



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

RHANIEL NICHOLAS LISOWSKI GONÇALVES

ANATOMIA ECOLÓGICA DO LIMBO FOLIAR E DE COLÉTERES DE ESPÉCIES
DA TRIBO COUSSAREEAE Benth & Hook. F. (RUBIACEAE)

Campinas

2018

Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves

ANATOMIA ECOLÓGICA DO LIMBO FOLIAR E DE COLÉTERES DE ESPÉCIES
DA TRIBO COUSSAREEAE Benth & Hook. F. (RUBIACEAE)

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Instituto de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do
título de Mestre em Biologia Vegetal.

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO RHANIEL
NICHOLAS LISOWSKI GONÇALVES E
ORIENTADA PROF^a DRA. MARIA FERNANDA
AGUIAR CALIÓ.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Fernanda Calió

Co-orientadora: Profa. Dra. Juliana Lischka Sampaio Mayer

Campinas

2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

G586a Gonçalves, Rhaniel Nicholas Lisowski, 1994-
Anatomia ecológica do limbo foliar e de coléteres de espécies da tribo
Coussareeae Benth & Hook. F. (Rubiaceae) / Rhaniel Nicholas Lisowski
Gonçalves. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Maria Fernanda Aguiar Calió.
Coorientador: Juliana Lischka Sampaio Mayer.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de
Biologia.

1. Anatomia vegetal. 2. Folhas. 3. Rubiaceae. 4. Inflorescências. I. Calió,
Maria Fernanda Aguiar, 1980-. II. Mayer, Juliana Lischka Sampaio, 1979-. III.
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Ecological anatomy of leaf blades and colleteral glands from species of
tribe Coussareeae Benth & Hook. F. (Rubiaceae)

Palavras-chave em inglês:

Plant anatomy

Leaves

Rubiaceae

Inflorescences

Área de concentração: Biologia Vegetal

Titulação: Mestre em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

Maria Fernanda Aguiar Calió [Orientador]

Peter Stoltenborg Groenendyk

Aline Bertolosi Bombo Cardoso

Data de defesa: 15-10-2018

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal

Campinas, 15 de Outubro de 2018

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª Dra. Maria Fernanda Aguiar Calió (Orientadora)

Prof. Dr. Peter Stoltenborg Groenendyk

Dra. Aline Bertolosi Bombo Cardoso

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

Aos meus pais, Ivana Lisowski e Aldoir Couto Gonçalves, dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Fundo de Apoio à Pesquisa, Ensino e Extensão da Universidade Estadual de Campinas (FAEPEX), pela concessão da bolsa de estudo que possibilitou a realização deste trabalho;

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pela oportunidade de realização deste trabalho;

Às professoras Dra. Maria Fernanda Calió e Dra. Juliana Lischka Sampaio Mayer, pela orientação, pelo auxílio financeiro em expedições de campo e outros momentos do mestrado, pelo crescimento pessoal e profissional que proporcionaram durante o mestrado e pela amizade;

À Juliana Amaral de Oliveira e à professora Dra. Rafaela Campostrini Forzza, pelo fornecimento de grande parte das amostras e informações sobre as condições ambientais das mesmas, essenciais para a realização deste estudo;

Ao técnico do Laboratório de Anatomia Vegetal, Sebastião Militão Junior, pelo o auxílio prestado durante o mestrado;

Aos professores Dr. Peter Stoltenborg Groenendyk e Dra. Letícia Silva Souto, e à pesquisadora Dra. Aline Bertolosi Bombo, pelas críticas e considerações realizadas durante o exame de qualificação e análise prévia, que contribuíram intelectualmente para este trabalho;

À Elimar Alves de Lima, por todo o auxílio prestado com as técnicas de parafina e de coloração;

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas;

Aos amigos que fiz durante o mestrado, Fábio, Mariana, Gleicyanne, Elimar e Edimar, que contribuíram imensamente para a realização deste trabalho. Agradeço pelos momentos de descontração, por todo o apoio, e principalmente pela amizade. Agradeço também aos demais colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal e do Departamento de Biologia Vegetal;

Aos amigos com quem dividi a melhor república de Barão Geraldo, Lucas, Kelly, Marcela, Gabriel e Priscilla, pela amizade, companheirismo e apoio;

À Marta Pinheiro Niedzwiedzki, amiga de longa data, pela amizade desde a infância, e por todo o apoio durante a luta que foi o término do mestrado;

À Fernanda de Siqueira Pieczak, à qual não tenho palavras para descrever a importância que teve, desde o primeiro dia da graduação e durante os dois anos de mestrado, e por estar presente em todos os momentos, mesmo que distante.

Aos meus amigos de Laranjeiras do Sul, Renato, Marcelo, Heliton, Christian, Wilian e Thomas, por todo o apoio, pelos inúmeros momentos de descontração e pela amizade.

Aos meus pais, Ivana Lisowski e Aldoir Couto Gonçalves, e aos meus irmãos, por todo o auxílio, incentivo e pelo amor incondicional, sem os quais a realização deste trabalho não seria possível;

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

As condições ambientais de um determinado domínio fitogeográfico influenciam fortemente a estrutura de organismos sésseis, como as plantas, e variações nestas condições levam a diferentes respostas por parte das populações. Assim, diferentes órgãos podem apresentar variações estruturais de acordo com as condições em que a planta se encontra. A tribo Coussareeae (Rubiaceae: Rubioideae) encontra-se distribuída em uma ampla variedade de domínios fitogeográficos e, como consequência, espera-se encontrar variações nas características morfoanatômicas de suas espécies, que representam respostas as diferentes pressões ambientais a que são expostas. Para compreender quais são essas respostas, nós avaliamos se os atributos qualitativos e quantitativos das folhas apresentam diferenças entre diferentes ambientes; como as espécies se comportam em análises de agrupamento e se os tipos de coléteres observados apresentam uma correlação com a presença ou ausência de nódulos de bactérias nas folhas. As amostras foram processadas e coradas de acordo com métodos usuais em anatomia vegetal para microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Dados qualitativos das características morfoanatômicas foram comparadas e relacionadas aos ambientes. Análises estatísticas, incluindo testes de modelos mistos, diferenças entre espécies congênicas e análises de agrupamento (Cluster e PCA) foram realizadas utilizando dados quantitativos. A partir das análises morfoanatômicas do limbo foliar, não foram observados nódulos de bactérias em nenhuma das espécies. Foram identificadas características que apresentaram variação e podem ser consideradas respostas as condições ambientais onde cada amostra foi coletada, sendo elas: a posição das folhas (imbricadas ou horizontais); presença de uma camada de células subepidérmicas apenas em *Hindsia ibitipocensis*; presença ou ausência de cutícula espessada e tricomas tectores; estrutura do mesofilo (tipos de mesofilo e número de camadas do parênquima clorofiliano); curvatura da margem foliar e presença de compostos fenólicos em idioblastos ou nas células do parênquima clorofiliano. Com relação às análises estatísticas, o teste de modelos mistos mostrou que, levando os gêneros em consideração, folhas de sol tendem a ser mais espessadas do que folhas de sombra, com diferença estatística significativa ($P < 0.05$) para o parênquima paliçádico e espessura total do mesofilo. O dendrograma de Cluster e a análise de PCA revelam resultados inconclusivos, onde são formados tanto grupos de espécies de gêneros diferentes em condições ambientais semelhantes, quanto de espécies próximas em

condições distintas. Com relação aos coléteres, foram observados principalmente na face adaxial das brácteas ou próximos ao receptáculo. Em todas as amostras avaliadas, foram classificados como o tipo “*standard*” para a família Rubiaceae, o que mostra a pouca plasticidade desta estrutura. Algumas características anatômicas observadas podem apresentar valor taxonômico, como presença de cristais no eixo central parenquimático em algumas das espécies avaliadas e ausência de feixes vasculares.

Palavras-chave: anatomia vegetal; domínios fitogeográficos; folhas; inflorescências; Rubioideae.

ABSTRACT

The environmental conditions of a particular phytogeographical domain strongly influence the structure of sessile organisms, like plants, and variations in these conditions lead to different responses from the populations. Thus, different organs may show structural variations according to the conditions that the plant is. The Coussareeae tribe (Rubiaceae: Rubioideae) is found distributed in a broad variation of phytogeographical domains and, as a consequence, it is expected to find variations in the morfoanatomical traits of its species, that represent different responses to the environmental pressures to which they are exposed. To understand which are these responses, we evaluated whether the qualitative and quantitative traits of the leaves show differences between different environments; how the species behave in group analysis and whether the collector types observed show a correlation with the presence or absence of bacterial nodules in leaves. The samples were processed and stained according to usual methods in plant anatomy to light microscopy and Scanning Electron Microscopy. Qualitative data of the morfoanatomical traits were compared and related to the environments. Statistical analysis, including Mix Models tests, differences between congeneric species and group analysis (Cluster and PCA) were realized using the quantitative data. From the morfoanatomical analysis of the leaf blade, bacterial nodules were not seen in none of the analysed species. Traits that showed variation and can be considered responses to the environmental conditions where each sample was obtained were identified, which are: the position of the leaves (imbricated or horizontal); the presence of one layer of subepidermal cells only in *Hindsia ibitipocensis*; presence or absence of a thickened cuticle and non-glandular trichomes; mesophyll structure (mesophyll types and number of layers of the chlorophyll parenchyma); curvature of leaf margin and presence of phenolic compounds in idioblasts or inside the cells of the chlorophyll parenchyma. Concerning the statistical analysis, the mix models test shows that, considering the genus, sun leaves tend to be thicker than shade leaves, with significant statistical difference ($P < 0,05$) for the palisade parenchyma and the total thickness of mesophyll. The Cluster dendrogram and the PCA show inconclusive results, where there are formed both groups of species of different genus in similar

environmental conditions and groups of close species in distinct conditions. Regarding to the colleters, they were observed mainly in the adaxial face of the bracts or next to the receptacle. In all the evaluated species, they were classified as the “standard” type for the Rubiaceae family, which shows the lack of plasticity in this structure. Some of the anatomical traits observed may have taxonomic value, like the presence of crystals in the central axis of some of the evaluated species and the absence of vascular bundles.

Key-words: Leaves; inflorescences; phytogeographical domains; plant anatomy; Rubioideace.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. MATERIAL E MÉTODOS	16
2.1 Área de Estudo	16
2.2 Amostragem	17
2.3 Seleção de caracteres morfoanatômicos	18
2.4 Análises anatômicas	19
2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura	20
2.6 Análises estatísticas	20
3. RESULTADOS	24
3.1 Anatomia do limbo	24
3.1.1 <i>Análises morfoanatômicas</i>	<i>24</i>
3.1.2 <i>Análises estatísticas</i>	<i>26</i>
3.2 Coléteres	28
4. DISCUSSÃO	50
4.1 Anatomia do limbo	50
4.2 Coléteres	57
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXO I	67
ANEXO II	70
ANEXO III	71

1. INTRODUÇÃO

As condições ambientais de um determinado domínio fitogeográfico afetam fortemente a estrutura de organismos sésseis, como as plantas, e variações em tais condições levam a diferentes respostas por parte das populações (Dickison, 2000, Schollert *et al.* 2015). Especificamente na região neotropical, existe uma enorme diversidade de plantas vasculares com sementes (cerca de 90 a 110 mil espécies) (Antonelli e Sanmartin, 2011). Tamanha diversidade é decorrente de uma complexa relação com as características do ambiente, onde as plantas respondem tanto a fatores bióticos (adaptações de solo, interações bióticas, capacidade de dispersão) quanto a fatores abióticos (clima, exposição à luz) (Antonelli e Sanmartin, 2011; Hughes *et al.* 2013).

Nas plantas, diferentes órgãos podem apresentar variações estruturais de acordo com as condições ambientais em que se encontram, decorrentes de sua plasticidade fenotípica, ou seja, sua capacidade de alterar a estrutura morfoanatômica em resposta às pressões do ambiente (Sultan, 2000). Entre os diferentes órgãos das plantas, as folhas são consideradas os mais plásticos e que podem apresentar maior variação estrutural em resposta às condições ambientais (Dickison, 2000). As características estruturais da anatomia foliar estão fortemente ligadas às características ambientais, e a plasticidade desse órgão pode levar a diferentes respostas às condições de um determinado ambiente, auxiliando na sobrevivência do indivíduo (Chen *et al.* 2010; Lakusic *et al.* 2010; Perrone *et al.* 2015; Jiménez-Noriega *et al.* 2017).

Em ambientes considerados mesofíticos, por exemplo, com predominância de áreas sombreadas e disponibilidade hídrica relativamente alta, como a Mata Atlântica, as folhas usualmente apresentam características anatômicas correlacionadas a condições de menor exposição à luz, maior umidade e temperaturas mais baixas. Destas, podem-se destacar a presença de folhas hipoestomáticas, com mesofilo dorsiventral, composto por um parênquima clorofiliano pouco diferenciado, a presença de epiderme uniestratificada e cutícula pouco desenvolvida (Dickison, 2000; Balsamo *et al.* 2003). É válido salientar que, em algumas fitofisionomias da Mata Atlântica, como os *Inselbergs*, as características foliares podem ser diferenciadas, pois estes ambientes são considerados xerofíticos, com alta incidência de luz e restrição hídrica (Porembski, 2007). Por outro

lado, espécies que habitam domínios com condições climáticas mais secas, com maiores temperaturas e menor disponibilidade hídrica, como o Cerrado e Caatinga, podem apresentar uma variação entre caracteres mesofíticos e xerofíticos (Dickison, 2000). As principais características anatômicas foliares, nestes casos, estão relacionadas a condições de alta exposição à luz e maior restrição hídrica (Dong e Zhang, 2001; Yiotis *et al.* 2006). Assim, podem apresentar folhas reduzidas, anfiestomáticas, mesófilo dorsiventral ou isobilateral, cutícula espessada, presença de hipoderme, parênquima clorofiliano com maior número de camadas e células maiores, estômatos em criptas e presença de esclerênquima nos feixes vasculares (e.g., Dong, 2017; Dorken *et al.* 2017; Frander *et al.* 2017; Lakusic *et al.* 2010; Lusa *et al.* 2014).

Tais variações nas condições ambientais também podem levar a alterações estruturais e/ou fisiológicas em outros órgãos dos corpos vegetais, mas pouco se sabe o quanto podem influenciar estruturas que podem ter menor plasticidade, como os coléteres. Estas são estruturas secretoras, multicelulares, de origem somente protodérmica ou da protoderme e do meristema fundamental, especializadas na síntese e secreção de substâncias mucilaginosas e/ou lipofílicas (Fahn, 1979; Evert, 2013). Os coléteres são descritos para aproximadamente 65 famílias de angiospermas (Muravnik *et al.* 2014), sendo frequentemente observados e estudados em Rubiaceae (Lersten 1974a; Lersten 1974b; Mayer *et al.* 2013; Muravnik *et al.* 2014; Tresmondi *et al.* 2015; Judkevich *et al.* 2017).

Em Rubiaceae, coléteres estão localizados tanto em órgãos vegetativos como reprodutivos, próximos a botões florais e gemas vegetativas em desenvolvimento, tendo função de proteção dos meristemas contra herbivoria e dessecação decorrente da exposição à radiação solar (Fahn, 1979; Robbrecht, 1988; Mayer *et al.* 2013; Muravnik *et al.* 2014). Entre os constituintes químicos da secreção dos coléteres, que exercem tais funções, destacam-se carboidratos, proteínas, substâncias pécticas, substâncias lipofílicas e compostos fenólicos (Klein *et al.* 2004; Mayer *et al.* 2013; Muravnik *et al.* 2014). Para esta família, são descritos diferentes tipos de coléteres, como “*standard*”, “*dendroid*” e “*brush-like*”, entre outras variações menos comuns, como padrão reduzido (Lersten, 1974a). Segundo esse autor, existem fortes evidências de que os últimos tipos de coléteres estão associados à presença de nódulos de bactérias nas folhas de alguns grupos de Rubiaceae, e que essa estrutura deveria ser mais explorada para determinar seu valor taxonômico.

Para avaliar as possíveis variações na estrutura anatômica de folhas e coléteres em resposta a diferentes condições ambientais, estudar grupos que estão presentes em ambientes com características distintas pode se mostrar como uma opção válida. Distribuída em uma ampla variedade de domínios fitogeográficos da região neotropical, cada um com diferenças significativas com relação às suas condições climáticas (MMA, 2017), encontra-se a tribo Coussareeae (Rubiaceae). Trata-se de um grupo de plantas atualmente composto por dez gêneros e aproximadamente 412 espécies, encontrado majoritariamente na região neotropical, com sete de seus dez gêneros ocorrendo no Brasil (Bremer e Eriksson, 2009; Delprete e Jardim, 2012; Flora do Brasil, 2020). Suas espécies são encontradas em regiões com diferentes condições ambientais, desde climas mais áridos, como na Caatinga, até interior de matas na Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica (Bremer; Eriksson, 2009; Delprete; Jardim, 2012; The Plant List, 2013; Govaerts *et al.*, 2017; Flora do Brasil, 2020).

A maior parte dos estudos relacionados à tribo Coussareeae apresentam enfoque taxonômico, sendo poucos os trabalhos com foco sobre as características anatômicas do grupo (e.g. Tavares e Vieira, 1994). Em uma tribo amplamente distribuída em diferentes domínios fitogeográficos, como Coussareeae, espera-se que variações nas condições ambientais impliquem em algumas modificações nos padrões de desenvolvimento de um determinado fenótipo, como uma resposta às diferentes pressões ambientais dos variados domínios em que as espécies que compõem a tribo habitam (Sultan, 2000; Givnish, 2002).

Pesquisas comparando diferentes espécies em condições ambientais contrastantes podem fornecer dados importantes para uma melhor compreensão da influência de fatores ambientais sobre a estrutura anatômica de folhas e coléteres (e.g., Jordaan e Kruger, 1992; Tresmondi *et al.* 2015, Simioni *et al.* 2017). Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar os atributos morfoanatômicos do limbo foliar, com relação às condições ambientais de diferentes domínios fitogeográficos, e dos tipos de coléteres em espécies da tribo Coussareeae. Dessa forma, pretendemos: 1) Observar se as folhas de plantas coletadas em condições de exposição ao sol apresentarão uma estrutura anatômica diferenciada de folhas de sombra; 2) Observar se, a partir das análises de agrupamento, serão formados grupos distintos entre espécies coletadas em áreas expostas ao sol e áreas sombreadas; 3) Caracterizar a estrutura anatômica dos coléteres e verificar seu potencial taxonômico para futuros estudos em Rubiaceae.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

Para a realização deste estudo, foram amostradas espécies coletadas em três domínios fitogeográficos distintos. O primeiro domínio é a Mata Atlântica, que possui a maior diversidade de angiospermas da flora brasileira (Zappi et al. 2015), sendo considerada um *hotspot* de biodiversidade por Mittermeier et al. (2011). Apresenta uma ampla variedade de fitofisionomias, desde matas fechadas a *Inselbergs* (sendo estes considerados xerofíticos), com clima quente, úmido e sem uma estação seca definida (Patricia et al. 2000; Ribeiro et al. 2009). O Cerrado, também considerado um *hotspot* de biodiversidade (Mittermeier et al. 2011), é caracterizado por um clima mais quente, com alta incidência de radiação solar, e precipitação anual variando de 800 a 2000 mm, com uma estação seca durante o inverno (Ratter et al. 1997). Tais características diferem nos Campos Rupestres, fitofisionomia do Cerrado, por ocorrerem em grandes altitudes (acima de 900 metros), tendo grandes flutuações diárias de temperatura e menor pluviosidade (Rapini et al. 2008). Por fim, a Caatinga apresenta as condições climáticas mais extremas. Possui um clima semiárido, com altas temperaturas e baixa precipitação anual, sendo a restrição hídrica o principal fator limitante para a sobrevivência das espécies vegetais (Araújo et al. 2007). A distribuição das áreas de coletas pode ser visualizada na figura 1.

