Anatomia foliar de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae)

Letícia Larcher¹ Maria Regina T. Boeger^{2*}

Laboratório de Anatomia Ecológica, Departamento de Botânica Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná Caixa Postal 19031, CEP 81.531.990 Curitiba, Paraná. ¹leticialarcher@gmail.com ²rboeger@ufpr.br *Autora para correspondência

> Submetido em 24/01/2006 Aceito para publicação em 25/05/2006

Resumo

Este trabalho investigou a anatomia da folha de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (família Acanthaceae) com ênfase na descrição dos cistólitos, que são muito abundantes nesta espécie. Folhas totalmente expandidas de cinco indivíduos adultos foram coletadas no Jardim Didático do Setor de Ciências Biológicas (UFPR) e fixadas em FAA 70. Os cistólitos localizam-se nas células epidérmicas diferenciadas da face adaxial (litocistos) e são cilíndricos, alongados, com inúmeras pequenas projeções, podendo ocorrer aos pares, em diversos tamanhos, com comprimento médio de $163,4\pm 68,8\mu$ m e densidade de $23\pm 9,97$ cistólitos.mm⁻²(n=10). Os cistólitos, além de ocorrerem nas células epidérmicas, são encontrados também entre as células colenquimáticas da nervura central e do pecíolo. A lâmina foliar apresenta epiderme uniestratificada, mesofilo dorsiventral, com parênquima paliçádico contínuo ao longo da lâmina. Os feixes vasculares estão distribuídos em forma de arco e envoltos por parênquima fundamental. Tricomas glandulares ocorrem em ambas as faces, enquanto que os tricomas tectores pluricelulares e estômatos diacíticos estão presentes apenas na face abaxial. O grande número e tamanho dos cistólitos encontrados podem estar relacionados com defesas contra a herbivoria e com os mecanismos de retirada de excesso de cálcio absorvido do solo.

Unitermos: Odontonema strictum, anatomia foliar, cistólitos

Abstract

Leaf anatomy of *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae). This study investigated the leaf anatomy of *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae), with emphasis on cystoliths, which are very abundant in this species. Leaves fully expanded from five mature individuals were collected in the teaching garden of the "Setor de Ciências Biológicas" (UFPR) and fixed in FAA 70. The cystoliths were located in the epidermal cells of the adaxial face (litocysths) and also among the collenchyma cells of the midrib and petiole. The cystoliths were cylindrical, long, with several small projections. They sometimes occurred in pairs and varied greatly in size, with an average length of 163.4±68.8 µm and a density of 23±9.97 cystoliths.mm⁻²(n=10). The foliar lamina presented a uniseriate epidermis, dorsiventral mesophyll, and palisade parenchyma, which was continuous along the lamina. In the midrib, arc-shaped vascular veins were surrounded by fundamental parenchyma. Glandular trichomes occurred on both faces of the leaf, while non-glandular trichomes and diacytic stomata were

present only on the abaxial face. The great number and size of the cystoliths observed could be related to defenses against herbivory and to mechanisms of removal of excess calcium absorbed from the soil.

Key words: Odontonema strictum, leaf anatomy, cystoliths

Introdução

A família Acanthaceae é uma entre as quatorze famílias listadas por Metcalfe e Chalk (1965) que apresenta cistólitos, principalmente na folha. Apesar destas famílias não apresentarem relações filogenéticas, os cistólitos são especialmente abundantes na ordem Urticales e são utilizados como caráter sistemático, de acordo com a forma e posição que se apresentam (Groult, 1999; Dickison, 2000).

A maioria dos textos e livros (Mauseth, 1988; Fahn, 1990; Dickison, 2000) que comenta sobre cistólitos utiliza como exemplo *Ficus elastica* Roxb (Moraceae), sendo que as outras espécies que apresentam esta estrutura são pouco abordadas. As formas mais freqüentes de cistólitos são os esféricos, baciliformes ou fusiformes que ocorrem aos pares ou solitários. Os cistólitos se desenvolvem tipicamente em células epidérmicas, denominadas de litocistos, que usualmente aumentam de tamanho e projetam-se para o interior da folha.

