

LIDIA MARQUES BRONZI

"ESTUDO DA ANATOMIA FOLIAR DE DOIS CULTIVARES DE *Citrus sinensis* (L.) OSBECK (RUTACEAE): cv. FOLHA MURCHA E cv. PERA".

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em Biologia (Biologia Vegetal).

Orientadora Profa. Dra.

Marlies Sazima

Campinas - SP.

1981

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao meu esposo,
Cesare, pelo estímulo e compreensão

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marlies Sazima, do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetais da UNICAMP, pela orientação deste trabalho, bem como pela amizade e estímulo.

Ao Prof. Antonio Carlos Gabrielli, do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetais da UNICAMP, por toda dedicação e valioso auxílio, durante todas as fases do desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Hermógenes de Freitas Leitão Filho, Chefe do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetais da UNICAMP, pela amizade, leitura dos manuscritos e valiosas sugestões.

Ao Prof. Dr. George John Shepherd, do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetais da UNICAMP, pelo apoio, leitura dos manuscritos e pelo auxílio na elaboração do Summary.

Ao Prof. Dr. Antonio Celso N. Magalhães, do Departamento de Fisiologia Vegetal da UNICAMP, pelas oportunas críticas e sugestões.

Ao Prof. Dr. Ivan Sazima, do Departamento de Zoologia da UNICAMP, pela amizade e leitura dos manuscritos.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade que nos foi dada para a realização deste curso na pessoa do Prof. Adriano Lúcio Peracchi pela atenção que

sempre nos dirigiu.

À Sra. Maria Odeti Fontana Pedrossanti do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetais da UNICAMP, pelo auxílio na confecção das lâminas.

À Sra. Maria Célia Giorgi Almeida do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetais da UNICAMP, pelos serviços datilográficos.

Aos amigos, Cátia Nunes da Cunha e Alexandre F. da Silva, pelo apoio nos momentos certos.

Aos professores e amigos da Pós-Graduação do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetais da UNICAMP, pela amizade e incentivo.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
MATERIAL E MÉTODOS	16
RESULTADOS	20
a. <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Folha Murcha	20
a.1 - Ápice	20
a.2 - Terço médio	26
a.3 - Base	38
a.4 - Bordo	46
a.5 - Estômatos	48
a.6 - Pecíolo	52
b. <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck cv. Pera	57
b.1 - Ápice	57
b.2 - Terço médio	63
b.3 - Base	73
b.4 - Bordo	80
b.5 - Estômatos	83
b.6 - Pecíolo	86
DISCUSSÃO	91
CONCLUSÕES	99
RESUMO	101
SUMMARY	102
BIBLIOGRAFIA	103

INTRODUÇÃO

As plantas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Folha Murcha caracterizam-se pelo permanente enrolamento de suas folhas, caráter que lhe proporciona um aspecto de aparente murchamento, originando o nome do cultivar.

Este cultivar surgiu espontaneamente em um pomar cítrico há aproximadamente trinta anos, no Município de Araruama, RJ., tendo sido observado pela primeira vez por um dos membros da família Oliveira Carvalho, citricultores radicados neste Município (CAMPELLO *et alii* 1972).

A origem exata do referido cultivar ainda não está bem estabelecida. Entretanto, acredita-se que seja um mutante natural de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Pera, presumivelmente uma variação de gema (ARAÚJO & VASCONCELLOS, 1974).

O valor econômico de laranja 'Folha Murcha' reside no fato dos seus frutos, que são utilizados na fabricação de suco, apresentarem um período de maturação tardio. Este fato tem estimulado o seu crescente plantio de ano para ano, de modo que hoje este cultivar se mantém em destaque na citricultura fluminense.

No presente estudo pretendemos verificar se o enrolamento permanente das folhas de laranja 'Folha Murcha' é acompanhado por modificações anatômicas. Com este propósito, foram feitos estudos comparativos entre as folhas deste

cultivar e as de laranja 'Pera' em três estádios de desenvolvimento. A escolha do cultivar Pera justifica-se por serem ambos os cultivares da mesma espécie e ainda, por ter sido laranja 'Folha Murcha', provavelmente, originada a partir da quela.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Dados taxonômicos

Devido ao seu grande valor econômico, as plantas cítricas têm recebido atenção de muitos pesquisadores desde há muitos anos. Apesar disso, até hoje existe muita controvérsia na delimitação das espécies pertencentes ao gênero *Citrus*, principalmente em se tratando de espécies cultivadas.

O gênero *Citrus* foi originalmente descrito por LINNAEUS (1753), no qual incluiu três espécies, sendo *Citrus medica* L. a espécie tipo do gênero.

GALLESIO (1811, *apud* SWINGLE, 1943) publicou o primeiro tratado sobre as plantas cítricas intitulado "Traité du *Citrus*".

HOOKER (1875, *apud* SWINGLE, 1943), em sua "Flora of British India", inclui *Citrus* entre os trinta e três gêneros que reconheceu como pertencentes à sub-família Aurantioideae, admitindo quatro espécies no gênero *Citrus*.

ENGLER (1896), estudando a família Rutaceae, reconheceu seis espécies dentro do gênero *Citrus*. Posteriormente, ENGLER (1931), na segunda edição de "Die Natürlichen Pflanzenfamilien" revisou a família e incluiu 11 espécies no gênero *Citrus*.

SWINGLE (1943) estabeleceu um novo sistema de

classificação para o gênero *Citrus*, o qual foi dividido em dois sub-gêneros: *Papeda* contendo seis espécies e *Citrus* com dez espécies, sendo este sistema um dos mais aceitos pelos taxonomistas do gênero.

TANAKA (1954), em "Species problem in *Citrus*" publicou um novo sistema de classificação, no qual o gênero *Citrus* foi dividido em dois sub-gêneros, oito seções, treze sub-seções, dois sub-grupos, dois microgrupos e cento e quarenta e cinco espécies. Posteriormente, TANAKA (1961) expande seu sistema, incluindo duas novas sub-seções, um novo grupo e doze novas espécies. Este sistema tem sido muito criticado, por ser demasiado extenso e pelo fato do autor ter confundido diversidade morfológica com especiação. Apesar disso, este trabalho é considerado valioso pela descrição detalhada da morfologia dos biótipos cítricos.

WOLFE (1959), criticou o sistema de SWINGLE (1943), por ser muito conservador e o de TANAKA (1954) por ser demasiado extenso, preferindo tomar uma posição intermediária entre os dois sistemas.

HODGSON (1961), publicou uma nova nomenclatura para *Citrus*, na qual ele aceitou vinte e três espécies do sistema de TANAKA (1954).

Segundo REECE (1967) a delimitação das espécies que pertencem ao gênero *Citrus* torna-se difícil pelo fato destas plantas apresentarem sementes poliembriônicas, isto é, os embriões nucelares ocorrem juntos com os embriões zigóticos. O embrião nucelar reproduz uma planta com caracte-

rísticas idênticas às da planta mãe, enquanto que o embrião zigótico pode reproduzir uma planta com características morfológicas bem diferentes das da planta mãe. Em muitos casos, plantas assim originadas foram confundidas com espécies distintas. Posteriormente, REECE (1969) estabeleceu uma classificação para *Citrus* e enfatizou, que enquanto se admitir formas de origem agâmica como espécies, em um campo no qual as plantas continuam a gerar novos híbridos apomíticos, as classificações taxonômicas sobre o gênero não chegarão a um consenso comum.

Estudos mais recentes em citologia, genética e bioquímica têm sido utilizados a fim de melhor esclarecer as relações de parentesco entre as plantas cítricas e estabelecer uma melhor classificação para as espécies do gênero *Citrus*. Assim, HOROWITZ (1961) foi um dos primeiros a relatar a ocorrência de compostos flavonóides específicos em certos taxa de *Citrus*, dentre estes ele citou como os mais importantes: naringinina, hesperidina e limonina.

ALBACH & REDMAN (1968, *apud* SCORA & CHANG, 1969) enfatizaram a importância dos compostos flavonóides, e baseados na sua composição estabeleceram uma classificação para *Citrus* verificando por exemplo, que *Citrus paradisi* Macf. possui grande quantidade de naringinina em seus tecidos, enquanto que em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck o composto flavonóide mais comum é hesperidina.

SCORA *et alii* (1969) estudando as características químicas dos óleos essenciais, através de cromatografia

gasosa, estabeleceram afinidades taxonômicas entre plantas do grupo de *Citrus jambhiri* Lush. cv. Limão rugoso.

TATUM *et alii* (1974) também se utilizando de cromatografia, separaram alguns cultivares do gênero *Citrus*, de acordo com a origem nucelar ou zigótica do embrião.

BARRET & RHODES (1976), baseados em estudos de taxonomia numérica, estabeleceram as relações de parentesco de quarenta e três biótipos cultivados do gênero *Citrus*. Estes autores comentaram que a não apreciação dos efeitos da apomixia facultativa, e a conseqüente alta heterozigose que ocorre nas plantas cítricas, tem sido o maior obstáculo para uma taxonomia objetiva do gênero.

2. Dados Botânicos dos Cultivares Estudados

Em seu estudo sobre variedades hortícolas do gênero *Citrus*, HODGSON (1967), descreveu do seguinte modo os cultivares aqui estudados:

Laranja 'Pera' - "Fruto pequeno, ovóide a elipsóide; sementes muito poucas. Casca fina; superfície lisa; polpa bem colorida; firme, textura fina, succulenta. Árvore vigorosa, ereta; folhagem densa, com folhas apresentando pecíolos com alas desiguais; cultivar muito produtivo, introduzido no Brasil, sendo originário da Flórida".

Laranja 'Folha Murcha' - "Esta é uma variedade brasileira, com frutos de maturação tardia. A árvore é mode

radamente vigorosa, ereta, com ramos grossos e folhas verde-escuras enroladas que parecem estar murchas, de onde o nome se originou. É uma variedade muito produtiva, de origem desconhecida, provavelmente uma variação de gema".

CAMPELLO *et alii* (1972) fizeram um estudo morfológico da folha e da flor, concluindo que a laranja 'Folha Murcha' apresenta características semelhantes às dos demais cultivares da espécie *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

VASCONCELLOS *et alii* (1975) estudando a guarnição cromossômica de laranja 'Folha Murcha', constataram que o número básico de cromossomos do referido cultivar é igual a nove, número característico do gênero *Citrus*.

3. Dados Anatômicos

3.1 - Tecidos

Segundo REED & DUFRENÓY (1935) folhas de *Citrus* possuem células do paliçádico largas e com cloroplastos localizados na sua região periférica; os elementos do xilema estão arranjados compactamente e possuem raios medulares estreitos, consistindo de apenas uma fileira de células, sendo que os feixes vasculares são circundados por uma camada de fibras pericíclicas.

WEBBER & FAWCETT (1935) ao descreverem a anatomia da folha de *Citrus sinensis* caracterizam a epiderme superior pela forma tabular de suas células, cujas paredes são retas e espessas, enquanto que as células da epiderme

inferior apresentam formas mais irregulares e possuem estômatos. Quanto aos tecidos do mesófilo, WEBBER & FAWCETT (l.c.), observaram que o paliçádico é constituído de duas a três fileiras de células alongadas, enquanto que o parênquima lacunoso possui maior número de células com formas regulares e grandes espaços de ar entre si.

SCOTT & BAKER (1947) estudaram a anatomia foliar de laranjeira 'Navel' caracterizando quatro tipos de células que ocorrem na epiderme: células epidérmicas comuns, células guardas, células acessórias e células que cobrem as glândulas, todas com uma parede externa composta de celulose e substâncias pécticas, horizontalmente estratificadas, cutinizadas e cobertas por uma camada de cera. O tecido vascular segundo SCOTT & BAKER (l.c.) apresenta o xilema constituído de traqueídeos e vasos espiralados, traqueídeos reticulados e parênquima do xilema, ao passo que as pequenas nervuras encontradas no ápice das folhas possuem apenas traqueídeos espiralados.

O desenvolvimento anatômico do primórdio foliar até a abscisão da folha de laranja 'Valência' foi estudado por SCOTT *et alii* (1948) que verificaram diferenças nos seguintes caracteres entre folhas maduras e jovens: diferenciação dos tecidos do mesófilo, mudanças na relação entre amido e cristais de oxalato de cálcio, espessamento da cutícula, aumento da suberização da superfície interna e espessamento secundário das nervuras.

SCHNEIDER (1968) ao estudar a anatomia de

Citrus fez considerações sobre a folha referindo, entre outros aspectos, que a epiderme superior é composta de células tabulares cobertas por uma camada grossa de cutícula, enquanto que a epiderme inferior apresenta estas mesmas características, diferindo da superior pela presença de estômatos. Sobre o mesófilo, este autor cita que as células do parênquima paliçádico são cilíndricas, arranjadas em duas ou três camadas, enquanto que as células do parênquima lacunoso possuem braços e estão arranjadas em aproximadamente oito camadas, com muitos espaços intercelulares. O sistema vascular da folha consiste de uma nervura principal proeminente que se torna menor junto ao ápice, sendo que as nervuras laterais se anastomosam próximas a margem da folha.

ESAU (1974) comentou que as folhas de *Citrus* são espessas e coriáceas, apresentando uma cutícula grossa com camadas de cera e que o parênquima paliçádico compacto contrasta marcadamente com o parênquima lacunoso frouxo.

3.2 - Glândulas

SIECK (1895, *apud* WEBBER & FAWCETT, 1935) investigou um grande número de espécies da família Rutaceae e concluiu que as glândulas de óleo são originadas esquisitamente e que posteriormente se tornam lisígenas.

HABBERLANDT (1898, *apud* WEBBER & FAWCETT, 1935) observou que nas folhas de *Citrus sinensis* as células epidérmicas que encobrem as glândulas de óleo são frequente-

mente menores e de paredes mais finas do que as demais células epidérmicas.

WEBBER & FAWCETT (1935) descreveram as glândulas como estruturas esféricas, esquisolisígenas, que ocorrem subjacentes as células da epiderme, podendo ser encontradas tanto nos tecidos do parênquima paliçádico, quanto nos do lacunoso. WEBBER & FAWCETT (l.c.) comentaram ainda que as glândulas de óleo nas folhas de *Citrus sinensis* são formadas antes da diferenciação do mesófilo.

Segundo SCOTT & BAKER (1947), as glândulas de óleo nas folhas de laranjeira 'Navel' se originam esquisolisigenamente ocorrendo em grande número nas camadas subepidérmicas, e as células epidérmicas que as encobrem distinguem-se pela presença de gotículas de óleo.

SCOTT *et alii* (1948) estudando o desenvolvimento da folha de laranjeira 'Valência', constataram que as glândulas de óleo têm origem esquisolisígena e que a sua formação ocorre simultaneamente com a diferenciação dos tecidos vasculares, no primórdio foliar. SCOTT *et alii* (l.c.) relatam ainda que no ápice da folha adulta os tecidos vasculares são substituídos por uma única grande glândula.

ERICKSON (1968) enfatizou a presença de glândulas nas camadas subepidérmicas das folhas de *Citrus* e defendeu o ponto de vista de sua origem lisígena, baseado na dissolução e desorganização de suas células.

SCHNEIDER (1968) descreveu a origem lisí-

gena das glândulas de óleo e acompanhou seu desenvolvimento nos tecidos das folhas de *Citrus*, relatando que a diferenciação da glândula torna-se visível quando o citoplasma de um grupo de células de parênquima se torna mais denso e escuro; posteriormente ocorre divisão celular no sentido perpendicular ao raio da glândula. As células internas, de contorno poligonal e paredes finas, ficam túrgidas e se rompem, permanecendo apenas a cavidade.

ESAU (1974) interpretou as glândulas que ocorrem no mesófilo das folhas de *Citrus* como cavidades lisígenas, visto que a secreção é formada em células que eventualmente se rompem liberando substâncias na cavidade resultante do rompimento.

3.3 - Cristais

Cristais de oxalato de cálcio ocorrem em grande número nas folhas das plantas cítricas. Assim, SHACHT (1845) e PAYEN (1846), citados por WEBBER & FAWCETT (1935), foram os primeiros investigadores a descrever estes idioblastos, distinguindo-os das demais células subepidérmicas, pela falta de clorofila e por apresentarem as paredes radiais e internas espessadas, além de serem maiores.

BUTLER (1930) relatou que apesar das células produtoras de cristais serem ocasionalmente encontradas nas regiões epidérmicas das folhas dos *Citrus*, elas são de origem subepidérmica.

WEBBER & FAWCETT (1935) constataram que os idioblastos de oxalato de cálcio são muito numerosos nas folhas de *Citrus sinensis*, ocorrendo nas camadas subepidérmicas, sendo muitas vezes encontradas nas camadas epidérmicas, empurradas pelo crescimento das células do mesófilo. Citaram ainda que tais células são maiores e mais freqüentes nas células do parênquima paliçádico do que no lacunoso.

REED & DUFRENÓY (1935) comentaram a ocorrência de numerosos cristais de oxalato de cálcio na endoderme das folhas de *Citrus* constatando que estes são geralmente grandes quando comparados ao tamanho das células que os contêm.

SCOTT & BAKER (1947), observaram que os idioblastos são extremamente abundantes nas folhas da laranjeira 'Navel', ocorrendo em média 350 a 900 idioblastos por mm^2 , estando limitados a uma certa distância por glândulas de óleo e câmaras subestomáticas.

SCOTT *et alii* (1948) citaram que estes cristais são encontrados em grande número nas folhas jovens de laranjeira 'Valência', ocorrendo nas regiões subepidérmicas e enfatizaram que o cristal é envolvido por uma bainha de celulose e suspenso no centro da célula por tiras protoplasmáticas.

ERICKSON (1968) observou que cristais de oxalato de cálcio ocorrem abundantemente em células grandes no tecido paliçádico, no parênquima lacunoso e na endoderme das folhas das plantas cítricas e, que além desses idioblas-

tos, são visíveis nas folhas jovens cristais de hesperidina, flavonóide que se precipita na forma de rãfides quando os tecidos são tratados com álcool.

3.4 - Estômatos

O número, tamanho e estrutura dos estômatos das folhas de *Citrus* tem sido investigados por vários pesquisadores.

MCLEAN (1921) notou diferenças no desenvolvimento de cutícula estomatal, caracterizando que esta, nas folhas de *Citrus sinensis*, é bem desenvolvida externamente em contraste com uma delicada cutícula interna, quando o estômato é visto em secção transversal.

HIRANO (1931) em seu estudo sobre o número de estômatos menciona que a média encontrada para laranja 'Navel' e laranja 'Valência' foi de 458 e 504 estômatos por mm^2 , respectivamente.

WEBBER & FAWCETT (1935) descreveram o estômato das folhas de *Citrus sinensis*, como uma estrutura de forma circular quando vista em secção paradermal, sendo o seu diâmetro médio entre 13 a 16 μm .

TURREL (1947) mencionou que o tamanho dos estômatos é variável entre os cultivares da espécie *Citrus sinensis*. A média do comprimento e largura do poro estomatal determinada pelo autor para 'Eureka Lemon' foi de 7.04 por 9.08 μm ; para laranja 'Navel' foi de 4.78 por 2.32 μm e

para laranja 'Valência' foi de 8.91 por 3.80 μm .

SCOTT & BAKER (1947) definiram o estômato de laranja 'Navel' como sendo de contorno elíptico e formato reniforme. As células guardas de um estômato jovem apresentaram-se cobertas por cutina externamente e, à medida que o estômato amadurece, a cutinização se estende através da parede tangencial interna e das paredes que limitam a câmara estomática.

Segundo SCOTT *et alii* (1948), durante o desenvolvimento estomatal das folhas de laranja 'Valência', a célula-mãe se distingue inicialmente por seu contorno isodiamétrico e protoplasto denso. Quando ocorre a divisão celular as células filhas assumem o contorno característico das células guardas, sendo que o espessamento e cutinização ao longo das paredes em divisão limita a posição do futuro estômato. Ao mesmo tempo, as células circunvizinhas sofrem divisões nas paredes paralelas à circunferência das células guardas e irão se diferenciar nas células acessórias.

MONSELISE (1951) encontrou que folhas de laranja 'Shamouti' expostas ao sol, apresentaram em média 531 estômatos por mm^2 , em contraste com as folhas de sombra, que tinham em média 412 estômatos por mm^2 . Com base nestes dados o autor concluiu que a luz, provavelmente, exerce uma grande influência sobre o número de estômatos por unidade de superfície foliar.

ERICKSON (1968) discutindo a densidade de estômatos nas folhas de *Citrus*, demonstrou que podem ocorrer

variações até mesmo entre cultivares de uma mesma espécie. Como exemplo da espécie *Citrus sinensis*, ele citou laranja 'Navel' com uma média de 500 estômatos por mm^2 , em contraste com laranja 'Valência' com uma média de 465 estômatos por mm^2 . O autor discutiu, ainda, que a densidade de estômatos pode variar até mesmo em um único cultivar se este for plantado em locais diferentes. Segundo ERICKSON (l.c.) estas variações são devidas a condições ambientais, sendo o número de estômatos maior em plantas localizadas em ambientes quentes.

SCHNEIDER (1968) observou que a estrutura dos estômatos consiste de um poro e duas células guardas, que em seção paradermal têm formato reniforme, e que a câmara subestomatal resulta de células do mesófilo arranjadas frouxamente com grandes espaços intercelulares.

STINO *et alii* (1974) investigaram a densidade de estômatos nas folhas de laranjeira 'Valência', 'Shamouti' e 'Navel' em relação a zona de plantio em quatro localidades diferentes, e constataram que o maior número de estômatos por mm^2 foi encontrado nas folhas dos cultivares plantados em solo seco e baixa umidade atmosférica.

ABDALLA *et alii* (1978) estudaram as características anatômicas de alguns cultivares de *Citrus sinensis*. E descrevem as estruturas estomatais como aberturas estreitas, dispersas na camada epidérmica, principalmente, da superfície abaxial da lâmina foliar.

MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado neste estudo constou de folhas dos cultivares laranja 'Pera' e laranja 'Folha Murcha', cultivadas no setor de horticultura do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

A formação das copas dos referidos cultivares deu-se a partir de borbulhas provenientes de uma mesma planta matriz, de cada um dos cultivares. Em ambos os cultivares utilizou-se como porta-enxerto plantas de limão, *Citrus limonia* Osbeck cv. Cravo.

As plantas dos cultivares estudados eram sadias e vigorosas, com idade de quatro anos, recebendo durante este período os mesmos tratamentos culturais. Para se estudar o desenvolvimento foliar e acompanhar as suas diferenciações anatômicas, foram selecionadas folhas dos dois cultivares em três estádios de crescimento: folha jovem (15 mm de comprimento e 6 mm de largura); folha em expansão (65 mm de comprimento e 33 mm de largura); folha adulta com no mínimo 100 mm de comprimento e 65 mm de largura).

Em cada um desses estádios, as folhas coletadas eram provenientes de ramos apicais de cinco indivíduos de cada um dos cultivares, escolhidos ao acaso no pomar. Após a coleta, as folhas eram cortadas nas regiões do ápice, terço médio, base e bordo da lâmina e o pecíolo cortado nas

regiões apical, mediana e basal. Em cada uma destas regiões, foram feitas observações histológicas tanto em material fresco, quanto em material fixado. Para observação de material fresco foram feitas coletas sempre que necessário, enquanto que para o material fixado foram coletadas 10 folhas em cada um dos estádios de crescimento.

Para o preparo de lâminas permanentes, o material foi fixado em F.P.A. sendo em seguida submetido a desidratação pela série alcoólica e incluído em parafina, de acordo com as técnicas usuais em microtomia (JOHANSEN, 1940). De cada uma das regiões das folhas, nos três estádios de crescimento, foram feitos 100 cortes transversais em série, com 10 micrometros de espessura obtidos através do micrótomo rotativo Spencer. Após a desparafinização, o material foi corado com safranina e verde-rápido e montado em bálsamo do Canadá. As observações anatômicas foram feitas com microscópio Zeiss, equipado com disco micrométrico, o qual foi aferido com auxílio da lâmina micrométrica.

Além das observações histológicas usuais, os cortes transversais permanentes foram ainda utilizados na contagem de células epidérmicas das faces superior e inferior das folhas de laranja 'Pera' e laranja 'Folha Murcha'. Para uniformizar as determinações numéricas, foi limitada uma porção da epiderme, com auxílio do disco micrométrico, equivalente a 157 μm , onde foram contadas as células epidérmicas das folhas nos três estádios de crescimento, nas regiões do ápice, terço médio, base e bordo. A média do número de células foi obtida através de dez repetições, utili-

zando-se, para cada uma das contagens, cortes provenientes de cinco folhas de cada um dos cultivares, nos três estádios de crescimento. As médias do número de células epidérmicas foram analisadas estatisticamente pelo teste "t" (GOMES, 1970).

A média do número de estômatos e análise das demais células epidérmicas em vista frontal, foi feita após a separação das epidermes pela mistura de Jeffrey (JOHANSEN, 1940) em material fresco. A seguir, o material foi lavado em água destilada, colorido com safranina hidroalcoólica e montado em glicerina.

