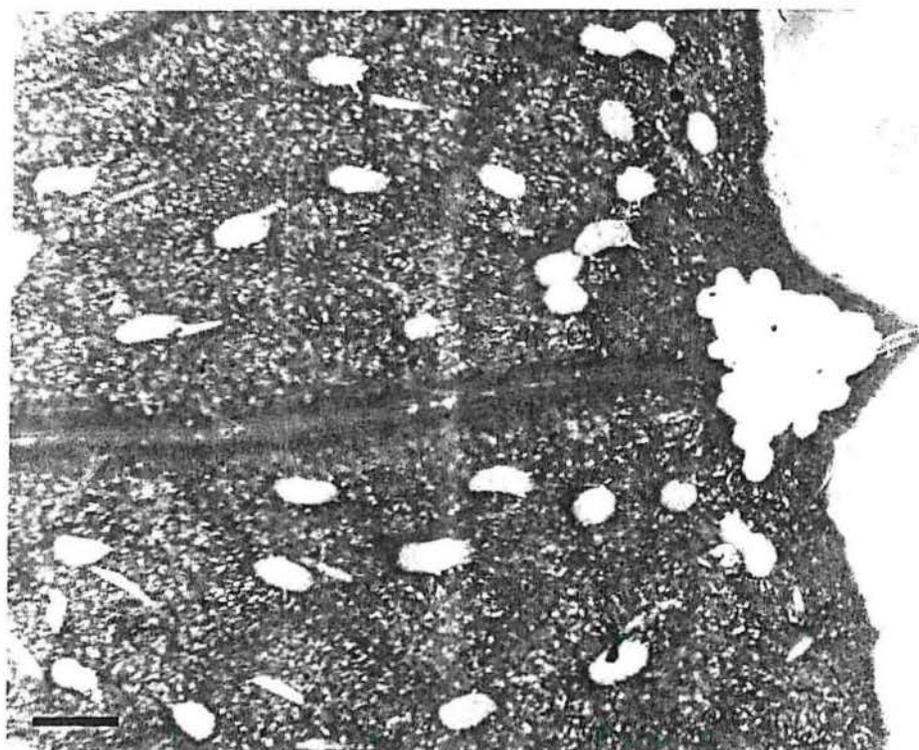
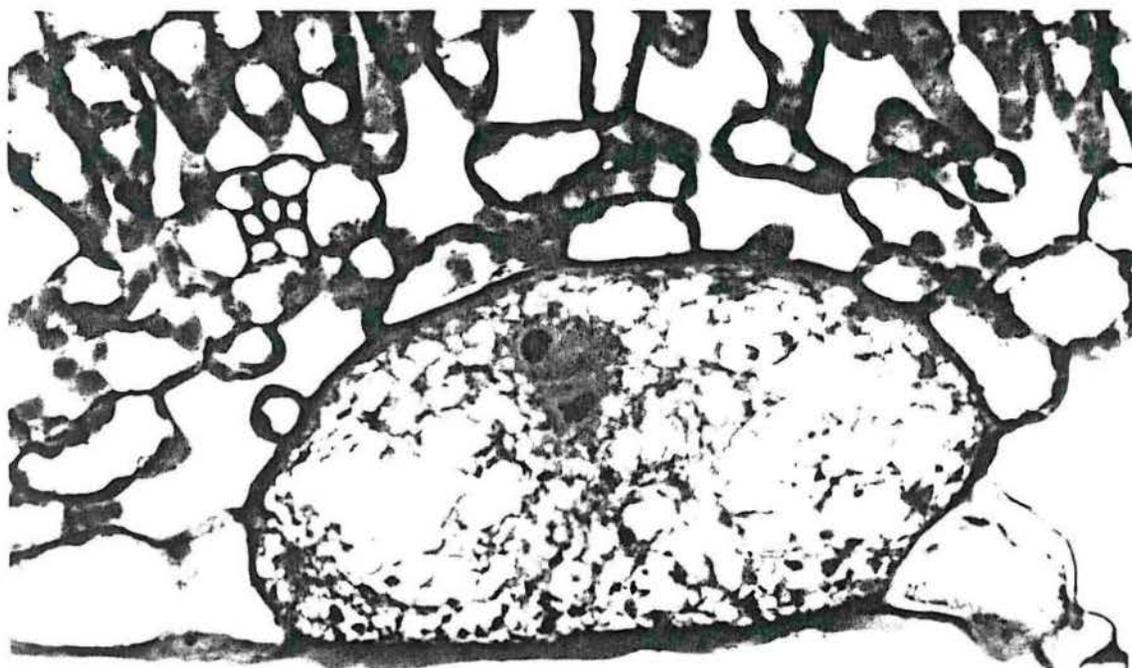


Fig. 13: Células do parênquima xilemático do hidatódio de *R. hypocarpium* em microscópio eletrônico de transmissão (MET). As setas indicam as digitações da parede celular.