Num dos poucos estudos sobre cistólitos, Groult (1999) relaciona forma, tamanho, densidade e orientação dos cristais em relação à nervura central e a presença dos mesmos nas faces adaxial e abaxial. A autora utiliza tal estrutura como caráter taxonômico para diferenciar as espécies de *Pilea* (Urticaceae).

Além da relevância taxonômica, são raras as informações sobre a importância dos cistólitos para as plantas. A presença de cistólitos em *F. elastica* já foi relacionada com a invasão de fungos e alguns estudos indicam que a formação de cistólitos depende da quantidade de cálcio no solo (Metcalfe e Chalk, 1983), assim como a formação de cristais de oxalato de cálcio (Molano-Flores, 2001). Fatores ambientais como a ausência de luz, principalmente em indivíduos jovens, assim como a ausência de dióxido de carbono na atmosfera parece inibir o desenvolvimento dos cistólitos (Metcalfe e Chalk, 1983). Odontonema strictum (Nees) O. Kuntze, pertencente à família Acanthaceae, caracteriza-se pelo hábito arbustivo, de porte ereto, de 1 a 2 metros de altura, ramificada, com folhas simples, decíduas, ovaladasalongadas, verde brilhante, espessas, textura áspera, bordos ondulados e venação pinada (Lorenzi e Moreira, 1995; Delvalle e Gilman, 1999). É muito utilizada como ornamental, multiplicando-se por estacas e é de fácil enraizamento (Zuffellato-Ribas et al., 2005). Seu cultivo depende apenas de espaço, pois seu crescimento tolera tanto solos ácidos, alcalinos e argilosos e tanto ambientes de sol como de sombra (Lorenzi e Moreira, 1995; Delvalle e Gilman, 1999).

Devido à escassez de dados na literatura sobre a presença de cistólitos de carbonato de cálcio, este trabalho visou subsidiar maiores informações sobre estas estruturas, através do estudo da anatomia foliar de *O*. *strictum*.

Material e Métodos

As plantas foram coletadas no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (25°25'S, 49°17'W), localizado na região leste do município de Curitiba, no Estado do Paraná, em uma altitude de aproximadamente 900 metros, numa área de alta intensidade luminosa. Segundo os dados fornecidos pelo SIMEPAR para o ano de 2003, a temperatura média anual de Curitiba é de 17,8°C, sendo a maior temperatura média durante o mês de fevereiro com 23,1°C e a menor durante o mês de agosto, com 13,2°C. A precipitação anual total é de 1175,7mm, sendo março o mês de maior precipitação média, com 165,1mm e agosto o de menor precipitação, com 9,0mm.

Para análise da anatomia foliar foram coletadas folhas totalmente expandidas de cinco indivíduos adultos. Secções medianas das folhas foram fixadas em FAA 70 (etanol 70°, formaldeído e ácido acético 18:1:1 v/v) (Johansen, 1940) e posteriormente conservadas em álcool 70°. As espessuras da lâmina foliar foram medidas com paquímetro digital, nas regiões intercostais das folhas antes do processo de fixação. As lâminas semipermanentes foram preparadas com o auxílio de lâmina de barbear e coradas com Azul de Toluidina em solução aquosa (O'Brien et al., 1965). As lâminas permanentes foram confeccionadas após inclusão do material em historresina (hydroxyetil metacrilate, Leica®) de acordo com as especificações do fabricante e seccionadas em micrótomo rotatório. As secções foram coradas com dupla coloração Fucsina Básica e Azul de Astra (Alves de Brito e Alquini, 1996).

Para verificar a presença de substâncias ergásticas, em secções transversais a fresco, foram testados os seguintes reagentes: lugol (Berlyn e Miksche, 1976) para evidenciar a presença de amido, cloreto férrico (Johansen, 1940) para evidenciar a presença de compostos fenólicos e sudam III (Johansen, 1940) para evidenciar a ocorrência de compostos lipídicos. Para evidenciar os cistólitos, as secções paradérmicas da face adaxial da folha do material fresco foram clarificadas e montadas com meio de montagem Hoyers (Beek, 1955). Para verificar a composição foi utilizado o teste com acido acético glacial, para distinção entre carbonato de cálcio e oxalato de cálcio (Chamberlain, 1932; Arduin e Kraus, 1997). As medições do comprimento dos cistólitos foram realizadas em microscópio fotônico Bioval Modelo L2000C, com auxílio de ocular milimetrada. A densidade dos cistólitos foi estimada pela contagem de cistólitos na face adaxial numa área de 1 mm², através de imagem capturada por câmera de vídeo (dLux CCD Color Camera) acoplado ao computador e microscópio Bioval Modelo L2000C.