O índice estomático foi obtido através de cinco amostras da epiderme abaxial, provenientes de folhas diferentes. Em cada uma das amostras foram examinados dois campos ao acaso, totalizando dez contagens para cada um dos cultivares. Neste estudo utilizou-se microscópio binocular Zeiss, auxiliado por câmara clara, e através da objetiva de 40 X, e com uma lâmina micrométrica foi traçado, em folha de papel, um quadrado de área equivalente a $0,0483 \text{ mm}^2$. A seguir, assinalou-se nesta área os estômatos das amostras das epidermes. Após a contagem do número de estômatos, os dados foram extrapolados, para se obter a densidade de estômatos por mm^2 .

Para a identificação da natureza química das paredes celulares e do conteúdo de algumas células, foram realizados os seguintes testes microquímicos: reação da floroglucina clorídrica para a identificação de lignina

(RAWLINS & TAKAHASHI, 1952); Sudan IV para cutina e gotículas lipídicas (JOHANSEN, 1940); lugol para amido (BUCHERL, 1962). A identificação dos cristais de oxalato de cálcio foi feita pela dissolução em ácido clorídrico e a formação de agulhas de sulfato de cálcio pelo emprego de ácido sulfúrico (CHAMBERLAIN, 1938).

RESULTADOS

a. *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. cv. Folha Murcha

a.1 - Ápice

O ápice das folhas nos três estádios de crescimento se caracteriza pela ausência de uma nervura mediana saliente, se constituindo apenas de pequenas nervuras dispersas no mesófilo. Caracteriza-se ainda, pela presença de duas glândulas de óleo proeminentes em cada uma das extremidades.

No ápice das folhas jovens, as células epidérmicas possuem paredes finas. Vistas em corte transversal, as células epidérmicas adaxiais têm contorno retangular, sendo as paredes anticlinais mais longas do que as periclinais, enquanto que as células epidérmicas abaxiais são mais irregulares na forma e menores que as adaxiais e além disso possuem estômatos (Fig. 1). O número de células epidérmicas difere entre a epiderme abaxial e adaxial, havendo maior número na face abaxial, como mostra a Tabela 1.

Com relação ao mesófilo do ápice das folhas jovens, o tecido paliçádico é constituído por duas camadas de células, cujo tamanho médio é de 6 μm de largura por 16 μm de comprimento. Embora o paliçádico neste estágio ainda apresente as células muito curtas, já é possível notar seu aspecto característico. O parênquima lacunoso por outro

TABELA 1 - Teste "t" entre as médias do número de células epidérmicas da folha do cultivar Folha Murcha.

Estádios de crescimento	Epidermes	Regiões da Folha					Bordo
		Ápice	Terço Médio mesófilo nervura	Base mesófilo nervura			
Folha jovem	abaxial	17.3	17.6	20.9	26.6	19.3	15.1
	adaxial	** 13.4	** 14.1	** 16.2	** 23.9	** 19.8	** 15.0
Folha em expansão	abaxial	13.6	14.9	19.4	14.6	13.3	13.0
	adaxial	12.8	** 11.5	** 12.5	** 12.5	** 10.6	** 12.4
Folha adulta	abaxial	12.3	12.5	19.0	13.0	11.3	12.6
	adaxial	** 10.5	** 9.1	** 12.4	** 11.0	** 10.0	** 11.3

** - diferença significativa ($p < 0,01$)

lado está pouco diferenciado, onde a maioria das suas células estão arranjadas compactamente, sem espaços intercelulares, ficando estes restritos apenas a região central do tecido (Fig. 1). Grande quantidade de idioblastos de oxalato de cálcio (Fig. 1) ocorre na primeira camada do tecido paliçádico, não sendo contudo encontrados no tecido lacunoso.

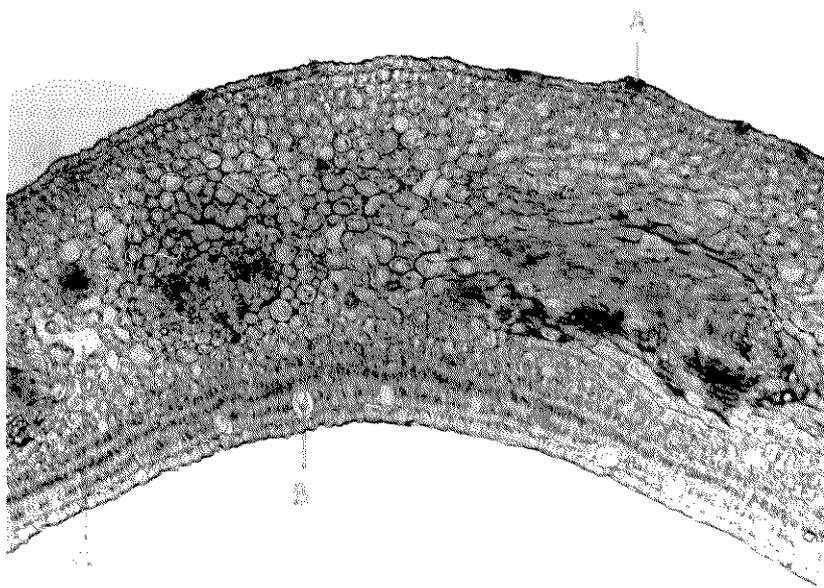


FIGURA 1 - Corte transversal do ápice foliar jovem do cultivar Folha Murcha. A - estômato; B - idioblasto de oxalato de cálcio; C - espaço intercelular. (40 X)

No ápice das folhas em expansão observa-se um maior espessamento das camadas cuticulares das células epidérmicas, como também o aumento na largura destas células sendo, conseqüentemente, o número de células epidérmicas menor do que nas folhas jovens. E na Tabela 1 verifica-se que no

ápice da folha em expansão a diferença entre as médias do número de células epidérmicas abaxiais e adaxiais não é significativa.

No mesófilo, as modificações mais evidentes foram a alongação das células do parênquima paliçádico, cujo comprimento médio é de 35 μm . Entretanto, a largura destas células é semelhante a das encontradas nas folhas jovens. O paliçádico neste estágio já está mais diferenciado e, é constituído por duas a três camadas de células como demonstra a Figura 2.

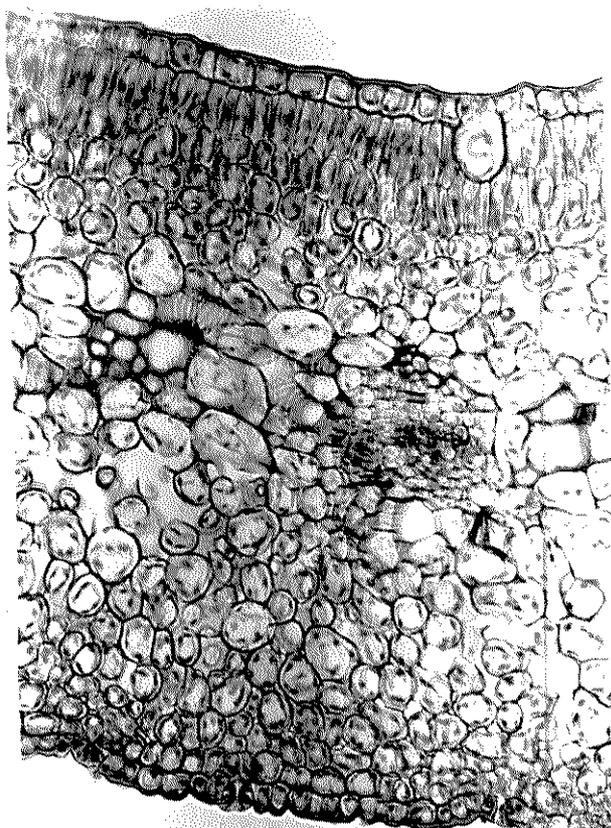


FIGURA 2 - Corte transversal do ápice foliar em expansão do cultivar Folha Murcha. A - parênquima paliçádico; B - parênquima lacunoso; C - cristal de oxalato de cálcio. (82 X)

O parênquima lacunoso também está diferenciado; com as suas células arranjadas frouxamente, separadas por grandes espaços intercelulares (Fig. 2).

As nervuras apesar de serem maiores do que as que ocorrem no mesófilo do ápice da folha jovem, são em sua maioria constituídas apenas por traqueídeos (Fig. 3).



FIGURA 3 - Corte transversal do ápice foliar em expansão do cultivar Folha Murcha. A - nervura secundária; B - glândula de óleo; C - cristal de oxalato de cálcio. (16 X)

Na folha adulta, as células epidérmicas adaxiais vistas em corte transversal, têm um contorno retangular e, as paredes periclinais externas estão revestidas por uma cutícula espessa. Este espessamento é também visível nas partes externas das paredes anticlinais. Tais células, com 16 μm de altura por 13 μm de largura, são maiores

que as células epidérmicas abaxiais. Estas têm um formato muito variado, e suas paredes externas também se apresentam espessadas. As células abaxiais por serem mais estreitas, ocorrem em maior número do que as adaxiais, das quais diferem significativamente.

No mesófilo da folha adulta (Fig. 4), o paliçádico é constituído por três camadas de células, sendo

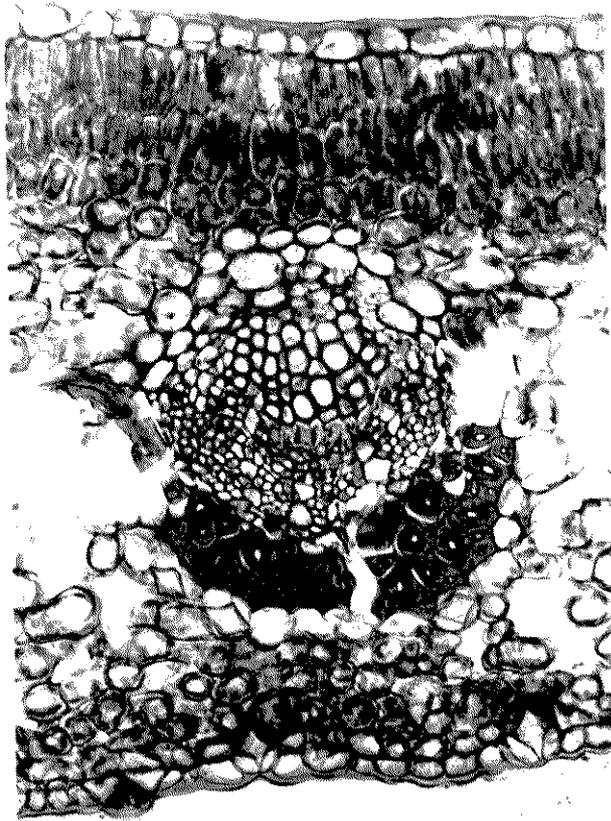


FIGURA 4 - Corte transversal do ápice adulto do cultivar Folha Murcha, focalizando o paliçádico de três camadas de células e um parênquima lacunoso frouxo no qual se observa uma nervura secundária. A - fibras. (102 X)

as duas primeiras mais densamente arranjadas, de comprimento idêntico ao das células da folha em expansão. A última camada possui células mais curtas (19 μ m), mais frouxamente arranjadas e com pequenos meatos. O parênquima lacunoso, com lacunas maiores do que na folha em expansão, ocupa a maior parte do mesófilo. Imersas no mesófilo ocorrem nervuras de pequeno porte que na folha adulta são formadas por traqueídeos e elementos floemáticos, circundados por fibras (Fig. 4).

a.2 - Terço médio

Em corte transversal, o terço médio da folha jovem apresenta a epiderme adaxial, que cobre o mesófilo, com células de forma retangular, sendo as paredes periclinais mais curtas do que as anticlinais; de modo geral, as paredes são retas e sem espessamento. Estas células epidérmicas, quando comparadas com as do parênquima paliçádico, são largas, uma vez que uma célula epidérmica recobre duas células do paliçádico, como pode ser visto na Figura 5. As células da epiderme abaxial, que encobrem o mesófilo, são bem menores que as da epiderme adaxial, e de forma mais irregular, sendo também de paredes finas (Fig. 5). Na nervura as células epidérmicas de ambas as faces são menores que as do mesófilo e tem formato arredondado. Tanto na região do mesófilo, quanto na região da nervura, as células epidérmicas adaxiais por serem mais largas, ocorrem em menor número do que as abaxiais, das quais se

diferem significativamente (Tabela 1).

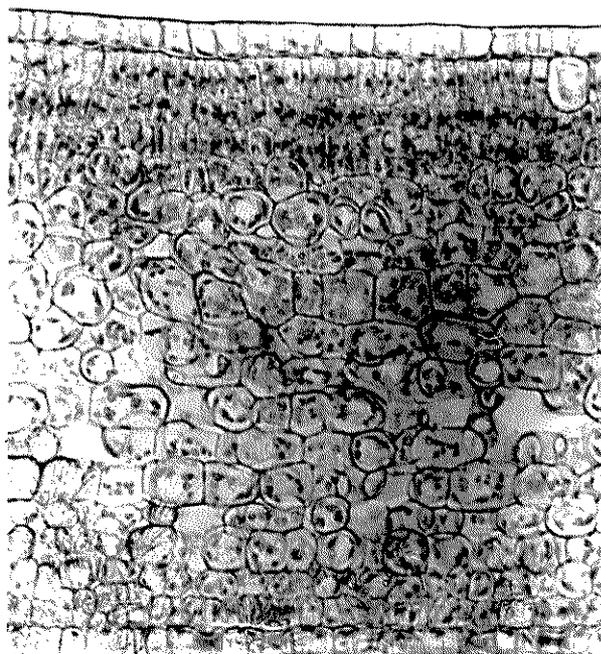


FIGURA 5 - Corte transversal do mesófilo jovem do cultivar Folha Murcha na região do terço médio. A - epiderme adaxial; B - parênquima paliçádico em início de diferenciação; C - epiderme abaxial.

(102 X)

Nas células epidérmicas das folhas jovens, tratadas em álcool ou xilol, evidencia-se grande quantidade de hesperidina precipitada na forma de cristais de rãfide (Fig. 6), sendo ainda encontrada nos demais tecidos da folha.

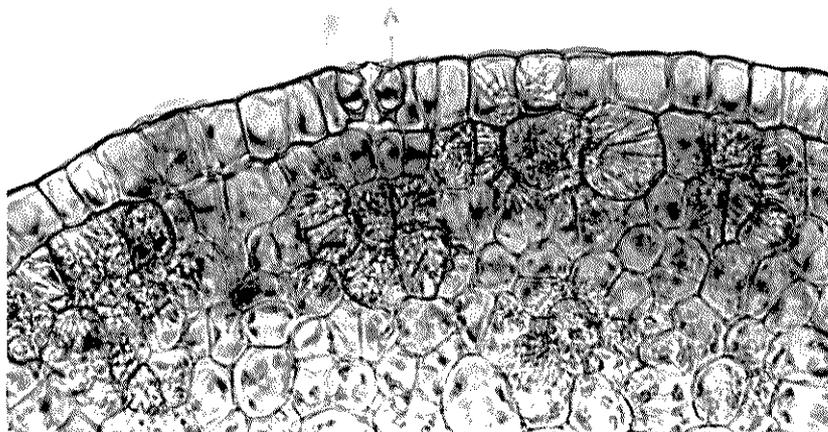


FIGURA 6 - Corte transversal da nervura principal de uma folha jovem do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio, evidenciando: A - epiderme adaxial com estômato; B - cristais de hesperidina. (160 X)

O mesófilo da região do terço médio da folha jovem é mostrado na figura 5 onde se nota, que este em início de diferenciação, apresenta um paliçádico de três camadas, cujas células medem, em média, 6 μm de largura por 16 μm de altura. O lacunoso é menos diferenciado e apresenta células de forma e tamanho muito variados com pequenas lacunas entre elas. Nestes tecidos, os cloroplastos se dispõem parietalmente, sendo mais abundantes nas células do parênquima paliçádico. Entremeados nas células do parênquima paliçádico ocorrem cristais de oxalato de cálcio em grandes idioblastos. Glândulas de óleo ocorrem nos teci

dos do mesófilo e da nervura principal.

A estrutura da nervura em corte transversal, pode ser vista na Figura 7. O tecido vascular é envolvido por células parenquimáticas, sendo que as células voltadas para a epiderme adaxial são semelhantes às do tecido paliçádico. Subjacente a este tecido ocorrem três camadas

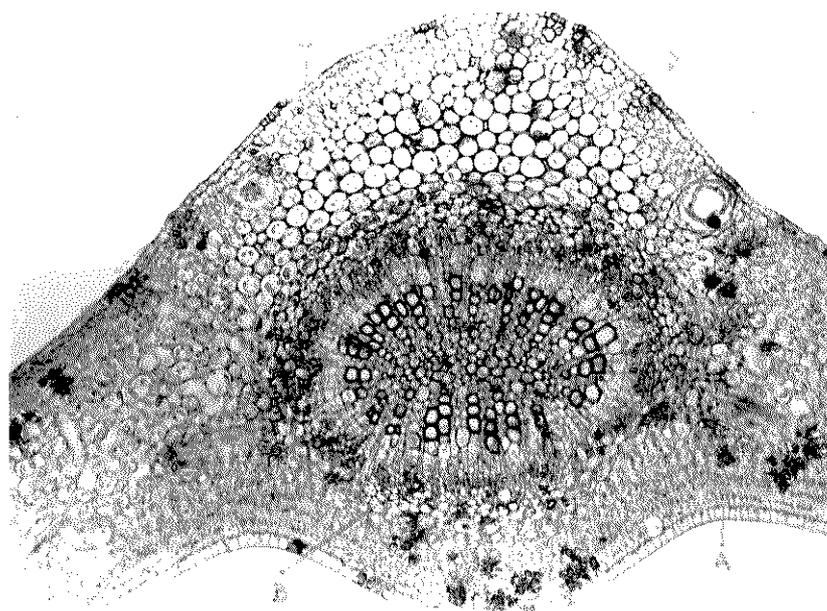


FIGURA 7 - Corte transversal da nervura principal de uma folha jovem do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio. A - epiderme adaxial; B - células parenquimáticas ricas em amido; C - epiderme abaxial; D - células parenquimáticas com paredes ligeiramente espessadas. (33 X)

de células de forma arredondada e ricas em amido. As células parenquimáticas sob a epiderme abaxial, têm contorno

arredondado e a medida que se aproximam da região mais central, tornam-se maiores e de paredes mais espessadas, arrandas regularmente, tendo meatos entre si. As células parenquimáticas localizadas próximas ao floema são menores e, a semelhança das células que contornam o floema voltado para a epiderme adaxial, são ricas em amido. Os tecidos floemáticos circundam o xilema e, na folha jovem entre estes tecidos ocorrem células procambiais. Os vasos xilemáticos, em maior número quando voltados para a epiderme abaxial, começam a ser separados dos voltados para a epiderme adaxial por células parenquimáticas de contorno arredondado e paredes finas.

Na folha em expansão as células epidérmicas apresentam-se levemente espessadas. As células epidérmicas do mesófilo ocorrem em menor número que nas folhas jovens, o mesmo ocorrendo nas células da região da nervura. Na Tabela 1 verifica-se que as médias do número de células epidérmicas, de ambas as faces, diferem significativamente.

Na Figura 8, observa-se o mesófilo já totalmente diferenciado, e as células do tecido paliçádico, do mesmo modo que nas folhas jovens, dispõem-se em três camadas. Estas células não sofreram alteração na largura, porém apresentam-se mais longas, com comprimento médio igual a 35 μm . As células do lacunoso arranjam-se mais frouxamente, sendo mais ramificadas e apresentando grandes lacunas. Os idioblastos de oxalato começam a ser empurrados para a camada epidérmica.

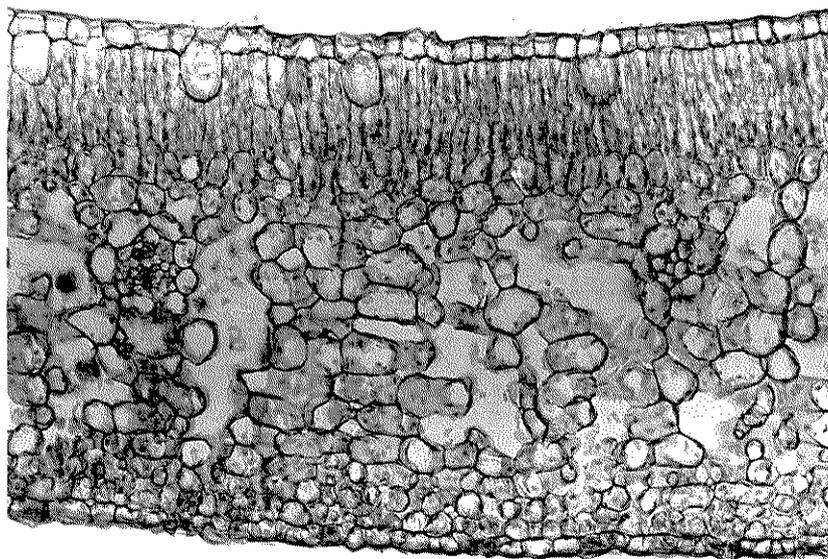


FIGURA 8 - Corte transversal do mesófilo da folha em expansão do cultivar Folha Murcha, na região do terço médio. A - tecido paliçádico; B - lacunas do parênquima lacunoso; C - idioblastos de oxalato de cálcio. (64 X)

O aspecto geral da nervura é mostrado na Figura 9, onde se nota que o cilindro vascular adquiriu forma mais ovalada. Detalhes dos feixes condutores podem ser observados na Figura 10, onde estão bem evidenciadas as células do procâmbio entre o floema e o xilema, como também a separação dos tecidos vasculares por células do parênquima em duas porções é bem nítida. Neste estágio como nas folhas jovens, o maior número de vasos xilemáticos está voltado para a epiderme abaxial.

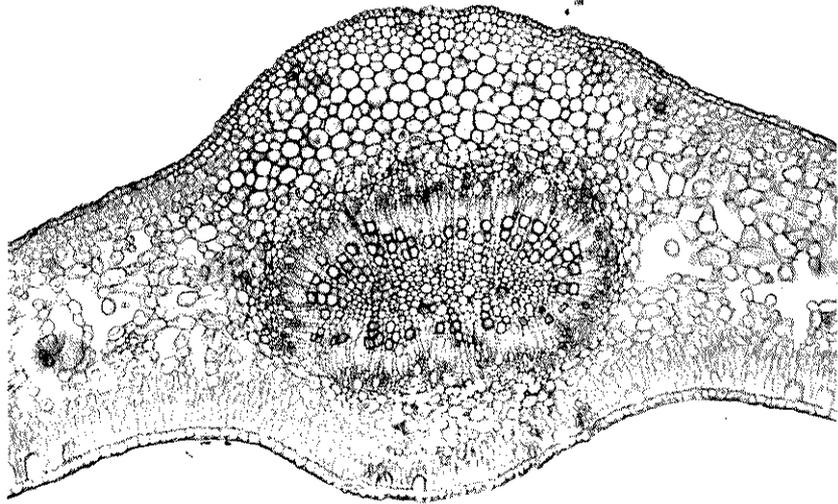


FIGURA 9 - Corte transversal da nervura principal de uma folha em expansão do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio onde se observa o cilindro vascular de forma ovalada. (25 X)

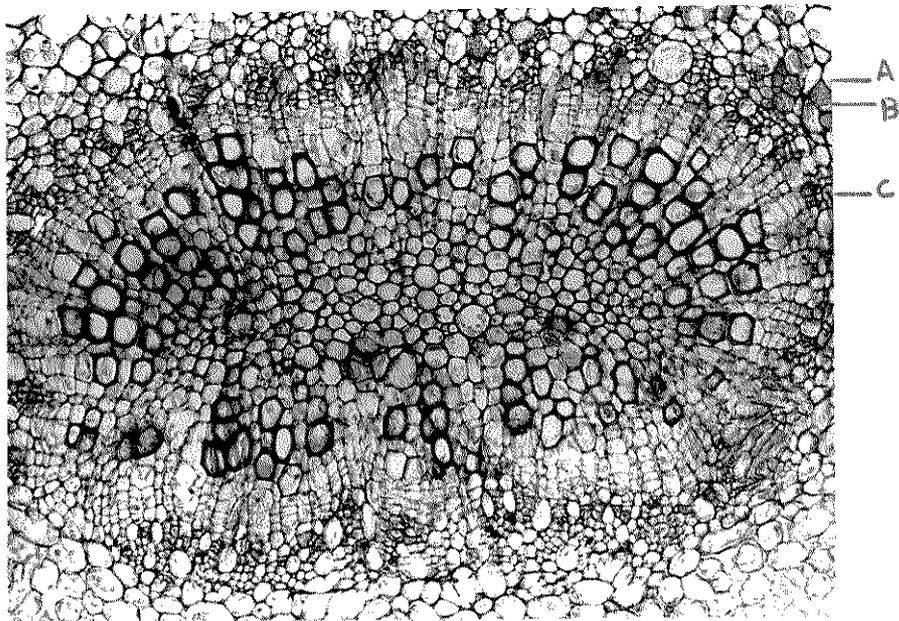


FIGURA 10 - Corte transversal da nervura principal de uma folha em expansão do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio. A - floema; B - procâmbio; C - xilema; D - células de parênquima que separam os tecidos vasculares em duas porções. (64 X)

Na Figura 11, observa-se, ainda na nervura principal, as células parenquimáticas que envolvem o tecido vascular que apresentam aumento de espessamento das suas paredes, arranjo bem regular e meatos, que não são encontrados entre as células parenquimáticas que limitam o floema.