Fig. 14: Células epimáticas do hidatódio de *R. hypocarpium* em microscópio eletrônico de transmissão (MET). As setas indicam as digitações da parede celular.



15



16

Fig. 15: Aspeto frontal da face abaxial da folha de *R. hypocarpium* onde observam-se células secretoras agrupadas no ápice e dispersas pela lâmina (escala: 0,25 mm).

Fig. 16: Secção transversal de uma célula secretora na lâmina foliar de *R. hypocarpium* (escala: 25  $\mu$ m)

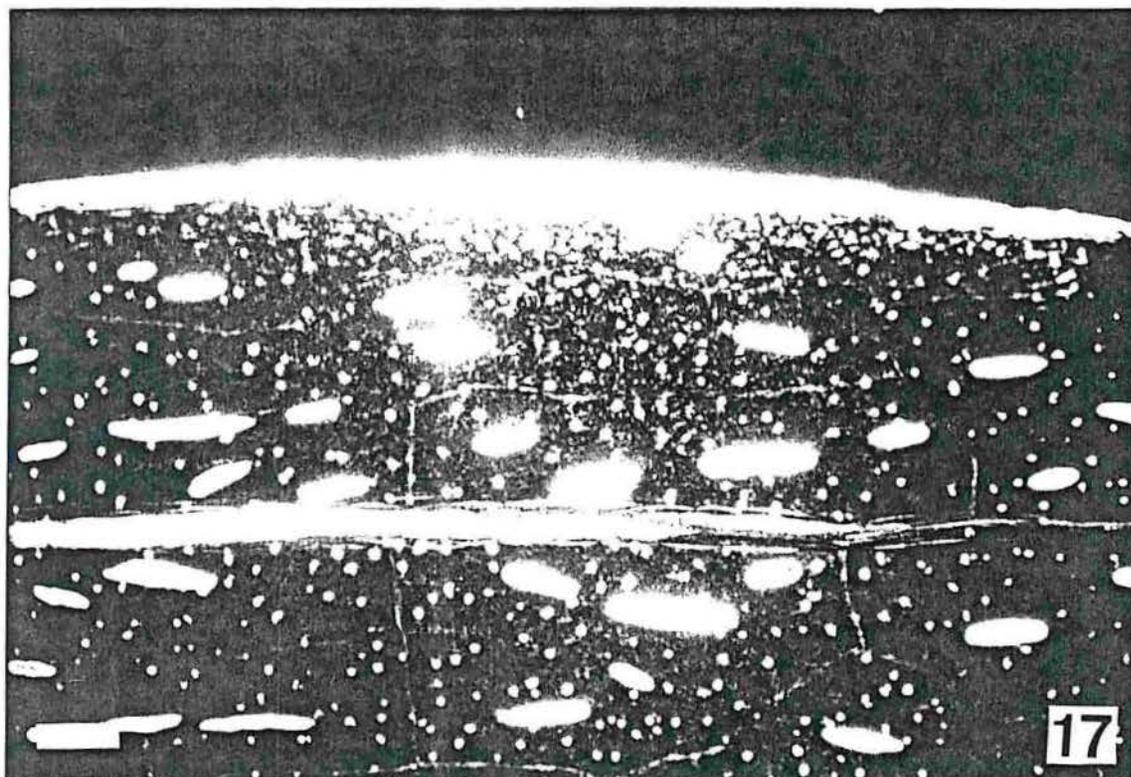


Fig. 17: Ráfides distribuídas paralelamente à nervura mediana na lâmina foliar de *R. richardianum* (escala: 100  $\mu\text{m}$ ).

Fig. 18: Ráfides levemente voltadas à margem na lâmina foliar de *R. valantioides* (escala: 100  $\mu\text{m}$ ).