Para microscopia eletrônica de varredura (MEV), o material foi fixado em FAA 70, desidratado em série etanólica crescente até etanol absoluto. Os fragmentos foram submetidos ao processo de ponto crítico com CO_2 no equipamento Baltec CPD 030 Critical Point Dryer, com temperatura constante de 32°C e fixados em suporte metálico, em diferentes posições. As amostras foram então metalizadas com ouro a vácuo em metalizador FL9496 Balzers SCD 030, observadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM – 6360 LV. As fotomicrografias foram obtidas em microscópio Olympus BX51 com máquina digital Olympus Qcolor 5 acoplada.

Resultados

Em vista frontal, a epiderme é formada por células de paredes anticlinais retas, com formato irregular em ambas as faces. Na face abaxial, ocorrem estômatos do tipo diacítico, caracterizando a folha como hipoestomática (Figuras 1A, 3A). Tricomas glandulares (Figuras 1A, 3A) ocorrem em ambas as faces e são formados por uma célula basal e uma cabeça multicelular com quatro a oito células. Tricomas tectores pluricelulares ocorrem apenas na nervura central, na face abaxial da epiderme, e são formados de duas ou três células com parede ornamentada (Figura 1B).

Na face adaxial da epiderme, em vista frontal, algumas células epidérmicas possuem disposição radiada em torno de uma célula menor, formando uma depressão (Figura 1C), o que caracteriza a posição dos cistólitos.

Os cistólitos são cilíndricos, de forma geralmente alongada, elíptica, com pequenas projeções, tendo, geralmente, uma extremidade mais afilada do que a outra, que tem formato mais arredondado (Figuras 1D, 2).

Os cistólitos possuem comprimento médio de 163,4 \pm 68,8µm, com máximo de 314,2µm e mínimo de 76,2µm e apresentam uma densidade de 23 \pm 9,97 cistólitos por mm² (n=10). O teste feito com acido acético glacial foi positivo para carbonato de cálcio, pois os cristais de carbonato de cálcio dissolveram e foi possível notar o aparecimento de bolhas de gás carbônico (Arduin e Kraus, 1997).

Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada, com células cúbicas, de diferentes tamanhos na mesma face. As células da epiderme da face abaxial são menores, sendo que a largura é quase o dobro da altura (Figura 3A). Já as células epidérmicas que recobrem a nervura central são menores quando comparadas com as células que recobrem a região do mesofilo, considerando a mesma face. Especificamente na face abaxial, as células epidérmicas sobre a nervura central apresentam a parede anticlinal externa levemente convexa, enquanto que na face adaxial as paredes anticlinais externas são retas (Figura 3C).



FIGURA 1: Eletromicrografias em Microscopia Eletrônica de Varredura de O. strictum. A. Superficie abaxial da folha, evidenciando os estômatos diacíticos e tricoma glandular. A seta preta indica tricoma glandular e a seta branca estômato B. Epiderme da nervura foliar, evidenciando as células alongadas, presença de estômatos e de tricomas glandulares e tectores pluricelulares. A seta indica as ornamentações na parede da célula do tricoma tector. C. Superficie adaxial da folha, evidenciando as paredes anticlinais retas e a depressão formada pelo posicionamento radial das células ao redor da inserção de um cistólito. D. Secção paradérmica da folha, evidenciando as ornamentações do cistólito. A seta indica as ornamentações dos cistólitos.