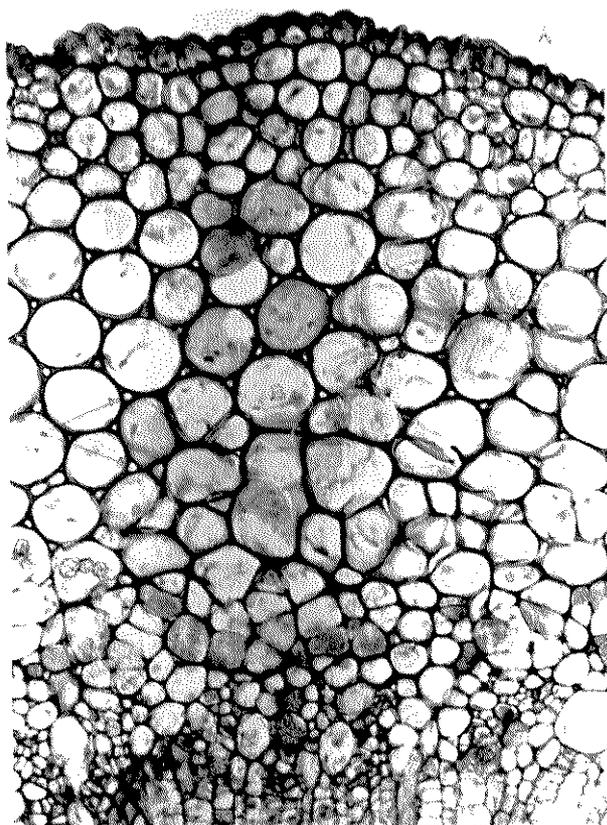


FIGURA 11 - Corte transversal da nervura principal de uma folha em expansão do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio. A - epiderme abaxial; B - células de parênquima que circundam os tecidos vasculares; C - meatos; D - floema. (102 X)

Na folha adulta, observa-se que as células epidérmicas apresentam as paredes periclinais externas bem cutinizadas e que esta cutinização, se estende ao longo das paredes radiais (Fig. 12). E, semelhante aos demais estádios de crescimento, as células epidérmicas que recobrem o mesófilo, vistas em corte transversal, são maiores e arranjadas mais regularmente na face adaxial do que na abaxial (Fig. 13). As células epidérmicas das duas faces são menores quando dispostas sobre a nervura mediana.

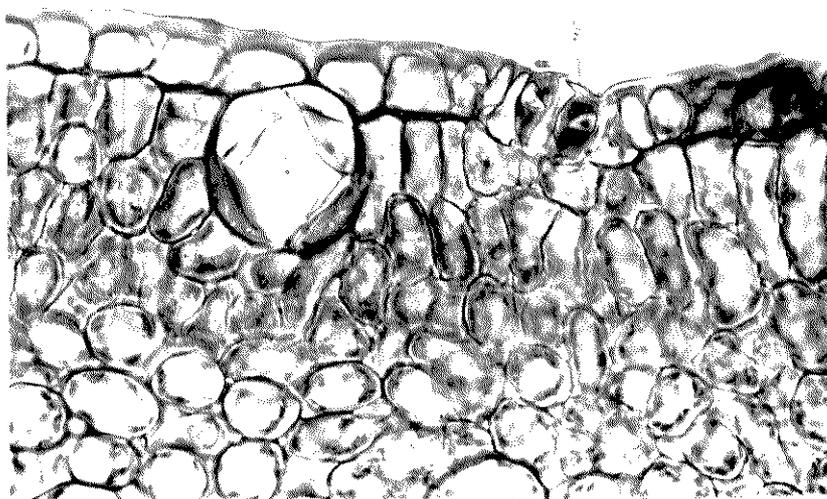


FIGURA 12 - Corte transversal da nervura principal de uma folha adulta do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio, focalizando as células epidérmicas adaxiais com uma cutícula bem espessa (A); estômato (B); cristal de oxalato de cálcio (C); parênquima paliçádico (D). (160 X)

Verifica-se que tanto na região do mesófi-

lo, quanto na região da nervura principal, as células epidérmicas abaxiais por serem mais estreitas do que as adaxiais, são mais numerosas. Sendo que as médias encontradas para as duas faces diferem significativamente, em ambas as regiões (Tabela 1).

O mesófilo da folha adulta distingue do da folha em expansão, por apresentar lacunas maiores entre as células do parênquima lacunoso, e pela presença de fibras de esclerênquima que envolvem o floema nas nervuras laterais de maior porte (Fig. 13).

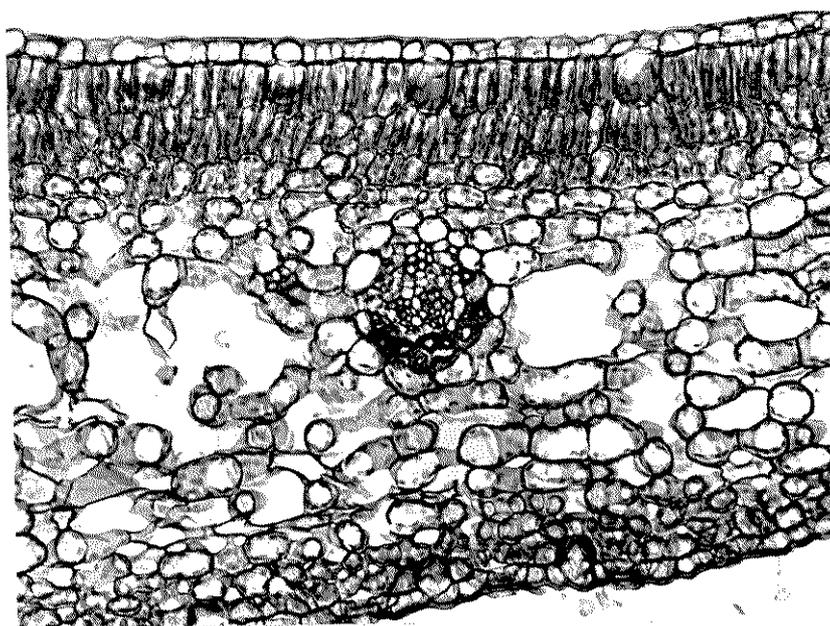


FIGURA 13 - Corte transversal do mesófilo adulto do cultivar Folha Murcha, na região do terço médio. A - epiderme adaxial; B - epiderme abaxial; C - lacunas; D - fibras. (64 X)

Na nervura principal, as modificações mais evidentes observadas foram: aparecimento de colênquima abaixo da epiderme abaxial (Fig. 14), presença de fibras na região pericíclica, as quais foram encontradas em maior abundância no floema abaxial (Fig. 15), e ainda a separação mais

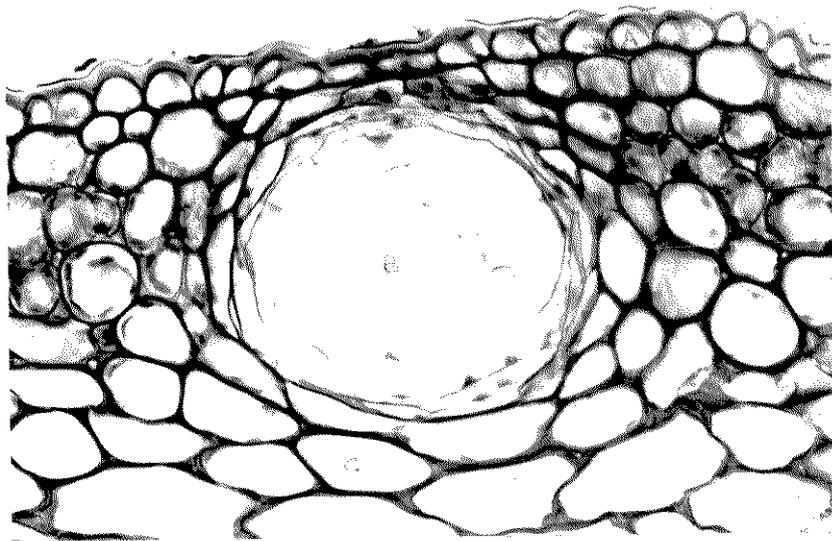


FIGURA 14 - Corte transversal da nervura principal de uma folha adulta do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio, detalhando: A - epiderme abaxial; B - glândula de óleo; C - células do colênquima. (160 X)

nítida do tecido vascular em duas porções, por células de parênquima, estando a porção maior voltada para a epiderme abaxial (Fig. 15).

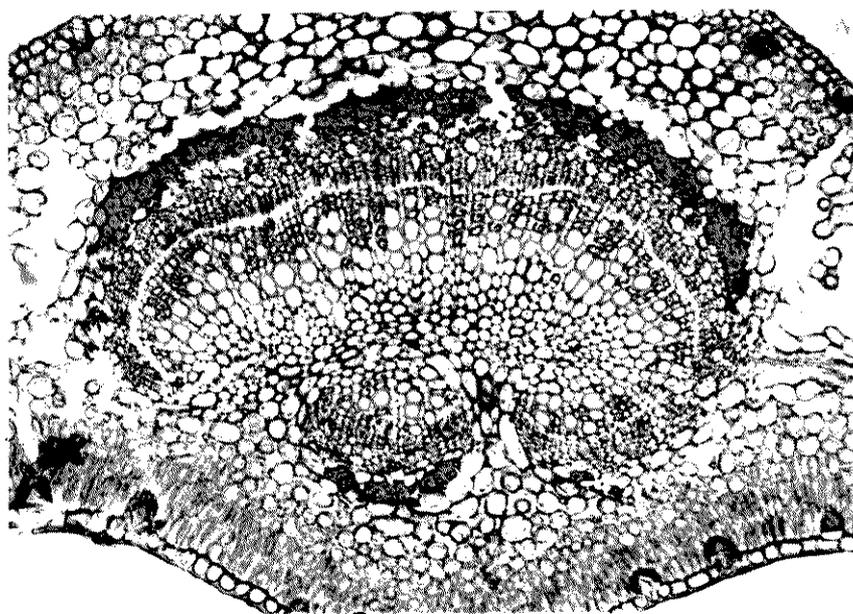


FIGURA 15 - Corte transversal da nervura principal de uma folha adulta do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio. A - fibras pericíclicas; B - células de parênquima que separam o tecido vascular. (40 X)

Detalhes estruturais da bainha amilácea, fibras pericíclicas, floema e xilema são mostrados na figura 16. Como nos demais estádios de crescimento, na nervura da folha adulta, abaixo da epiderme abaxial, ocorrem células de tecido paliçádico (Fig. 12), as quais são mais curtas e largas do que as da região do mesófilo, ocorrendo em duas ou três camadas. Subjacentes a estas encontram-se células de parênquima de forma arredondada, que limitam o tecido vascular.

sas na face abaxial, diferindo significativamente da média do número de células epidérmicas adaxiais (Tabela 1).

Com relação ao mesófilo, este se apresenta semelhante ao do terço médio, sendo constituído por um paliçádico de três camadas de células e um parênquima lacunoso com células ainda pouco ramificadas (Fig. 17). Cristais de hesperidina são muito frequentes nos tecidos do mesófilo (Fig. 17) e da nervura principal, inclusive dentro das

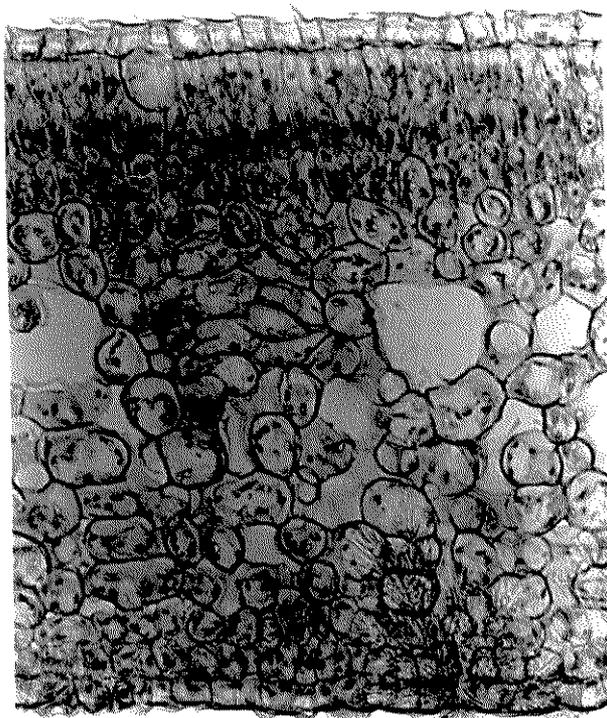


FIGURA 17 - Corte transversal da base foliar jovem do cultivar Folha Murcha, na região do mesófilo, vendo-se as células do tecido paliçádico e do tecido lacunoso. A - cristais de hesperidina. (102 X)

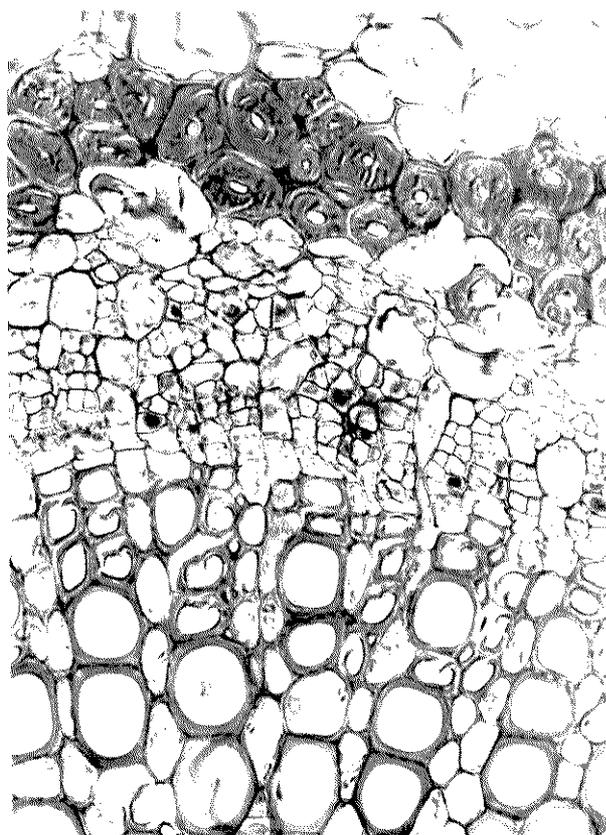


FIGURA 16 - Corte transversal da nervura principal de uma folha adulta do cultivar Folha Murcha, feito na região do terço médio detalhando: A - bainha amilácea; B - fibras pericíclicas; C - floema; D - xilema. (160 X)

a.3 - Base

A epiderme da folha jovem na região da base, distingue-se da do terço médio, principalmente pela largura das células. Entretanto, semelhante ao que ocorre no terço médio, as células epidérmicas na base são mais numero-

células do tecido condutor (Fig. 18).

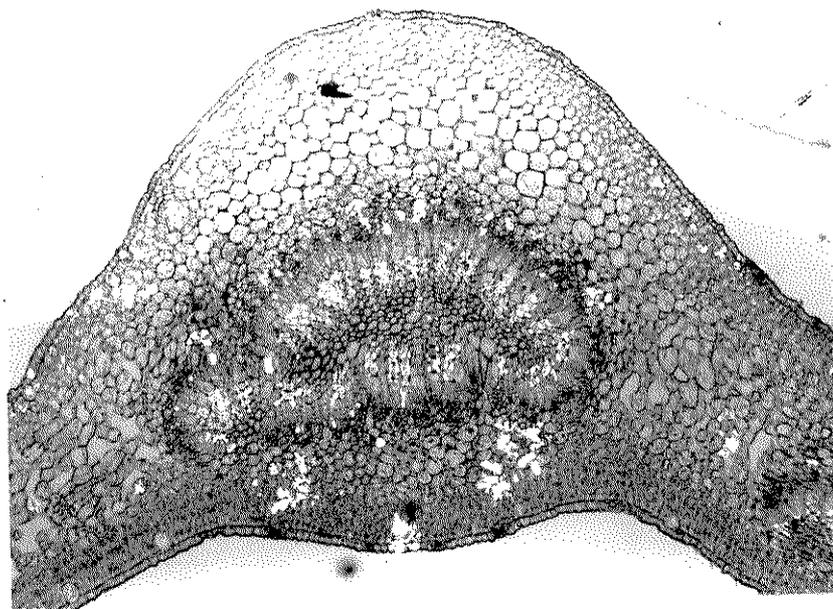


FIGURA 18 - Corte transversal da base foliar jovem do cultivar Folha Murcha, na região da nervura principal, vendo-se cristais de hesperidina, evidenciados por luz polarizada. (25 X)

Cristais de oxalato de cálcio, do mesmo modo que nas demais regiões da folha jovem, ocorrem, principalmente subjacentes a epiderme superior.

O tecido vascular na base, tem forma plano-convexa, sendo que a parte convexa está voltada para a epiderme abaxial, onde se dispõe o maior número de vasos xilemáticos (Fig. 19). O floema distribui-se uniformemente em ambos os lados circundando externamente o xilema. A medula é bastante estreita, sendo formada por células parenqui

máticas, de forma arredondada, que se apresentam menores e de paredes mais espessas na região periférica. O tecido condutor é totalmente circundado por células de parênquima. Abaixo da epiderme adaxial, as células de parênquima que são semelhantes às células do tecido paliçádico ocorrem em três camadas. Próximas ao floema adaxial, as células parenquimáticas adquirem forma arredondada semelhante as células do parênquima situado no lado oposto, diferindo apenas por serem menores e de paredes mais finas.

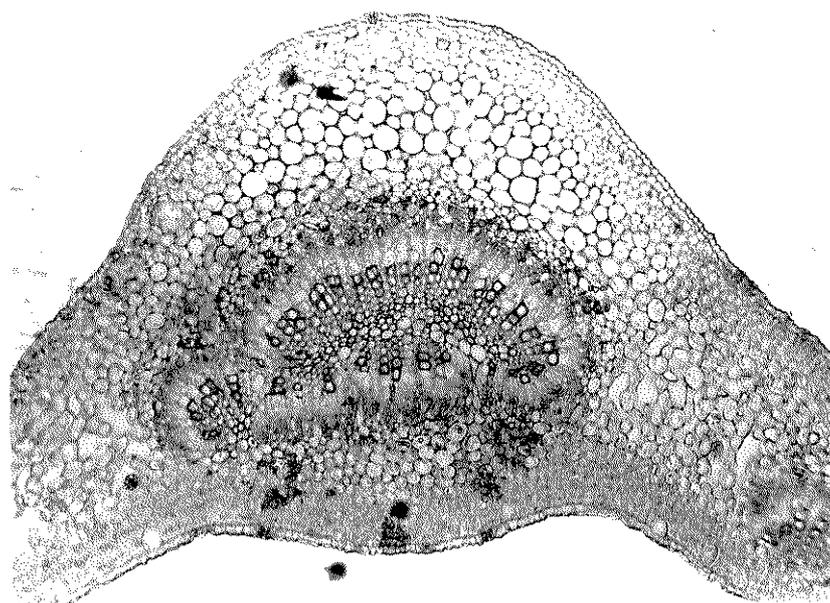


FIGURA 19 - Corte transversal da base foliar jovem do cultivar Folha Murcha, na região da nervura principal, onde se observa a forma plano-convexa do tecido vascular. (25 X)

Na base da folha em expansão, as células da epiderme abaxial ocorrem em número significativamente maior do que as da epiderme adaxial (Tabela 1). Semelhante

ao visto para as células epidérmicas da folha jovem, elas ocorrem em maior número no mesófilo do que na nervura. Cutina já se acha presente nas paredes externas.

A estrutura do mesófilo pode ser examinada na Figura 20; o arranjo de seus tecidos é muito semelhante ao descrito para o terço médio da folha em expansão (Fig. 8).

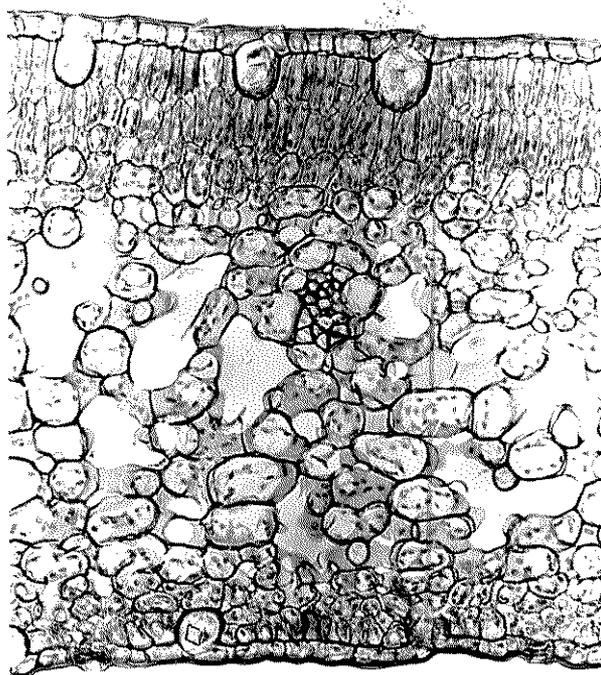


FIGURA 20 - Corte transversal da base foliar em expansão do cultivar Folha Murcha, na região do mesófilo. A - parênquima paliçádico; B - idioblasto de oxalato de cálcio; C - parênquima lacunoso. (64 X)

A nervura principal mais desenvolvida na folha em expansão, é facilmente distinta da da folha jovem,

devido ao maior espessamento das paredes do parênquima da região pericíclica e da região perimedular, bem como pela maior abundância dos elementos vasculares (Fig. 21).

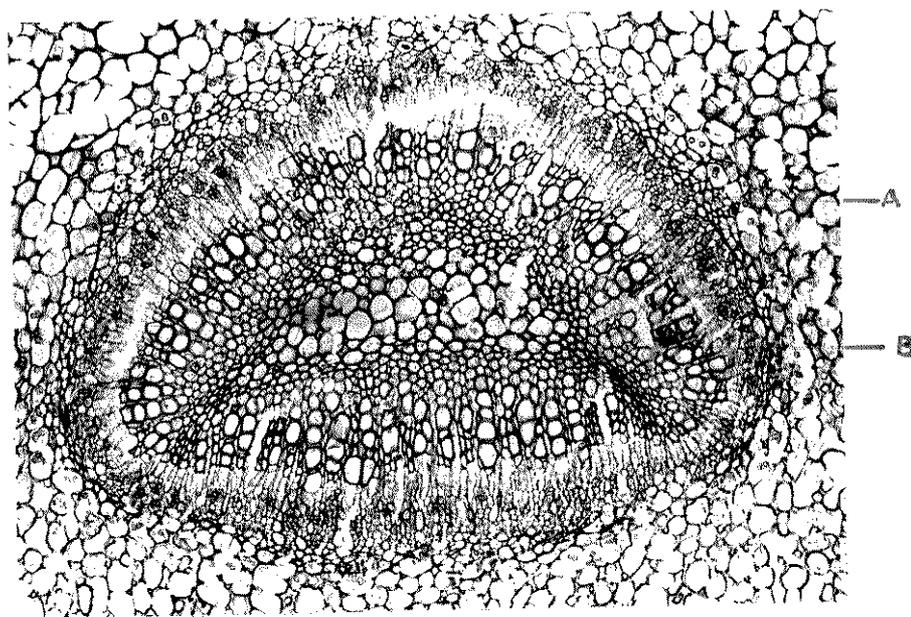


FIGURA 21 - Corte transversal da base foliar em expansão do cultivar Folha Murcha, na região da nervura principal, detalhando os elementos vasculares.
A - região pericíclica; B - região perimedular.
(33 X)

A base da folha adulta (Fig. 22) apresenta a epiderme e o mesófilo com características muito semelhantes às descritas para o terço médio (Fig. 13). Estas regiões divergem apenas na largura e, conseqüentemente, no número de células epidérmicas, como pode ser verificado na Tabela 1. As maiores diferenças são encontradas na região da nervura principal, que na base (Fig. 23), ao contrário do que ocorre no terço médio (Fig. 15), os tecidos vasculares

não se encontram dispostos em duas porções, mas dispostos em forma plano-convexa.