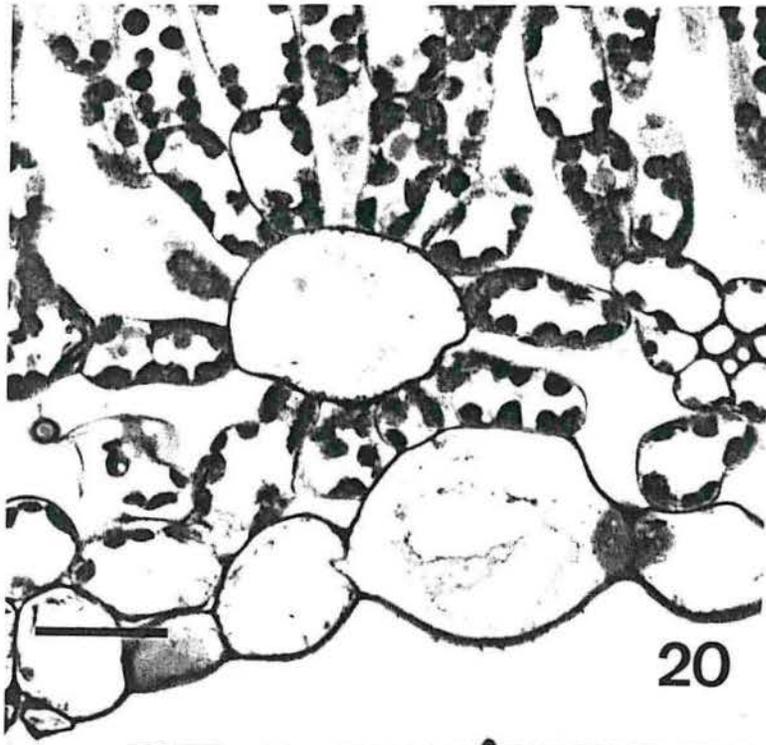
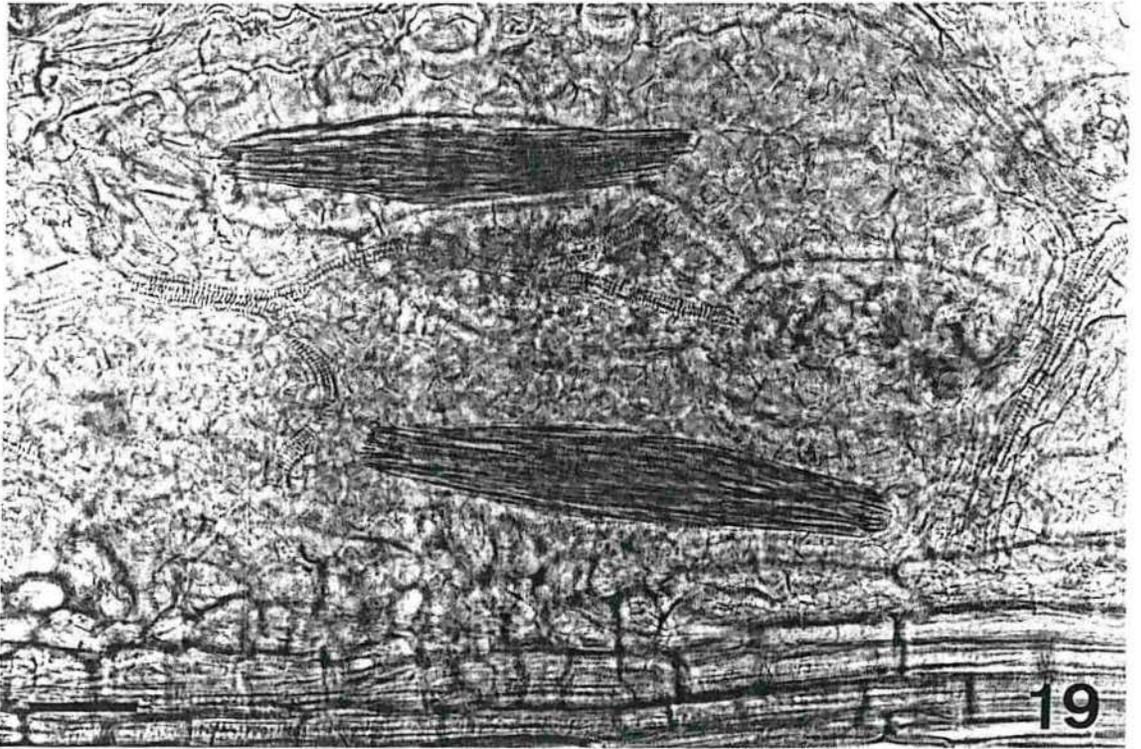


Fig. 19: Detalhe do aspecto frontal de um feixe de ráfide na lâmina foliar de *R. paulense* (escala: 50  $\mu\text{m}$ ).