A epiderme é revestida por uma fina cutícula. Algumas células da face adaxial da epiderme são diferenciadas devido ao maior tamanho e por apresentarem cistólitos, caracterizando-as como litocistos. Os litocistos, em posição epidérmica, geralmente se desenvolvem em direção ao parênquima paliçádico; em alguns casos, assumem posição subepidérmica e podem ocorrer aos pares. Na região da nervura central, os litocistos podem ocorrer tanto na epiderme, como entre células do colênquima (Figura 3B), do parênquima clorofiliano (Figura 3 C) e do parênquima fundamental.



FIGURA 2: *Odontonema strictum* A. Aspecto geral da secção paradérmica da face adaxial, em microscopia fotônica, evidenciando a forma dos cistólitos. Barra = 50µm.

Revista Biotemas, 19 (4), dezembro de 2006

O mesofilo é dorsiventral, formado por parênquima paliçádico, composto por duas a três camadas distintas, sendo que as células da primeira camada são mais longas, e pelo parênquima lacunoso, com cerca de quatro a cinco camadas de células de formato irregular e tamanho variado. Os espaços intercelulares não são muito grandes, o que confere a este parênquima um aspecto mais compacto (Figura 3A). A lâmina foliar é espessa, com valores médios de 0,58 \pm 0,13mm, com espessura máxima de 0,89mm e mínima de 0,44mm.

A presença de cristais de oxalato de cálcio tipo acicular é mais evidente nas células parenquimáticas clorofilianas, em preparações a fresco. Pequenos feixes vasculares do tipo colateral, que estão imersos no mesofilo, estão circundados por uma bainha parenquimática.

Na nervura central, internamente à epiderme, encontra-se de duas a três camadas de colênquima angular, em ambas as faces (Figura 3C), onde podem ocorrer os cistólitos e os cristais do tipo drusa (Figura 4A). Na face adaxial, interno ao colênquima, ocorre o parênquima palicádico, também constituído de duas a três camadas de células. A ocorrência do parênquima paliçádico na nervura central permite que este tecido seja contínuo ao longo de toda a lâmina foliar, na face adaxial (Figura 3C). Os feixes da nervura central são do tipo colateral e estão distribuídos em forma de arco, sendo dois menores em posição lateral e um maior central (Figura 3C). Envolvendo os feixes vasculares, ocorre parênquima fundamental. Os resultados dos testes para evidenciar amido, compostos fenólicos e lipídicos foram negativos.



FIGURA 3: Secção transversal da folha de O. strictum. A. Secção transversal do mesofilo, evidenciando os cistólitos (seta branca), tricoma glandular (tric) e estômato (est) na face abaxial. Barra =50µm B. Detalhe da nervura central, evidenciando a posição do colênquima. Seta indica cistólito. Barra = 50µm C. Nervura central da folha, mostrando o parênquima paliçádico contínuo e cistólitos. Barra = 200µm.

Revista Biotemas, 19 (4), dezembro de 2006

Em secção transversal, o pecíolo apresenta formato arredondado, na face abaxial, com duas projeções laterais e a face adaxial plana (Figura 4B). A epiderme que reveste o pecíolo é uniestratificada. As células da face adaxial são quadrangulares com lume grande e paredes periclinais retas. Já as células da face abaxial são mais longas do que largas e possuem a parede periclinal externa levemente convexa, assim como na face abaxial da nervura central. Internamente à epiderme ocorre uma faixa continua de colênquima angular, composta de cerca de oito camadas de células pequenas (Figura 4C).

Dispersos entre as células colenquimáticas mais internas do pecíolo, ocorrem litocistos que encerram no seu interior os cistólitos cujas projeções são conspícuas. Os litocistos são encontrados em grande número e estão orientados de forma que os cistólitos fiquem paralelos ao plano longitudinal do pecíolo (Figura 4C), diferentemente dos cistólitos do mesofilo que estão com orientações diversas. O sistema vascular é representado por um feixe colateral central maior em forma de arco, com a abertura voltada para a face adaxial e por feixes menores próximos as projeções laterais (Figuras 4B, 4C). Pequenos cristais de oxalato de cálcio do tipo acicular são muito abundantes nas células parenquimáticas que contornam o feixe vascular. Na região adjacente ao colênquima, as células parenquimáticas apresentam maior concentração de cloroplastos.