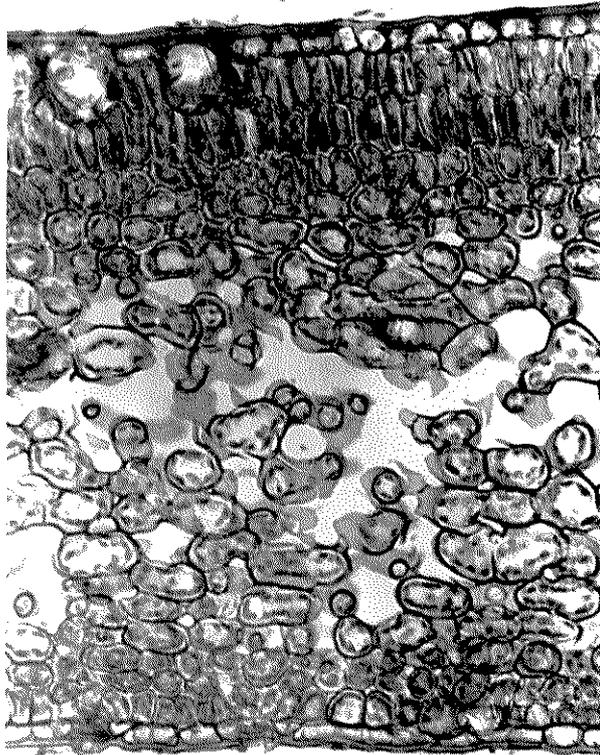


FIGURA 22 - Corte transversal da base foliar adulta do cultivar Folha Murcha, vendo-se as epidermes e o mesófilo. (82 X)

Além disso, na base abaixo da bainha amilácea, a região pericíclica é formada por células de parênquima colenquimatoso, enquanto que no terço médio esta região é preenchida por fibras de esclerênquima. A medula na base é circundada por células de parênquima colenquimatoso semelhante ao encontrado no periciclo, enquanto que a sua parte central é formada por células de parênquima de forma arredondada, paredes finas e bem maiores que as da região periférica, cujo conteúdo é rico em cristais (Fig. 24).

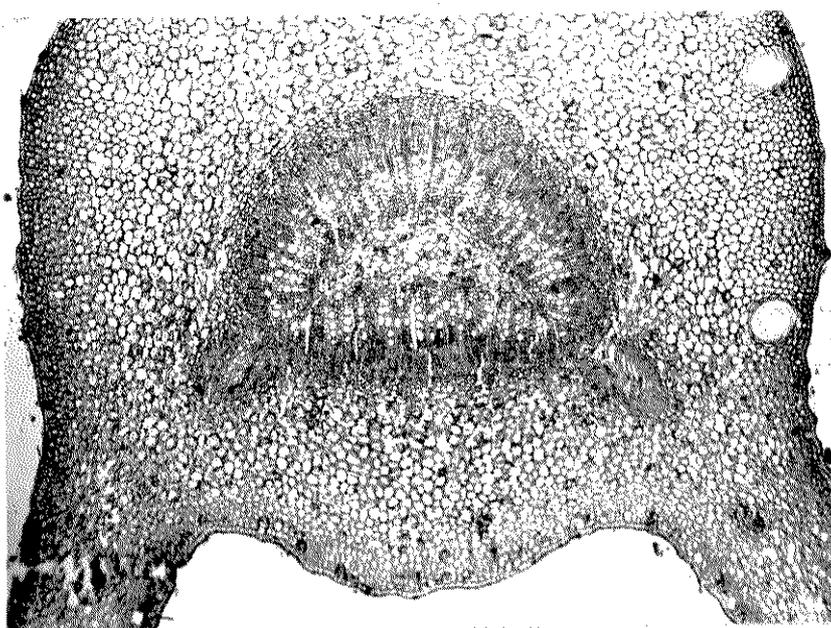


FIGURA 23 - Corte transversal da base foliar adulta do cultivar Folha Murcha, na região da nervura principal, onde se observa a disposição plano-convexa dos tecidos vasculares. (13 X)

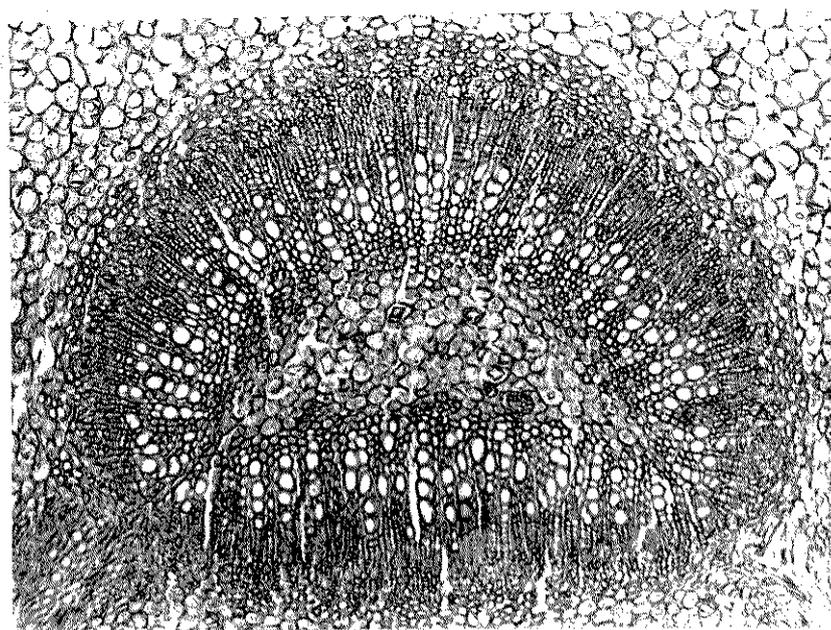


FIGURA 24 - Corte transversal da base foliar adulta do cultivar Folha Murcha, na região da nervura principal, focalizando o cilindro vascular. A - região pericíclica; B - região perimedular formada por células de parênquima colenquimatoso; C - Cristais. (25 X)

a.4 - Bordo

No bordo da folha jovem, as células epidérmicas, que são de tamanho semelhante em ambas as faces, são grandes em relação as células do mesófilo ainda não diferenciado, no qual é visível uma glândula de óleo em formação (Fig. 25).

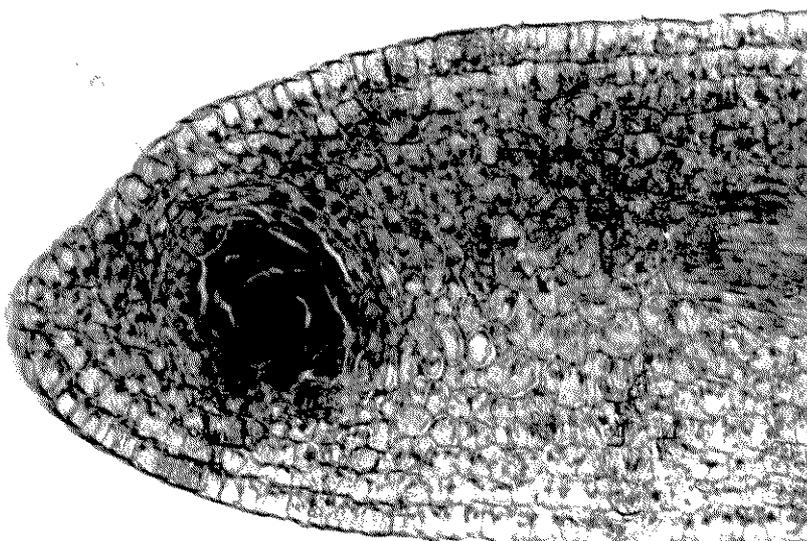


FIGURA 25 - Corte transversal do bordo foliar jovem do cultivar Folha Murcha, vendo-se o início da diferenciação de uma glândula de óleo (A). (102 X)

Na folha em expansão o bordo já está diferenciado, sendo as células do paliçádico mais curtas que as das demais regiões da folha (Fig. 26). Na folha adulta o parênquima paliçádico e lacunoso, a medida que se aproximam do bordo, são substituídos por um parênquima de enchimento, de paredes mais grossas (Fig. 27). Uma glândula de óleo

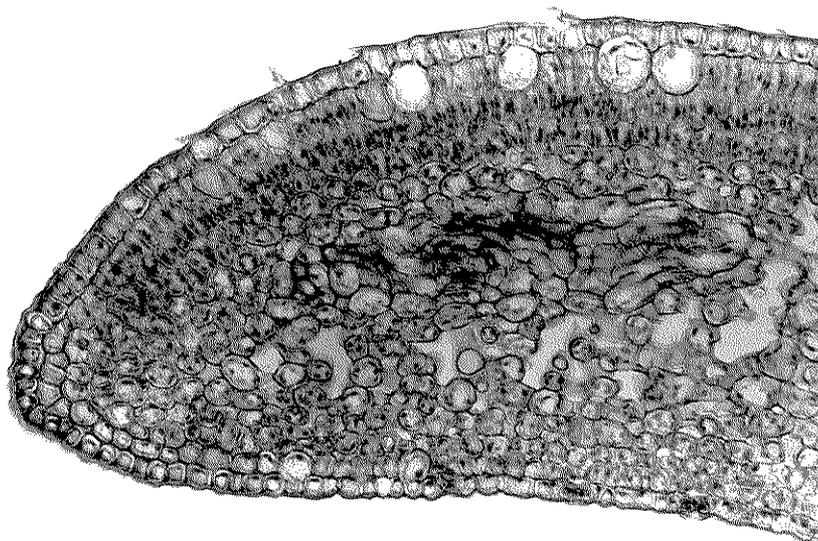


FIGURA 26 - Corte transversal do bordo foliar em expansão do cultivar Folha Murcha. A - paliçádico; B - cristais de oxalato de cálcio. (64 X)

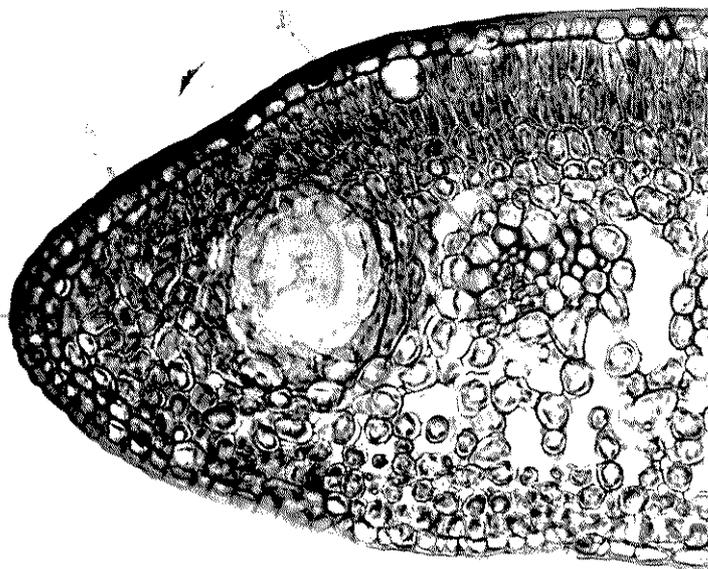


FIGURA 27 - Corte transversal do bordo foliar adulto do cultivar Folha Murcha. A - cutícula; B - parênquima de enchimento; C - glândula de óleo; D - nervura terminal. (64 X)

está limitada externamente por este parênquima de enchimento e internamente por células do paliçádico e lacunoso, que se tornam mais estreitos nas proximidades da glândula. Nervuras terminais são circundadas por células do parênquima lacunoso. As células epidérmicas de ambas as faces possuem cutícula bem mais espessa que nas demais regiões da folha. A média do número de células epidérmicas dos três estádios de crescimento está na Tabela 1. Somente nas folhas adultas ocorreram diferenças significativas entre as médias do número de células epidérmicas de cada uma das faces.

a.5 - Estômatos

Os estômatos, em vista frontal, encontram-se irregularmente distribuídos na epiderme abaxial, sem nenhum arranjo aparente entretanto, quando próximos das células epidérmicas que encobrem as glândulas de óleo, tornam-se esparsos e tendem a se arranjar concentricamente em torno destas células (Fig. 28).

As células epidérmicas que cobrem as glândulas de óleo diferem das demais por apresentarem paredes mais finas, serem mais translúcidas, por sua orientação ligeiramente radial e ainda por se colorirem menos por safranina (Fig. 28). Na região da nervura principal, os estômatos ocorrem esparsamente, com seus eixos longitudinais acompanhando, via de regra, o sentido longitudinal das células epidérmicas (Fig. 29).

Em vista frontal, observa-se que o estôma-

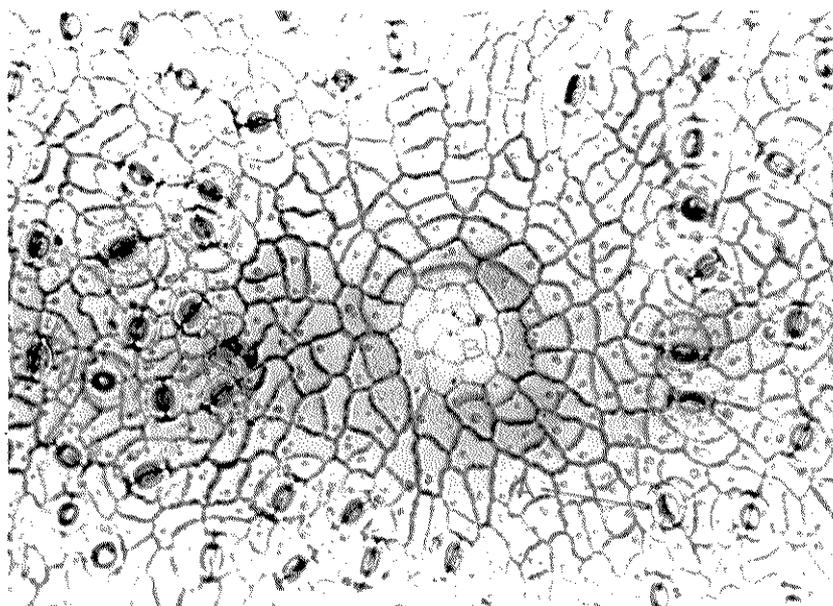


FIGURA 28 - Epiderme abaxial do cultivar Folha Murcha, em vista frontal, vendo-se estômatos (A) e células epidérmicas que cobrem a glândula de óleo (B). (82 X)

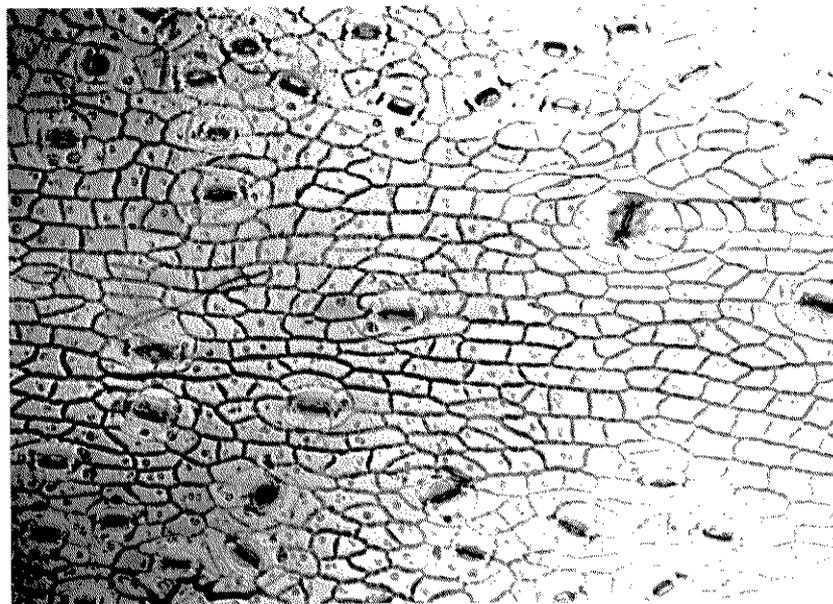


FIGURA 29 - Epiderme abaxial do cultivar Folha Murcha, em vista frontal, disposta sobre uma nervura, onde se nota que os estômatos se distribuem ao longo da mesma. (82 X)

to de formato elíptico é constituído por duas células guardadas que por sua vez, são circundadas por células que não se distinguem das demais células epidérmicas ficando difícil de se estabelecer se estas células desempenham a função de células acessórias, visto que em virtude do número considerável de estômatos por unidade de área, $474/\text{mm}^2$ em média, não é raro que estas células sejam comuns a mais de um estômato, sendo por isso, do tipo anomocítico (Fig. 30). A epiderme abaxial é quase em toda a sua extensão isenta de estômatos. O aspecto geral da epiderme adaxial está ilustrado na Figura 31. As paredes celulares da epiderme adaxial são bem espessas e possuem pontuações tanto nas paredes anticlinais como periclinais (Fig. 32).

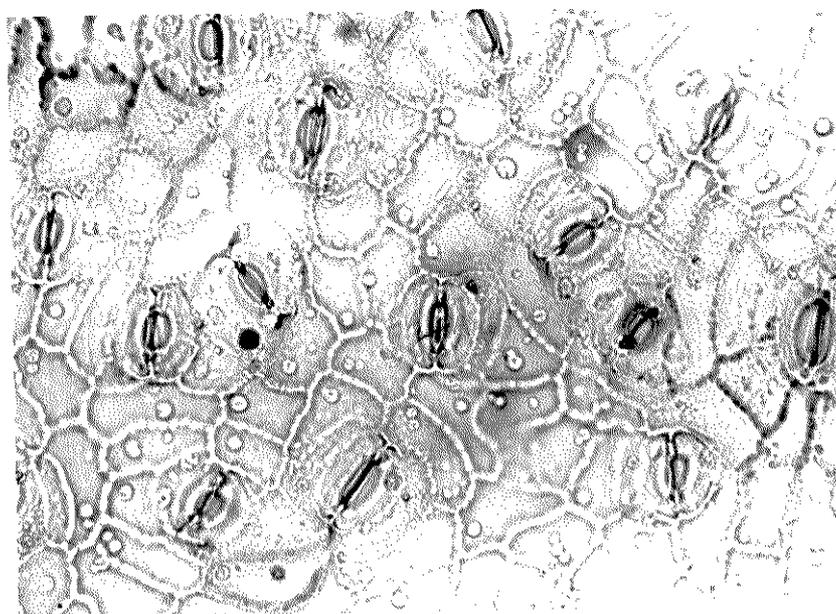


FIGURA 30 - Epiderme abaxial do cultivar Folha Murcha, em vista frontal vendo-se estômatos do tipo anomocítico. A - células guardadas. (160 X)

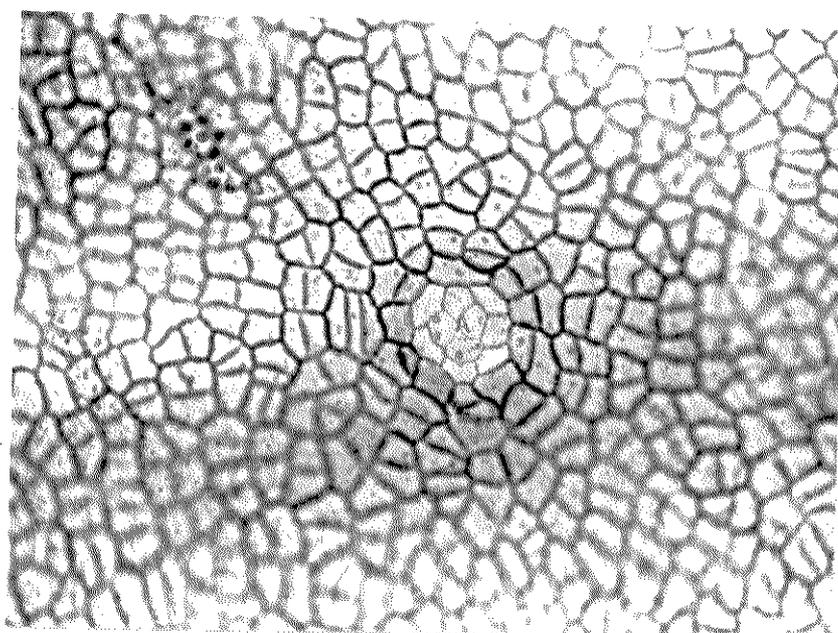


FIGURA 31 - Epiderme adaxial do cultivar Folha Murcha, em vista frontal, vendo-se além das células epidérmicas comuns, as células que cobrem a glândula de óleo (A). (82 X)

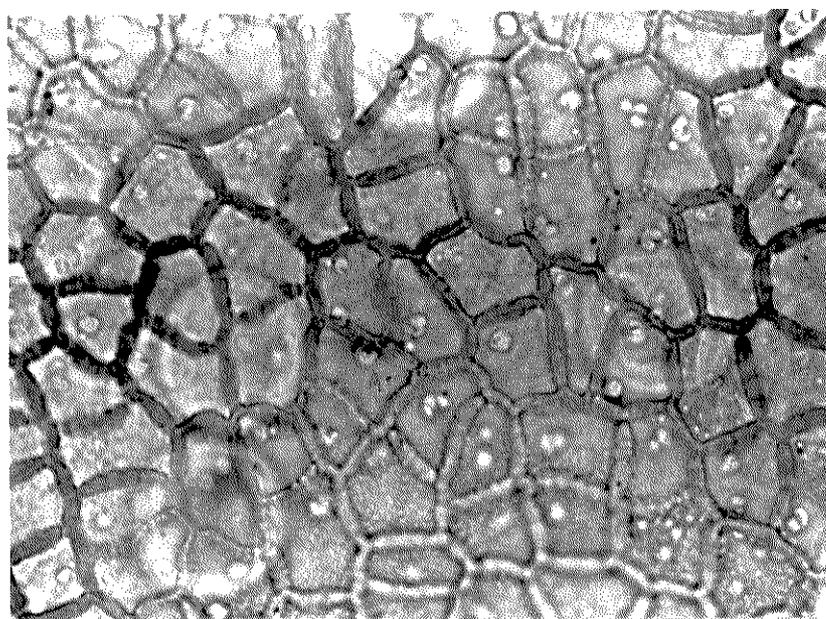


FIGURA 32 - Epiderme adaxial do cultivar Folha Murcha, em vista frontal, detalhando as células de paredes muito espessas. A - pontuações. (203 X)

Alguns poucos estômatos podem ser encontrados nesta epiderme na região da nervura principal. Sua estrutura em corte transversal é mostrada nas Figuras 6 e 12 que correspondem respectivamente a cortes feitos na folha jovem e adulta. As células guardas dos estômatos adultos apresentam-se totalmente cutinizadas e esta cutinização estende-se através das paredes das células que limitam a câmara sub-estomática. Os estômatos possuem ainda, uma câmara estomática externa formada pela projeção da cutícula sobre o poro estomatal.

a.6 - Pecíolo

Transversalmente, sua secção varia de acordo com a altura em que é feito o corte. No ápice é planoconvexa, na região mediana surgem duas alas laterais e na base adquire um contorno circular.

Zonas de abscisão ocorrem entre a lâmina e o pecíolo e entre este e o caule, sendo essas zonas caracterizadas, principalmente, pela ausência de fibras pericíclicas e encurtamento dos vasos xilemáticos, característica que é evidenciada em corte longitudinal.

A epiderme do pecíolo é uniestratificada, formada por células pequenas em relação às células das camadas internas. As paredes periclinais externas são ligeiramente convexas e no pecíolo da folha adulta estão impregnadas de cutina.

O feixe vascular encontra-se imerso no te-

cido fundamental, cujas células embora parenquimatosas, têm suas paredes um tanto espessadas. De forma arredondada, tais células tornam-se maiores à medida que se aproximam do centro do corte. As células voltadas para a epiderme adaxial se arranjam de forma bem mais regular, com numerosos meatos entre si, que as células de parênquima do lado oposto. Glândulas de óleo e idioblastos são encontradas neste tecido de enchimento, principalmente nas camadas sub-epidêrmicas. A última camada de parênquima cortical é rica em amido, formando uma bainha amilácea que circunda externamente a região pericíclica. Esta região é formada por células de parênquima colenquimatoso, que apesar de apresentarem paredes bem espessadas, não tem forma alongada, característica dos elementos do colênquima. Este tipo de célula ocorre no periciclo das regiões do ápice e base do pecíolo, enquanto que na região mediana são encontradas fibras esclerenquimáticas. Nas regiões intermediárias entre a porção mediana e as duas extremidades do pecíolo, é comum a ocorrência de fibras esclerenquimáticas intercaladas por células do parênquima colenquimatoso.

No pecíolo da folha jovem, não há distinção entre a estrutura das células pericíclicas, sendo suas paredes ainda pouco espessas (Fig. 33). No pecíolo da folha em expansão, as paredes das células pericíclicas são mais espessadas (Fig. 34) e fibras de esclerênquima são encontradas na porção mediana.