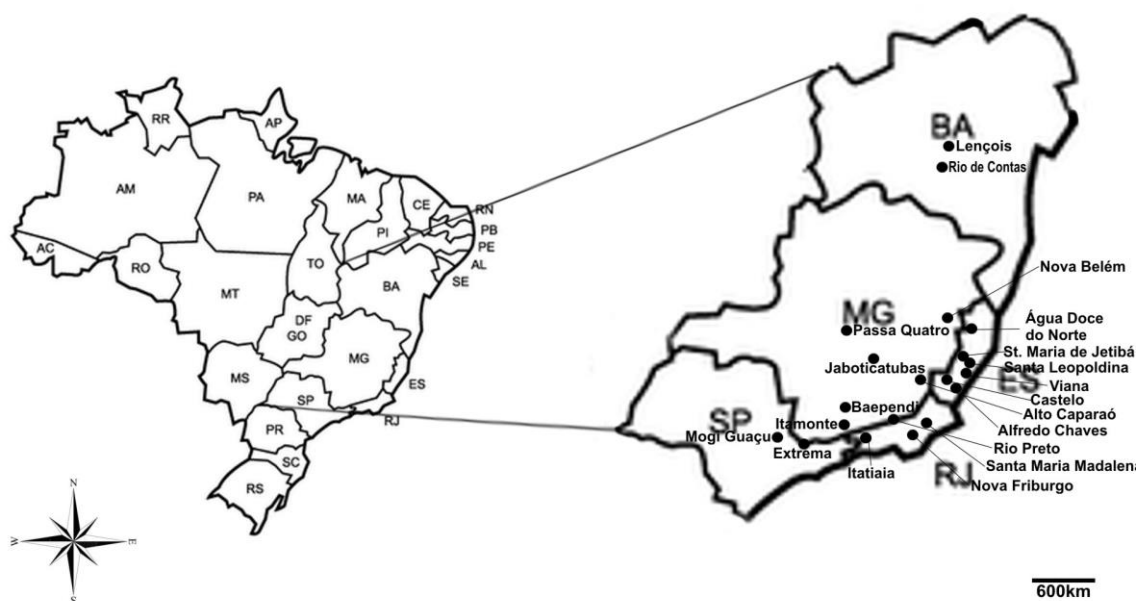


Figura 1. Distribuição das áreas de coleta nos estados de Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (Brasil).

2.2 Amostragem

Neste estudo, os materiais analisados pertencem a sete dos dez gêneros da tribo, Coussareeae, compreendendo todos os que ocorrem no Brasil: *Bradea* Standl., *Coccocypselum* P. Browne, *Coussarea* Aubl., *Declieuxia* Kunth., *Faramea* Aubl., *Hindsia* Benth. e *Standleya* Brade. No total, foram amostradas 31 espécies para a análise de limbo foliar e 20 espécies para análise de coléteres das inflorescências (Tabela 1; Anexo I), sendo essa diferença quanto ao número de espécies estudadas decorrente de uma limitação de inflorescências disponíveis. As amostras foram provenientes de diferentes domínios fitogeográficos, os quais são característicos para as espécies estudadas e representam o espectro de preferências ecológicas observadas nas espécies da tribo (Tabela 1). As amostras de folhas e inflorescências foram fixadas em álcool etílico 70% ou FAA 50% (Johansen, 1940) durante atividades de campo ou, excepcionalmente, foram obtidas a partir de material herborizado (*Coccocypselum pedunculare* Cham. & Schltdl.).

Para as análises de limbo foliar, foram utilizadas de três a cinco folhas totalmente expandidas, de um ou mais indivíduos (Tabela 1), na maior parte dos casos coletados sob as mesmas condições de exposição à luz. Especificamente, para *Bradea brasiliensis* Standl., *Coussarea hydrangeifolia* (Benth.) Müll.Arg. e *Coccocypselum*

lanceolatum Ruiz & Pav. foram amostradas folhas de indivíduos coletados em diferentes condições ambientais, de acordo com disponibilidade de material em campo. Devido a uma menor disponibilidade de material, para as espécies *Declieuxia cordigera* Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f., *Faramea vidensis* Müll.Arg., *Faramea nigrescens* Mart., *Standleya kuhlmanii* Brade e *Standleya glomerulata* J.G.Jardim & C.B.Costa foram utilizadas apenas de uma a duas folhas de um mesmo indivíduo; essas espécies foram examinadas apenas para as análises qualitativas. Para o estudo dos coléteres, foram avaliados os que se encontravam presentes em inflorescências jovens, compostas por botões florais em estágio de pré-antese. Para cada espécie, foram selecionadas inflorescências para as análises em microscopia de luz e em microscopia eletrônica de varredura.

2.3 Seleção de caracteres morfoanatômicos

Para a análise do limbo, foram selecionados caracteres anatômicos considerados possíveis respostas às condições ambientais de cada espécie (Simioni *et al.* 2017, Ferreira *et al.* 2015). As características avaliadas foram: 1) a posição das folhas com relação ao caule (horizontais ou imbricadas); 2) número de camadas da epiderme, 3) altura das células epidérmicas em secção transversal; 4) presença ou ausência de cutícula espessada (acima de 5 µm de espessura); 5) presença ou ausência de tricomas tectores; 6) estrutura do mesofilo (espessura e número de camadas do parênquima paliádico e lacunoso); 7) presença ou ausência de compostos fenólicos; e 8) presença ou ausência de tecido esclerenquimático próximo à nervura central e feixes colaterais. Com relação aos coléteres, foram analisadas: 9) a morfologia externa, baseada na microscopia eletrônica de varredura; 10) a sua estrutura anatômica visando caracterizar o tipo de coléter (baseado em Lersten, 1974); 11) presença ou ausência de cristais no eixo central parenquimático; 12) presença ou ausência de feixes vasculares no eixo central parenquimático; e 13) a posição do coléter na inflorescência, isto é, em quais órgãos florais/estruturas estavam inseridos.

Foram observadas as variações das características anatômicas dentro do mesmo gênero e, quando possível, dentro da mesma espécie, analisando indivíduos coletados em diferentes condições ambientais. As características ambientais de cada domínio foram categorizadas de acordo com tipo de vegetação e exposição à luz (Araújo *et al.*

2007; Patricia *et al.* 2000; Porembski 2007; Rapini *et al.* 2008; Ratter *et al.* 1997; Ribeiro *et al.* 2009).

2.4 Análises anatômicas

Para a realização das análises anatômicas das folhas, foi utilizada a região mediana do limbo, nas áreas da nervura central e da margem foliar. Os materiais herborizados foram suspensos em água destilada, sob placa aquecedora à temperatura de 60°C, até o momento em que as folhas ficassem totalmente submersas. Posteriormente, foram submetidas a um tratamento com hidróxido de potássio (KOH) 2% por três horas, seguida por duas lavagens em água destilada com duração de 30 minutos cada. Todas as amostras foram levadas a uma bomba de vácuo, durante o processo de desidratação, para retirada do ar contido nos tecidos, desidratados em série etílica e infiltrados com resina plástica (Leica Historesin®), seguindo as indicações do fabricante. Posteriormente, foram seccionadas em micrótomo rotativo manual (Leica®), com espessura de 7 µm para secções transversais, corados com Azul de Toluidina 0,05% (Sakai, 1973) em tampão fosfato e citrato pH 4,5 e montados em resina sintética “Entellan®” (Merck). Ao menos duas repetições foram realizadas para cada amostra, com secções feitas à mão livre e também coradas com Azul de Toluidina. Para a detecção de lipídeos presentes na cutícula, foi realizado o teste com o reagente Sudan IV (Miller, 1968) nos materiais incluídos em resina.

Para a análise dos coléteres, o material foi desidratado em série alcoólica-butílica (70, 85, 95 e 100%) (Johansen, 1940), pelo período de 48 horas em cada solução. A última etapa da desidratação, em álcool butílico 100%, foi repetida três vezes pelo mesmo período. Posteriormente, ¾ de volume de Paraplast sólido X-tra® (Fisher) foi adicionado às amostras, as quais foram mantidas à temperatura de 60°C. O paraplast foi trocado três vezes a cada 12 horas. As amostras foram colocadas em moldes para solidificarem e cortes seriados foram realizados com a espessura de 7 µm. O Paraplast foi removido dos cortes pela imersão em xilol e o material foi reidratado com etanol seguido de água destilada. Foi realizada a dupla coloração das secções com safranina e azul de astra. As lâminas foram montadas com resina sintética Entellan® (Merck).

Para a documentação dos resultados foi realizada a captura de imagens, usando câmera de vídeo Olympus DP71 acoplada ao microscópio Olympus BX 51, com o

programa cellSens Standard. Para a elaboração das pranchas, foi utilizado o programa CorelDRAW Graphics Suite 13.

2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para a análise da superfície das amostras de coléteres em microscopia eletrônica de varredura (MEV), as inflorescências selecionadas foram desidratadas em série etílica e secas pelo método do ponto crítico com CO₂ no equipamento Balzers modelo CPD 030. Em seguida, o material foi montado em suportes metálicos e recoberto com ouro coloidal por 170 segundos no equipamento Bal-Tec modelo SCD 050. A análise e o registro eletromicrográfico foram realizados ao microscópio eletrônico de varredura LEO modelo VP 435 operado a 20 kV, no Instituto de Biologia/UNICAMP.

2.6 Análises estatísticas

Para a realização das análises estatísticas, foram utilizadas de três a cinco folhas por indivíduo. As amostras que continham menos de três folhas foram utilizadas apenas em análises qualitativas, sendo inviável a realização de testes estatísticos. Para verificar se as diferenças observadas nas medidas de espécies coletadas em áreas sombreadas e expostas à luz são estatisticamente significantes, levando em consideração a classificação taxonômica dos gêneros, foi realizado o teste de modelos mistos. Por não apresentarem uma distribuição normal, todos os dados passaram por uma transformação logarítmica para estabilizar a variância. Este teste foi feito utilizando os pacotes *lme4* (Bates *et al.* 2015) e *car* (Fox e Weisberg, 2011) do programa estatístico RStudio (R Core Team, 2018). Para observar se existe relação entre os atributos medidos, levando em consideração as condições ambientais, foi realizado um teste de correlação. Para avaliar o agrupamento das espécies, baseados nas variáveis analisadas, considerando as condições ambientais em que cada espécie foi coletada, foram realizadas as análises de Cluster, utilizando o pacote *cluster* (Maechler *et al.* 2017) e PCA (Principal Components Analysis), utilizando o pacote *vegan* (Oksanen *et al.* 2018).

Tabela 1. Espécies estudadas, número de indivíduos amostrados por espécie, informações de *voucher*, características do ambiente de coleta e informações sobre distribuição dos táxons. Cada número de *voucher* representa um indivíduo diferente amostrado. Nomes de espécies seguidos por (*) indicam as que foram utilizadas nas análises de coléteres.

Espécie	Nº de indivíduos e Vouchers (Herbário)	Características do ambiente de coleta	Ocorrência da espécie
<i>Bradea anomala</i> Brade	1 indivíduo. J.A. Oliveira & F.M. Silva 290 (RB)	Área exposta à luz em vegetação de <i>Inselberg</i> .	Apenas em vegetação de <i>Inselberg</i> (Oliveira, 2014).
<i>Bradea bicornuta</i> Brade	1 indivíduo. J.A. Oliveira & F.M. Silva 294 (RB)	Área exposta à luz em vegetação de <i>Inselberg</i> .	Apenas em vegetação de <i>Inselberg</i> (Oliveira, 2014).
<i>Bradea borrierioides</i> J.A.Oliveira & Sobrado.*	1 indivíduo. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 354 (RB)	Área sombreada em vegetação de <i>Inselberg</i> .	Apenas em vegetação de <i>Inselberg</i> (Oliveira & Sobrado 2016).
<i>Bradea brasiliensis</i> Standl.*	2 indivíduos. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 218 (RB); J.A. Oliveira <i>et al.</i> 348 (RB)	Área exposta à luz (348) ou sombreada (218) em vegetação de <i>Inselberg</i> .	Apenas em vegetação de <i>Inselberg</i> (Oliveira, 2014).
<i>Bradea</i> sp. 1*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 405 (RB)	Área exposta à luz em vegetação de <i>Inselberg</i> .	Apenas em vegetação de <i>Inselberg</i> (Oliveira, 2014).
<i>Bradea</i> sp. 2*	2 indivíduos amostrados. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 321 (RB); J.A. Oliveira <i>et al.</i> 328 (RB)	Área exposta à luz em vegetação de <i>Inselberg</i> .	Apenas em vegetação de <i>Inselberg</i> (Oliveira, 2014).
<i>Coccocypselum condalia</i> Pers.*	2 indivíduos amostrados. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 574 (RB); R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 9 (UEC)	Área sombreada de Cerradão (9) ou Mata Nebular (574).	Bordas de mata, campos, floresta ombrófila densa, campos de altitude, em locais úmidos e sombreados (Costa, 2004; Costa e Mamede 2007).
<i>Coccocypselum cordifolium</i> Nees & Mart.	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 209 (RB)	Área de meia-sombra em Floresta Ombrófila Mista.	Mata Atlântica, em locais sombreados e úmidos do interior das matas (Costa, 2004; Costa e Mamede 2007).
<i>Coccocypselum lanceolatum</i> (Ruiz & Pav.) Pers.*	2 indivíduos amostrados. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 324 (RB); R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 7 (UEC)	Coletados em área exposta à luz de <i>Inselberg</i> (7) ou sombreada de Mata Antropizada (324).	Ocorre em florestas ombrófilas, florestas de galeria e cerradões (Costa 2004; Costa e Mamede

			2007).
<i>Coccocypselum lymansmithii</i> Standl.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 576 (RB)	Área exposta à luz em Campo de Altitude.	Campos e matas de araucária da Mata Atlântica (Costa, 2004; Costa e Mamede 2007).
<i>Coccocypselum pedunculare</i> Cham. & Schltdl.	1 indivíduo amostrado. J.A.M do Carmo 64 (UEC)	Área exposta à luz em Campo de Rupestre.	Campo Rupestre, Campo Limpo, Floresta Ciliar ou Galeria e Floresta Ombrófila Mista (Costa, 2004).
<i>Coussarea hydrangeifolia</i> (Benth.) Müll.Arg.	2 indivíduos amostrados. R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 12 (UEC); R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 13 (UEC)	Área exposta à luz (13) ou sombreada (12) de Cerradão.	Floresta Amazônica, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Gomes, 2003; Gomes 2007).
<i>Declieuxia coerulea</i> Gardner.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 151 (RB)	Área exposta à luz em Campo de Altitude.	Campo de Altitude ou Campo Rupestre (BFG 2015; Calió 2015; Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia cordigera</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira & F.M. Silva 132 (RB)	Área exposta à luz em Campo de Rupestre.	Cerrado, Campo Rupestre e Campo de Altitude (BFG 2015; Calió 2015; Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia diantheroides</i> Standl.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 581 (RB)	Área de meia-sombra em Cerradão.	Cerrado e Campos Rupestres (BFG 2015; Calió 2015; Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia fruticosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Kuntze.*	3 indivíduos amostrados. J.A. Oliveira & F.M. Silva 309 (RB); R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 7 (UEC); C.S. Oliveira & M.F. Calió 38 (UEC)	Área exposta à luz em Campo Rupestre.	Cerrado e campo rupestre (BFG 2015; Calió 2015; Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia gracilis</i> J.H.Kirkbr.*	1 indivíduo amostrado. R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 4 (UEC)	Área exposta à luz em Campo Rupestre.	Campo Rupestre (BFG 2015; Calió 2015; Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia humilis</i> (Müll.Arg.) J.H.Kirkbr.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira & F.M. Silva 133 (RB)	Área exposta à luz em Campo de Altitude.	Campos Rupestres (Minas Gerais) (Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia lysimachioides</i> Zucc. ex Schult. & Schult.f.	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira & F.M. Silva 135 (RB)	Área exposta à luz em Campo de Altitude.	Cerrado e Campo de Altitude (BFG 2015; Calió

			2015).
<i>Declieuxia passerina</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.*	2 indivíduos amostrados. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 584 (RB); R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 6 (UEC)	Área exposta à luz em Campo Rupestre.	Campos Rupestres (BFG 2015; Caliό 2015; Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia saturejoides</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.*	2 indivíduos amostrados. R.N.L. Gonçalves & M.F. Caliό 4 (UEC); J. A. Oliveira 582 (RB)	Área exposta à luz em Campo Rupestre.	Campo Rupestre (BFG 2015; Caliό 2015; Kirkbride, 1976).
<i>Declieuxia</i> sp. 1.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 694 (RB)	Área exposta à luz em Campo de Altitude.	Campos de Altitude.
<i>Declieuxia</i> sp. 2.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 706 (RB)	Área exposta à luz em Campo de Altitude.	Campos de Altitude.
<i>Faramea multiflora</i> A.Rich. ex DC	1 indivíduo amostrado. R.N.L. Gonçalves & M.F. Caliό 11	Área sombreada de Cerradão.	Mata Atlântica e Cerrado (BFG 2015; Gomes 2007; Jardim e Gomes 2015).
<i>Faramea nigrescens</i> Mart.	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 270	Área exposta à luz em Campo Rupestre.	Cerrado e Matas de Galeria (BFG 2015; Jardim e Gomes 2015).
<i>Faramea vidensis</i> Müll.Arg.	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 314	Área sombreada de Floresta Ombrófila Montana.	Floresta Ombrófila (BFG 2015; Jardim e Gomes 2015).
<i>Hindsia glabra</i> K.Schum.	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 201 (RB)	Área sombreada de Campo de Altitude.	Campos de Altitude (BFG 2015; Di-Maio, 1996; Di- maio e Oliveira 2015).
<i>Hindsia ibitipocensis</i> Di Maio.	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira 228 (RB)	Área exposta à luz de Campo de Altitude.	Campo Rupestre e Campos de Altitude (BFG 2015; Di-Maio, 1996; Di-maio e Oliveira 2015).
<i>Hindsia ramosissima</i> Gardner.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira 566 (RB)	Área exposta à luz de Campo de Altitude.	Campos de Altitude. (BFG 2015; Di-Maio, 1996; Di- maio e Oliveira 2015).
<i>Standleya glomerulata</i> J.G.Jardim & C.B.Costa.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 236 (RB)	Área sombreada de Floresta Estacional Decidual.	Floresta Estacional Decidual (Oliveira 2015).
<i>Standleya kuhlmanni</i> Brade.*	1 indivíduo amostrado. J.A. Oliveira <i>et al.</i> 301 (RB)	Área sombreada de Floresta Ombrófila Densa.	Floresta Ombrófila (Oliveira 2015).