FIGURA 4: Secções transversais do pecíolo de O. strictum. A – Eletromicrografia de Microscopia Eletrônica de Varredura de um cristal do tipo drusa encontrado na região da nervura central da folha. B – Desenho esquemático do pecíolo, evidenciando a posição dos tecidos vasculares. O pontilhado representa o floema e o hachurado representa o xilema. c = colênquima. Barra = 800µm; C – Detalhe de uma das projeções laterais do pecíolo, seta indica cistólitos em posição longitudinal. Barra = 200µm.

Revista Biotemas, 19 (4), dezembro de 2006

Discussão

A família Acanthaceae apresenta várias características peculiares como a presença de cistólitos de diferentes formas, que ocorrem tanto na folha como no caule, a estrutura secundária anômala com floema intra e interxilemático e fibras aciculares que ocorrem no floema axial (Metcalfe e Chalk, 1965). A presença de cristais de oxalato de cálcio de diferentes formas, incluindo drusas e ráfides também são reportadas por Metcalfe e Chalk (1965) como uma das características das acantáceas. Entre estas características, a presença de um grande número de cistólitos é marcante nas folhas e pecíolos de *O. strictum*, assim como o grande número de cristais do tipo acicular que ocorre nas células parenquimáticas do pecíolo.

Outras características como mesofilo dorsiventral, estômatos diacíticos e os feixes vasculares do pecíolo em forma de arco são características comuns em várias espécies da família (Metcalfe e Chalk, 1965; Fahn, 1990), assim como em muitas outras dicotiledôneas (Mentink e Bass, 1992).

Para a família Acanthaceae, a maioria dos tricomas tanto tectores como glandulares são descritos como unicelulares ou unisseriados (Metcalfe e Chalk, 1965). Os tricomas tectores encontrados em *O. strictum* são unicamente unisseriados como em *Acanthopsis horrida*, enquanto que os tricomas glandulares, na espécie estudada, possuem a célula do pescoço curta e a porção apical multicelular, com 6 a 8 células como em *Barleria prionitis*, ambas pertencentes a esta família (Metcalfe e Chalk, 1965).

O mesofilo dorsiventral presente nesta espécie é o mais comum, encontrado em folhas de dicotiledôneas (Mentink e Bass, 1992). O parênquima paliçádico ocorre também na região da nervura central, tornando-se contínuo ao longo de toda a lâmina. A ocorrência deste parênquima contínuo associado ao número de camadas, provavelmente, incrementa a espessura da folha. Folhas espessas parecem ser vantajosas como prevenção a herbivoria, associada a cutículas também espessas (Xiang e Chen, 2004), e podem ser entendidas como uma aclimatação às condições de alta luminosidade onde os indivíduos estudados se desenvolvem (Vogelmann et al., 1996). Possivelmente, folhas desenvolvidas sob outras condições ambientais, especialmente de luz, apresentem diferentes espessuras e comprimento de células do parênquima paliçádico (Thompson et al., 1992; Marques et al., 2000).

Com relação à posição dos estômatos, esta espécie apresenta folhas hipoestomáticas como a maioria das espécies desta família, e também como a maioria das dicotiledôneas (Smith e McClean, 1989). Este posicionamento dos estômatos aparentemente permite que a perda de água pela transpiração seja minimizada (Smith et al., 1997) e/ou impede que o excesso de água da chuva bloqueie o poro estomático (Pyykkö, 1979).

A constituição dos cistólitos de carbonato de cálcio que ocorre nesta espécie é a mesma encontrada em outras espécies dos gêneros de Acanthaceae (Metcalfe e Chalk, 1965). Morfologicamente, os cistólitos de *O. strictum* são semelhantes aos referidos por Metcalfe e Chalk (1965) para as espécies de *Blechum*, *Chaetothylax, Chamaeranthemum, Daedalacanthus, Ruellia*, cuja característica principal é a forma alongada com uma das extremidades mais afilada. Quanto ao número, os cistólitos de *O. strictum* podem ocorrer isoladamente, como nas espécies de *Ruellia* e *Justicia* e, menos freqüentemente, aos pares como em *Barleria* e *Crabbea*.