Fig. 20: Secção transversal de um idioblasto com ráfides na lâmina foliar de *R. rupestre* (escala: 25  $\mu\text{m}$ ).

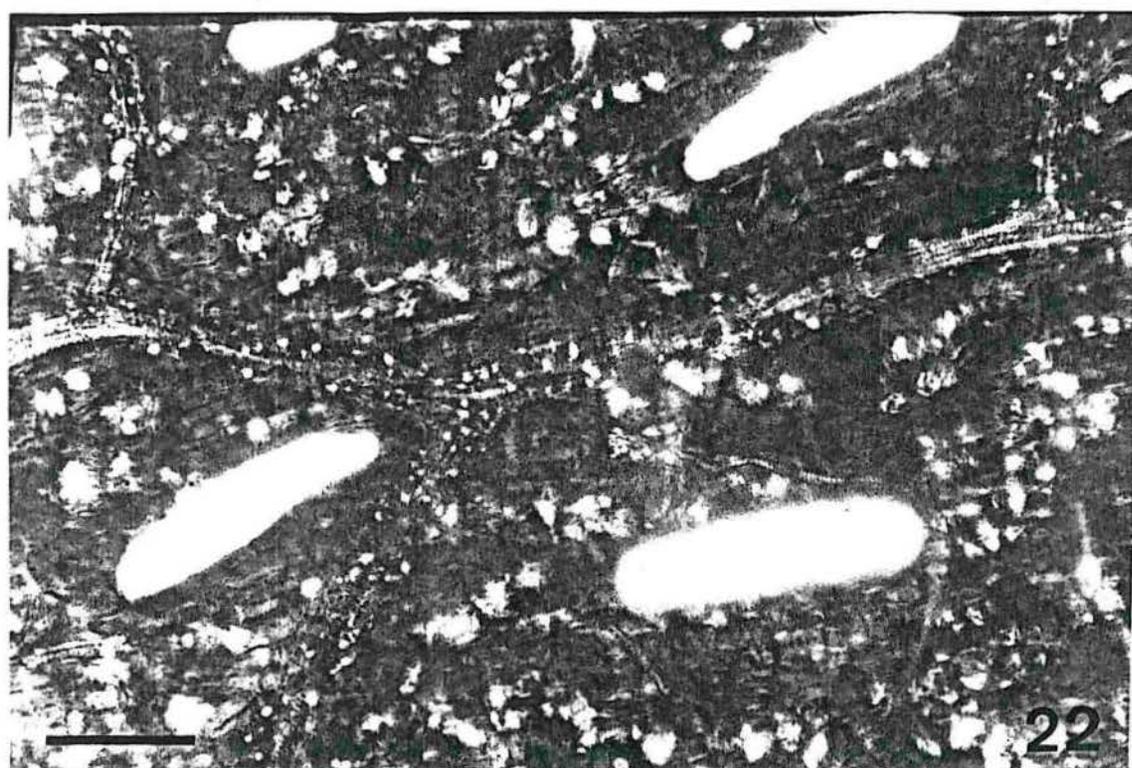
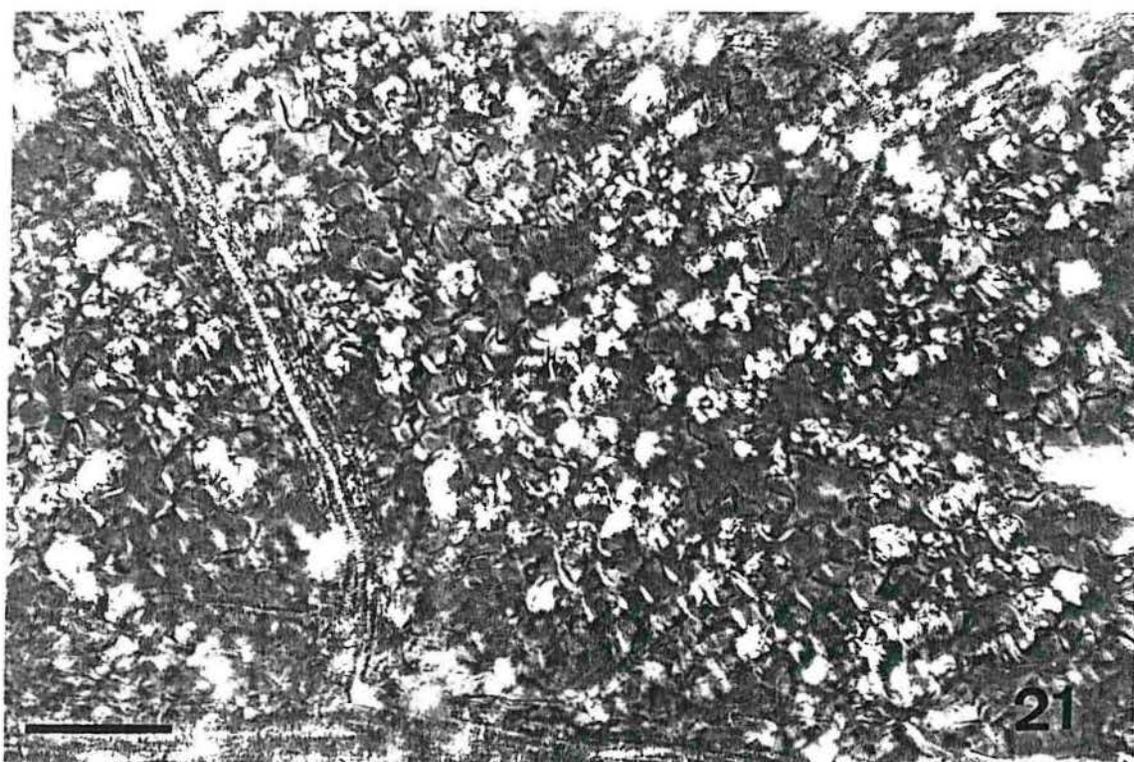