3. RESULTADOS

3.1 Anatomia do limbo

3.1.1 Análises morfoanatômicas

A posição das folhas observada para a maior parte das espécies analisadas foi horizontal, com exceção de cinco espécies do gênero *Declieuxia*, todas expostas à intensa luminosidade, que apresentaram folhas parcial ou totalmente imbricadas: *D. coerulea*, *D. cordigera*, *D. fruticosa*, *D. gracilis* e *D. passerina*.

Com relação à estrutura anatômica, em secções transversais, a epiderme é uniestratificada, em ambas as faces, para a maior parte das espécies, onde as células da face adaxial são mais altas que da face abaxial. (Fig. 2A). Somente em *H. ibitipocensis*, espécie coletada em área exposta à luz em Campo de Altitude, foi observada uma camada de células subepidérmicas na face adaxial (Fig. 2B). A presença de uma cutícula espessada (superior a 5 µm) foi identificada, apenas na face adaxial, em *Declieuxia* sp. 2, *F. nigrescens* e *H. ibitipocensis*, presentes em áreas de Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado, respectivamente, com alta exposição à luminosidade (Fig. 2C). Tricomas tectores foram observados na face adaxial, abaxial, em ambas as faces ou ausentes, sendo unisseriados, uni (Fig. 2E) ou multicelulares (Fig. 2D; Tabela 3). Tais tricomas observados foram mais abundantes em espécies de área sombreada, como *C. lanceolatum* (Fig. 2F), quando comparadas às coletadas em áreas expostas, como *D. lysimachioides* (Fig. 2G). Com relação à posição dos estômatos, foram observados apenas na face abaxial em todas as espécies analisadas, mesmo nas que possuem folhas imbricadas.

O mesofilo foi classificado como dorsiventral para a maior parte das espécies (Figs. 3A-K; 3N-U), com exceção de *D. gracilis* e *D. passerina*, que apresentaram mesofilo isobilateral (Figs. 3L, 3M). A quantidade de camadas que compõem o parênquima paliçádico variou de uma a quatro (Figs. 3N, 3A) (Tabela 3), enquanto para o parênquima lacunoso variou de duas a dez camadas entre as espécies do estudo (Figs. 3D, 3P; Tabela 3). Comparando espécies de áreas expostas e áreas sombreadas, é possível observar a diferença na composição do mesofilo, sendo mais espessado nas amostras de áreas expostas à luz (Figs. 3A, 3G, 3K, 3O, 3R) e mais delgado e/ou

esparso nas amostras de áreas sombreadas (Figs. 3F, 3H, 3P, 3Q, 3T, 3U, 3V). Essa variação também é observada quando comparadas amostras de uma mesma espécie em ambientes distintos, como *Coccocypselum lanceolatum* (Figs. 3D, 3E) e *Coussarea hydrangeifolia* (Figs. 3G-J), onde a espécie de área sombreada apresenta mais espaços intercelulares e parênquima paliçádico menos diferenciado. O mesmo é visualizado quando comparadas espécies diferentes do mesmo gênero em condições contrastantes, como *Faramea* (Figs. 3N-P) e *Hindsia* (Figs. 3Q-S).

Compostos fenólicos foram observados em abundância em todas as espécies analisadas pertencentes aos gêneros *Bradea* (Figs. 3A-C) e *Coccocypselum* (Figs. 3D-F) e em algumas espécies de *Declieuxia*. Em *Bradea*, onde os indivíduos foram coletados em áreas expostas à luz de *inselbergs*, com exceção de *B. borrierioides*, coletada em meia-sombra, tais compostos foram observados em proeminentes idioblastos dispersos em maior parte no parênquima paliçádico, sempre próximos à face adaxial da epiderme (Figs. 3A-C, 4A, 4B). Nas demais espécies, os fenóis foram observados tanto em idioblastos, neste caso dispersos por todo o mesofilo, como no interior das células do parênquima clorofiliano (Figs. 3D-F, 4C, 4K). Idioblastos contendo cristais, na forma de ráfides, foram observados, tanto no parênquima lacunoso, quanto no paliçádico, em todas as espécies analisadas, amplamente distribuídos no mesofilo e na região da nervura central (Figs. 3K, 3L, 4F).

Na região da margem foliar, ocorre uma leve curvatura voltada para a face abaxial para a maior parte das espécies (Figs. 4A-B, 4D-G, 4I), com exceção de *C. lanceolatum*, *C. lymanismithii*, *H. ibitipocensis*, *S. glomerulata* e *S. kuhlmanni*, onde a margem é reta (Figs. 4C, 4H-I). A nervura central possui um feixe vascular do tipo colateral em forma de arco aberto para a maior parte das amostras analisadas (Figs. 4J-K, 4M-O, 4Q-R). Em *C. hydrangeifolia* e *F. vidensis* a nervura apresenta um feixe vascular em forma de arco aberto, com um feixe adicional horizontal voltado à face adaxial (Figs. 4L). Já em *F. nigrescens*, foram observadas projeções do feixe principal em direção ao centro (Fig. 4P). A presença de uma grande quantidade de tecido esclerenquimático nos feixes vasculares foi observada em *D. cordigera*, *D. gracilis* e *D. passerina*. Este tecido encontra-se próximo às fibras do floema, voltados para a face abaxial do limbo (Fig. 4M).

3.1.2 Análises estatísticas

As medidas de altura das células epidérmicas, em secções transversais apresentaram variação de 60,8 μm em *D. humilis* a 11,3 μm em *F. multiflora*, para a face adaxial, e de 33,4 μm a 13,4 μm para a face abaxial das mesmas espécies. A altura das células observadas apresentou uma correlação positiva entre a face adaxial e abaxial ($P < 0.01$) (Fig. 5). Os valores observados foram maiores para as espécies coletadas em áreas expostas à luz solar quando comparadas às espécies presentes em áreas sombreadas, porém não foram observadas diferenças estatísticas significativas (Modelo misto, $P = 0.08$ para ambas as faces) (Fig. 6). Os valores para a espessura do parênquima paliádico variaram de 30,7 μm em *F. multiflora* para 224,2 μm em *B. brasiliensis*. Tais valores foram maiores para as espécies coletadas em áreas expostas quando comparadas a espécies de áreas sombreadas (Fig. 6) (Modelo misto, $P = 0.009$). Para o parênquima lacunoso, as medidas variaram de 20,2 μm em *Coccocypselum* sp. 1 a 203,5 μm em *Declieuxia* sp. 2, mas não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre folhas de sol e sombra (Modelo misto, $P = 0.16$) (Fig. 6). Para o mesofilo como um todo, foram observadas diferenças significativas entre as espécies com folhas expostas ao sol e a sombra (Modelo misto, $P = 0.05$). Uma correlação positiva foi observada entre os parênquimas paliádico e lacunoso, e para ambos os parênquimas e a espessura total do mesofilo ($P < 0.01$) (Fig. 5).

Quando realizadas comparações entre os gêneros baseadas nos atributos quantitativos observa-se que, para a maior parte dos gêneros, os parâmetros analisados são maiores para folhas de sol quando comparados a folhas de áreas sombreadas (Fig. 7). As medidas observadas para o parênquima paliádico e espessura total do mesofilo são maiores para folhas de sol do que de sombra em todos os gêneros avaliados (Fig. 7). Para a altura das células epidérmicas, apenas o gênero *Bradea* apresentou maiores medidas para folhas de sombra quando comparadas a folhas de sol, enquanto para as medidas do parênquima lacunoso o gênero *Coussarea* apresentou maiores valores para folhas de sombra (Fig. 7). Nesta análise, o gênero *Faramea* não foi incluído por não haver amostras coletadas em área exposta e disponíveis para a aplicação dos métodos estatísticos.

As análises de Cluster baseadas nos atributos medidos e relacionados aos níveis de exposição à luz mostraram a formação de diferentes grupos. O dendrograma se

divide em dois grandes grupos, um com a maior parte das espécies de áreas sombreadas agrupadas com espécies de áreas expostas, e o outro majoritariamente com espécies coletadas em áreas expostas à luz. Um único grupo composto exclusivamente por espécies presentes em áreas sombreadas inclui *Faramea multiflora* e *Coussarea hydrangeifolia*, e está presente no primeiro grande grupo. As espécies presentes em áreas sombreadas, *Declieuxia diantheroides*, *Coccocypselum condalia*, *Bradea borrierioides* e *Coccocypselum lanceolatum* também foram incluídas neste grande grupo. O segundo grande grupo do dendrograma apresenta, em ampla maioria, as espécies coletadas em áreas expostas. A amostra de *Coussarea hydrangeifolia* coletada em área exposta, foi agrupada juntamente com *Declieuxia coerulea*, também exposta à luz. A amostra de *Coccocypselum lanceolatum*, de Inselberg, também foi agrupada separadamente da amostra da mesma espécie, em área sombreada, sendo alocada próxima a espécies do gênero *Declieuxia*. Três grupos no segundo grande grupo foram formados por espécies pertencentes ao mesmo gênero. Um grupo é composto por espécies do gênero *Declieuxia*, outro por espécies do gênero *Bradea*, onde todas as amostras foram coletadas em áreas expostas à luz. No terceiro grupo, as espécies do gênero *Hindsia* permaneceram agrupadas, mesmo tendo sido coletadas em áreas com diferentes condições de exposição à radiação, contendo a única amostra do segundo grande grupo presente em área sombreada (*Hindsia glabra*) (Fig. 8).

A análise de coordenadas principais (PCA) dos dados quantitativos indicaram a presença de cinco grupos distintos (Fig. 9; Tabela 2). O primeiro eixo (PC1) explica 54,9% da variação total, enquanto o segundo eixo (PC2) explica 45,1% da variação total. Duas características foram fortemente correlacionadas com o primeiro eixo, sendo a altura das células epidérmicas das faces adaxial e abaxial, enquanto a espessura dos parênquimas paliádico, lacunoso e mesofilo foram fortemente correlacionadas com o segundo eixo ($P < 0.05$). O grupo IV, formado por *D. fruticosa*, *D. lysimachioides* e *D. humilis*, apresentou maior correlação com a PC1, com maiores médias de altura das células epidérmicas em ambas as faces (Tabela 2). Em contrapartida, O grupo I, formado por *C. hydrangeifolia* (12) e *F. multiflora*, ambas as amostras coletadas em áreas sombreadas de interior de Cerradão, tiveram os menores valores para a altura das células epidérmicas (Tabela 2). O grupo V, formado por espécies dos gêneros *Bradea*, *Declieuxia*, *Hindsia* e *C. hydrangeifolia* (13), tiveram maior correlação com a PC2, com maiores médias de espessura do parênquima clorofiliano e mesofilo, enquanto o grupo

II, à direita do gráfico, apresentou os menores valores para as três variáveis (Fig. 9; Tabela 2).

3.2 Coléteres

Os coléteres observados em microscopia eletrônica de varredura foram classificados como sendo do tipo “*standard*”, para todas as espécies analisadas, apresentando um formato cônico, com uma constrição na base e uma haste curta, além de secreção evidente (Figs. 10A-E). Não foram localizados coléteres, sob a análise de MEV, em *B. borrierioides*, *Declieuxia* sp. 1 e nas três espécies do gênero *Hindsia* analisadas. Os coléteres encontram-se posicionados, em sua maioria, na face adaxial das brácteas ou próximos ao receptáculo. (Figs. 10F, 10G, 11A, 11D, 11F). Em alguns casos, foram observados inseridos no cálice (na base e inseridos nas sépalas), como em *C. condalia*, *C. lanceolatum*, *B. brasiliensis*, *B. pubescens* e *S. kuhlmanni* (Figs. 10H, 10I, 11B). A estrutura anatômica consiste em um eixo central formado por células parenquimáticas, arranjadas em sentido radial e circundado por uma camada de células epidérmicas secretoras em paliçada (Figs. 10E, 11C-F). A presença de feixes vasculares no eixo parenquimático não foi observada. Idioblastos contendo cristais, na forma de ráfides, presentes no eixo central, foram identificados para *B. brasiliensis*, *C. lanceolatum*, *C. lymanismithii* e *D. saturejoides* (Figs. 11E, 11F).

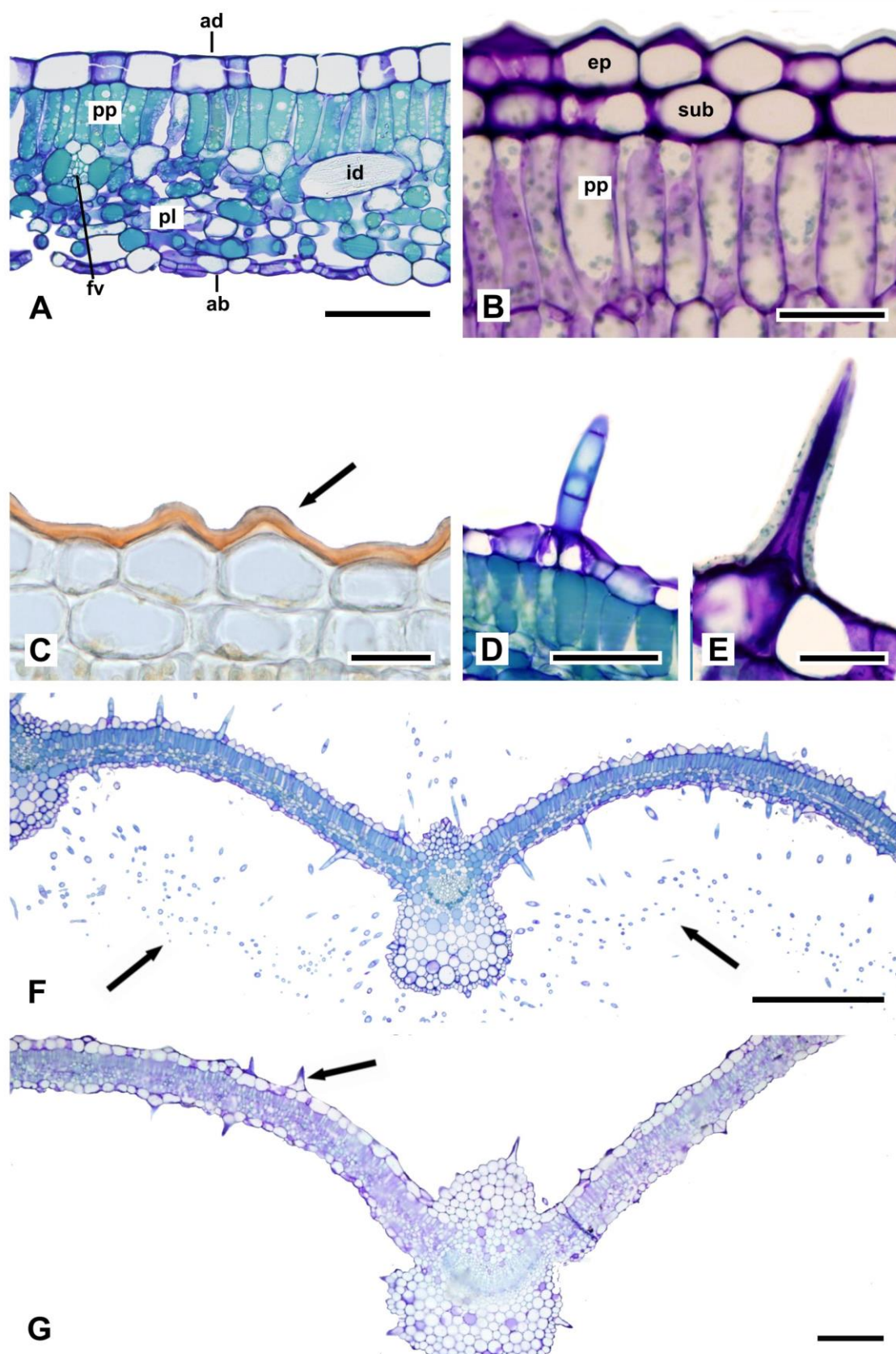


Figura 2. Secções transversais do limbo de espécies da tribo Coussareae. **A.** Epiderme uniestratificada em *Coccocypselum condalia*; **B.** Presença de uma camada subepidérmica em *Hindsia ibitipocensis*; **C.** Detalhe para cutícula espessada em *Hindsia ibitipocensis* na face

adaxial da epiderme (seta); **D.** Tricoma multicelular em *Coccocypselum lanceolatum*; **E.** Tricoma unicelular em *Declieuxia fruticosa*; **F.** Detalhe para a abundância de tricomas presentes na folha de *Coccocypselum lanceolatum*, de área sombreada (setas); **G.** Detalhe para a menor quantidade de tricomas em *Declieuxia lysimachioides*, de área exposta à luz (seta). ab = face abaxial da epiderme; ad = face adaxial da epiderme; ep = epiderme; id = idioblasto com cristais; pp = parênquima paliçádico; pl = parênquima lacunoso; sub = camada de células subepidérmicas. Barras: A, B, D, E – 50 µm; C = 60 µm; F = 400 µm; G = 200 µm.