Uma das características observadas nas folhas de O. strictum refere-se ao tamanho e número de cistólitos por unidade de área, principalmente na face adaxial das folhas. Apesar de serem bastante freqüentes na face adaxial, os cistólitos ocorrem em menor número por unidade de área quando comparados com os cistólitos que ocorrem nas folhas das espécies de Pipturus (Urticaceae) que apresentaram uma freqüência bem maior (60-140 cistólitos. mm⁻²), segundo Nicharat e Gillet (1970). Para estes autores, os cistólitos das espécies de Pipturus variaram em número e tamanho em função da presença ou ausência da hipoderme, sendo que as folhas com hipoderme foram as que apresentaram os menores cistólitos. Entretanto, Nicharat e Gillett (1970) não comentam qual a relação da presença da hipoderme com o tamanho dos cistólitos. Já os cistólitos de O. strictum são maiores em comprimento do que os cistólitos reportados para algumas espécies de Urticaceae, que variaram de 20 a 150mm (Metcalfe e Chalk, 1983).

A pouca informação sobre a morfologia e função dos cistólitos de carbonato de cálcio deve-se ao fato de poucas espécies vegetais apresentarem estas estruturas (Metcalfe e Chalk, 1983), principalmente quando se compara ao número de famílias botânicas (cerca de 215) que apresentam cristais de oxalato de cálcio (Molano-Flores, 2001).

Os cristais de oxalato de cálcio têm sido motivo de investigação pela sua importância ecológica, uma vez que a presença de cristais nas plantas é relacionado como o mecanismo de defesa contra a herbivoria (Lucas et al., 2000; Xiang e Chen, 2004) e pela importância fisiológica, pois os cristais regulam o nível de cálcio nos tecidos (Volk et al., 2002), além de auxiliar na distribuição da luz para os cloroplastos com a dissipação do excesso de luz durante períodos de alta intensidade luminosa (Franceschi, 2001). Adicionalmente, há estudos que evidenciam que o excesso de cálcio pode ser estocado na forma de oxalato de cálcio e que este cálcio pode ser remobilizado em certas condições (Volk et al., 2002). Odontonema strictum também apresenta cristais de oxalato de cálcio do tipo acicular, principalmente no pecíolo, e poucas drusas no mesofilo, quando se compara com outras espécies onde estes cristais também estão presentes (Boeger e Wisniewski, 2003).

As informações sobre as possíveis funções dos cistólitos são escassas, assim como sobre os processos de formação destes cristais (Metcalfe e Chalk, 1983). Considerando que os cistólitos também são formados por cálcio, estes poderiam estar igualmente relacionados com as funções anteriormente mencionadas para os cristais de oxalato de cálcio (Groult, 1999; Lucas et al., 2000; Franceschi, 2001).

As demais características anatômicas observadas são comuns entre as espécies de acantáceas e de outras dicotiledôneas e de certa forma podem ser consideradas respostas estruturais às condições ambientais, como a ocorrência de várias camadas de parênquima paliçádico.

Agradecimentos

As autoras agradecem ao Centro de Microscopia Eletrônica pelo uso dos equipamentos, ao Prof. Dr. Walter Boeger pelo uso do sistema digital de imagem e ao MSc. Ari Espindola Jr pelas sugestões e auxílio no trabalho de laboratório.

Referências

Alves de Brito, C. J. F.; Alquini, Y. 1996. A new method for staining botanical material embedded in glycol-methacrylate (GMA). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, **39**: 949 – 951.

Arduin, M.; Kraus, J. E. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Edur, Seropédica, Brasil, 198pp.

Beek, R. M. 1955. Improvments in the squash technic for plant chromosomes. Aliso, 3: 131-133.

Boeger, M. R.; Wisniewski, C. 2003.Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, **26**: 61-72.

Berlyn, G. P.; Miksche, J. P. 1976. Botanical microtechinique and cytochesmistry. The Iowa state Press, Ames, USA, 326pp.

Chamberlain, C. J. 1932. **Methods in Plant Histology**. 5^a ed. The University of Chicago Press, Chicago, USA, 416pp.