O cilindro vascular nas regiões apical e mediana do pecíolo possui contorno plano-convexo, estando a

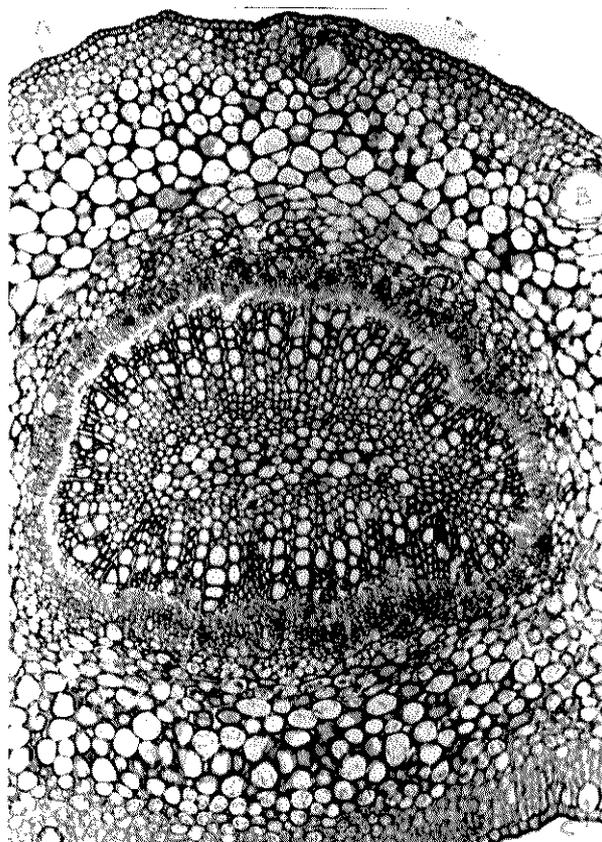


FIGURA 33 - Corte transversal do pecíolo jovem do cultivar Folha Murcha, na região do ápice. A - região pericíclica; B - glândulas de óleo; C - cristal de oxalato de cálcio. (64 X)

parte plana voltada para a epiderme adaxial (Fig. 35), enquanto que na base do pecíolo este tem um contorno circular (Fig. 36). Assim como na lâmina foliar, o feixe vascular do pecíolo é constituído por elementos do floema (tubos crivosos e células companheiras), que circundam os elementos do xilema. Estes por sua vez, estão separados em fileiras radiais simples, por cordões parenquimáticos (Fig. 35).

A medula contém na sua região periférica células de parênquima colenquimatoso, semelhantes as encontradas no periciclo do pecíolo das folhas em expansão e adultas (Figs. 34 e 37). Entretanto, na região central da medula, as células de parênquima assemelham-se as do parênquima cortical, sendo seu conteúdo rico em cristais de oxalato de cálcio.

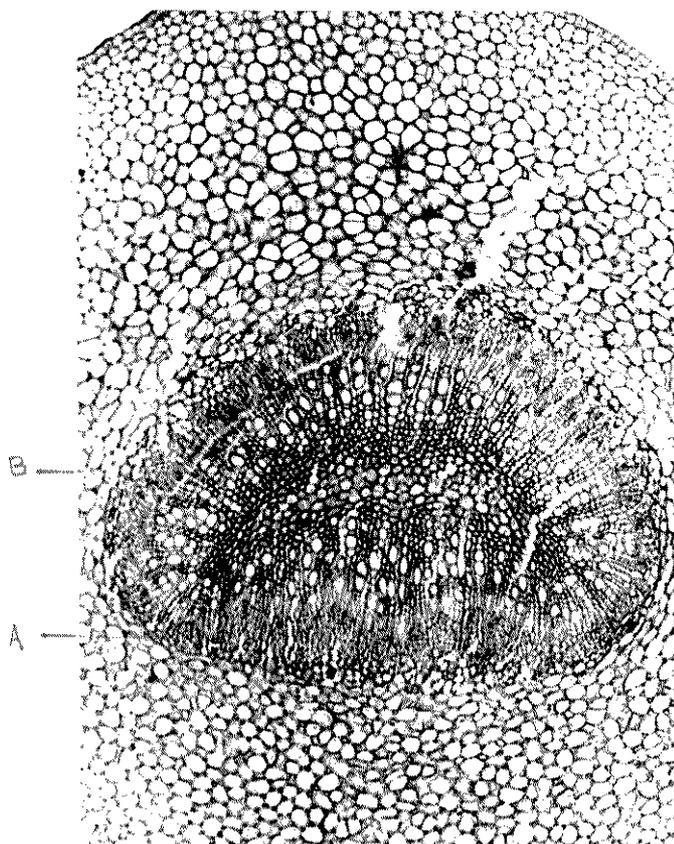


FIGURA 34 - Corte transversal do pecíolo em expansão do cultivar Folha Murcha na região do ápice, onde se nota que as células da região pericíclica (A) e as da região perimedular (B), tem as paredes espessadas. (64 X)

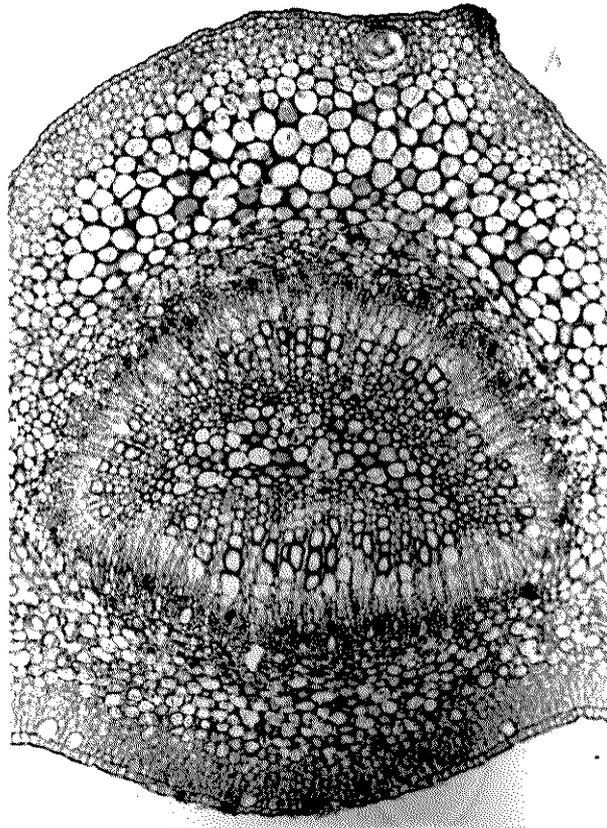


FIGURA 35 - Corte transversal do pecíolo jovem do cultivar Folha Murcha, na região mediana, vendo-se os elementos vasculares dispostos em forma plano-convexa. A - cordões parenquimáticos. (64 X)

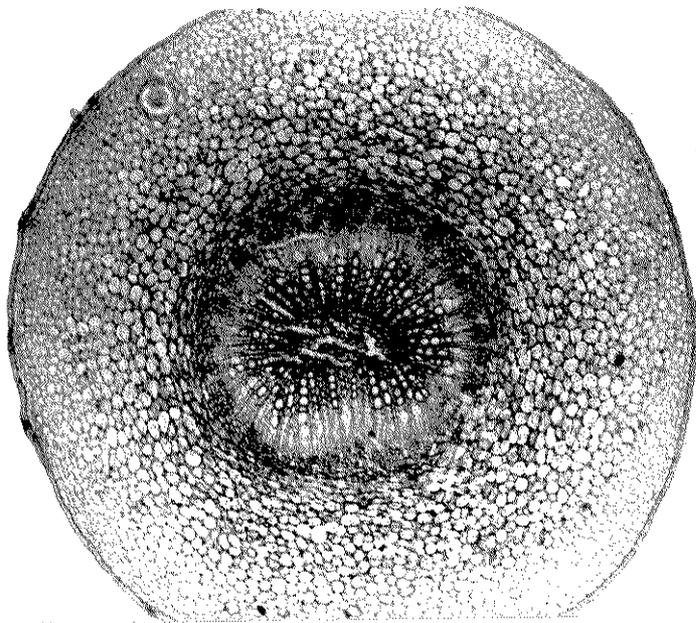


FIGURA 36 - Corte transversal do pecíolo jovem do cultivar Folha Murcha, na região da base, vendo-se os elementos vasculares dispostos em círculo. (16 X)

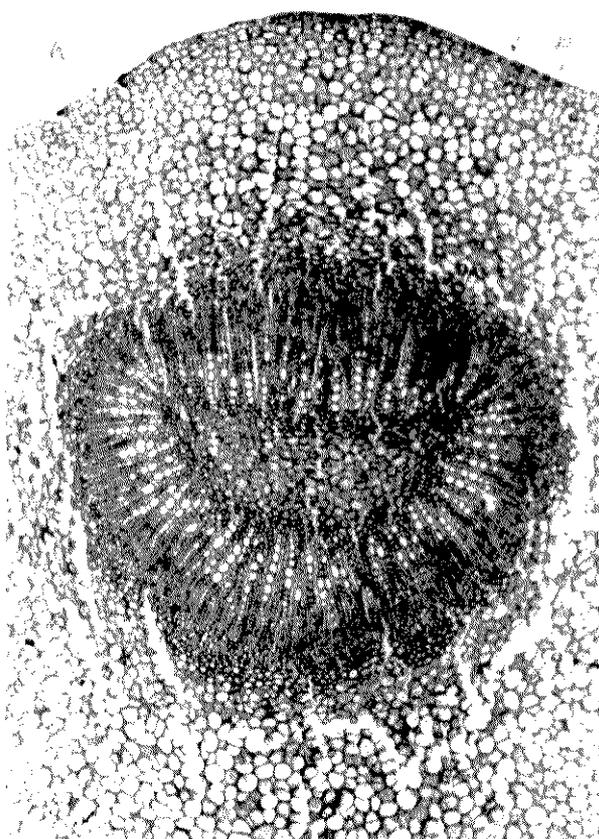


FIGURA 37 - Corte transversal do pecíolo adulto do cultivar Folha Murcha, na região do ápice, onde se nota que a região perimedular (A) e a região pericíclica (B) são constituídas de células de parênquima de paredes espessas. (16 X)

b. *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Pera

b.1 - Ápice

Nas folhas do cultivar Pera, a região apical caracteriza-se pela ausência de uma nervura principal saliente e pela presença de três glândulas de óleo, uma maior,

central e duas menores nas extremidades (Fig. 38).

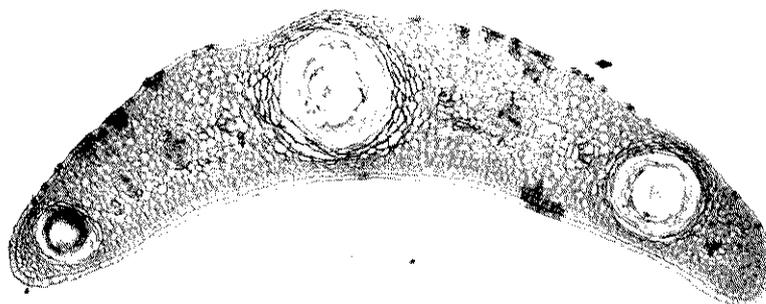


FIGURA 38 - Corte transversal do ápice foliar jovem do cultivar Pera evidenciando o mesófilo ainda não diferenciado, no qual se observa três glândulas de óleo (A). (16 X)

Na folha jovem a região do ápice, em corte transversal, apresenta as células epidérmicas abaxiais de formato variado, diferindo das células adaxiais que possuem contorno mais regular, geralmente de forma retangular, cujas paredes anticlinais são mais longas que as periclinais. A epiderme de ambas as faces apresenta uma cutícula fina. As células epidérmicas abaxiais por serem mais estreitas, ocorrem em maior número do que as adaxiais, diferindo destas significativamente (tabela 2).

O mesófilo do ápice da folha jovem (Fig. 38)

TABELA 2 - Teste "t" entre as médias do número de células epidérmicas da folha do cultivar Pera.

Estádios de crescimento	Epidermes	Regiões da Fclha				Bordo	
		Ápice	Terço Médio mesófilo nervura	Base mesófilo nervura	Bordo		
Folha jovem	abaxial	19.8	22.0	16.7	19.4	15.4	18.4
	adaxial	** 18.6	** 18.0	15.5	19.0	15.4	17.3
Folha em expansão	abaxial	13.8	17.0	16.5	11.5	13.8	15.5
	adaxial	** 11.3	** 14.7	** 12.1	** 10.7	** 11.8	** 13.7
Folha adulta	abaxial	12.7	13.0	16.0	10.9	11.9	12.3
	adaxial	** 10.2	11.6	** 11.1	10.4	11.2	** 11.1

** - diferença significativa ($p < 0,01$)

mostra-se não diferenciado em paliçádico e lacunoso. As células que circundam as glândulas apresentam formas distintas das demais células de parênquima que preenchem o mesófilo. Tais células tem formas alongadas, paredes espessas e se arranjam concentricamente em torno da glândula. No mesófilo ocorrem duas pequenas nervuras dispostas ao lado da grande glândula central. Cristais de oxalato de cálcio estão ausentes no ápice da folha jovem.

No ápice da folha em expansão, as células epidérmicas possuem formas semelhantes às descritas para a folha jovem, no entanto, apresentam as paredes periclinais externas mais espessadas que as anteriores. Quanto ao número de células epidérmicas a relação entre o número de células abaxiais e adaxiais é mostrada na Tabela 2, onde se observa que a média do número de células abaxiais difere significativamente da das células da epiderme adaxial.

O mesófilo já diferenciado apresenta o tecido paliçádico constituído por duas a três camadas de células que medem, em média, 10 μ m de comprimento. O parênquima lacunoso tem células ramificadas, principalmente, na porção mais central, onde pequenas lacunas são encontradas. Nas células subjacentes à epiderme abaxial o tecido lacunoso é constituído de células arredondadas e de tamanho reduzido. Um maior número de nervuras secundárias é encontrado no mesófilo da folha em expansão. Cristais de oxalato de cálcio ocorrem subjacentes a epiderme adaxial.

Na folha adulta células epidérmicas pos-

suem as paredes periclinais externas recobertas por uma cutícula grossa. O número de células epidérmicas em ambas as faces é mostrado na Tabela 2, onde se nota, que as células abaxiais do mesmo modo que nos demais estádios de crescimento, ocorrem em maior número do que as células adaxiais.

O mesófilo da folha adulta na região do ápice é diferente do da folha em expansão, pela maior quantidade de espaços intercelulares do parênquima lacunoso, embora estes sejam de tamanho menor que os encontrados nas demais regiões da folha (Fig. 39). O parênquima paliçádico

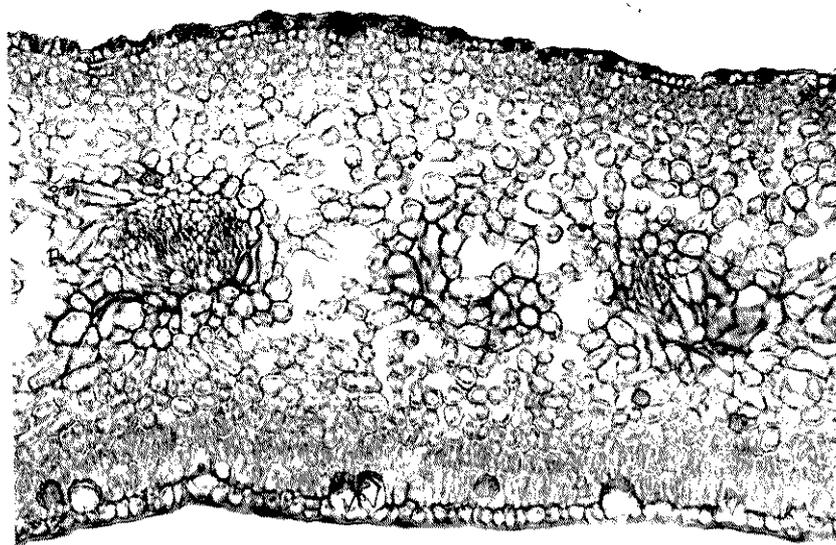


FIGURA 39 - Corte transversal do ápice foliar adulto do cultivar Pera onde se observa que o tecido lacunoso no ápice é ligeiramente denso, visto que as lacunas são pequenas (A) e ainda que o parênquima paliçádico é constituído de células curtas (B).
(40 X)

apresenta células mais longas, medindo, em média, 22 μm enquanto que a largura é a mesma encontrada para as células do parênquima paliçádico das folhas em expansão. É interessante notar, que as células do tecido paliçádico na região do ápice são mais curtas e arranjadas menos uniformemente que nas demais regiões da folha (Fig. 39). A estrutura de uma glândula de óleo é mostrada na Figura 40, onde se pode notar

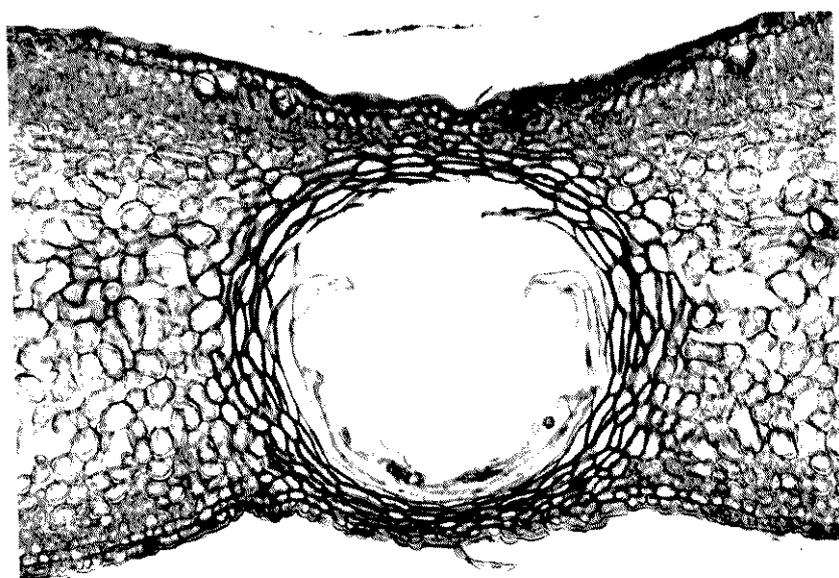


FIGURA 40 - Corte transversal do ápice foliar adulto do cultivar Pera, evidenciando uma glândula de óleo central, circundada por células de parênquima de forma alongada e paredes espessas (A). (40 X)

que as células de parênquima que circundam a glândula diferem, das demais células do mesófilo, por apresentarem paredes mais espessadas, serem mais estreitas e se arranjam concentricamente em torno da glândula. As nervuras apesar

de serem maiores do que as encontradas nos demais estádios de crescimento são, de modo geral, constituídas apenas por traqueídeos.

b.2 - Terço médio

Na folha jovem, as células epidérmicas do mesófilo (Fig. 41), possuem paredes finas e retas, de contorno retangular, sendo as paredes anticlinais de maior comprimento. Em corte transversal, as células epidérmicas de ambas as faces apresentam-se semelhantes na forma, variando apenas na largura, a qual é maior na face adaxial. Estas

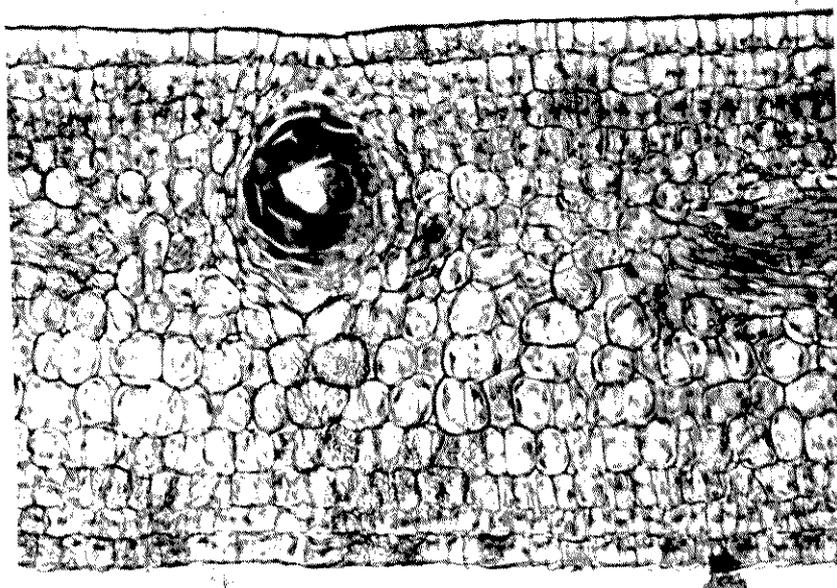


FIGURA 41 - Corte transversal do mesófilo jovem do cultivar Pera, na região do terço médio, vendo-se: A - epiderme adaxial; B - epiderme abaxial; C - glândula de óleo; D - cristais de hesperidina. (102 X)

diferem significativamente do número de células da face abaxial (Tabela 2).

O mesófilo da folha jovem ainda não está diferenciado em tecido paliçádico e lacunoso. Cloroplastos ocorrem abundantemente nas células de parênquima não diferenciado. Uma glândula de óleo em formação é mostrada na Figura 41. Cristais de hesperidina são visíveis tanto nas células do mesófilo quanto nas células epidérmicas.

Na nervura, as células epidérmicas também possuem paredes finas. As células abaxiais contrastam com as adaxiais por terem paredes periclinais curvas e por serem ligeiramente mais estreitas. Não há diferença significativa entre as médias do número de células epidérmicas abaxiais e adaxiais desta região (Tabela 2).

Na região da nervura principal o tecido vascular é circundado por células de parênquima, que abaixo da epiderme abaxial têm formato arredondado e estão arranjados regularmente com pequenos espaços intercelulares. As células de parênquima que se encontram do lado oposto são irregulares na forma e se arranjam mais densamente, sem espaços de ar entre si. A última camada de células parenquimáticas que limita o córtex do cilindro vascular é rica em amido e forma uma bainha amilácea que circunda todo o tecido condutor. O tecido encontrado na região pericíclica é um parênquima de paredes espessadas, porém de natureza pectocelulósica. O floema envolve totalmente o xilema, sendo que estes tecidos dispostos em forma plano-convexa, são separa-

dos por células de procâmbio. A medula que acompanha a disposição dos elementos vasculares é composta por células de parênquima, cujo conteúdo é rico em cristais de oxalato de cálcio. Glândulas de óleo ocorrem freqüentemente imersas no parênquima que circunda o tecido vascular e podem ser observadas na Figura 42.

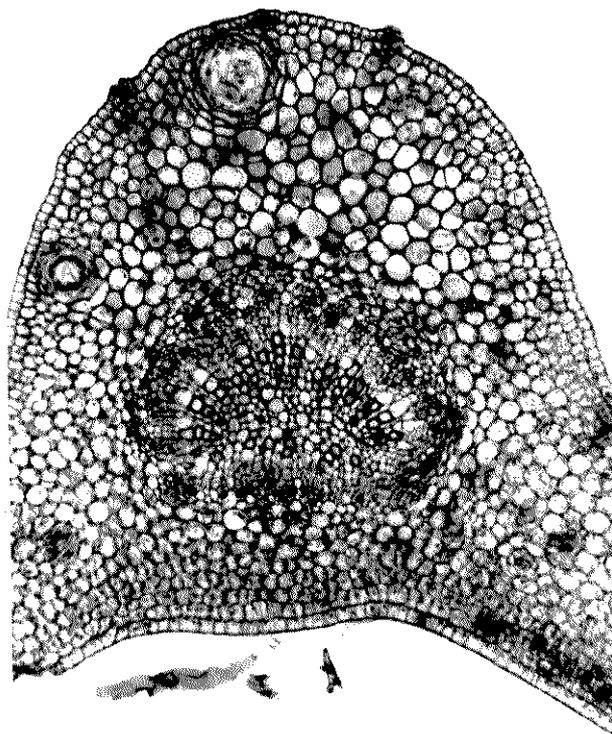


FIGURA 42 - Corte transversal da nervura principal de uma folha jovem do cultivar Pera, feito na região do terço médio, onde se observa que o tecido vascular é circundado por células de parênquima. As glândulas de óleo. (40 X)

Na folha em expansão as células epidérmicas já apresentam as paredes periclinais externas ligeira-

mente espessadas, tanto na região do mesófilo quanto na região da nervura. A média do número de células epidérmicas destas regiões em ambas as faces é mostrada na Tabela 2.