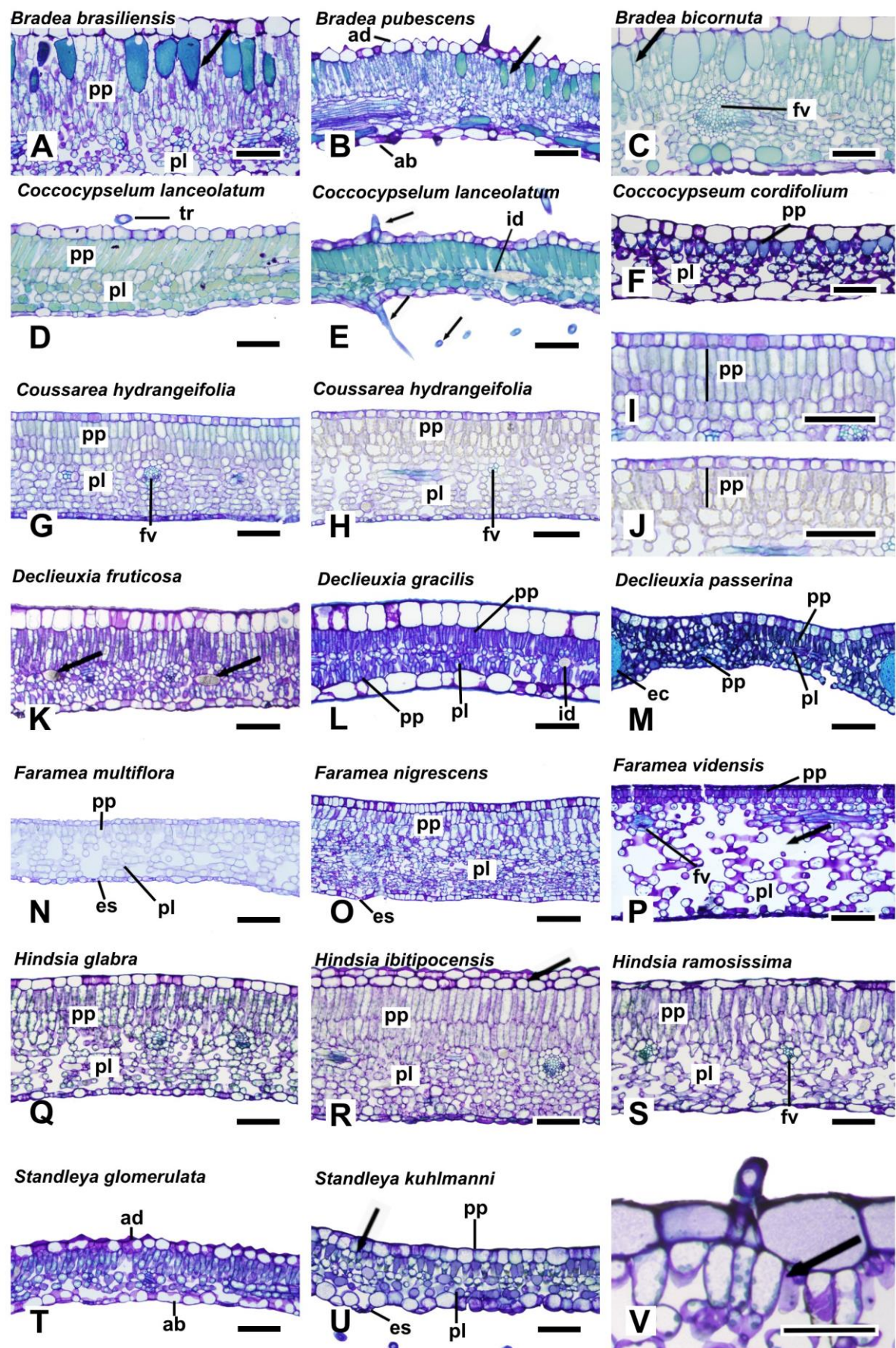


Figura 3. Secções transversais do limbo de espécies da tribo Coussareeae. **A-D.** Amostras coletadas em área exposta de Inselberg. **A-C.** Idioblastos com compostos fenólicos (seta) e mesofilo do tipo dorsiventral. **D.** Presença de grande quantidade de compostos fenólicos nas células do parênquima clorofiliano. **E-F.** Amostras coletadas em área sombreada de Mata Atlântica. **E.** Compostos fenólicos nas células do parênquima clorofiliano e tricomas tectores na face abaxial do limbo. **F.** Limbo delgado com mesofilo composto por células do parênquima paliçádico pouco desenvolvido e muito espaço entre as células do parênquima lacunoso. **G.** Amostra coletada em área exposta de Cerradão, com células alongadas no parênquima paliçádico e pouco espaço intercelular, enquanto a mesma espécie em área sombreada de Cerradão (**H**) possui amplos espaços no mesofilo. **I-J.** Detalhe do parênquima paliçádico para as amostras de sol e sombra (**G-H**), respectivamente. **K.** Amostra coletada em área exposta de Campo Rupestre. Detalhe para a presença de idioblastos contendo cristais no mesofilo (seta). **L-M.** Amostras coletadas em área exposta de Campo Rupestre. **L.** Mesofilo do tipo isobilateral. **M.** Tecido esclerenquimático e mesofilo do tipo isobilateral. **N-P.** Mesofilo dorsiventral com muito espaço intercelular em N e P (seta) em ambientes sombreados de Cerradão e Mata Atlântica e denso em O em ambiente exposto à luz em Campo Rupestre. **Q-S.** Mesofilo dorsiventral com espaços intercelulares mais amplos em **Q**, de ambiente sombreado de Campo de Altitude, e mais denso em **R** e **S**, de área exposta de Campo de altitude. Observar a presença de uma camada de células subepidérmicas em **R** (seta). **T-V.** Amostras coletadas em áreas sombreadas de Mata Atlântica. Observar o limbo delgado, mesofilo com células do parênquima paliçádico curtas em *Standleya kuhlmanni* (**V**), além de muitos espaços intercelulares. ab = face abaxial da epiderme; ad = face adaxial da epiderme; es = estômatos; fv = feixes vasculares; pl = parênquima lacunoso; pp = parênquima paliçádico; tr = tricoma tector. Barras: A-U = 100 µm; V = 50 µm.

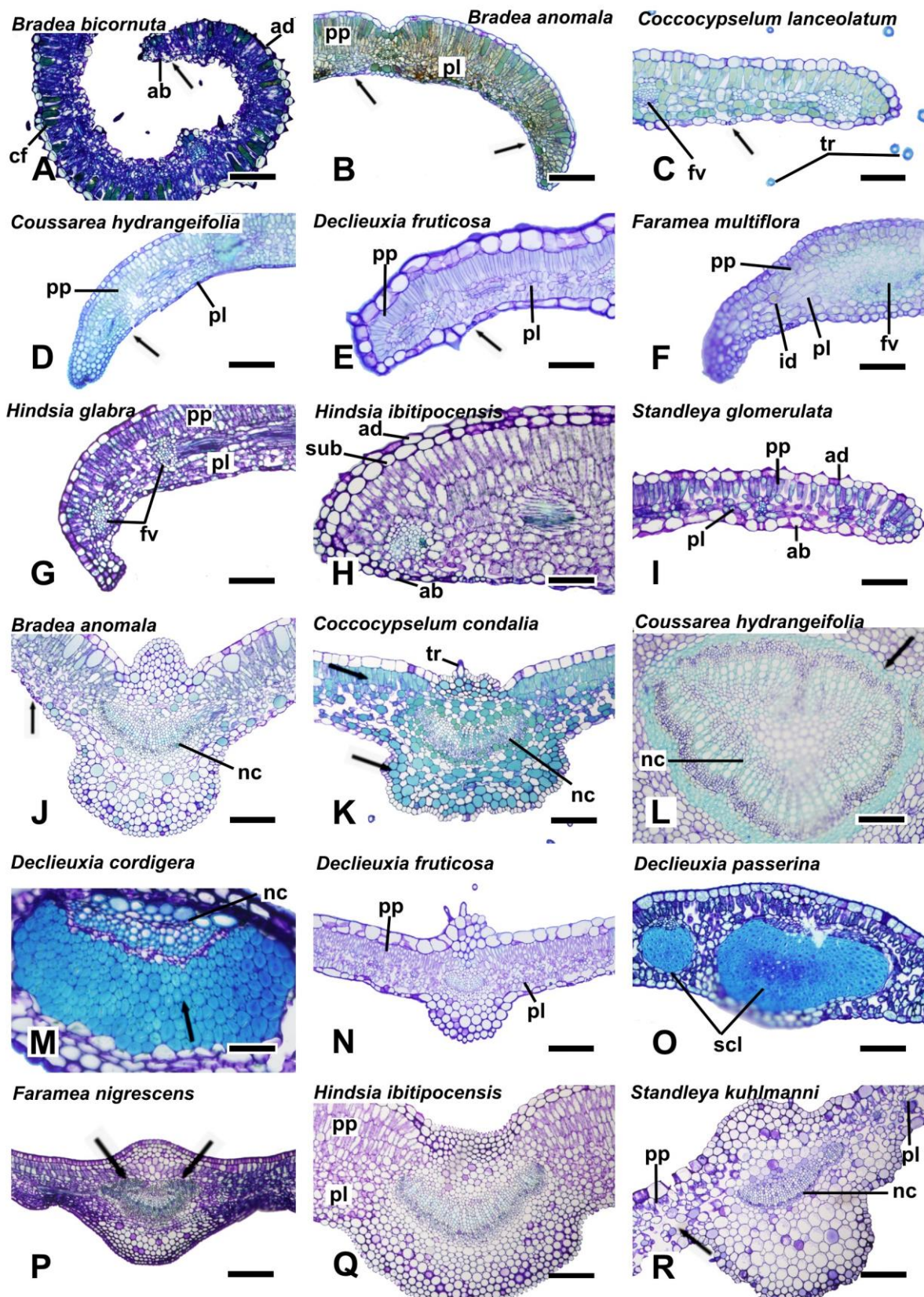


Figura 4. Secções transversais do limbo de espécies da tribo Coussareeae. **A-I.** Região do bordo foliar. **J-R.** Região da nervura central. **A-C.** Presença de compostos fenólicos presentes em idioblastos (**A-B**) e nas células do parênquima clorofiliano (**C**). Detalhe para a presença de estômatos na face abaxial (**A-E**). **F.** Detalhe para idioblasto com ráfides. **G.** Curvatura da margem foliar voltada à face abaxial. **H.** Observar a presença de uma camada de células subepidérmicas, continua até a transição para face abaxial da epiderme. **I.** Margem foliar reta. **J.** Estômatos presentes na face abaxial da epiderme. **K.** Grande quantidade de idioblastos contendo compostos fenólicos na nervura central. **L.** Presença de um feixe vascular adicional em sentido horizontal (seta). **M.** Tecido esclerenquimático na região da nervura central. **N.** Região da nervura central em amostra de área exposta à luz. **O.** Tecido esclerenquimático no feixe vascular principal e lateral (seta). **P.** Projeções em direção ao centro do feixe vascular (setas). **Q.** Região espessada na nervura central em amostra de área exposta de Campo de Altitude. **R.** Espaço intercelular no parênquima lacunoso (seta). ab = face abaxial da epiderme; ad = face adaxial da epiderme; cf = idioblastos contendo compostos fenólicos; ec = tecido esclerenquimático; fv = feixe vascular; id = idioblasto com cristais; nc = nervura central; pl = parênquima lacunoso; pp = parênquima paliádico; sub = camada de células subepidérmicas; tr = tricoma tector. Barras: A-L; N-R = 100 µm. M = 50 µm.

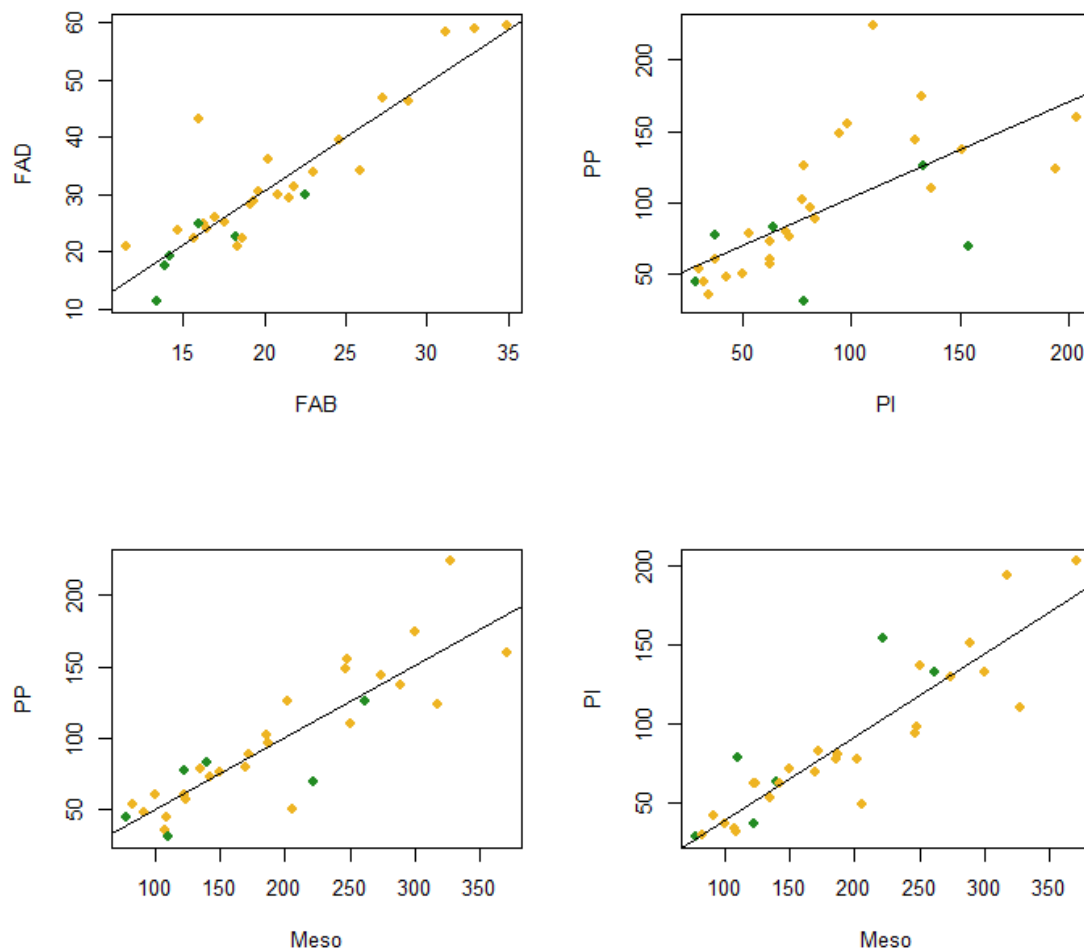


Figura 5. Análise de correlação baseada nos atributos quantitativos analisados que apresentaram correlação positiva com valor de $P < 0.05$. Pontos amarelos indicam espécies coletadas em áreas expostas à luz e pontos verdes indicam espécies coletadas em áreas sombreadas. FAD = Face adaxial da epiderme; FAB = Face abaxial da epiderme; PP = Parênquima Paliçádico; PI = Parênquima lacunoso; Meso = Mesofilo. Todas as medidas são apresentadas em μm .

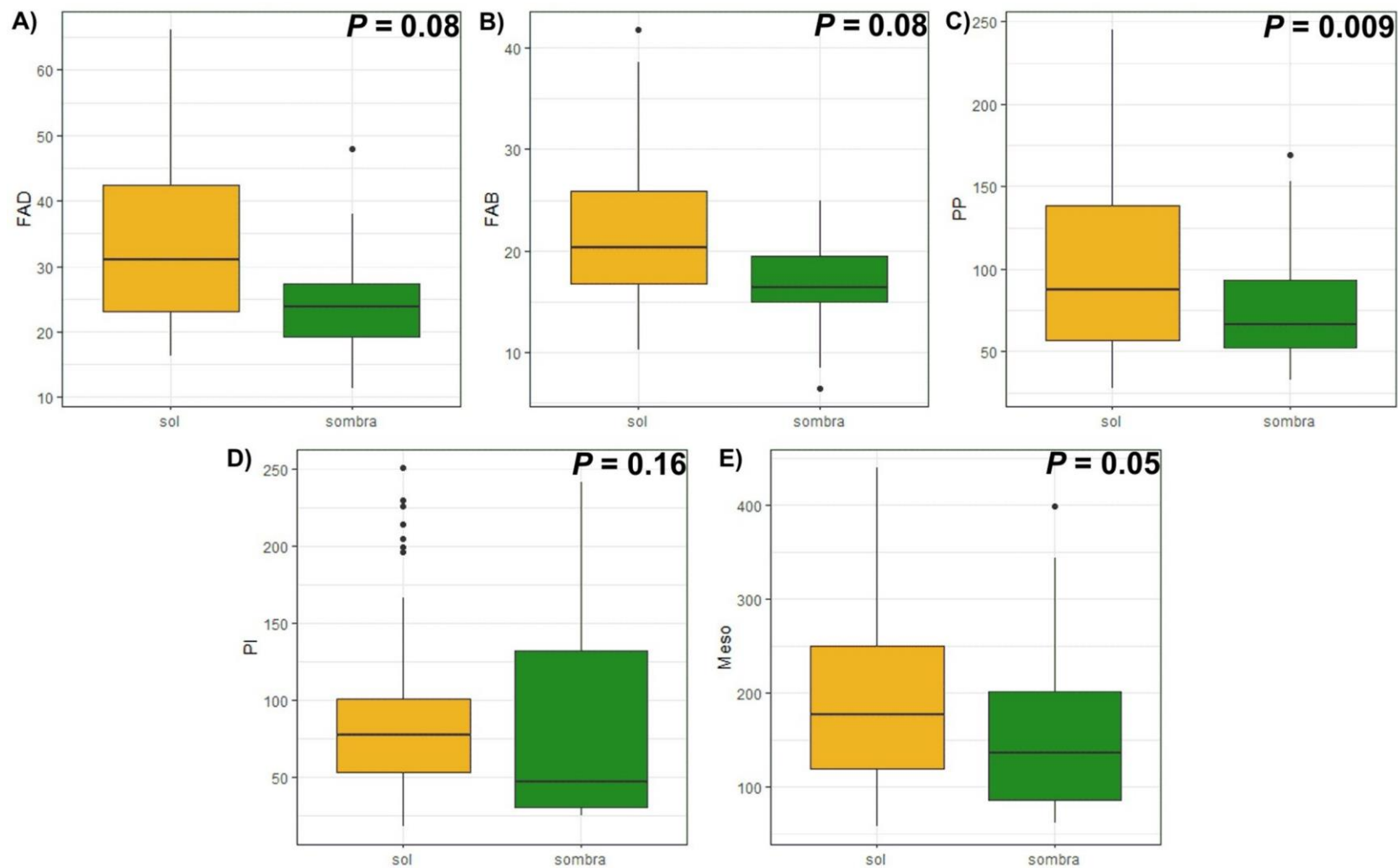


Figura 6. Comparação das medidas dos atributos quantitativos foliares entre folhas de sol e sombra. A e B = Comparação das medidas para a face adaxial (FAD) e abaxial (FAB) da epiderme; C, D e E = Comparação das medidas dos tecidos que compõem o mesofilo (PP = parênquima paliçádico e Pl = parênquima lacunoso) e do mesofilo como um todo. Todas as medidas são apresentadas em μm . Valores de P foram obtidos com o teste de modelos mistos.

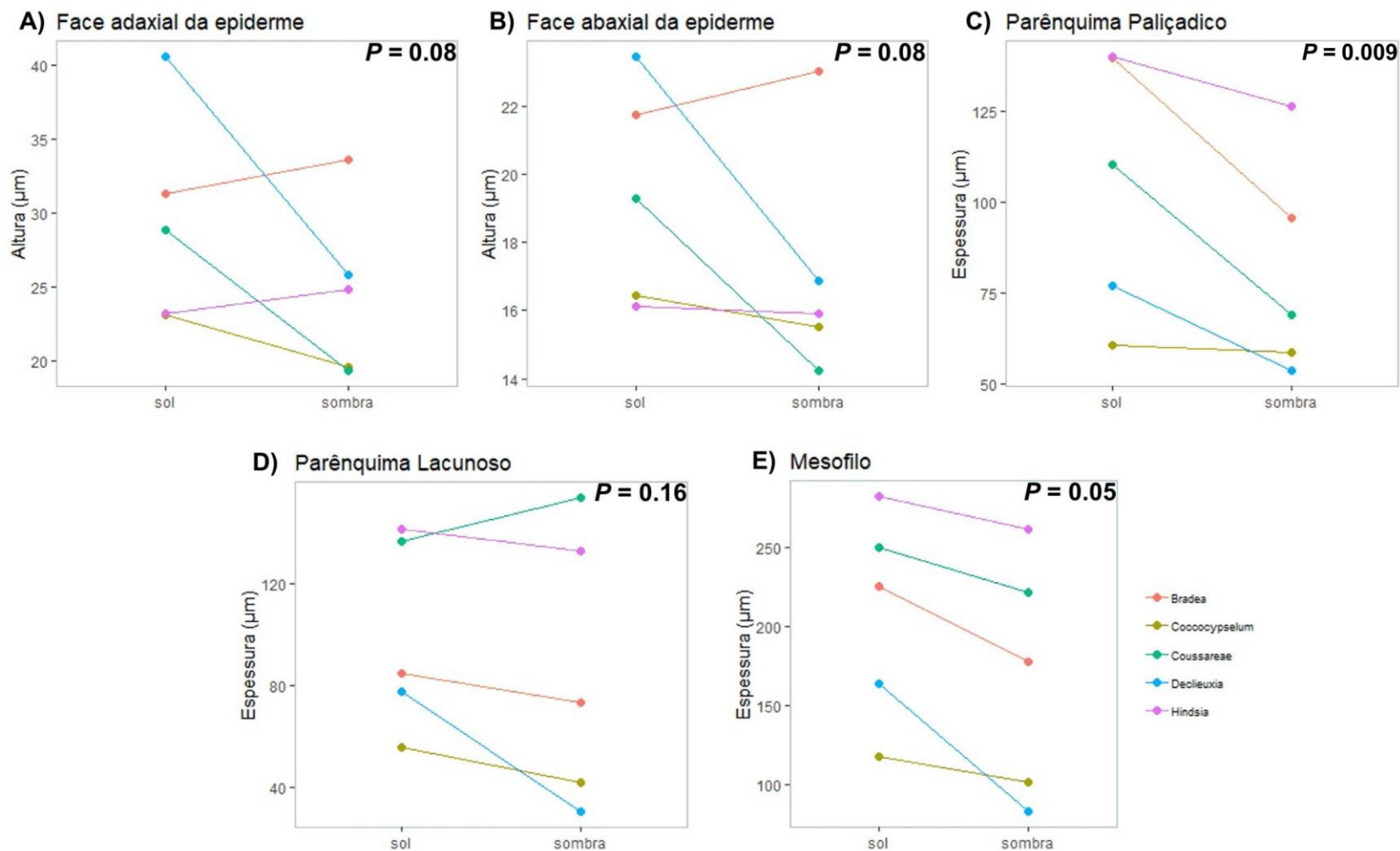


Figura 7. Comparação das medidas dos atributos quantitativos avaliados, para folhas de sol e sombra, em 5 pares congênericos de espécies. As linhas conectam os pares de espécies congênericas, e os valores de significância, obtidos com o teste de modelos mistos, são exibidos em cada comparação.