Fig. 21: Pequenas ráfides no parênquima paliçádico da lâmina foliar de *R. gracillimum* (escala: 100  $\mu\text{m}$ )

Fig. 22: Monocristais na bainha perivascular de pequenas nervuras na lâmina foliar de *R. noxium* (escala: 50  $\mu\text{m}$ )

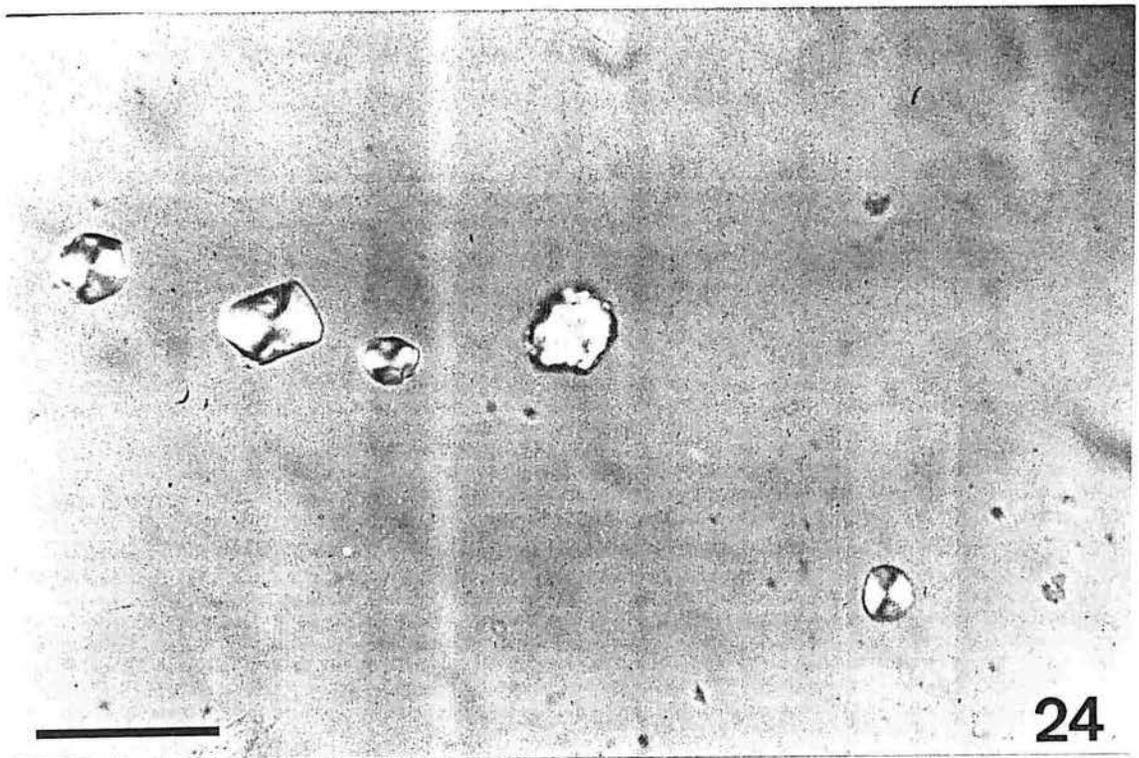