No mesófilo, na folha em expansão, já está diferenciado em paliçádico e lacunoso (Fig. 43). O parênquima paliçádico, de modo geral, é constituído por três camadas de células, cujo tamanho médio é de 10 μ m de largura por

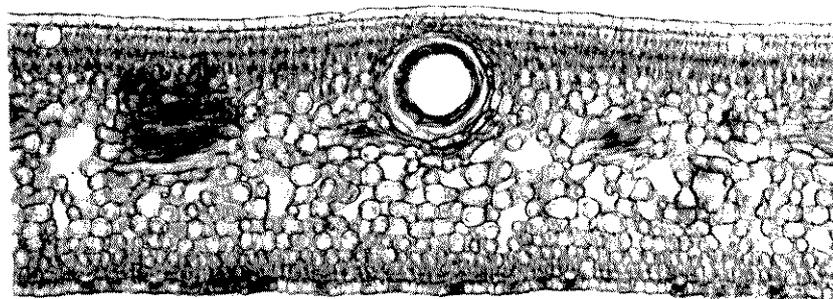


FIGURA 43 - Corte transversal da folha em expansão do cultivar Pera, feito na região do terço médio, evidenciando o mesófilo já diferenciado em paliçádico e lacunoso. (40 X)

35 μ m de altura, com exceção da última camada de células, que são mais largas e curtas que as primeiras. Detalhes das células do parênquima paliçádico podem ser verificados na figura 44, onde se observa a presença de cristais de oxa-

lato de cálcio em grandes idioblastos, que se entremeam com as suas células. O parênquima lacunoso contrasta com o

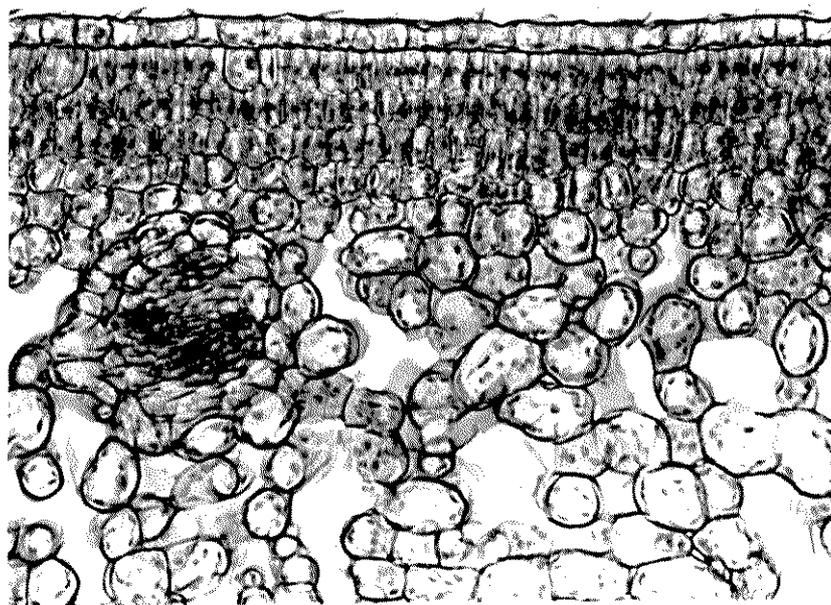


FIGURA 44 - Corte transversal do mesófilo em expansão do cultivar Pera, na região do terço médio, detalhando: A - epiderme adaxial; B - tecido paliçádico; C - idioblastos de oxalato de cálcio. (102 X)

paliçádico por apresentar células frouxamente dispostas e com grandes lacunas entre si. Na Figura 45, verifica-se que as células do lacunoso possuem em seu conteúdo grande abundância de hesperidina. Os cloroplastos se dispõem parcialmente nas células do lacunoso e do paliçádico.

A nervura principal do terço médio da folha em expansão apresenta-se com maior número de elementos condutores dispostos de forma circular (Fig. 46). Os tecidos condutores estão totalmente circundados por células de

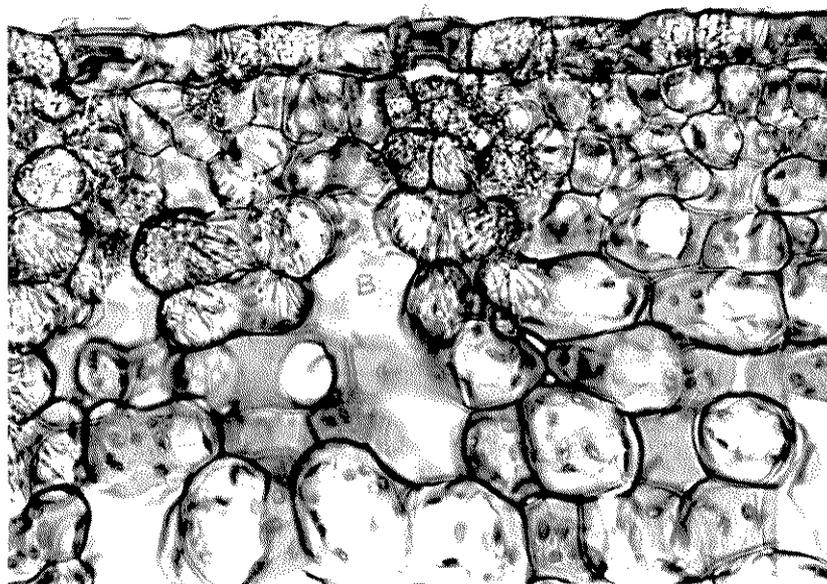


FIGURA 45 - Corte transversal do mesófilo em expansão do cultivar Pera, na região do terço médio, evidenciando: A - estômatos; B - lacunas do parênquima lacunoso; C - cristais de hesperidina. (160 X)

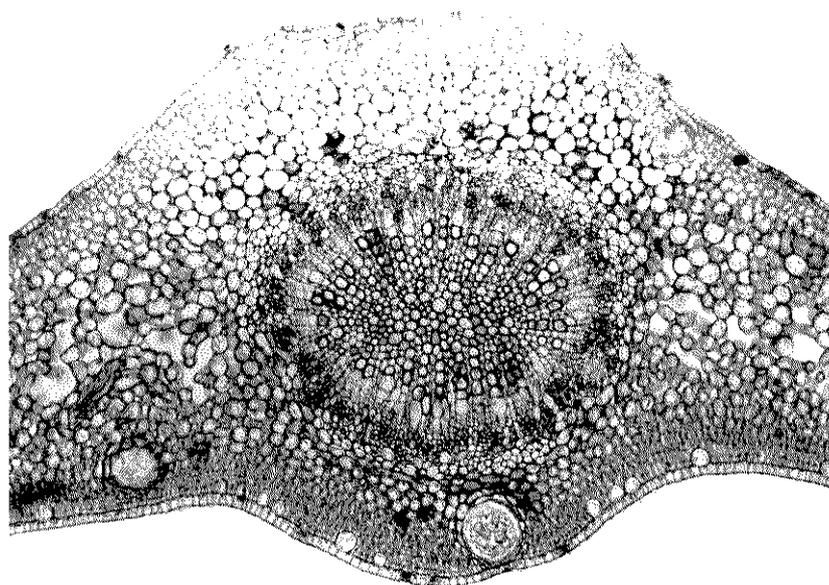


FIGURA 46 - Corte transversal da nervura principal de uma folha em expansão do cultivar Pera, feito na região do terço médio. Nota-se que os tecidos condutores dispostos em forma circular são circundados por células de parênquima. (25 X)

dias do número de células epidérmicas da nervura diferem significativamente.

A Figura 48 representa o mesófilo da folha adulta, onde se verifica que as células do parênquima lacunoso se apresentam mais ramificadas e separadas por lacunas bem maiores que as da folha em expansão.

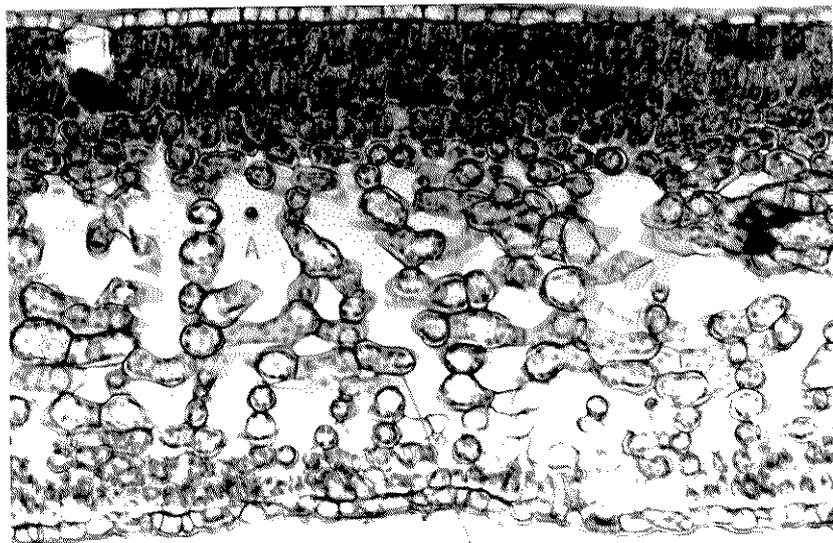


FIGURA 48 - Corte transversal do mesófilo adulto do cultivar Pera, na região do terço médio, onde se verifica que o parênquima lacunoso apresenta-se com células ramificadas, separadas por grandes lacunas (A) e que os cloroplastos (B) se distribuem parietalmente nas células do parênquima lacunoso. (64)

O parênquima paliçádico com células mais longas (38 μ m) e de conteúdo mais abundante de cloroplastos é mostrado em maior detalhe na Figura 49. Na folha adulta os grandes idioblastos de oxalato de cálcio que interrompem

parênquima, que diferem das da folha jovem, na face abaxial, por se arranjam mais densamente, sem espaços intercelulares e por apresentarem paredes mais espessas (Fig. 47). Na face adaxial, as células abaixo da epiderme são semelhantes às do parênquima paliçádico encontrado no mesófilo (Fig. 46).

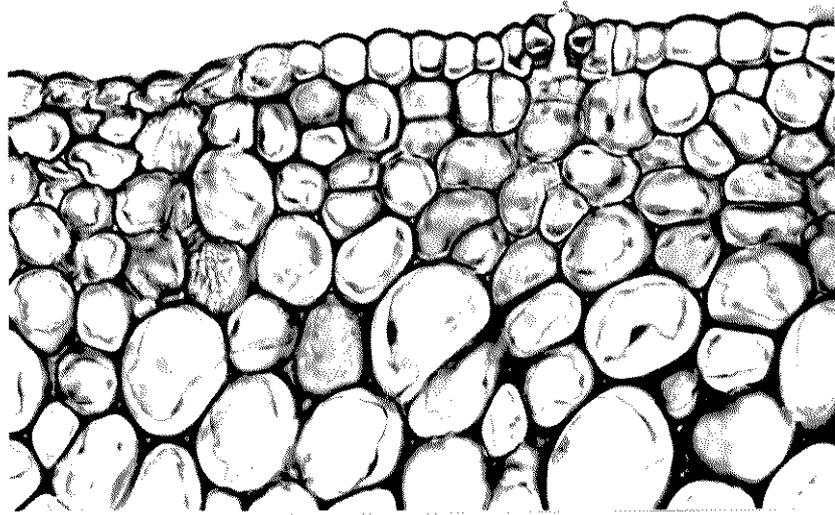


FIGURA 47 - Corte transversal da região da nervura principal de uma folha em expansão do cultivar Pera, feito na região do terço médio, vendo-se as células epidérmicas abaxiais e células de parênquima de paredes espessas. A - estômato. (160 X)

Na folha adulta as células epidérmicas contrastam com as das folhas mais jovens, por apresentarem as paredes periclinais externas bem cutinizadas. Na Tabela 2, verifica-se que a média do número de células epidérmicas abaxiais, dispostas sobre o mesófilo, não difere significativamente da do número das células adaxiais. Ao passo que as mé-

as células do paliçádico comprimem as células epidérmicas adaxiais.

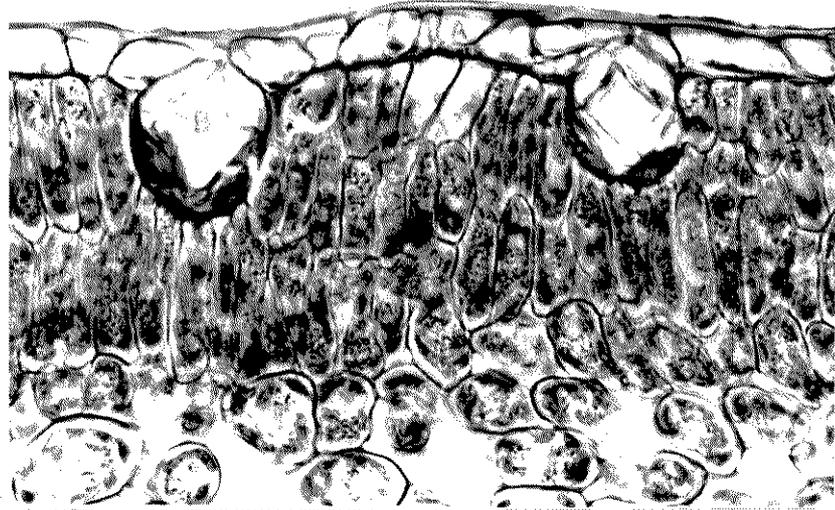


FIGURA 49 - Corte transversal do mesófilo adulto do cultivar Pera, na região do terço médio, evidenciando: A - células epidérmicas adaxiais; B - idioblastos de oxalato de cálcio; C - parênquima paliçádico. (160 X)

Na folha adulta a região da nervura principal, se caracteriza por ter células de colênquima abaixo da face abaxial e ainda, por apresentar os elementos condutores circundados por fibras pericíclicas (Fig. 50). Entre as células de colênquima e a região pericíclica encontram-se células de parênquima, que formam uma bainha que contorna externamente o cilindro vascular, de conteúdo rico em amido e cristais (Fig. 51). As fibras esclerenquimáticas de espessura variada são em certos pontos interrompidas por

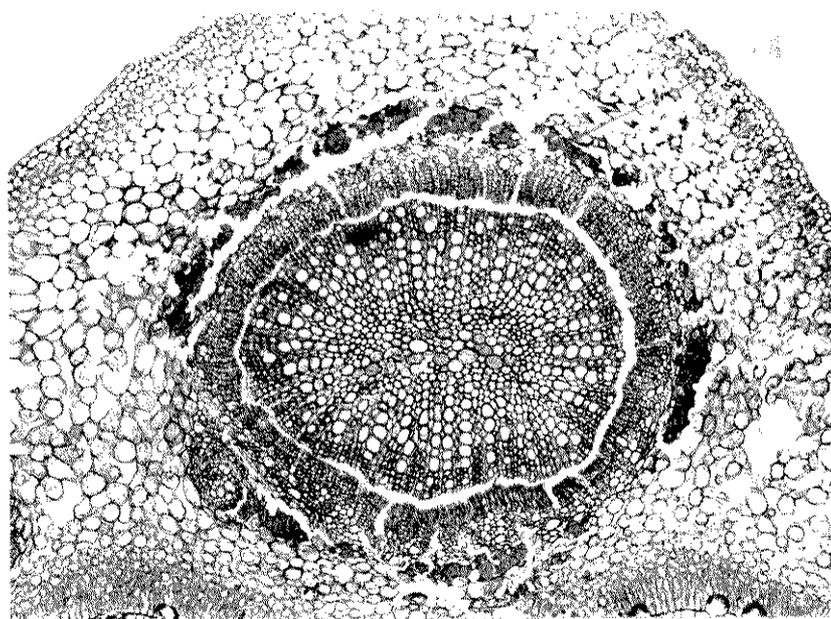


FIGURA 50 - Corte transversal da nervura principal de uma folha adulta do cultivar Pera, feito na região do terço médio. A - fibras pericíclicas. (25 X)

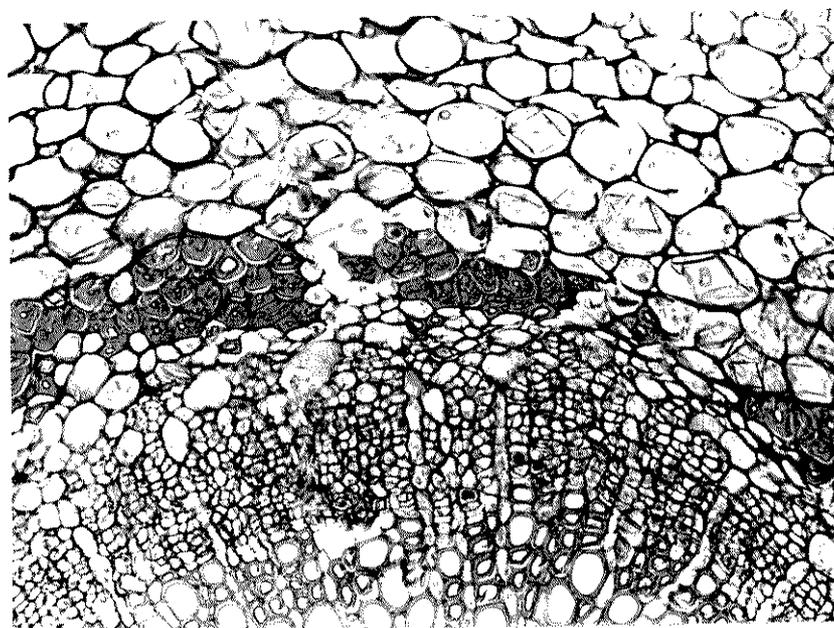


FIGURA 51 - Corte transversal da região do terço médio, de uma folha adulta do cultivar Pera, detalhando parte da nervura principal. A - colênquima; B - células parenquimáticas de conteúdo rico em cristais e amido; C - fibras pericíclicas; D - flocema. (82 X)

células parenquimáticas, que juntas formam um anel protetor envolvendo o floema. Raios parenquimáticos estreitos separam os vasos de protoxilema e metaxilema em fileiras radiais, a medula é constituída por células de parênquima de conteúdo rico em cristais e amido, sendo as células da região perimedular menores e de paredes mais espessas (Fig. 52).

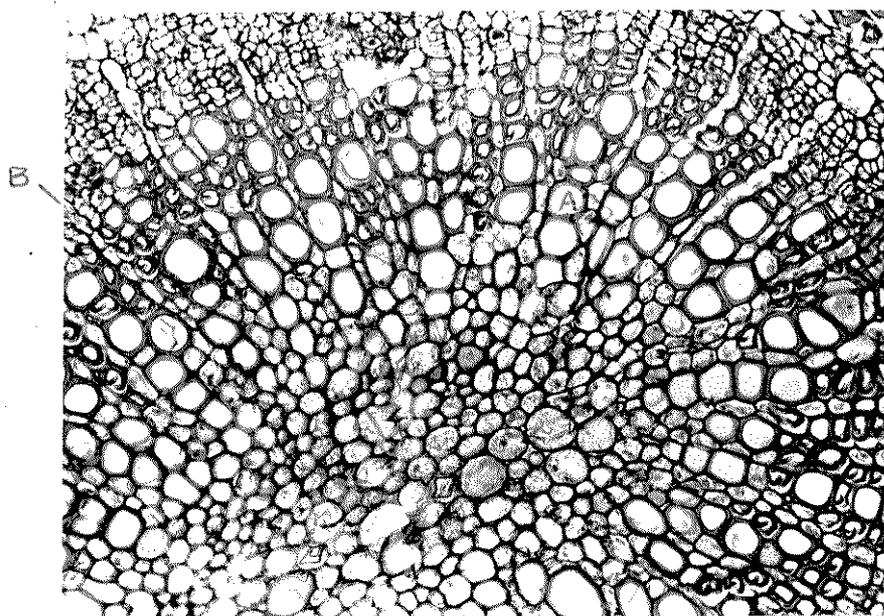


FIGURA 52 - Corte transversal da região do terço médio, de uma folha adulta do cultivar Pera, detalhando parte da nervura principal. A - xilema; B - raios parenquimáticos; C - medula. (82 X)

b.3 - Base

Na base da folha jovem, tanto na região do mesófilo quanto da nervura, as células epidérmicas abaxiais e adaxiais ocorrem em mesmo número (Tab. 2). As células epidérmicas da região do mesófilo são mais estreitas e por-

tanto são encontradas em maior número que as da nervura.

O mesófilo da base da folha jovem ainda não está diferenciado em paliçádico e lacunoso, muito embora as futuras células do paliçádico, em início de diferenciação, começam a se alongar no sentido anticlinal (Fig. 53).

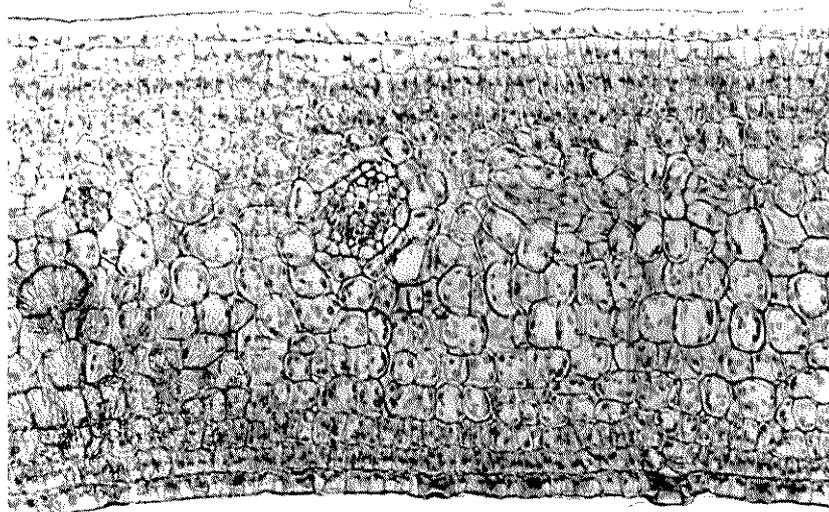


FIGURA 53 - Corte transversal da base foliar jovem do cultivar Pera, vendo-se o mesófilo em início de diferenciação. A - células do paliçádico que começam a se alongar no sentido anticlinal; B - células do lacunoso ainda não diferenciadas. (82 X)

A Figura 54 mostra a região da nervura principal da base da folha jovem. Os tecidos vasculares arranjados em forma plano-convexa estão imersos em células de parênquima, de modo idêntico ao descrito para o terço médio. As diferenças mais evidentes entre estas regiões é

que na base os tecidos condutores são mais abundantes, a medula é mais conspícua. Detalhes estruturais dos elementos vasculares são evidenciados na Figura 55, onde se observa células de procâmbio entre os elementos do floema e xilema.

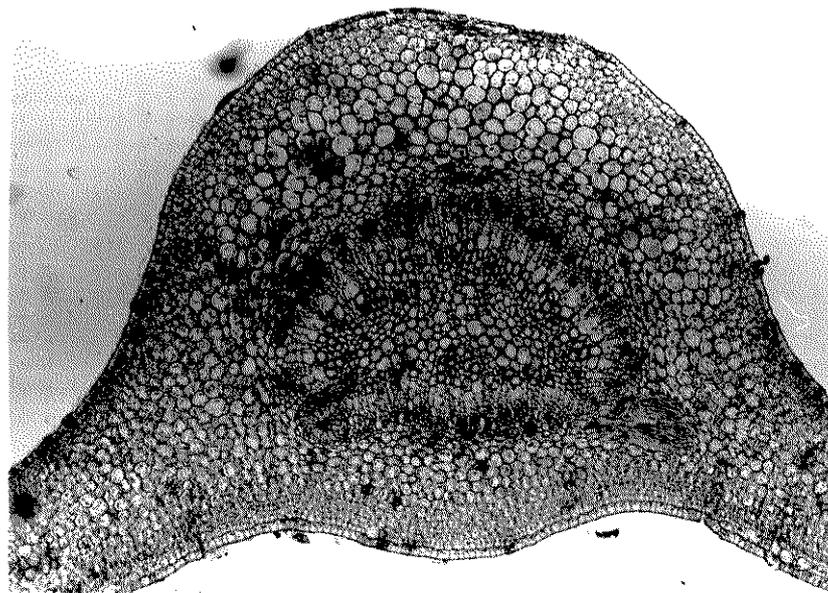


FIGURA 54 - Corte transversal da base foliar jovem do cultivar Pera, na região da nervura principal. Verifica-se que os tecidos vasculares dispostas de forma plano-convexa são circundadas por células de parênquima. (25 X)

Na folha em expansão, as células epidérmicas apresentam cutícula ligeiramente espessa. No mesófilo, as células epidérmicas da face abaxial apresentam formas variadas, ao passo que as células adaxiais, geralmente, tem forma retangular. Apesar das células da epiderme abaxial ocorrerem em número maior do que as células adaxiais, a diferença encontrada entre as médias de cada uma das faces não é

significativa (Tab. 2). Entretanto, na nervura ocorre diferença significativa entre o número de células epidérmicas das duas faces (Tab. 2).

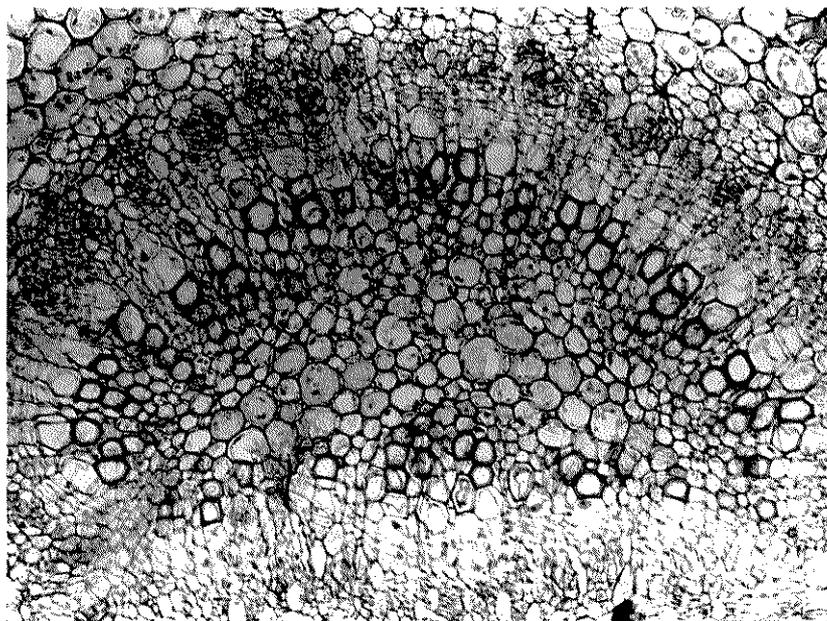


FIGURA 55 - Corte transversal da base foliar jovem do cultivar Pera, na região da nervura principal, evidenciando os elementos vasculares: A - células de procâmbio. (64 X)

O mesófilo na folha em expansão já se apresenta diferenciado (Fig. 56). O parênquima paliçádico é constituído por três camadas de células, de dimensões semelhantes às do terço médio. As células do tecido paliçádico são interrompidas por idioblastos de oxalato de cálcio, glândulas de óleo ocorrem entre as células do paliçádico e as do parênquima lacunoso.