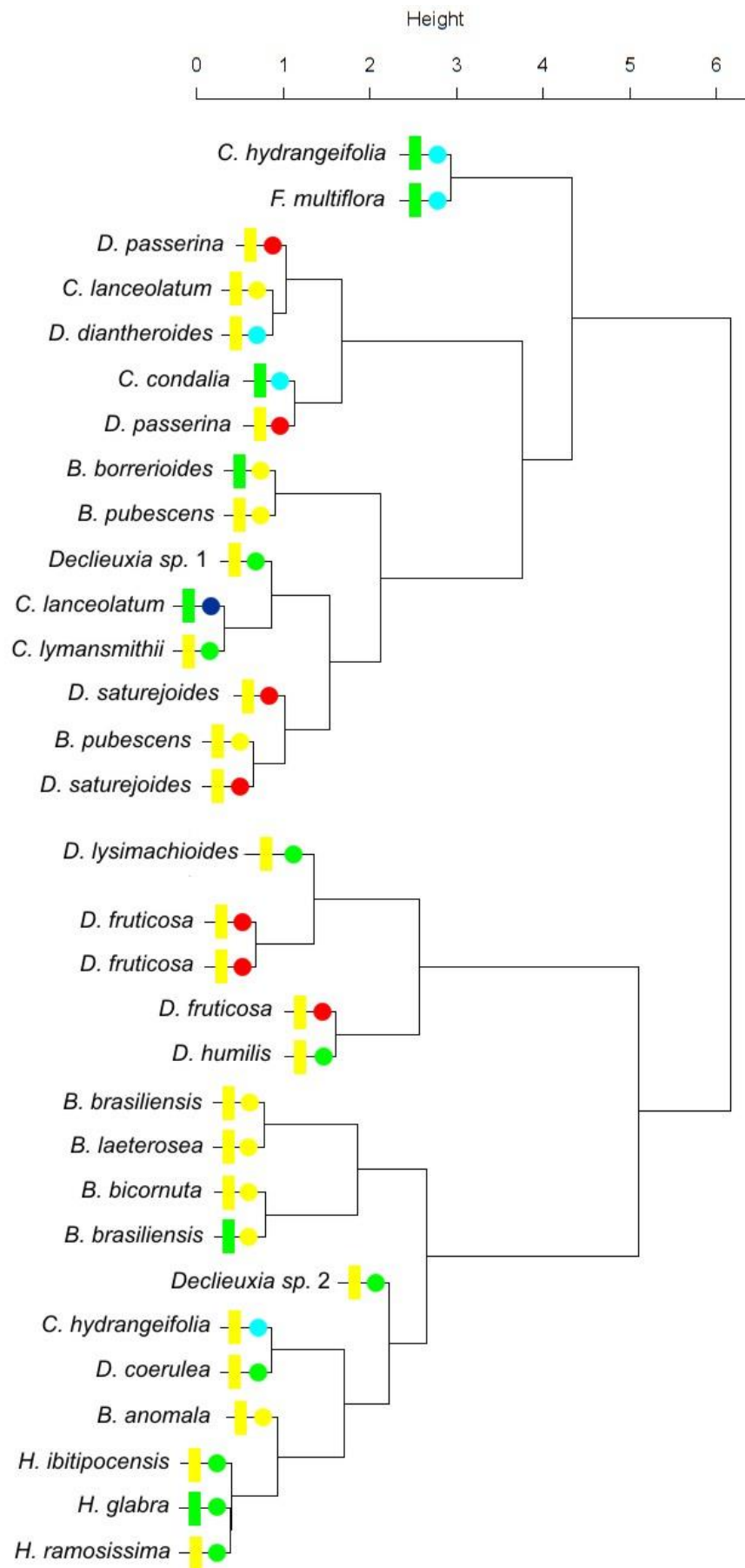


Figura 8. Dendrograma obtido com análise de Cluster com base nos parâmetros analisados e os níveis de exposição à luz. Detalhe para a formação de grupos compostos por espécies diferentes coletadas em ambientes com condições semelhantes de luminosidade (*Coussarea hydrangeifolia* e *Famea multiflora* e *Coussarea hydrangeifolia* e *Declieuxia coerulea*) e o agrupamento das espécies do gênero *Hindsia* apesar das amostras serem proveniente de condições diferentes de exposição à luz. Barras amarelas indicam espécies expostas à luz; Barras verdes indicam espécies em áreas sombreadas ou de meia-sombra. Círculos de diferentes colorações indicam a fitofisionomia em que a amostra foi coletada: amarelos = *Inselberg*; vermelhos = Campos Rupestres; verdes = Campos de Altitude; azuis = Cerradão; roxo = Mata Antropizada.

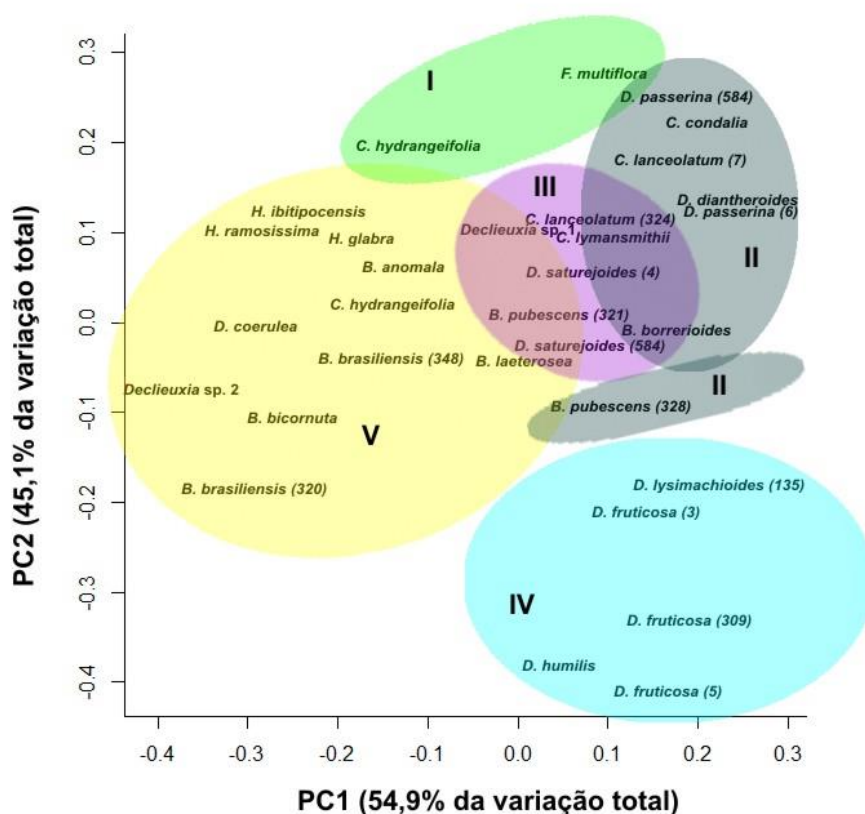


Figura 9. Análise de Coordenadas Principais (PCA) dos dados qualitativos, baseados nos caracteres anatômicos do limbo da tribo Coussareeae. Os traços correlacionados com a PC1 foram a altura das faces adaxial e abaxial das células epidérmicas, e com a PC2 foram a espessura dos parênquimas paliádico e lacunoso e do mesofilo. Cores diferentes das elipses indicam grupos distintos.

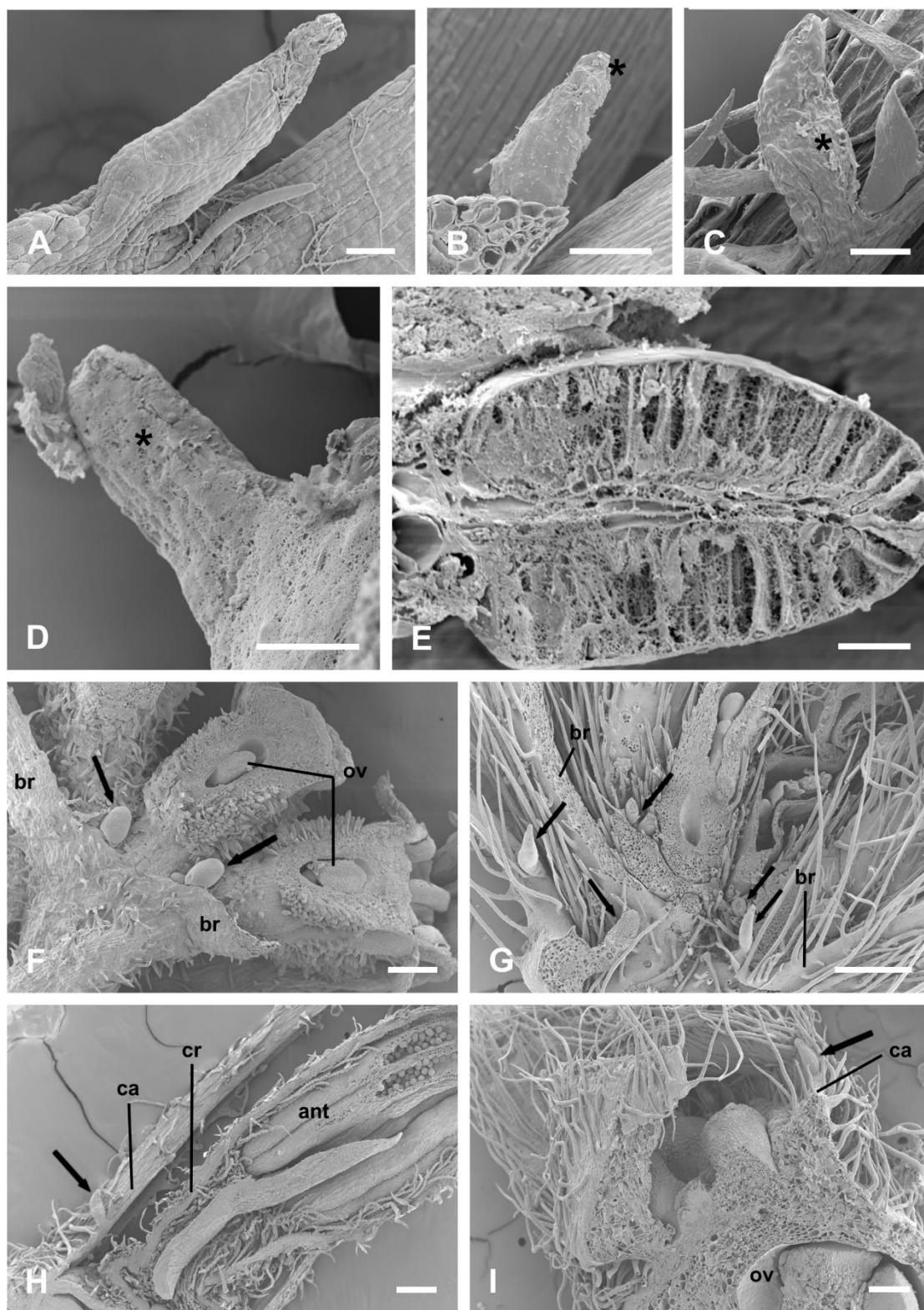


Figura 10. Eletromicrografias de inflorescências da tribo Coussareeae. **A.** Coléter em *Declieuxia* sp. 2. com formato cônico e constrição na base, formando uma pequena haste. **B.** Coléter em *Bradea brasiliensis*, observar a secreção próxima ao ápice da estrutura (*). **C.** Coléter em *Bradea* sp. 2. Detalhe para secreção liberada pelo coléter (*). **D.** Coléter coberto de secreção (*) em *Coccocypselum condalia*. **E.** Estrutura interna em secção longitudinal do coléter

em *Declieuxia diantheroides*. Detalhe para o eixo central parenquimático e as células secretoras em paliçada. **F.** Coléteres posicionados próximos ao ovário nas brácteas de *Declieuxia diantheroides* (setas). **G.** Coléteres distribuídos nas brácteas na base da inflorescência em *Standleya kuhlmanni* (setas). **H.** Coléter posicionado externo ao cálice em *Bradea* sp. 2 (seta); **I.** Coléter inserido no cálice em *Coccocypselum lanceolatum* (seta). ant = antera; br = brácteas; ca = cálice; cr = corola; ov = ovário. Barras: A-D = 50 μ m; E = 20 μ m; F = 200 μ m; G = 500 μ m; H, I = 200 μ m.

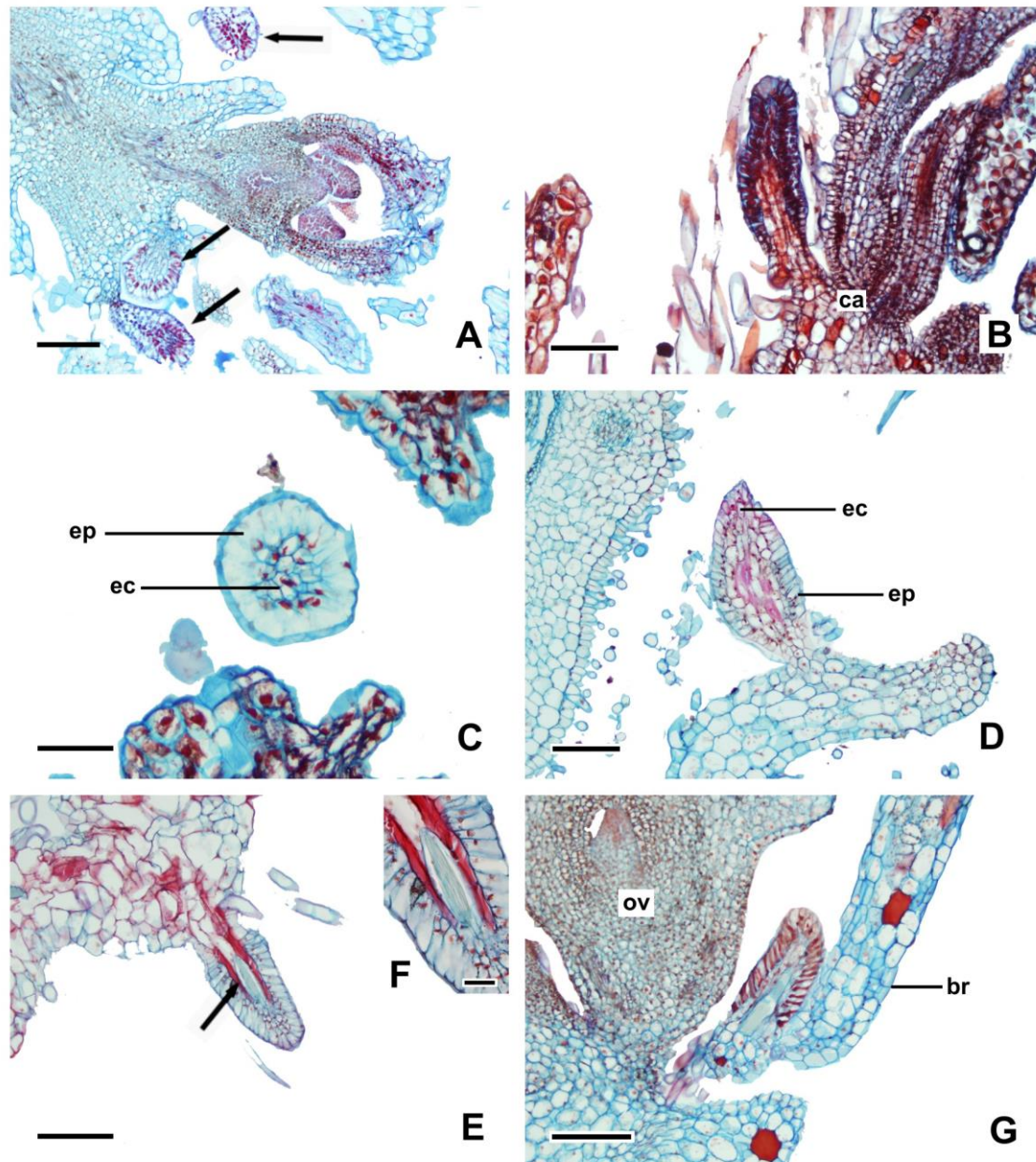


Figura 11. Secções longitudinais de inflorescências da tribo Coussareeae. **A.** Coléteres inseridos nas brácteas em *Declieuxia gracilis*; **B.** Secção longitudinal de coléter em *Standleya kuhlmanni*. Detalhe para o denso citoplasma das células secretoras. **C.** Secção transversal de

coléter em *Declieuxia cordigera*. Detalhe para o eixo central parenquimático e células secretoras. **D.** Estrutura anatômica do coléter inserido na bráctea em *Declieuxia* sp. 1. Detalhe para o eixo central parenquimático e células secretoras. **E.** Estrutura anatômica do coléter em *Coccocypselum lanceolatum* com a presença de cristais no eixo central parenquimático. **F.** Detalhe do idioblasto contendo cristais na forma de ráfides; **G.** Estrutura anatômica do coléter em *Bradea brasiliensis*. br = bráctea; ca = cálice; ec = eixo central; ep = epiderme; mf = meristema floral; ov = ovário Barras: A-E = 100 μm ; F = 20 μm ; G = 100 μm .

Tabela 2. Grupos de espécies da tribo Coussareeae formados de acordo com a análise de grupos principais (PCA), com base nos caracteres quantitativos. Para cada grupo, são informadas as médias de cada parâmetro considerado nas análises estatísticas. As espécies que formam os grupos podem ser visualizadas na Figura 5.