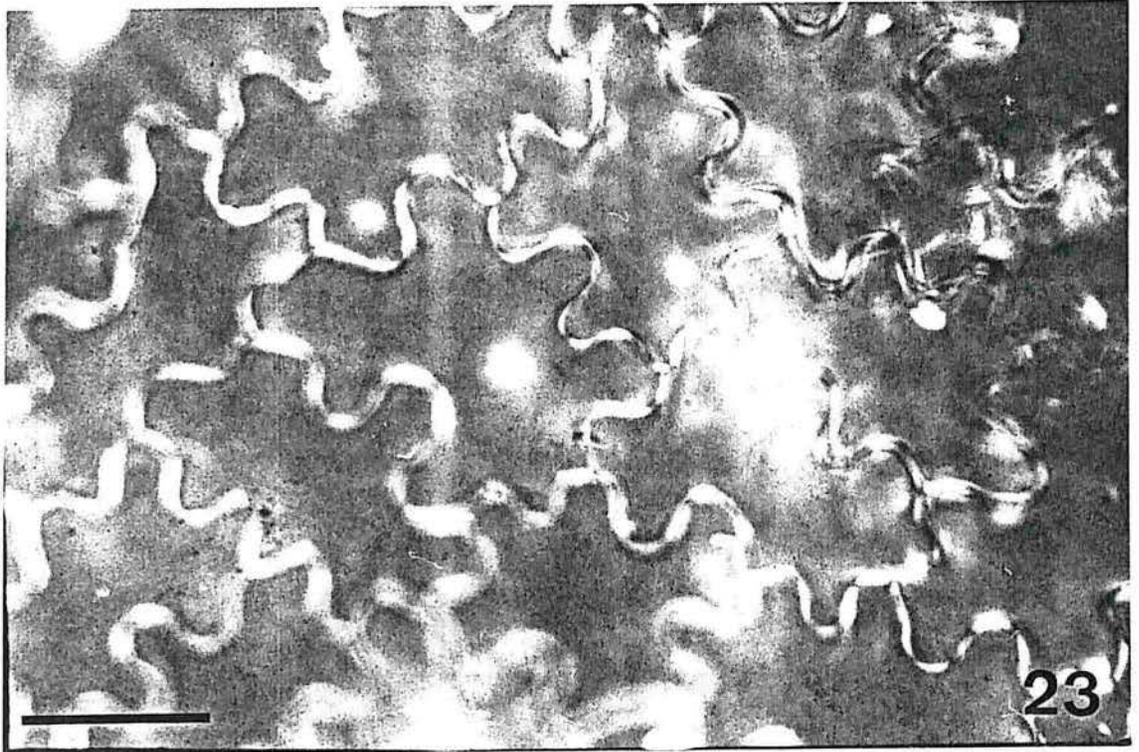


Fig. 23: Monocristais epidérmicos na face adaxial da lâmina foliar de *R. noxium* (escala: 25 $\mu$ m)

Fig. 24: Monocristais e agregados epicuticulares na superfície da lâmina foliar de *R. hypocarpium* (escala: 25 $\mu$ m).