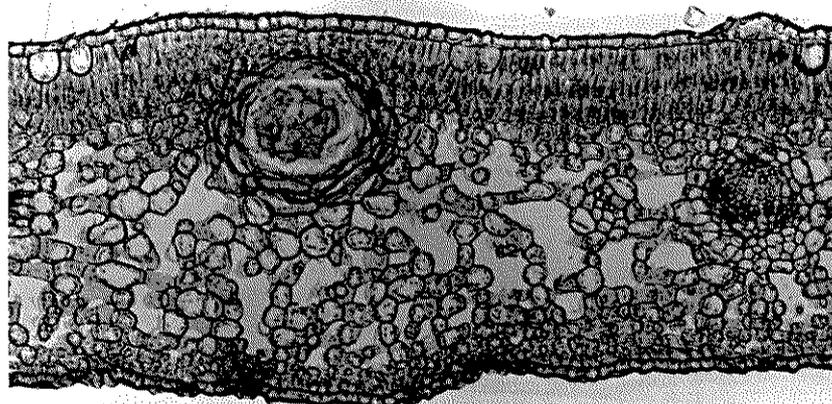


FIGURA 56 - Corte transversal da base foliar em expansão do cultivar Pera, vendo-se o mesófilo já diferenciado em paliçádico e lacunoso. A - idioblastos de oxalato de cálcio; B - glândula de óleo. (40 X)

A nervura principal na base da folha em expansão, mostrada na Figura 57, assemelha-se muito a da folha jovem, diferindo apenas por ter maior número de elementos condutores e por apresentar as células do parênquima cortical e as pericíclicas com as paredes mais espessadas. Comparada com a nervura do terço médio, difere por apresentar os feixes dispostos de forma plano-convexa, enquanto os do terço médio se dispõem em círculo.

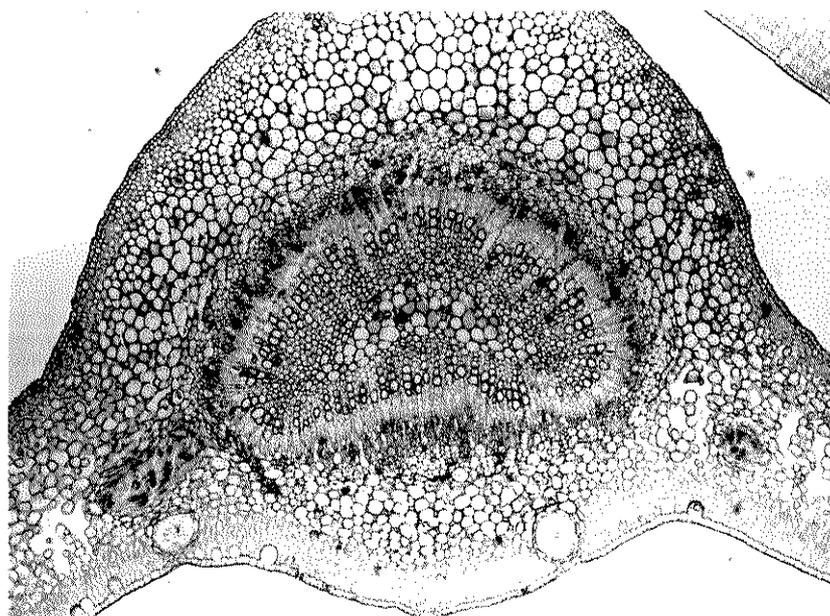


FIGURA 57 - Corte transversal da base foliar em expansão do cultivar Pera, na região da nervura principal, onde se observa a disposição plano-convexa dos elementos vasculares. (16 X)

Na base da folha adulta as células epidérmicas diferem das da folha em expansão por serem mais cutinizadas. A média do número de células de cada uma das faces da epiderme pode ser vista na Tabela 2. É interessante notar que tanto as células dispostas sobre o mesófilo quanto as dispostas sobre a nervura, não apresentam diferenças significativas entre as médias dos números de células abaxiais e adaxiais (Tab. 2).

O mesófilo mostrado na Figura 58, é semelhante ao descrito para o terço médio da folha adulta e dife

re do da base da folha em expansão, pelo maior número de lacunas entre as células do parênquima lacunoso.

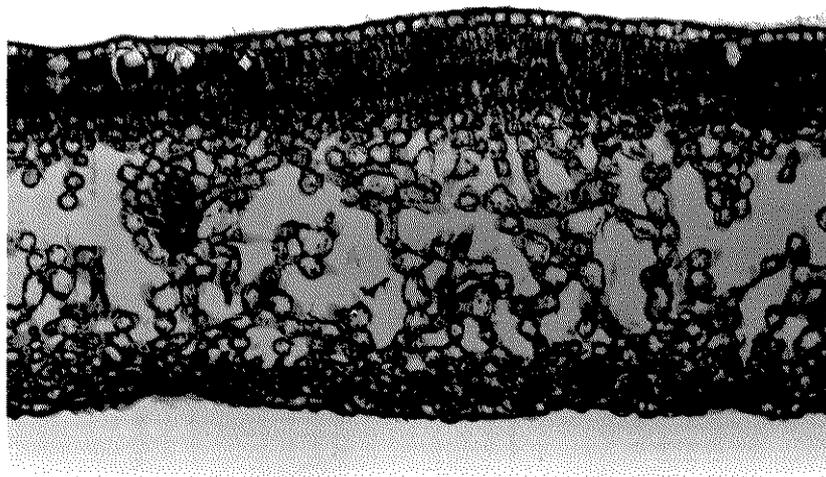


FIGURA 58 - Corte transversal da base foliar adulto do cultivar Pera, na região do mesófilo. A - lacunas. (40 X)

Na nervura principal, na base da folha adulta, a região pericíclica é formada por células de parênquima colenquimatoso, de paredes muito espessas, de natureza pecto-celulósica, que também ocorre nas células da região perimedular. Acima do periciclo ocorre grande quantidade de amido nas células de parênquima que formam a bainha amilácea. As células de parênquima de paredes bem espessadas que ocorrem na região pericíclica formam um anel contínuo que circunda as células floemáticas (Fig. 59). Os vasos xilemáticos dispõem-se em fileiras radiais, separados por cordões parenquimáticos estreitos. A medula possui a região

perimedular constituída pelo mesmo tecido encontrado no periciclo e sua parte central é formada por células de parênquima, arredondadas, de paredes mais finas e maiores, idênticas as encontradas na região cortical (Fig. 59).

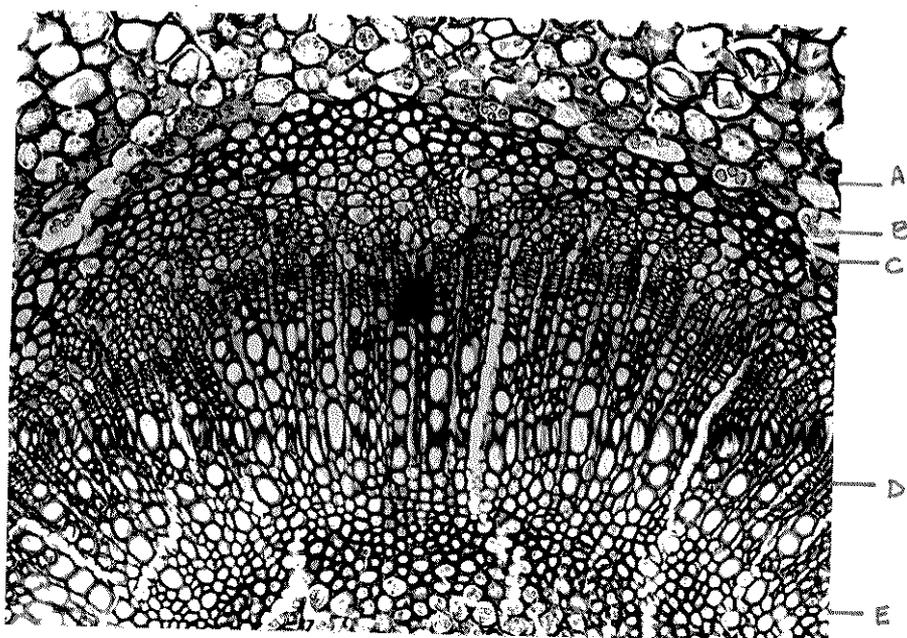


FIGURA 59 - Corte transversal da base foliar adulta do cultivar Pera, na região da nervura principal, focalizando o cilindro vascular. A - bainha amilácea; B - periciclo; C - floema; D - xilema; E - região perimedular. (40 X)

b.4 - Bordo

A Figura 60 representa a folha jovem, na região de um dos seus bordos. As células epidérmicas apresentam-se ainda com cutícula fina. O mesófilo, como nas demais regiões da folha jovem, não está diferenciado, sendo em grande parte, ocupado por uma glândula de óleo (Fig. 60).

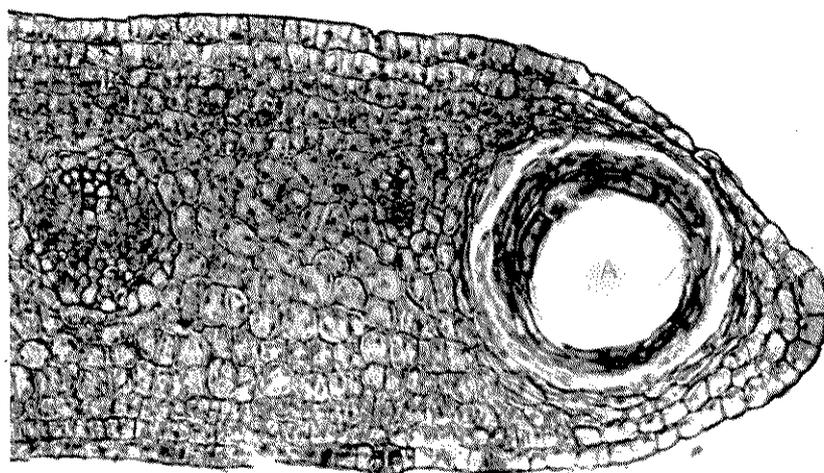


FIGURA 60 - Corte transversal do bordo foliar jovem do cultivar Pera, vendo-se uma glândula de óleo em formação (A). (82 X)

No bordo da folha em expansão as células epidérmicas possuem cutícula levemente espessada e as células do mesófilo, já diferenciadas em paliçádico e lacunoso, possuem tamanho menor à medida que se aproximam da epiderme (Fig. 61). Um parênquima de células arredondadas é encontrado abaixo das células epidérmicas, preenchendo a margem da folha. Idioblastos de oxalato de cálcio são encontrados em abundância entre as células do parênquima paliçádico. As nervuras secundárias que ocorrem entre as células do parênquima lacunoso, são formadas apenas por traqueídeos.

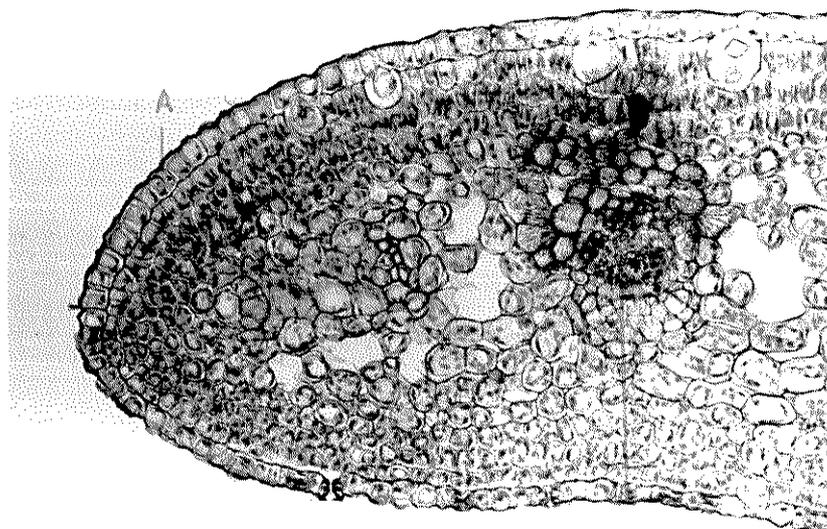


FIGURA 61 - Corte transversal do bordo foliar em expansão do cultivar Pera. A - epiderme; B - cristais de oxalato de cálcio; C - nervura secundária. (64 X)

As células epidérmicas, no bordo da folha adulta, se caracterizam por terem cutícula mais espessa do que as demais regiões da folha. As células parenquimáticas também apresentam as paredes espessas (Fig. 62). É interessante notar, que as células de parênquima que circundam a glândula de óleo, encontrada frequentemente no bordo das folhas, diferem das demais células de parênquima por serem mais longas e estreitas, como também por se arranjam concentricamente em torno da glândula (Fig. 62).

As médias do número de células epidérmicas da região do bordo, nos três estádios de crescimento são mostradas na Tabela 2. Na folha jovem não há diferença entre

o número de células epidérmicas abaxiais e adaxiais, consequentemente estas células têm a mesma largura. Entretanto, nas folhas em expansão e adulta, as células epidérmicas do bordo, tem diferença significativa entre as médias do número de células epidérmicas.

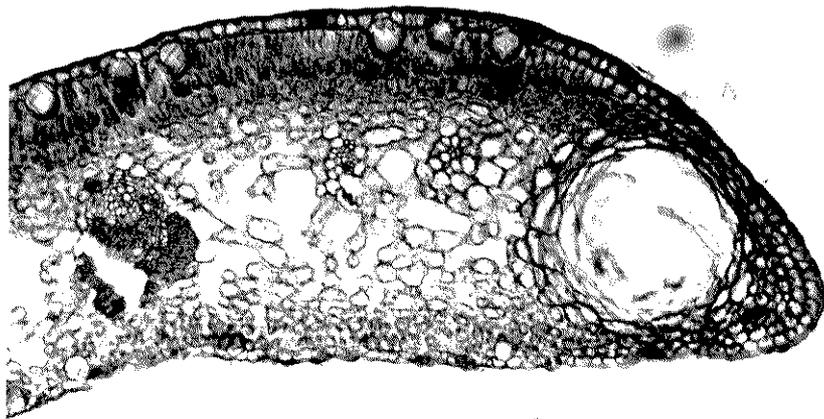


FIGURA 62 - Corte transversal do bordo foliar adulto do cultivar Pera, vendo-se: A - células epidérmicas de paredes espessas; B - células parenquimáticas de paredes espessas; C - células que circundam a glândula de óleo. (40 X)

b.5 - Estômatos

Os estômatos se distribuem irregularmente na epiderme abaxial e a média da densidade estomatal encontrada foi de 544 estômatos por mm^2 . Quando ocorrem nas proximidades das células epidérmicas que encobrem as glândulas,

tornam-se esparsos e tendem a se arranjar concentricamente (Fig. 63). Ainda na mesma figura observa-se que os estômatos de contorno elíptico são constituídos por duas células guardas, que por sua vez são circundadas por células que não diferem das demais células epidérmicas, sendo difícil estabelecer se estas células desempenham a função de acessórias, visto que podem ser comuns a mais de um estômato.

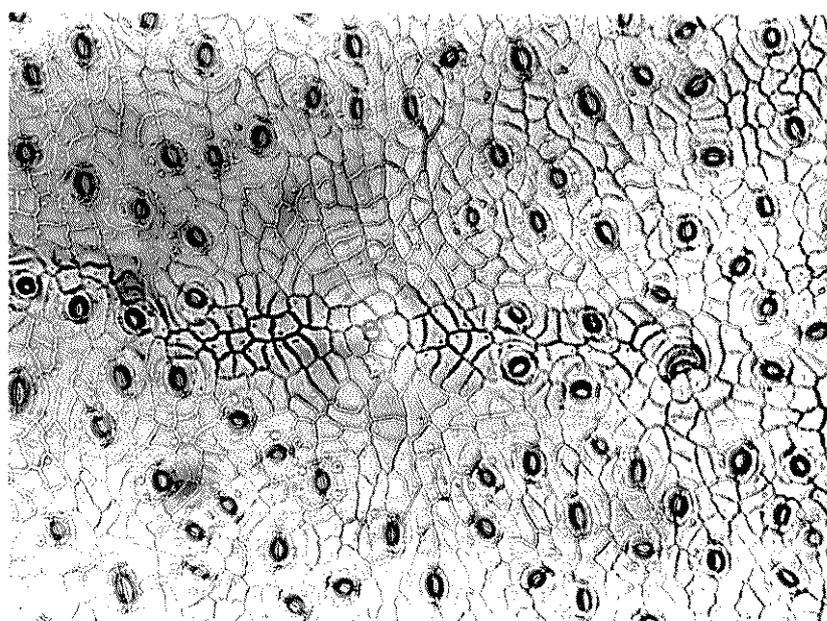


FIGURA 63 - Epiderme abaxial do cultivar Pera, em vista frontal, vendo-se: A - estômatos; B - células epidérmicas que encobrem a glândula de óleo.
(64 X)

Maiores detalhes da estrutura dos estômatos, em vista frontal, podem ser observados na Figura 64. As paredes que limitam o poro estomático são muito espessas em contraste com as paredes externas muito finas. Em corte transversal, os estômatos adultos (Fig. 47), possuem as pare

des das células guardas cutinizadas, enquanto que nos estômatos jovens esta cutinização é pouco acentuada. Além de uma câmara subestomática, há uma câmara externa formada pela projeção da cutícula sobre o poro estomatal.

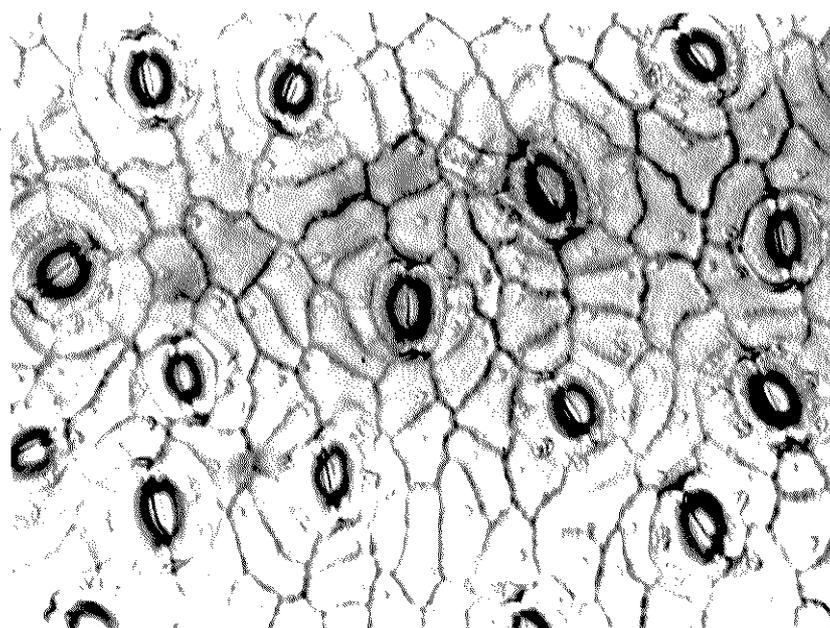


FIGURA 64 - Epiderme abaxial do cultivar Pera, em vista frontal, onde se pode observar a estrutura do estômato. A - poro estomatal; B - célula guarda. (160 X)

Em contraste com as células epidérmicas abaxiais, as células da face adaxial se caracterizam pela ausência de estômatos a não ser na região da nervura principal, onde alguns estômatos são encontrados. A disposição das células epidérmicas adaxiais está ilustrada na Figura 65, onde se nota que além das células epidérmicas comuns, ocorrem as células que cobrem as glândulas. Estas células possuem paredes finas (Fig. 65) e se colorem menos por safra

nina que as demais células epidérmicas.

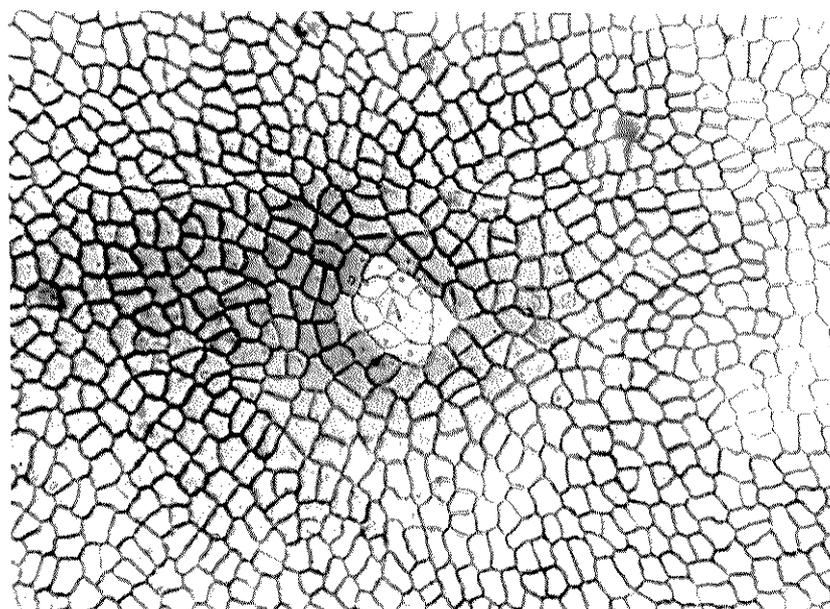


FIGURA 65 - Epiderme adaxial do cultivar Pera, em vista frontal, vendo-se além das células epidérmicas comuns, as células que cobrem a glândula de óleo (A). (64 X)

b.6 - Pecíolo

A secção transversal do pecíolo varia de acordo com a altura em que foi feito o corte. No ápice a secção é plano-convexa, na região média o pecíolo possui duas alas e finalmente na base a secção adquire contorno circular.

Cortes no ápice e na região mediana de um pecíolo jovem são mostrados nas Figuras 66 e 67. As células epidérmicas uniestratificadas, ainda retêm características da protoderme. Abaixo das células epidérmicas ocorrem célu

las de parênquima fundamental, de formato arredondado. Os tecidos vasculares verifica-se que estão dispostos de forma plano-convexa tanto no ápice quanto na região mediana do pecíolo, estando a parte plana voltada para a face adaxial, contrastando com a base onde os feixes condutores se dispõem em círculo.

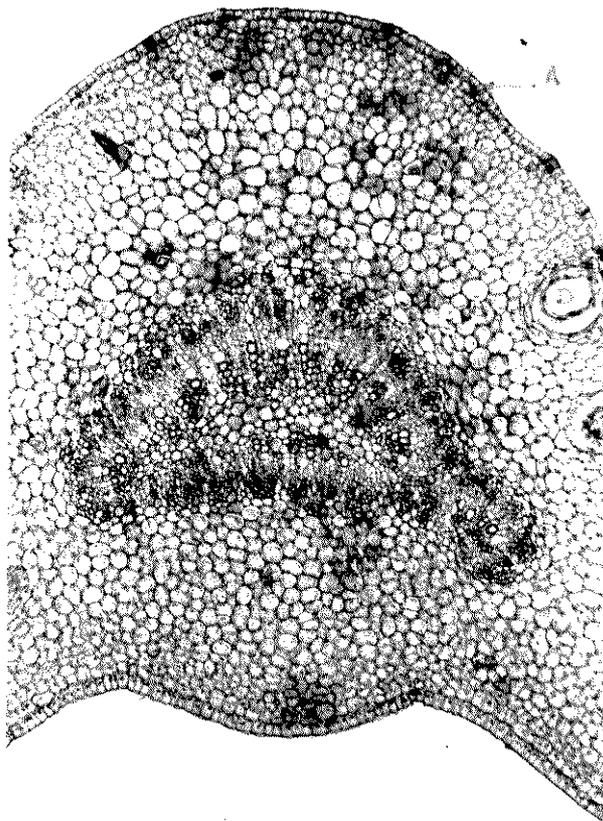


FIGURA 66 - Corte transversal do pecíolo jovem do cultivar Pera, na região mediana, vendo-se: A - epiderme uniestratificada; B - parênquima fundamental; C - tecidos vasculares dispostas em forma plano-convexa; D - glândula de óleo. (82 X)

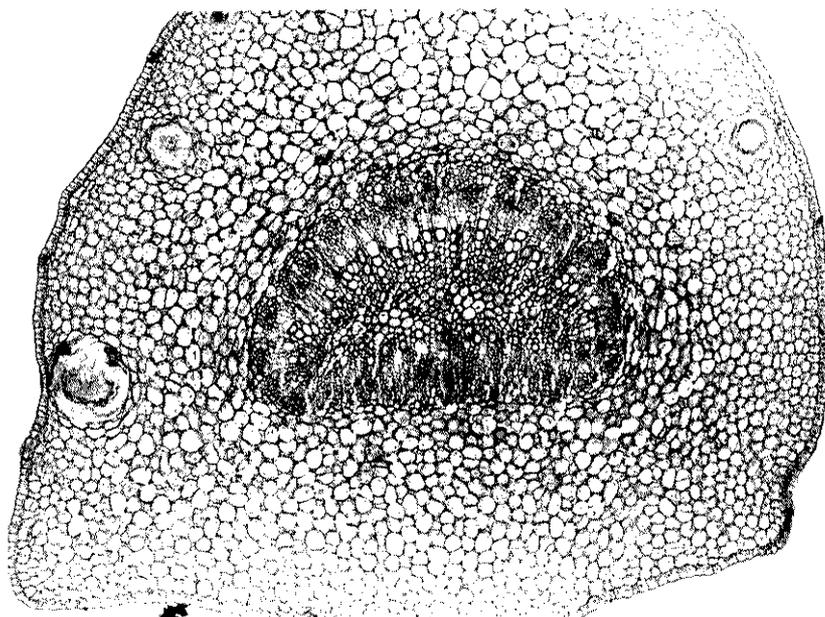


FIGURA 67 - Corte transversal do pecíolo jovem do cultivar Pera, na região do ápice. Observa-se a disposição plano-convexa dos elementos vasculares, circundados por células de parênquima. (40 X)

A Figura 68 ilustra um corte feito entre a região média e a base do pecíolo em expansão; embora as alas características da porção mediana estejam presentes, os feixes já se dispõem em círculo que é o arranjo característico da região basal. Observa-se ainda que tanto as células epidérmicas, quanto as do parênquima que circundam os tecidos vasculares já estão diferenciados.