Característica	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Grupo V
Altura das células epidérmicas da face adaxial (μm)	15,4	25,4	26,7	54	30,3
Altura das células epidérmicas da face abaxial (μm)	13,8	17,6	19,3	31	19
Espessura do parênquima paliçádico (μm)	49,8	54,7	83,8	64,9	148
Espessura do parênquima lacunoso (μm)	116,1	36,8	71,5	58,6	132,8
Espessura total do mesofilo (μm)	166	104,2	160,3	148,2	280,7

Tabela 3. Características ambientais dos domínios fitogeográficos onde as amostras foram coletadas, hábito e caracteres anatômicos foliares que apresentaram variação entre as espécies da tribo Coussareeae estudadas. Números após o nome da espécie remetem aos *vouchers* (Tabela 1). AF = ambas as faces; FAB = Face abaxial da epiderme; FAD = Face adaxial da epiderme; n.a = estatística não aplicável. (+) = presença; (-) = ausência.

Espécie	Domínio Fitogeográfico	Vegetação	Exposição à luz	Hábito	Altura das células epidérmicas FAD / FAB	Parênquima paliçádico		Parênquima lacunoso		Tricomas Tectores	Compostos fenólicos no mesofilo
					(µm)	Nº de camadas	Espessura (µm)	Nº de camadas	Espessura (µm)		
<i>Bradea anomala</i>	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Exposta à luz	Subarbusto	24,8 / 16,2	3	148,8	5-6	94,4	-	+
<i>Bradea brasiliensis</i> (JAO 218)	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Meia-sombra	Arbusto	39,6 / 24,6	3-4	224,2	4-5	110	-	+
<i>Bradea brasiliensis</i> (JAO 348)	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Exposta à luz	Arbusto	30,1 / 20,8	3-4	155	4	98,5	-	+
<i>Bradea bicornuta</i>	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Exposta à luz	Erva	33,8 / 23	3-4	174,7	5-6	132,7	-	+
<i>Bradea borrierioides</i>	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Meia-sombra	Arbusto	30,7 / 22,5	2-3	77,4	2-3	37,4	AF	+
<i>Bradea</i> sp. 1	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Exposta à luz	Arbusto	31,5 / 21,8	2-3	125,3	3-5	77,9	AF	+
<i>Bradea</i> .sp. 2 (JAO 321)	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Meia-sombra	Subarbusto	29,4 / 21,5	2-4	79,9	3	70	AF	+

<i>Bradea</i> sp. 2 (JAO 328)	Mata Atlântica	<i>Inselberg</i>	Exposta à luz	Subarbusto	34,3 / 25,9	2-4	79	3	53	AF	+
<i>Coccocypselum condalia</i> (JAO 574)	Mata Atlântica	Mata Nebular	Sombra	Erva	n.a	1	n.a	5-6	n.a	FAD	+
<i>Coccocypselum condalia</i> (RNLG 9)	Cerrado	Cerradão	Sombra	Erva	17,7 / 13,9	1	44,3	4	28,2	AF	+
<i>Coccocypselum cordifolium</i>	Mata Atlântica	Floresta Ombrófila Mista	Meia-sombra	Erva	n.a	1	n.a	2-4	n.a	AF	+
<i>Coccocypselum lanceolatum</i> (JAO 324)	Mata Atlântica	Mata antropizada	Sombra	Erva	22,7 / 18,2	1	82,7	2-3	64	AF	+
<i>Coccocypselum lanceolatum</i> (RNLG 7)	Cerrado	<i>Inselberg</i>	Exposta à luz	Erva	23,7 / 14,7	1	48,2	4	42,3	AF	+
<i>Coccocypselum lymansmithii</i>	Mata Atlântica	Campo de altitude	Exposta à luz	Erva	22,4 / 18,6	1	76,5	3	71,8	-	+
<i>Coccocypselum pedunculare</i>	Cerrado	Campo rupestre	Exposta à luz	Erva	n.a	2	n.a	4-6	n.a	AF	+
<i>Coussarea hydrangeifolia</i> (RNLG 13)	Cerrado	Cerradão	Exposta à luz	Árvore	28,9 / 19,3	2	110,1	8-9	136,6	-	-

<i>Coussarea hydrangeifolia</i> (RNLG 12)	Cerrado	Cerradão	Sombra	Árvore	19,4 / 14,2	2	68,9	8-9	153,8	-	-
<i>Declieuxia coerulea</i>	Mata Atlântica	Campo de Altitude	Exposta à luz	Erva	30,5 / 19,6	3-4	123,8	7-9	193,9	-	-
<i>Declieuxia cordigera</i>	Cerrado	Campo Ruprestre	Exposta à luz	Erva	n.a	2	n.a	4-6	n.a	FAB	-
<i>Declieuxia diantheroides</i>	Cerrado	Cerradão	Meia-sombra	Arbusto	25,9 / 16,9	1	53,8	3	30,2	AF	-
<i>Declieuxia fruticosa</i> (JAO 309)	Mata Atlântica	Campo Ruprestre	Exposta à luz	Arbusto	54,7 / 31,6	2	55,6	5	58,2	AF	-
<i>Declieuxia fruticosa</i> (RNLG 3)	Cerrado	Campo Ruprestre	Exposta à luz	Arbusto	46,4 / 28,9	1	56,6	3	62,7	AF	-
<i>Declieuxia fruticosa</i> (CSO 5)	Cerrado	Campo Ruprestre	Exposta à luz	Arbusto	59,6 / 34,9	1	50,1	3	49,6	AF	-
<i>Declieuxia gracilis</i>	Cerrado	Campo Ruprestre	Exposta à luz	Erva	n.a	1-2	n.a	2-3	n.a	-	-
<i>Declieuxia</i>	Mata Atlântica	Campo de	Exposta à luz	Erva	60,8 / 33,4	2	102	3	82,6	FAB	-

<i>humilis</i>		altitude									
<i>Declieuxia lysimachioides</i> (JAO 135)	Mata Atlântica	Campo de altitude	Exposta à luz	Erva	45,9 / 26,7	1	54,4	3	40	AF	-
<i>Declieuxia passerina</i> (JAO 584)	Cerrado	Campo Rupestre	Exposta à luz	Subarbusto	23 / 14,5	1	40	2	33,1	-	+
<i>Declieuxia passerina</i> (RNLG 6)	Cerrado	Campo Rupestre	Exposta à luz	Subarbusto	25,1 / 17,5	1	35,6	2	34,4	-	+
<i>Declieuxia saturejoides</i> (JAO 582)	Cerrado	Campo Rupestre	Exposta à luz	Subarbusto	33,1 / 19,1	1	82,1	3-5	75	AF	-
<i>Declieuxia saturejoides</i> (RNLG 4)	Cerrado	Campo Rupestre	Exposta à luz	Subarbusto	36,1 / 20,2	1	88,2	3-5	83,1	AF	-
<i>Declieuxia</i> sp. 1	Mata Atlântica	Campo de altitude	Exposta à luz	Subarbusto	21 / 18,3	2-3	102,2	6-7	77,5	AF	-
<i>Declieuxia</i> sp. 2	Mata Atlântica	Campo de altitude	Exposta à luz	Subarbusto	43,2 / 15,9	3-4	159,5	5-7	203,5	-	-
<i>Faramea multiflora</i>	Cerrado	Cerradão	Sombra	Arbusto	11,3 / 13,4	1	30,7	6	78,4	-	-
<i>Faramea</i>	Caatinga	Campo	Exposta à luz	Arbusto	n.a	2	n.a	10-12	n.a	-	-

<i>nigrescens</i>		Rupestre									
<i>Faramea vidensis</i>	Mata Atlântica	Floresta ombrófila montana	Sombra	Arbusto	n.a	1	n.a	10-12	n.a	-	-
<i>Hindsia glabra</i>	Mata Atlântica	Campo de altitude	Sombra	Arbusto	24,8 / 15,9	2	126,1	6-8	133	-	-
<i>Hindsia ibitipocensis</i>	Cerrado	Campo de altitude	Exposta à luz	Arbusto	22,3 / 15,7	3	143,3	6-8	129,8	-	-
<i>Hindsia ramosissima</i>	Mata Atlântica	Campo de altitude	Exposta à luz	Arbusto	24 / 16,4	2	137	8-9	151	-	-
<i>Standleya glomerulata</i>	Mata Atlântica	Floresta Estacional Decidual	Sombra	Erva	n.a	1	n.a	3	n.a	AF	-
<i>Standleya kuhlmanni</i>	Mata Atlântica	Floresta ombrófila densa	Sombra	Erva	n.a	1	n.a	3-5	n.a	AF	-

4. DISCUSSÃO

4.1 Anatomia do limbo

A primeira hipótese testada nesse trabalho foi de que as folhas de plantas coletadas em condições de exposição ao sol apresentariam uma estrutura anatômica diferenciada de folhas de sombra, tendo um limbo mais espessado devido a um aumento dos tecidos que compõem o mesofilo e células epidérmicas. Para testá-la investigamos se, de fato, os atributos qualitativos apresentavam diferença entre as espécies de sol e sombra, e se os quantitativos apresentavam maiores valores para espécies de áreas expostas, com diferenças estatísticas significativas em comparação às de sombra. Tais atributos foram avaliados pois apresentam uma estrita relação com as condições ambientais, respondendo a variações nas características do ambiente por meio de sua plasticidade (Perrone *et al.* 2015).

Nas espécies presentes em áreas expostas à luz, foram observados maiores valores nas médias para a maioria dos atributos quantitativos analisados (Fig. 5). Porém, diferenças estatísticas significativas entre folhas de sol e sombra, levando em consideração os gêneros, com base nos testes de modelos mistos, apenas foram observados para o parênquima paliádico e espessura do mesofilo como um todo. Ainda, os testes de relações entre espécies congêneras mostram uma tendência de que, em praticamente todos os grupos, com exceção de alguns atributos em *Bradea*, apresentam maiores valores médios para amostras de áreas expostas (Fig. 6), entretanto limitações na amostragem, que serão discutidas posteriormente, impedem maiores conclusões ou generalizações. É válido ressaltar que os valores de *P* para a altura das células epidérmicas foram próximos de 0.05 (valores observados foram de 0.08 para ambas as faces), que apesar de serem inconclusivos podem ser considerados sugestivos de que existem podem existir diferenças significativas (Murtaugh, 2014). Juntamente com os demais atributos, com exceção do parênquima lacunoso, podem ser um indicativo de que a primeira hipótese está correta.

Células epidérmicas maiores em ambientes mais expostos à luz já foram reportados em trabalhos como o de Mantuano *et al.* (2006), quando são comparadas com as de folhas de sombra. Essa é uma característica que pode representar uma importante defesa contra o excesso de luminosidade, atuando como um filtro e,

consequentemente, fornecendo uma proteção adicional ao parênquima clorofiliano (Kofidis *et al.* 2003). Além disso, é possível que uma maior dimensão das células auxilie, em casos como o gênero *Bradea* (endêmico de vegetações de *inselbergs*) e o gênero *Declieuxia* (comum em áreas de Campos Rupestres), na redução da perda de água para o ambiente (Dörken *et al.* 2017). A presença de uma camada de células subepidérmicas em *H. ibitipocensis* provavelmente exerce o mesmo papel, considerando que a amostra foi coletada em área aberta de Campo Rupestre com grande incidência de luz. Este tecido pode, ainda, estar relacionado com situações de estresse hídrico, atuando no armazenamento de água (Turner, 1994).

Quanto aos tecidos que compõem o mesofilo, diferenças estatísticas significativas entre folhas de sol e sombra apenas foram observadas para o parênquima paliçádico (Modelo misto, $P = 0.009$), enquanto para o parênquima lacunoso o mesmo não ocorre ($P = 0.16$). Quando considerado o mesofilo como um todo, a diferença foi significativa para os ambientes ($P = 0.05$). Tal estruturação do limbo foliar, com folhas de sol sendo mais espessadas que folhas de sombra, são comumente observadas em diversos estudos (Ashton & Berlyn, 1992; Mantuano *et al.* 2006), onde essa diferença é decorrente, principalmente, de uma proliferação do parênquima clorofiliano.

Em folhas de indivíduos presentes em áreas expostas à luz, as medidas da espessura do parênquima paliçádico são, geralmente, maiores do que folhas de sombra (Boeger *et al.* 2004; Mantuano *et al.* 2006). Neste estudo, as espécies presentes em áreas abertas de Cerrado, na Caatinga, e em áreas abertas de Mata Atlântica, como os gêneros *Declieuxia* e *Bradea*, apresentaram um parênquima paliçádico mais espessado, com maior número de camadas e células maiores, quando comparadas a amostras coletadas em áreas sombreadas (Tabela 3). Essa estrutura do parênquima paliçádico pode distribuir de maneira mais uniforme a luz incidente sobre a folha, evitando danos foto-oxidativos à estrutura dos cloroplastos (Taiz; Zieger, 2004). Esta é considerada uma característica xeromórfica comum em plantas que habitam ambientes expostos à intensa radiação solar, fator que exerce grande influência na estrutura do parênquima clorofiliano (Bosabalidis, Kofidis, 2002; Dong, He, 2017). Em contrapartida, o parênquima paliçádico observado nas espécies dos gêneros *Coccocypselum*, *Standleya*, além das espécies *C. hydrangeifolia*, *F. multiflora* e *F. vidensis*, coletadas em interior de mata, apresenta apenas uma camada, com células menores quando comparadas a folhas

expostas, o que é comumente observado em regimes de sombreamento (Boeger *et al.* 2004; Fernandes *et al.* 2014).

A estrutura do parênquima lacunoso, por outro lado, é diferenciada, sendo esse tecido mais espessado para as folhas de sombra, mas sem uma diferença estatística significativa para as amostras coletadas em áreas expostas (Modelo misto, $P = 0.16$). Esse fato, ao contrário dos dados para parênquima paliçádico, refuta a primeira hipótese. Nas espécies de área sombreada, anteriormente citadas, o parênquima lacunoso se distribui de forma esparsa, apresentando mais espaços intercelulares. Por outro lado, em espécies coletadas nas áreas expostas, os espaços intercelulares são reduzidos. Essa redução de espaços intercelulares, como observado em *F. nigrescens* e nos gêneros, *Bradea* e *Hindsia*, encontrados em áreas de Caatinga e Cerrado, mais quentes e secos, pode estar relacionada a situações de estresse hídrico. Em condições de menor disponibilidade de água, tal diminuição pode auxiliar na redução das taxas de transpiração, evitando a perda excessiva de água para o ambiente (Abdulrahman, Oladele, 2011).

Diferenças na composição dos tecidos que formam o mesofilo também foram observadas mesmo quando avaliadas em uma mesma espécie, coletada em ambientes distintos (sombreados ou expostos à luz), como observado em *Bradea brasiliensis*, *Coussarea hydrangeifolia* e *Coccocypselum lanceolatum* (Tabela 3). Em *C. hydrangeifolia*, a amostra coletada em área exposta apresentou maiores médias para a altura das células epidérmicas e do parênquima paliçádico, seguindo o padrão comumente observado em relação à amostra de área sombreada, o que corrobora com a primeira hipótese. Em *B. brasiliensis* e *C. lanceolatum*, porém, as maiores médias (para células epidérmicas e parênquima paliçádico e face abaxial da epiderme e parênquima clorofiliano, respectivamente) foram observadas para as amostras coletadas em área sombreada (Tabela 3). É possível que essa variação possa estar relacionada com situações de déficit hídrico. Para *B. borrierioides* e *C. lanceolatum*, considerando que os *Inselbergs*, local onde as amostras de área exposta foram coletadas, são caracterizados por baixíssima disponibilidade hídrica (Porembski, 2007), a redução da lâmina foliar, pode representar uma importante modificação estrutural para compensar a falta de água, a partir da redução das taxas de transpiração (Bosabalidis, Kofidis, 2002).

Um fato importante a ser mencionado, que deve ser levado em consideração nas análises estatísticas realizadas, é a diferença na amostragem de folhas de sol e sombra.

Apesar de algumas amostras terem sido coletadas para a mesma espécie em ambientes distintos, existem grupos dentro de Coussareeae que apresentam alta especificidade por determinados ambientes. O gênero *Bradea*, por exemplo, ocorre quase que em sua totalidade em áreas expostas de *Inselbergs*, enquanto o gênero *Standleya* tem preferência por interior de fragmentos de mata (Jardim e Costa, 2015). Para que fosse possível afirmar que a hipótese 1 foi corroborada ou refutada, seria necessária uma maior equidade na amostragem com relação aos ambientes.

Além dos caracteres quantitativos, alguns atributos qualitativos apresentaram diferenças entre folhas de sol e sombra. A presença de uma cutícula espessada (com medidas superiores a 5µm) foi observada em *Declieuxia* sp. 2, *F. nigrescens* e *H. ibitipocensis*. Apesar de as três espécies terem sido coletadas em três domínios fitogeográficos diferentes (Campos de altitude, área aberta de Caatinga e Campos rupestres, respectivamente), todas estavam expostas à intensa radiação solar (Tabela 3). Nesse caso, a formação de uma cutícula espessada pode ser uma resposta ao excesso de luz incidente sobre a folha (Calvete *et al.* 2002; Balsamo *et al.* 2003; Zarinkamar *et al.* 2011). Ainda, considerando que tanto os Campos Rupestres quanto a Caatinga são ambientes caracterizados por um clima mais seco, a cutícula pode exercer um papel fundamental na redução da perda excessiva de água. Nesse caso, essa estrutura impermeabiliza a superfície da lâmina foliar, reduzindo as taxas de transpiração (Balsamo *et al.* 2003), representando uma importante adaptação a ambientes xerofíticos. No caso de outras espécies, também presentes em ambientes expostos à intensa luminosidade, mas que não apresentam uma cutícula espessada, outras características podem fornecer maior proteção ao excesso de radiação, como células epidérmicas mais espessadas ou a presença de tricomas tectores (Kofidis, 2003; Lakusic *et al.* 2010).

Tricomas tectores foram observados em espécies presentes na Mata Atlântica nos gêneros *Bradea*, *Coccocypselum*, *Standleya* e em *D. fruticosa*, e Cerrado, em algumas espécies de *Declieuxia*. As espécies de *Standleya* e *Coccocypselum*, com exceção de *C. lymansmithii*, coletadas em interior de mata, com ambiente sombreado, foram as que apresentaram maiores quantidades de tricomas. A presença de tricomas não glandulares, sob tais condições, pode representar uma importante defesa mecânica contra a herbivoria (Liakoura *et al.* 1997). Além disso, pode evitar o acúmulo de água na superfície foliar, o que limitaria as trocas gasosas e também poderia propiciar um microambiente favorável para o desenvolvimento de patógenos (Bickford, 2016). Para

as espécies ocorrentes em áreas expostas à radiação solar (Tabela 3), a presença dessa estrutura pode configurar uma característica xeromórfica (Lakusic *et al.* 2010). Tricomas tectores em regimes de intensa radiação solar podem auxiliar na reflexão do excesso de luz, além de ajudar a regular as trocas gasosas da folha, reduzindo a perda excessiva de água para o ambiente e a temperatura interna deste órgão (Bickford, 2016). Em alguns casos em que as folhas são glabras, mesmo em ambientes expostos, a presença de uma cutícula espessada pode ser considerada uma compensação para a ausência de tricomas, como em *Declieuxia* sp. 2, *F. nigrescens* e *H. ibitipocensis* (Lakusic *et al.* 2010). É importante salientar que no gênero *Declieuxia*, com maior amostragem, a presença ou ausência de tricomas não apresentou um padrão relacionado aos ambientes. Foram observadas espécies com folhas glabras tanto para a Mata Atlântica, como *Declieuxia* sp. 2, quanto para o Cerrado, como *D. passerina* e *D. gracilis*. Dessa forma, a presença ou ausência de tricomas tectores no gênero parece não estar diretamente relacionada com as condições ambientais em que cada indivíduo se encontra.