Delvalle, T.; Gilman, E. F. 1999. *Odontonema strictum*. University of Florida. Disponível em http://hort.ifas.ufl.edu/shrubs/ODOSTRA.PDF>. Acesso em 10 de agosto de 2005.

Dickison, W. C. 2000. Integrative plant anatomy. Harcourt Academic Press, Sao Diego, USA, 533pp.

Fahn, A.1990. **Plant Anatomy**. Pergamon Press, Oxford, UK 588pp. Franceschi, V. 2001. Calcium oxalate in plants. **Trends in Plant Science**, **6**: 361-427

Groult, M-L.; 1999. Apport de l'etude des cystolithes foliaires a la taxinomie du Complexe Néotopical Pilea microphylla (L.) Liemb. et especes affines. **Sciences de la Vie, 322**: 817-823.

Johansen, D. A. 1940. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill Book Company Inc., New York, USA, 523pp.

Lorenzi, H.; Moreira, H. 1995. Plantas Ornamentais do Brasil. Ed. Plantarum, Nova Odessa, Brasil, 720pp.

Lucas, P. W.; Turner, I. M.; Dominy, N. J.; Yamashita, N. 2000. Mechanical defenses to herbivory. **Annals of Botany, 86**: 913-920.

Mauseth, J. D. 1988. **Plant Anatomy**. Menlo Park, California, USA, 560pp.

Mentink, H.; Bass, P. 1992. Leaf anatomy of the Melastomataceae, Memecylacea and Crypteroniaceae. **Blumea**, **37**: 189-225.

Marques, A. R.; Garcia, Q. S.; Rezende, J. L. P.; Fernandes, G. W. 2000. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under different light intensities. **Tropical Ecology**, **41**: 47-56.

Metcalfe, C. R.; Chalk, L. 1965. Anatomy of the dicotiledons, leaves, steam, and wood in relations to taxonomy whit notes on economic uses. Clarendon Press, Oxford, UK, 560pp

Metcalfe, C. R.; Chalk, L. 1983. Anatomy of the dicotiledons, wood structure and conclusion of the general introduction. Clarendon Press, Oxford, UK, 297pp.

Molano-Flores, B. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). **Annals of Botany, 88**: 387-391.

Nicharat, S.; Gillet, G. W. 1970. A review of the taxonomy a hawaiian *Pipturus* (Urticaceae) by anatomical and cytological evidence. **Brittonia**, **22**: 191-206.

O'Brien, T. P.; Feder, N.; Mccully, M. E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, **59**: 368-373.

Pyykkö, M. 1979. Morphology and anatomy of leaves from some woody plants in a humid tropical forest of Venezuelan Guyana. Acta Botanica Fennica, 112: 1–41.

Smith, W. K.; McClean, T. M. 1989. Adaptive relationship between leaf water repellency, stomatal distribution, and gas exchange. **American Journal of Botany**, **76**: 465-469.

Smith, W. K.; Vogelmann, T. C.; Delucia, E. H.; Bell; Shepherd, K. A. 1997. Leaf form and photosynthesis: Do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide? **Bioscience**, **47**: 785-793.

Thompson, A. W; Kriedemann, P. E.; Craig, I. E., 1992. Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade-tolerant rainforest trees. I. Growth, leaf anatomy and nutrient content. Australian Journal of Plant Physiology, 19: 1-18.

Volgelmann, T. C.; Nishio, J. N.; Smith, W. K.1996. Leaves and light capture: light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. **Trends in Plant Science**, **1**: 65-70.

Volk, G.; Lynch-Holm, V.; Kostman, T.; Franceschi, V. R. 2002. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. **Plant Biology**, **41**: 34-45.

Xiang, H.; Chen, J. 2004. Interspecific variation of plant traits associated with resistance to herbivory among four species of *Ficus* (Moraceae). **Annals of Botany, 94**: 377-384.

Zuffellato-Ribas, C. K.; Boeger, M. R. T.; Bona, C.; Paes, E. da G. B.; Pimenta, A. C.; Masuda, E. T. 2005. Enraizamento e morfoanatomia de estacas caulinares de *Odontonema strictum* (Nees) O. Kuntze (Acanthaceae). **Revista Horticultura Ornamental**, **11**: 57-61.