Na região do bordo foliar, uma leve curvatura foi observada em direção à face abaxial para a maior parte das espécies. Essa característica, quando presente em espécies que possuem folhas de menores dimensões, como *D. gracilis*, *D. humilis* e *D. passerina*, considerando a presença de estômatos apenas na face abaxial, pode criar um microambiente. Esse microambiente pode apresentar um microclima favorável em condições como a dos Campos Rupestres, com temperaturas mais baixas, auxiliando na redução das taxas de transpiração e, conseqüentemente, na perda de água para o ambiente (Perrone *et al.* 2015).

A presença de mesofilo do tipo isobilateral em *D. gracilis* e *D. passerina* possivelmente está relacionada com a posição das folhas, imbricadas, em área aberta de Campo Rupestre. Este tipo de mesofilo é comum em plantas que ocorrem em áreas ensolaradas, expostas a altas taxas de luminosidade e calor, onde podem apresentar folhas com área reduzida e com menor exposição à radiação, e folhas imbricadas distribuindo a luz tanto na face adaxial quanto abaxial (Arruda *et al.* 2009; Lakusic *et al.* 2010).

O tecido esclerenquimático observado na região da nervura central e nas nervuras colaterais em *D. cordigera*, *D. gracilis* e *D. passerina* pode exercer uma função primordial de proteção e sustentação da folha, funções diretamente relacionadas

às condições ambientais dos Campos Rupestres. Além de auxiliar na manutenção da posição da folha (imbricada), pode fornecer maior sustentação devido aos fortes ventos presentes nesse tipo de ambiente, além de impedir a murcha em situações de estresse hídrico e fornecer proteção aos feixes vasculares contra a herbivoria (Dong, He, 2017). A presença de tecido esclerenquimático em folhas de diferentes espécies dos Campos Rupestres também foi observada por Lusa *et al.* (2014), o que mostra que essa característica pode ser uma importante adaptação às condições deste domínio.

Compostos fenólicos foram observados tanto isolados em idioblastos, como no gênero *Bradea* e *Coccocypselum*, quanto distribuídos nas células do parênquima clorofiliano, como no gênero *Coccocypselum*, em *D. gracilis* e *D. passerina*. Para as espécies de *Bradea*, *D. gracilis* e *D. passerina*, todas expostas à intensa luz solar, a presença de compostos fenólicos pode representar uma importante defesa contra o excesso de radiação. Segundo Liakopoulos *et al.* (2006), grandes quantidades de radiação solar podem causar danos foto-oxidativos nos cloroplastos. A presença de compostos fenólicos pode ajudar a reduzir os danos causados no aparato fotossintético das folhas, refletindo o excesso de luminosidade. Além de proteção contra a radiação, estes compostos podem apresentar outras funções. Para o gênero *Coccocypselum*, coletado em regiões sombreadas de Mata Atlântica, compostos fenólicos distribuídos em idioblastos e no parênquima clorofiliano pode representar uma importante defesa contra a herbivoria (Kofidis *et al.* 2003; Barp *et al.* 2006), tornando a folha menos palatável e sendo componente na produção de compostos tóxicos.

A partir das análises de PCA e Clustering, procuramos observar se os grupos formados são baseados nas condições ambientais em que cada amostra foi coletada ou na proximidade genética entre as espécies dos mesmos gêneros. A análise PCA dos caracteres quantitativos levou à formação de cinco grupos distintos, de modo que parece haver uma forte associação entre os agrupamentos (baseados nas características anatômicas analisadas) e as características ambientais de onde as amostras foram obtidas. Isso se deve ao fato de as menores médias para a altura células epidérmicas terem sido observadas para espécies dos grupos I e II (como *C. condalia*), encontradas em áreas sombreadas de interior de mata, enquanto as maiores médias foram apresentadas pelo grupo IV, composto por espécies distribuídas em ambientes expostos à radiação solar. Esse fator representa uma importante forma de defesa para as folhas em condições de intensa luminosidade e estresse hídrico (Kofidis, 2003; Dörken *et al.*

2017). Quanto à espessura do parênquima clorofiliano e do mesofilo, o mesmo caso se aplica, onde as maiores médias foram observadas para o grupo V, composto predominantemente por espécies dos gêneros *Bradea*, *Declieuxia* e *Hindsia* encontrados em áreas expostas de Campos Rupestres e *Inselbergs* (com exceção de *H. glabra*). Os dados obtidos com a PCA indicam uma relação entre as condições ambientes e a estrutura das folhas de espécies da tribo Coussareeae, agrupando, em alguns casos, diferentes indivíduos de uma mesma espécie em grupos distintos, como *Coussarea hydrangeifolia* e *Coccocypselum lanceolatum*. Em contrapartida, no gênero *Hindsia*, as três espécies mantêm-se agrupadas exibindo pouca variação estrutural mesmo em condições ambientais diferenciadas.

Para a análise de Cluster, era esperado que as espécies fossem divididas em grupos de amostras em área sombreada e área exposta à luz. Porém, os resultados mostram que apenas um grupo é formado exclusivamente por espécies de sombra, enquanto as demais agrupam-se com outras amostras de áreas expostas à radiação. Adicionalmente, existem três grupos formados por espécies do mesmo gênero, especificamente *Bradea*, *Declieuxia* e *Hindsia*, sendo que o último é composto por duas amostras de área exposta e uma de área sombreada. Dessa forma, os resultados para as análises de agrupamento refutam a segunda hipótese, formando ao mesmo tempo grupos que contêm espécies geneticamente próximas em condições distintas e grupos contendo diferentes espécies em condições ambientais semelhantes.

Além dos aspectos ecológicos anteriormente discutidos, algumas características anatômicas observadas no limbo foliar são consideradas comuns para diversos grupos dentro da família Rubiaceae. Folhas hipostomáticas e mesofilo do tipo dorsiventral são caracteres comuns para espécies presentes em ambientes mesofíticos, e observados com frequência nesta família (Metcalf; Chalk, 1950; Coelho *et al.* 2006). Idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio, encontrados em todas as espécies avaliadas, também representam uma característica comum em Rubiaceae (Metcalf; Chalk, 1950). Estas estruturas podem apresentar diversas funções, como auxiliar na regulação das concentrações de cálcio em diferentes órgãos e tecidos das plantas, na desintoxicação de metais pesados e na proteção contra a herbivoria, tanto de insetos quanto de animais maiores (Franceschi e Nakata, 2005). Tricomas unisseriados e feixes vasculares do tipo colateral, na região da nervura central, também foram identificados por Zini *et al.* (2016), estudando diferentes tribos da família.

4.2 Coléteres

Para verificar seu valor taxonômico, a morfologia externa e a estrutura anatômica dos coléteres de diferentes espécies da tribo Coussareeae foram avaliadas. Considerando a estrutura anatômica observada, composta por um eixo central parenquimático circundado por uma epiderme em paliçada, os coléteres de todas as espécies avaliadas neste trabalho podem ser classificados como o tipo “*standard*”, ou “padrão”, proposto por Lersten (1974a). É o tipo mais comum encontrado na família, sendo relatado em diversos estudos, em diferentes órgãos, como estípulas (Klein *et al.* 2004; Miguel *et al.* 2009; Muravnik *et al.* 2014), flores (Mayer *et al.* 2013) e bractéolas (Judkevich *et al.* 2017). O tipo padrão também foi observado em outras famílias da ordem Gentianales, como Apocynaceae (Thomas, Dave, 1991; Ribeiro *et al.* 2017). Outros tipos de coléteres são descritos para Rubiaceae por Lersten (1974a; 1974b), como “*dendroid*” e “*brush-like*”. Porém, segundo o autor, é possível que essa variação na estrutura possa estar relacionada com a existência de nódulos de bactérias nas folhas de diferentes espécies da família. Isso seria possível através de diferenças na composição química da secreção, com relação ao tipo padrão, que poderia favorecer o estabelecimento uma relação simbiótica com as bactérias.

A presença de feixes vasculares parece ser uma característica relativamente rara em coléteres de Rubiaceae. Klein *et al.* (2004) observaram vascularização em uma de três espécies de *Simira* estudadas, enquanto Judkevich *et al.* (2017) encontraram em apenas duas de 28 espécies pertencentes à tribo Spermacoceae analisadas. Segundo Appezzato-da-Glória e Estelita (2000), é possível que a presença de vascularização tenha maior relação com a proximidade de feixes dos órgãos onde os coléteres estão inseridos, não tendo influência direta sobre a sua atividade secretora. Das 20 espécies da tribo Coussareeae aqui estudadas, a ausência de feixes vasculares, nos coléteres e nos tecidos próximos, está de acordo com esta hipótese.

Cristais de oxalato de cálcio, na forma de ráfides, presentes no eixo central parenquimático, foram observados em espécies dos gêneros *Bradea*, *Coccocypselum* e *Declieuxia*. Essa é uma característica comum para coléteres da subfamília Rubioideae, sendo relatados para os gêneros *Psychotria* (Lersten, 1984b; Miguel *et al.* 2009), *Pentas* (Muravnik *et al.* 2014) e para espécies da tribo Spermacoceae (Judkevich *et al.* 2017). A função dos cristais nos coléteres, porém, ainda é incerta. Dentre as possibilidades, estão

a defesa contra herbivoria e regulação dos níveis de cálcio das células desta estrutura (Franceschi, Nakata, 2005).

A localização de coléteres em um determinado órgão é uma característica muito variável dentro de Rubiaceae (Miguel *et al.* 2009). No presente estudo, os coléteres das inflorescências foram observados na face adaxial das brácteas, próximos ao receptáculo, ou no cálice. Considerando seu surgimento juntamente com o início do desenvolvimento de ápices vegetativos e reprodutivos, como observado por Muravnik *et al.* (2014), a mais provável função exercida pelos coléteres é de proteção. Esse papel pode estar relacionado a diferentes fatores, como proteção contra a dessecação (secreção mucilagínosa e lipofílica), herbivoria (secreção rica em compostos fenólicos) e contra patógenos (Lersten 1974a, 1974b; Appezzato-da-Glória, Estelita, 2000; Miguel *et al.* 2009; Mayer *et al.* 2013; Muravnik *et al.* 2014; Judkevich *et al.* 2017; Ribeiro *et al.* 2017). Além das funções anteriormente citadas, a secreção pode manter os órgãos florais unidos até que se tenham condições climáticas favoráveis para a antese (Mayer *et al.* 2013).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de algumas deficiências na amostragem, os dados observados no presente estudo mostram que existe uma clara relação entre as condições ambientais e a estrutura anatômica foliar das espécies da tribo Coussareeae analisadas. Considerando tanto as análises qualitativas quanto quantitativas, com base nos dados obtidos, é possível afirmar que o estudo da anatomia foliar é uma boa ferramenta para observar as respostas das plantas às pressões ambientais. De forma geral, nas espécies que compõem a tribo Coussareeae, folhas de plantas expostas à luz apresentam células epidérmicas mais altas e um mesofilo mais espessado quando comparadas a folhas de sombra. Além disso, alguns caracteres qualitativos, como presença de cutícula espessada, presença, ausência e distribuição de tricomas, compostos fenólicos e tecido esclerenquimático na nervura central permitem estabelecer relações ecológicas com os ambientes onde as plantas foram coletadas. Em futuros estudos, uma maior equidade na amostragem, avaliando mais indivíduos de uma mesma espécie em ambientes contrastantes, podem ajudar a compreender de forma mais clara as alterações anatômicas das folhas em respostas às condições ambientais. Com relação aos coléteres, o fato de não ter sido observada variação estrutural relacionada aos ambientes mostra que esta não é uma estrutura plástica, e suas características morfoanatômicas são pouco úteis para avaliar respostas às pressões exercidas sobre as plantas. Em todas as espécies avaliadas, os coléteres foram classificados como o tipo “*standard*”, o que parece ser uma característica comum na tribo Coussareeae. Além do tipo de coléter, alguns caracteres podem apresentar valor taxonômico, tais como a presença de cristais no eixo central parenquimático e a ausência de feixes vasculares nos coléteres observados para esta tribo. Futuramente, a realização de análises histoquímicas do exsudato dos coléteres, pode fornecer dados valiosos para o estabelecimento de relações entre a função de proteção dessa estrutura e as condições em que a planta se encontra, além de complementar a busca por características que apresentem valor para a sistemática do grupo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULRAHAMAN, A. A.; OLADELE, F. A Anatomical basis for optimal use of water for maintenance of some mesophytic plants. **Insight Botany**. v. 1, n. 3, p. 28-38. 2011.
- ANTONELLI, A.; SANMARTIN, I. Why are there so many plant species in the Neotropics? **Taxon**. v. 60, n. 2, p. 403-414. 2011.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M. E M. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica**. v. 23, n. 2, p. 113-120. 2000.
- ARAÚJO, E. L.; DE CASTRO, C. C.; DE ALBUQUERQUE, U. P. Dynamics of Brazilian Caatinga - A Review Concerning the Plants, Environment and People. **Functional Ecosystems and Communities**. v. 1, n. 1, p. 15-28. 2007.
- ARRUDA, R. C. O.; VIGLIO, N. S. F.; DE BARROS, A. A. M. Anatomia foliar de halófitas e psamófilas reptantes ocorrentes na restinga de Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**. v. 60, n. 2, p. 333-352. 2009.
- BALSAMO, R. A.; BAUER, A. M.; DAVIS, S. D.; RICE, B. M. Leaf biomechanics, morphology, and anatomy of the deciduous mesophyte *Prunus serrulata* (Rosaceae) and the evergreen sclerophyllous shrub *Heteromeles arbutifolia* (Rosaceae). **American Journal of Botany**. v. 90, n. 1, p. 72-77. 2003.
- BARP, E. A.; SOARES, G. L. G.; GOSMANN, G.; MACHADO, A. M.; VECCHI, C.; MOREIRA, G. R. P. Phenotypic plasticity in *Passiflora suberosa* L. (Passifloraceae): induction and reversion of two morphs by variation in light intensity. **Braz. J. Biol.** v. 66, n. 6, p.853-862. 2006.
- BATES, D.; MAECHLER, M.; BOLKER, B.; WALEKR, S. (2015). **Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4**. **Journal of Statistical Software**, 67(1), 1-48.<doi:10.18637/jss.v067.i01>
- BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**. v.66, n.4, p.1085-1113. 2015.
- BOEGER, M. R. T.; ALVES, L. C.; NEGRELLE, R. R. B. Leaf Morphology of 89 Tree Species from a Lowland Tropical Rain Forest (Atlantic Forest) in South Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 47, n. 6, p. 933-943. 2004.
- BOSABALIDIS, A. M.; KOFIDIS, G. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. **Plant Science**. v. 163, p. 375-379. 2002.
- BICKFORD, C. P. Ecophysiology of leaf trichomes. **Functional Plant Biology**. v. 43, n. 1, p. 807-814. 2016.

- BREMER, B.; ERIKSSON, T. Time tree of Rubiaceae: Phylogeny and dating the Family, subfamilies and tribes. **International Journal of Plant Sciences**. v. 170, n. 6, p. 766-793. 2009.
- CALIÓ, M.F. 2015. *Declieuxia* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB13917>>.
- CALVETE, E.O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M.H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas in vitro e ex vitro. **Horticultura Brasileira**. v. 20, n. 4, p.649-653. 2002.
- CHEN, F. S.; ZENG, D. H.; FAHEY, T. J.; YAO, C. Y.; YU, Z. Y. Response of leaf anatomy of *Chenopodium acuminatum* to soil resource availability in a semi-arid grassland. **Plant Ecology**. v. 209, p. 375-382. 2010.
- COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOSA, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K.Schum. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V. 16, n. 2, p. 170-177. 2006.
- COSTA, C. B. Revisão taxonômica de *Coccocypselum* P. Br. (Rubiaceae). Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. São Paulo, Brasil. 2004.
- COSTA, C. B.; MAMEDE, M. C. H. *Coccocypselum* Aubl. (Rubiaceae) In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S. & Giulietti, A.M. (Org.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: HUCITEC, v. 5, p. 293-298. 2007.
- DELPRETE, P. G.; JARDIM, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**. v. 63, n. 1, p. 101-128. 2012.
- DICKISON, W. G. **Integrative Plant Anatomy**. San Diego: Academic Press. 2000.
- DI-MAIO, F. R. Revisão taxonômica do gênero *Hindsia* Bentham (Rubiaceae, Hedyotideae). Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro. V. 34, n. 2, o. 51-92. 1996
- DONG, Z.; HE, H. Phyllode anatomy and histochemistry of four *Acacia* species (Leguminosae: Mimosoideae) in the Great Sandy Desert, northwestern Australia. **Journal of Arid Environments**. v. 139, n. 1, p. 110-120. 2017.
- DONG, X.; ZHANG, X. Some observations of the adaptations of sandy shrubs to the arid environment in the Mu Us Sandland: leaf water relations and anatomic features. **Journal of Arid Environments**. v. 48, n. 1, p. 41-48. 2001.
- DÖRKEN, V. M.; PARSONS, R. F.; MARSHALL, A. T. Studies on the foliage of *Myricaria germanica* (Tamaricaceae) and their evolutionary and ecological implications. **Tree**. V. 31, p. 997-1013. 2017.

- EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de ESAU**. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda. 2013.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press, 1979.
- FERREIRA, C. S.; DO CARMO, W. S.; GRACIANO-RIBEIRO, D.; DE OLIVEIRA, J. M. F.; DE MELO, R. B.; FRANCO, A. C. Anatomia da lâmina foliar de onze espécies lenhosas dominantes nas savanas de Roraima. **Acta Amazônica**. v. 45, n. 4, p. 337-346. 2015.
- FERNANDES, V. F.; BEZERRA, L. A.; MIELKE, M. S.; SILVA, D. C.; COSTA, L. C. B. Anatomia e ultraestrutura foliar de *Ocimum gratissimum* sob diferentes níveis de radiação luminosa. **Ciência Rural**. v. 44, n. 6, p. 1037-1042. 2014.
- Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 20 de Abril de 2018.
- FOX, J.; WEISBERG, S. (2011). **An {R} Companion to Applied Regression**, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage. URL: <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion>
- FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annu. Rev. Plant Biology**. v. 56, n. 1, p. 41-71. 2005.
- FRANDER B. RIVERÓN-GIRÓ1*, ANNE DAMON1, ALFREDO GARCÍA-GONZÁLEZ1, LISLIE SOLÍS-MONTERO1, OSIRIS AGUILAR-ROMERO2, NEPTALÍ RAMÍREZ-MARCIAL1 and GUADALUPE NIETO1. Anatomy of the invasive orchid *Oeceoclades maculata*: ecological implications. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 184, p. 94–112. 2017.
- GIVNISH, T. J. Ecological constraints on the evolution of plasticity in plants. **Evolutionary Ecology**. v. 16, p. 213-242. 2002.
- GOMES, M. Reavaliação taxonômica de algumas espécies dos gêneros *Coussarea* Aubl. e *Faramea* Aubl. (Rubiaceae, Tribo Coussareae). **Acta. Bot. Bras.** v. 17, n. 3, p. 449-466. 2003.
- GOMES, M. *Coussarea* Aubl. (Rubiaceae) In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S. & Giulietti, A.M. (Org.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: HUCITEC, v. 5, p. 299-306. 2007.
- GOMES, M. *Faramea* Aubl. (Rubiaceae) In: Wanderley, M.G.L.; Shepherd, G.J.; Melhem, T.S. & Giulietti, A.M. (Org.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: HUCITEC, v. 5, p. 319-329. 2007.
- GOVAERTS, R.; RUHSAM; ANDERSSON, L.; ROBBRECHT, E.; BRIDSON, D.; DAVIS, A.; SCHANZER, I.; SONK, B. 2017. **World Checklist of Rubiaceae**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. Disponível em: <<http://wcsp.science.kew.org>>. Acesso em: 8 de outubro de 2017.

- HUGHES, C. E.; PENNINGTON, R. T.; ANTONELLI, A. Neotropical Plant Evolution: Assembling the Big Picture. **Botanical Journal of Linnean Society**. v. 171, p. 1-18. 2013.
- JARDIM, J. G.; COSTA, C. B. A new species of *Standleya* (Rubiaceae, Coussareeae) with a new record for Bahia, Brazil. **Phytotaxa**. v. 206, n. 1, p. 74-78. 2015.
- JARDIM, J. G.; M. GOMES. **Faramaea in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB13977>>. 2015.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York; McGraw-Hill Company Inc., 1940.
- JORDAAN, A.; KRUGER, H. Structure of xerophytic plants from Southern Africa leaf anatomy of *Antizoma miersiana* and *Diospyros ramulosa*. **Israel Journal of Botany**. v.41, n.2, p.57-65, 1992.
- JUDKEVICH, M. D.; SALAS, R. M.; GONZALEZ, A. M. Colleters in american Spermacoceae genera (Rubiaceae): morphoanatomical and evolutionary aspects. **International Journal of Plant Sciences**. v. 175, n. 5, p. 378-397. 2017.
- KIRKBRIDE, J. H. A revision of the genus *Declieuxia* (Rubiaceae). Memoirs of the New York Botanical Garden. v. 28, p. 4, p. 1-87. 1976.
- KLEIN, D. E.; GOMES, V. M.; SILVA-NETO, S. J.; DA CUNHA, M. The structure of Colleters in several species of *Simira*. **Annals of Botany**. v. 94, n.1, p. 733-740. 2004.
- KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS, A. M.; MOUSTAKAS, M. Contemporary seasonal and antitudinal variations of leaf structure features in Oregano (*Origanum vulgare* L). **Annals of Botany**. v. 92, p. 635-645. 2003.
- LAKUSIC, B.; STEVANOVIC, B.; JANCIC, R.; LAKUSIC, D. Habitat-related adaptations in morphology and anatomy of *Teucrium* (Lamiaceae) species from the Balkan peninsula (Serbia and Montenegro). **Flora**. v. 205, p. 633-646. 2010.
- LERSTEN, N. R.; CURTIS, J. D. Colleter anatomy in red mangrove, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae). **Canadian Journal of Botany**. v. 52, n. 11, p. 2277-2278. 1974.
- LERSTEN, N. R. Colleter morphology in *Pavetta*, *Neorosea* and *Tricalysia* (Rubiaceae) and its relationship to the bacterial leaf nodule symbiosis. **Bot. J. Linn. Soc.** v. 69, p. 125-136. 1974a
- LERSTEN, N. R. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**. v. 61, n. 9, p. 973-981. 1974b.
- LIAKOPOULOS, G.; NIKOLOPOULOS, D.; KLOUVATOU, A.; VEKKOS, K. A.; MANETAS, Y.; KARABOURNIOTIS, G. The Photoprotective Role of Epidermal

- Anthocyanins and Surface Pubescence in Young Leaves of Grapevine (*Vitis vinifera*). **Annals of Botany**. v. 98, p. 257-65. 2006.
- LIAKOURA, V.; STEFANOUE, M.; MANETAS, Y.; CHOLEVAS, C.; KARABOURNIOTIS, G. Trichome density and its UV-B protective potential are affected by shading and leaf position on the canopy. **Environmental and Experimental Botany**. v. 38, p. 223-229. 1997.
- LUSA, M. G.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; LOEUILLE, B.; CICCARELLI, D. Functional groups in Lychnophorinae (Asteraceae: Vernonieae) based on morphological and anatomical traits. **Australian Journal of Botany**. v. 62, n. 1, p. 150-163. 2014.
- MAECHLER, M.; ROUSSEUW, P.; STRUYF, A.; HUBERT, M.; HORNIK, K. (2017). cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions. R package version 2.0.6.
- MANTUANO, D. G.; BARROS, C. F.; SCARANO, F. R. Leaf anatomy variation within and between three “restinga” populations of *Erythroxylum ovalifolium* Peyr. (Erythroxylaceae) in Southeast Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 29, n. 2, p. 209-215. 2006.
- MAYER, J. L. S.; CARMELLO-GUERREIRO, S.; MAZZAFERA, P. A functional role for the collectors of coffee flowers. **AoB Plants**. v. 5, p. 1-13. 2013.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons**: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press. v. 2. 1950.
- MIGUEL, E. C.; DE MORAES, D. G.; DA CUNHA, M. Stipular collectors in *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae): micromorphology, anatomy and crystals microanalysis. **Acta. Bot. Bras.** v. 23, n. 4, p. 1034-1039. 2009.
- MILLER, L. **Apostila do curso de microtécnica e fotomicrografia**. São Paulo. Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, 1968.
- MITTERMEIER, R. A., TURNER, W. R., LARSEN, F. W., BROOKS, T. M. & GASCON, C. Global **Biodiversity Conservation**: The critical role of hotspots. In: Zachos, F. E. & Habel, J. C. (Eds). Biodiversity Hotspots: Distribution and protection of conservation priority areas. Springer, Berlin Heidelberg. 2011.
- MMA. **Ministério do Meio Ambiente**. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira> >. Acesso em: 29 Set. 2017.
- MURAVNIK, L. E.; KOSTINA, O. V.; SHAVARDA, A. L. Development, structure and secretion compounds of stipule collectors in *Pentas lanceolata* (Rubiaceae). **South African Journal of Botany**. v. 93, p. 27-36. 2014.
- MURTAUGH, P. A. In defense of *P* values. **Ecology**. v. 95, n. 3, p. 611-617. 2014.

- OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; HENRY, M.; STEVENS, H.; SZOECs, E.; WAGNER, H. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-1. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. 2018.
- OLIVEIRA, J. A. *Standleya* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14332>>. 2015.
- OLIVEIRA, J. A. **Revisão taxonômica de *Bradea* (Rubiaceae: Coussareeae)**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro / Escola Nacional de Botânica Tropical, 2014. OLIVEIRA, J. A.; SOBRADO, S. V. *Bradea borrierioides* (Rubiaceae), a new species from Brazilian inselbergs. **Phytotaxa**. v. 243, n. 1, p. 83-90. 2016.
- PATRICIA, L.; MORELLATO, C.; HADDAD, C. F. B. Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**. v. 32, n. 4, p. 786-792. 2000.
- PERRONE, R.; SALMERI, C.; BRULLO, S.; COLOMBO, P.; DE CASTRO, O. What do leaf anatomy and micro-morphology tell us about the psammophilous *Pancratium maritimum* L. (Amaryllidaceae) in response to sand dune conditions? **Flora**. v. 2013, p. 20-31. 2015.
- POREMBSKI, S. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 30, n. 4, p. 579-586. 2007.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 17 abr. 2018.
- RAPINI, A.; RIBEIRO, P. L.; LAMBERT, S.; PIRANI, J. R. A flora dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. **Megadiversidade**. v. 4, n. 1-2, p. 15-23. 2008.
- RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado Vegetation and Threats to its Biodiversity. **Annals of Botany**. v. 80, n. 1, p. 223-230. 1997.
- RIBEIRO, J. C.; FERREIRA, M. J. P.; DEMARCO, D. Colleters in Asclepiadoideae (Apocynaceae): protection of meristems against desiccation and new functions assigned. **International Journal of Plant Sciences**. v. 178, n. 6, p. 465-477. 2017.
- RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**. v. 142, p. 1141-1153. 2009.
- ROBBRECHT, E. Tropical Woody Rubiaceae. Characteristic Features and Progressions. **Opera Botanica Belgica**. 1988.

- SAKAI, W.S. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. **Stain Technology**, v. 48, p. 247-249. 1973.
- SCHOLLERT, M.; KIVIMÄENPÄÄ, M.; VALOLAHTI, H. M.; RINNAN, R. Climate change alters leaf anatomy, but has no effects on volatile emissions from Arctic plants. **Plant, Cell and Environment**. v. 10, p. 2048-2060. 2015.
- SIMIONI, P. F.; EISENLOHR, P. V.; PESSOA, M. J. G.; DA SILVA, I. V. Elucidating adaptative strategies from leaf anatomy: Do Amazonian savannas present xeromorphic characteristics? **Flora**. v. 226, n. 1, p. 38-46. 2017.
- SULTAN, S. E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. **Trends in Plant Science**. v. 5, n. 12, p. 537-542. 2000.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- TAVARES, E. S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Coussarea meridionalis* (Vell.) Muell. Arg. e *Coussarea graciliflora* Benth. et Hook (Rubiaceae). **Bradea**. v. 6, n. 39, p. 320-330. 1994.
- The Plant List. Version 1.1.** Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em: 16 de Maio de 2017.
- THOMAS, V.; DAVE, Y. Comparative and phylogenetic significance of the colleters in the Family Apocynaceae. **Feddes Repertorium**. v. 102, p. 177-182. 1991.
- TRESMONDI, F.; NOGUEIRA, A.; GUIMARÃES, E.; MACHADO, S. R. Morphology, secretion composition, and ecological aspects of stipular colleters in Rubiaceae species from tropical forest and savanna. **The Science of Nature**. v. 102, n. 73, p. 1-15. 2015.
- TURNER, I. M. Sclerophylly: primarily protective? **Functional Ecology**. v. 8, n. 1, p. 669-675. 1994.
- YIOTIS, C.; MANETAS, Y.; PSARAS, G. K. Leaf and green stem anatomy of the drought deciduous Mediterranean shrub *Calicotome villosa* (Poir.) Link. (Leguminosae). **Flora**. v. 201, n. 1, p. 102-107. 2006.
- ZAPPI, D. C.; FILARDI, F. L. R.; LEITMAN, P.; SOUZA, V. C.; WALTER, B. M. T.; PIRANI, J. R.; MORIM, M. P.; QUEIROZ, L. P.; CAVALCANTI, T. B.; MANSANO, V. F.; FORZZA, R. C. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**. v. 66, n. 4, p. 1-29. 2015.
- ZARINKAMAR, F.; TAJIK, S.; SOLEIMANPOUR, S. Effects of altitude on anatomy and concentration of crocin, picrocrocin and safranal in *Crocus sativus* L. **Australian Journal of Crop Science**. v. 5, n. 7, p. 831-838. 2011.
- ZINI, A. S.; MARTINS, S.; TODERKE, M. L.; TEMPONI, L. G. Anatomia foliar de Rubiaceae ocorrentes em fragmento florestal urbano de Mata Atlântica, PR, Brasil. **Hoehnea**. V. 43, n. 2, p. 173-182. 2016.

ANEXO I

Espécies estudadas, informações de *Voucher*, data e localidade de coleta e informações sobre distribuição dos táxons.

Espécie	Voucher (Herbário) e data de coleta	Localidade de coleta
<i>Bradea anomala</i> Brade	J.A. Oliveira & F.M. Silva 290 (RB). Coletada em 24/01/2013.	Castelo, Espírito Santo, Brasil.
<i>Bradea bicornuta</i> Brade	J.A. Oliveira & F.M. Silva 294 (RB). Coletada em 25/01/2013.	Alfredo Chaves, Espírito Santo, Brasil
<i>Bradea borrierioides</i> J.A.Oliveira & Sobrado	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 354 (RB). Coletada em 22/04/2013.	Água Doce do Norte, Espírito Santo, Brasil
<i>Bradea brasiliensis</i> Standl.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 218 (RB) Coletada em 26/09/2012.	Santa Maria Madalena, Rio de Janeiro, Brasil
<i>Bradea brasiliensis</i> Standl.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 348 (RB). Coletada em 22/04/2013.	Nova Belém, Minas Gerais, Brasil
<i>Bradea</i> sp. 1	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 405 (RB). Coletada em 09/08/2013.	Mimoso do Sul, Espírito Santo, Brasil
<i>Bradea</i> sp. 2	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 321 (RB). Coletada em 18/04/2013.	Santa Maria Jetibá, Espírito Santo, Brasil
<i>Bradea</i> sp. 2	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 328 (RB). Coletada em 19/04/2013.	Itarana, Espírito Santo, Brasil
<i>Coccocypselum condalia</i> Pers.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 574 (RB). Coletada em 2016.	Itamonte, Minas Gerais, Brasil
<i>Coccocypselum condalia</i> Pers.	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 9 (UEC). Coletada em 16/09/2017.	Extrema, Minas Gerais, Brasil.
<i>Coccocypselum cordifolium</i> Nees & Mart.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 209 (RB). Coletada em 25/09/2012.	Santa Maria Madalena, Rio de Janeiro, Brasil
<i>Coccocypselum lanceolatum</i> (Ruiz & Pav.) Pers.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 324 (RB). Coletada em 18/04/2013.	Santa Maria de Jetibá, Espírito Santo, Brasil
<i>Coccocypselum lanceolatum</i> (Ruiz & Pav.) Pers.	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 7 (UEC). Coletada em 16/09/2017.	Extrema, Minas Gerais, Brasil
<i>Coccocypselum lymansmithii</i> Standl.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 576 (RB). Coletada em 2016.	Itamonte, Minas Gerais, Brasil
<i>Coussarea</i> <i>hydrangeifolia</i>	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 12 (UEC).	Mogi Guaçu, São Paulo,

(Benth.) Müll.Arg.	Coletada em 29/11/2017.	Brasil
<i>Coussarea hydrangeifolia</i>	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 13 (UEC).	Mogi Guaçu, São Paulo,
(Benth.) Müll.Arg.	Coletada em 29/11/2017.	Brasil
<i>Declieuxia coerulea</i> Gardner	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 151 (RB). Coletada em 11/07/2012.	Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil
<i>Declieuxia cordigera</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.	J.A. Oliveira & F.M. Silva 132 (RB). Coletada em 04/02/2012.	Baependi, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia diantheroides</i> Standl.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 581 (RB). Coletada em 2016.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia fruticosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Kuntze	J.A. Oliveira & F.M. Silva 309 (RB). Coletada em 29/01/2013.	Alfredo Chaves, Espírito Santo, Brasil
<i>Declieuxia fruticosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Kuntze	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 3 (UEC). Coletada em 30/04/2017.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia fruticosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Kuntze	C.S. Oliveira & M.F. Calió 38 (UEC). Coletada em 30/04/2017.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia gracilis</i> J.H.Kirkbr.	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 4 (UEC). Coletada em 01/05/2017.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia humilis</i> (Müll.Arg.) J.H.Kirkbr.	J.A. Oliveira & F.M. Silva 133 (RB). Coletada em 2016.	Baependi, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia lysimachioides</i> Zucc. ex Schult. & Schult.f.	J.A. Oliveira & F.M. Silva 135 (RB). Coletada em 19/05/2012.	Baependi, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia passerina</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 584 (RB). Coletada em 2016.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia passerina</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 6 (UEC). Coletada em 01/05/2017.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia saturejoides</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 4 (UEC). Coletada em 01/05/2017.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia saturejoides</i> Mart. & Zucc. ex Schult. & Schult.f.	J. A. Oliveira 582 (RB). Coletada em 2016.	Jaboticatubas, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia</i> sp. 1	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 694 (RB).	Alto Caparaó, Minas Gerais, Brasil
<i>Declieuxia</i> sp. 2	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 706 (RB)	Alto Caparaó, Minas Gerais, Brasil
<i>Fareamea multiflora</i> A.Rich. ex DC	R.N.L. Gonçalves & M.F. Calió 11 (UEC). Coletada em 29/11/2017.	Mogi Guaçu, São Paulo, Brasil

<i>Faramea nigrescens</i> Mart.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 270 (RB). Coletada em 16/11/2012.	Rio de Contas, Bahia, Brasil
<i>Faramea vidensis</i> Müll.Arg.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 314 (RB). Coletada em 16/04/2013.	Santa Leopoldina, Espírito Santo, Brasil
<i>Hindsia glabra</i> K.Schum.	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 201 (RB). Coletada em 31/08/2012.	Itatiaia, Rio de Janeiro, Brasil
<i>Hindsia ibitipocensis</i> Di Maio	J.A. Oliveira 228 (RB). Coletada em 13/10/2012.	Rio Preto, Minas Gerais, Brasil
<i>Hindsia ramosissima</i> Gardner	J.A. Oliveira 566 (RB). Coletada em 28/06/2015.	Passo Quatro, Minas Gerais, Brasil
<i>Standleya glomerulata</i> J.G.Jardim & C.B.Costa	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 236 (RB). Coletada em 12/11/2012.	Lençóis, Bahia, Brasil
<i>Standleya kuhlmanni</i> Brade	J.A. Oliveira <i>et al.</i> 301 (RB). Coletada em 28/01/2013.	Viana, Espírito Santo, Brasil

ANEXO II



COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
Universidade Estadual de Campinas
Caixa Postal 6109. 13083-970, Campinas, SP, Brasil
Fone (19) 3521-6378. email: cpgib@unicamp.br



DECLARAÇÃO

Em observância ao §5º do Artigo 1º da Informação CCPG-UNICAMP/001/15, referente a Bioética e Biossegurança, declaro que o conteúdo de minha Dissertação de Mestrado, intitulada "*Anatomia ecológica do limbo foliar e de coléteres de espécies da tribo Coussareeae Benth & Hook. F. (Rubiaceae)*", desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp, não versa sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou temas afetos a Biossegurança.

Assinatura: Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves
Nome do(a) aluno(a): Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves

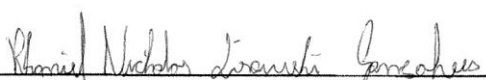
Assinatura: Maria Fernanda Aguiar Calió
Nome do(a) orientador(a): Maria Fernanda Aguiar Calió

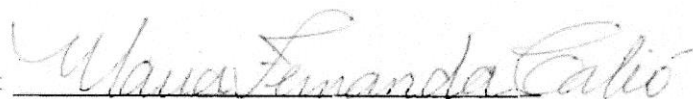
Data: 23 de Outubro de 2018

ANEXO III**Declaração**

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **Anatomia ecológica do limbo foliar e de coléteres de espécies da tribo Coussareeae Benth & Hook. F. (Rubiaceae)**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 23 de Outubro de 2018.

Assinatura : 
Nome do(a) autor(a): **Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves**
RG n.º 12.311.149-4

Assinatura : 
Nome do(a) orientador(a): **Maria Fernanda Aguiar Calió**
RG n.º 32.020.805-9