Um corte na região do ápice do pecíolo adulto (Fig. 69), mostra que as regiões pericíclica e perime

dular são formadas por células de parênquima colenquimatoso, tecido também encontrado nas mesmas regiões da base do pecíolo. No terço médio as células da região pericíclica são fibras esclerenquimáticas. Cortes feitos em regiões intermediárias entre o ápice e a região mediana e entre esta e a base mostram a ocorrência de fibras esclerenquimáticas entremeadas por células de parênquima colenquimatoso. A ausência de fibras e o encurtamento dos vasos xilemáticos em determinadas porções destas regiões estão relacionadas com zonas de abscisão que ocorrem entre o ápice do pecíolo e a lâmina foliar e entre a base do pecíolo e o caule.

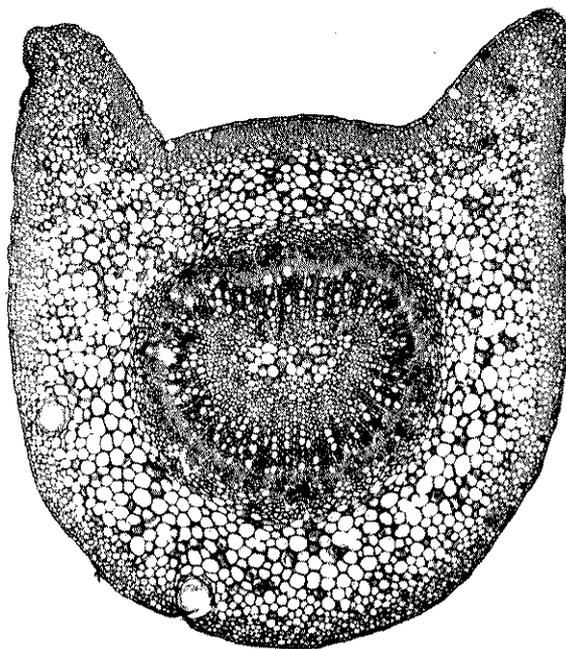


FIGURA 68 - Corte transversal do pecíolo em expansão do cultivar Pera, entre a região mediana e a base, onde se observa os feixes vasculares dispostos de forma circular. (10 X)

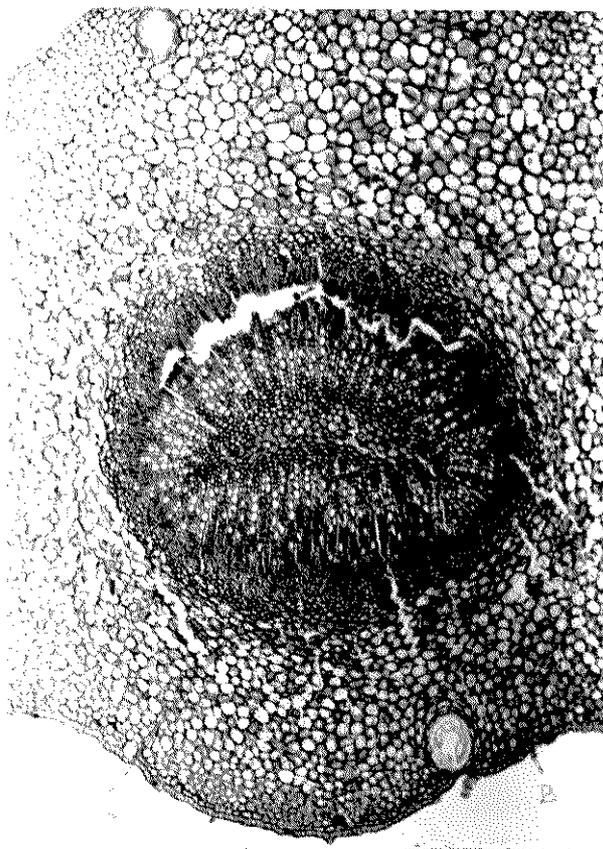


FIGURA 69 - Corte transversal do pecíolo adulto do cultivar Pera, na região do ápice, onde se observa que a região pericíclica (A) e a região perimedular (B) são formadas por células de parênquima colenquimatoso. (13 X)

DISCUSSÃO

As observações anatômicas feitas nas folhas dos cultivares Folha Murcha e Pera, nos três estádios de crescimento, mostraram que as folhas adultas diferem das folhas nos demais estádios de crescimento, por apresentarem cutícula espessa; pela diferenciação dos tecidos do mesófilo; por possuírem um maior número de elementos vasculares e ainda pela presença de fibras nas nervuras. Estes resultados são comparáveis aos obtidos por SCOTT *et alii* (1948) em folhas adultas do cultivar Valência.

A diferenciação dos tecidos do mesófilo é mais precoce nas folhas do cultivar Folha Murcha. Observando-se folhas em estágio jovem dos dois cultivares, verifica-se que no cultivar Folha Murcha (Fig. 5) o mesófilo já apresenta sinais de diferenciação, principalmente no parênquima paliçádico, ao passo que no cultivar Pera os tecidos estão totalmente indiferenciados (Fig. 41).

Os tecidos do mesófilo nas folhas adultas dos dois cultivares assemelham-se aos de outros cultivares cítricos descritos por SCHNEIDER (1968), WEBBER & FAWCETT (1935) e ESAU (1974).

Idioblastos de oxalato de cálcio são abundantes entre as células do parênquima paliçádico de ambos os cultivares. Contudo, são raros no mesófilo das folhas jovens do cultivar Pera. SCOTT *et alii* (1948), observaram que estes

cristais nas folhas do cultivar Valência, estão envolvidos por uma bainha de celulose e suspensas no centro da célula por tiras protoplasmáticas. A origem subepidérmica dos idioblastos de oxalato de cálcio, nas folhas de *Citrus*, foi descrita por BUTLER (1930). Entretanto, WEBBER & FAWCETT (1935), relataram que apesar dos cristais de oxalato de cálcio, nas folhas de *Citrus* terem origem subepidérmica, esses cristais são empurrados para a camada epidérmica nas folhas adultas, pelo crescimento das células do mesófilo. Tal característica, foi também observada nas folhas dos cultivares estudados (Figs. 12 e 49). Cristais de oxalato de cálcio ocorrem ainda entre as células do parênquima lacunoso, no parênquima cortical e na endoderme. Contudo, nestas regiões são menores e menos abundantes. Tais estruturas foram também observadas em folhas do cultivar Navel por SCOTT & BAKER (1947). Além desses cristais, nas folhas jovens dos cultivares Pera e Folha Murcha quando tratadas com álcool ou xilol, verificou-se a presença de hesperidina precipitada em formas de ráfides. ERICKSON (1968) relatou a presença de hesperidina em outros cultivares cítricos. HOROWITZ (1961) e ALBACH & REDMAN (1968 *apud* SCORA & CHANG, 1969) enfatizaram que hesperidina é um composto flavonóide, comumente encontrado em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, sendo utilizado nas atuais classificações taxonômicas.

Outra estrutura encontrada no mesófilo e na nervura principal das folhas dos dois cultivares estudados são as glândulas de óleo. A origem dessas glândulas, em folhas de *Citrus*, foi interpretada como esquisolisígena por SIECK

(1895, *apud* WEBBER & FAWCETT, 1935), SCOTT & BAKER (1947) e por SCOTT *et alii* (1948). Posteriormente, foi considerada como sendo de origem lisígena por ERICKSON (1968), SCHNEIDER (1968) e ESAU (1974). Em face, das cavidades serem resultantes da dissolução de células, preferiu-se considerar as glândulas de óleo das folhas dos cultivares estudados como sendo de origem lisígena. SCOTT *et alii* (1948) observaram que no ápice do cultivar Valência, uma grande glândula de óleo central substitui os tecidos vasculares. Esta característica foi também encontrada no ápice do cultivar Pera (Fig. 40), ao passo que no cultivar Folha Murcha ao invés da glândula ocorrem elementos vasculares (Fig. 4).

De modo geral, as regiões das folhas dos dois cultivares estudados apresentam características semelhantes. Diferem, entretanto, pela disposição dos elementos vasculares na nervura principal da região do terço médio, nos três estádios de crescimento. No cultivar Pera, os tecidos vasculares dispõem-se circularmente, formando um cilindro contínuo (Fig. 50), enquanto que no cultivar Folha Murcha os tecidos vasculares são interrompidos por células de parênquima, que dividem os elementos vasculares em duas porções (Fig. 15). O arranjo dos tecidos vasculares da região do terço médio do cultivar Pera é semelhante ao do cultivar Valência descrito por WEBBER & FAWCETT (1935) e por SCOTT *et alii* (1948). SCHNEIDER (1968) em seu estudo sobre a anatomia dos *Citrus* cita também essa mesma disposição dos elementos vasculares encontrada nas folhas do cultivar Pera. A diferença encontrada na disposição dos tecidos vasculares no terço médio do

cultivar Folha Murcha, pode estar relacionada ao enrolamento de suas folhas. A interrupção dos elementos vasculares em duas porções é iniciada nas folhas jovens (Fig. 7) acentuando-se a medida que a folha amadurece (Figs. 10 e 15). Provavelmente, a disposição dos elementos vasculares na folha do cultivar Folha Murcha, resulte numa menor força mecânica sobre os tecidos do mesófilo, favorecendo o seu enrolamento. Visto que nos demais cultivares cítricos os elementos vasculares se encontram dispostos em um cilindro contínuo.

As células epidérmicas dos cultivares estudados, em ambas as faces possuem características semelhantes às descritas por WEBBER & FAWCETT (1935). Estes autores ao descreverem a epiderme das folhas de *Citrus sinensis* diferenciam as células epidérmicas abaxiais das adaxiais pelo contorno mais regular destas e ainda pela presença de estômatos naquelas.

Nas folhas jovens de ambos os cultivares, as células epidérmicas possuem cutícula fina, que se torna levemente espessa nas folhas em expansão. Nas folhas adultas as células epidérmicas possuem cutícula espessa, revestida por cutina e cera (ESAU, 1974). O espessamento da cutícula é mais acentuado nas epidermes da região do bordo das folhas, sendo no cultivar Folha Murcha (Fig. 27) maior que no cultivar Pera (Fig. 62).

Embora as células epidérmicas dos dois cultivares sejam semelhantes quanto a forma, diferem quanto ao número por terem larguras desiguais. As médias dos números de células epidérmicas do cultivar Folha Murcha, são mostradas na

Tabela 1. Nas folhas jovens, as médias encontradas para cada uma das faces da epiderme diferiram significativamente em todas as regiões da folha, com exceção do bordo. Nas folhas em expansão, além do bordo, a região do ápice também não apresentou diferença significativa. Já nas folhas adultas, as médias dos números de células epidérmicas abaxiais diferiram significativamente das dos números de células epidérmicas adaxiais em todas as regiões das folhas.

No cultivar Pera (Tab. 2), a epiderme das folhas jovens, não apresenta diferenças significativas entre as médias dos números de células de cada uma das faces em quase todas as regiões das folhas. Nas folhas em expansão, foi onde ocorreu o maior número de diferenças significativas entre as médias dos números de células abaxiais e adaxiais.

Os resultados indicam que no cultivar Folha Murcha há um crescimento desigual, em largura, das células epidérmicas de ambas as faces, sendo este crescimento desigual muito mais acentuado do que nas células epidérmicas do cultivar Pera.

As células epidérmicas adaxiais, do cultivar Folha Murcha, são mais largas que as células epidérmicas abaxiais. Provavelmente, esta característica deve estar relacionada com o enrolamento das folhas deste cultivar, visto que as células abaxiais em maior número continuam a se desenvolver após as células da epiderme adaxial terem cessado seu desenvolvimento.

Entretanto, é necessário enfatizar que estes resulta

dos não expressam a relação entre todas as células da epiderme foliar, visto que as médias do número de células epidérmicas, obtidas neste estudo, representam apenas uma porção da epiderme foliar. Além disso, para que resultados mais conclusivos possam ser estabelecidos, é necessário que novos estudos sobre as células epidérmicas sejam feitos entre outros cultivares cítricos, a fim de se averiguar se as diferenças encontradas entre o número de células epidérmicas dos cultivares estudados estão relacionadas com o enrolamento das folhas do cultivar Folha Murcha.

Além das células epidérmicas comuns, ocorrem nesta camada, as células que cobrem as glândulas (Figs. 31 e 65). Tais células epidérmicas modificadas, ocorrem nas duas faces da epiderme de ambos os cultivares. HABBERLANDT (1898, *apud* WEBBER & FAWCETT, 1935) observou que tais células nas folhas de *Citrus* possuem paredes mais finas do que as demais células epidérmicas, facilitando desse modo, a saída de óleo. SCOTT & BAKER (1947) caracterizaram as células epidérmicas que cobrem as glândulas de óleo das folhas de laranja 'Navel' por serem mais translúcidas e por possuírem em seu conteúdo gotículas de óleo.

Os estômatos nas folhas dos cultivares estudados ocorrem principalmente na epiderme abaxial. Alguns são encontrados na epiderme adaxial dispostos sobre a nervura principal. A origem e desenvolvimento dos estômatos em folha de *Citrus sinensis* foi descrita por MCLEAN (1921) e por SCOTT *et alii* (1948).

A estrutura dos estômatos das folhas dos cultivares Folha Murcha e Pera é semelhante. As células guardas, em vista frontal, têm contorno elíptico e em corte transversal têm formato reniforme, sendo do tipo anomocítico (SCOTT & BAKER, 1947). Tais características foram também observadas por ABDALLA *et alii* (1978), em outros cultivares da espécie *Citrus sinensis*.

Com relação a densidade estomatal, esta foi maior nas folhas do cultivar Pera (544 estômatos por mm^2) que no cultivar Folha Murcha (474 estômatos por mm^2). Variações na densidade estomatal, entre cultivares da espécie *Citrus sinensis* foram relatadas por HIRANO (1931), que encontrou para o cultivar Navel 458 estômatos por mm^2 e para o cultivar Valência 504 estômatos por mm^2 . ERICKSON (1968) ao estudar a densidade estomatal destes mesmos cultivares encontrou para o cultivar Navel 500 estômatos por mm^2 e para o cultivar Valência 465 estômatos por mm^2 . Ambos os autores, enfatizam que esta variação na densidade dos estômatos ocorre até mesmo dentro de um mesmo cultivar, quando este é plantado em localidades diferentes. MONSELISE (1951) demonstrou que a densidade estomatal em folhas do cultivar Shamouti varia dentro de um único indivíduo, e concluiu ainda que as folhas expostas ao sol tem maior densidade de estômatos, que as folhas sombreadas. STINNO *et alii* (1974), com base nos estudos realizados sobre densidade estomatal de cultivares cítricos plantados em localidades diferentes, concluíram que a densidade estomatal é maior nas folhas dos indivíduos crescidos em solo seco e baixa umidade atmosférica. ESAU (1974)

ênfatizou que o número de estômatos é variável em diferentes folhas de uma mesma planta e em diferentes partes de uma mesma folha de acordo com as condições ambientais, e que por isso a densidade de estômatos tem pouco valor taxonômico. Com base nos estudos destes autores, é preferível não considerar o número de estômatos como características importantes para delimitar os dois cultivares estudados.

Os pecíolos dos cultivares estudados apresentam características anatômicas semelhantes. Zonas de abscisão ocorrem entre a base da folha e o pecíolo e, entre este e o caule. SCOTT *et alii* (1948) caracterizaram estas zonas nas folhas do cultivar Valência pela não lignificação das fibras pericíclicas, pela redução do cilindro vascular e pelo aumento do número de células do parênquima vascular. SCHNEIDER (1968) ao descrever o pecíolo de *Citrus* relatou que sua estrutura é muito semelhante a do caule e que as zonas de abscisão se caracterizam pela ausência de fibras pericíclicas e pelo encurtamento dos elementos xilemáticos o que concorda com o observado para as zonas de abscisão do pecíolo dos cultivares Pera e Folha Murcha.

CONCLUSÕES

Pelo estudo da anatomia foliar dos cultivares Folha Murcha e Pera, nos três estádios de crescimento, podemos concluir que o enrolamento das folhas do cultivar Folha Murcha, não foi acompanhado por modificações anatômicas na maioria das regiões da folha, visto que estas, apresentaram características semelhantes às das folhas do cultivar Pera. Apesar disso, algumas diferenças importantes e que estão provavelmente relacionadas com o enrolamento das folhas deste cultivar servem para distinguir os dois cultivares estudados:

- Nas folhas jovens do cultivar Folha Murcha, a diferenciação dos tecidos do mesófilo é mais precoce que nas folhas do cultivar Pera.

- Nas folhas do cultivar Folha Murcha ocorre um crescimento desigual entre a largura das células epidérmicas das duas faces, muito mais acentuado do que entre as epidermes do cultivar Pera, nos três estádios de crescimento das folhas.

- No terço médio das folhas do cultivar Folha Murcha, os elementos vasculares da nervura principal são interrompidos em duas porções por células de parênquima, ao passo que no cultivar Pera, os tecidos vasculares com formato circular, se dispõem em cilindro contínuo.

Considerando que no cultivar Folha Murcha a precoci

dade do desenvolvimento dos tecidos do mesófilo possa estar associada ao crescimento tardio das células da epiderme abaxial, que continua a se expandir após o desenvolvimento da epiderme adaxial e do mesófilo, estas características poderiam produzir uma distensão centrípeta em relação a nervura principal. Esta distensão é favorecida ainda pelo arranjo dos tecidos vasculares da nervura principal da região do terço médio, que por estarem separados em duas porções por células de parênquima, podem permitir uma maior elasticidade e conseqüentemente exercer uma menor força mecânica sobre os tecidos do mesófilo. É possível que estas características anatômicas favoreçam o enrolamento das folhas do cultivar Folha Murcha.

RESUMO

Foi feito um estudo comparativo da anatomia foliar dos cultivares Folha Murcha e de Pera, ambos pertencentes a espécie *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, com a finalidade de verificar se o caráter de enrolamento permanente das folhas do cultivar Folha Murcha é acompanhado por modificações anatômicas.

Para este estudo foram utilizadas folhas em três estádios de crescimento: folha jovem, em expansão e adulta. Em cada estágio de crescimento foram feitos cortes no ápice, terço médio, base e bordo da lâmina foliar e no pecíolo foram feitos cortes na região apical, mediana e basal.

Os resultados obtidos mostraram que as folhas destes cultivares apresentam características semelhantes em quase todas as regiões estudadas. Algumas diferenças foram, entretanto, notadas. Estas referem-se a largura das células epidérmicas; à disposição dos elementos vasculares da nervura principal na região do terço médio e à diferenciação dos tecidos do mesófilo, mais precoce nas folhas jovens do cultivar Folha Murcha.

SUMMARY

A comparative anatomical study was made of two orange cultivars Folha Murcha and Pera, both belonging to the species *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. The objective of the study was to determine whether the permanent rolling of the leaves of cultivar Folha Murcha is accompanied by anatomical modifications.

Leaves at three stages of development were used: young leaves, expanding leaves and adult leaves. At each growth stage, sections were cut at the apex, middle third, base and edge of the lamina. Sections of the apical, median and basal regions of the petiole were also made.

The results obtained showed that the leaves of these two cultivars are very similar in all the regions studied. Some differences were, however, noted. These included the width of the epidermal cells, the arrangement of vascular tissues of the midrib in the middle third region, the more precocious differentiation of the mesophyll cells in the young leaves of cultivar Folha Murcha.

BIBLIOGRAFIA

- ABDALLA, K.M.; G.R. STINO; M.M. EL-AZZOUNI & A.M. MOHSEN, 1978. Anatomical features of the stomatal apparatus in some *Citrus* species and cultivars. *Egypt. J. Hort.* 5(1):1-7.
- ARAÚJO, C.M. & H.D. VASCONCELLOS, 1974. Informações sobre a qualidade da laranja 'Folha Murcha' cultivada no Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Univ. Fed. Rur., Rio de Janeiro*, 4(1):19-28.
- BARRET, H.C. & A.M. RHODES, 1976. A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated *Citrus* and its close relatives. *Systematic Botany*, (1):105-136.
- BUCHERL, W., 1962. *Técnica Microscópica*. Ed. Polígono Ltd., São Paulo.
- BUTLER, E.J., 1930. Some aspects of the morbid anatomy of plants. *Ann. Appl. Biol.*, 17:175-212.
- CAMPELLO, C.R.; H.O. VASCONCELLOS & C.M. ARAÚJO, 1972. Estudo botânico do cultivar laranja 'Folha Murcha' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Anais do XXIII Congresso Nacional da Sociedade Botânica do Brasil:289-291.
- CHAMBERLAIN, C.J., 1938. *Methods in Plant Histology*. The University of Chicago Press, Chicago.

- ENGLER, A., 1896. Rutaceae. In: ENGLER, A. & K. PRANTL. "Die Natürlichen Pflanzenfamilien". Engelmann, Leipzig: 95-201.
- ENGLER, A., 1931. Rutaceae. In: ENGLER, A. & K. PRANTL. "Die Natürlichen Pflanzenfamilien". Segunda edição. Engelmann, Leipzig:187-359.
- ERICKSON, L., 1968. The general physiology of *Citrus*. In: The Citrus Industry. Univ. Calif. Press. (2):86-126.
- ESAU, K., 1974. *Anatomia das Plantas com Sementes*. Edgard Blucher e Ed. Univ. S. Paulo, São Paulo.
- GOMES, F.P., 1970. *Curso de Estatística Experimental*. Edit. Nobel, São Paulo.
- HIRANO, E., 1931. Relative abundance of stomata in *Citrus* and some related Genera. *Bot. Gaz.* 92(3):296-310.
- HODGSON, R.W., 1961. Taxonomy and nomenclature in *Citrus*. *Int. Org. Citrus. Virol. Proc.* 2:1-7.
- HODGSON, R.W., 1967. Horticultural varieties of *Citrus*. In: The Citrus Industry, Univ. Calif. Press. (1):431-591.
- HOROWITZ, R.M., 1961. Studies on the structure and bitterness of the glycosides of *Citrus*. Symposium on Biochemistry of plant phenolic substances. Colorado State Univ.:1-8.

- JOHANSEN, D., 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- LINNAEUS, C., 1753. *Species Plantarum*. Vol. 11, Holmie.
- MCLEAN, F.T., 1921. A study of the structure of the stomata of two species of *Citrus* in relation to citrus canker. *Bul. Torrey Bot. Club*, 48:101-106.
- MONSELISE, S.P., 1951. Some differences between sun and shade leaves of citrus trees. *Palestine Jour. Bot.*, 8:99-101.
- RAWLINS, T.E. & W.N. TAKAHASHI, 1952. *Technics of Plant Histochemistry and Virology*. The National Press, California.
- REECE, P.C., 1967. The Botany of *Citrus* and Wild relatives. In: *The Citrus Industry*, Univ. Calif. Press., (1):190-430.
- REECE, P.C., 1969. Classification of *Citrus*. *Proc. First Int. Citrus Symp.*, 1:429-434.
- REED, H.S. & J. DUFRENÓY, 1935. The effects of zinc and iron salts on the cell structure of mottled orange leaves. *Hilgardia*, 9(2):113-141.
- SCHNEIDER, H., 1968. The Anatomy of *Citrus*. In: *The Citrus Industry*, Univ. Calif. Press., (2):1-23.

- SCORA, R.W.; A.B. ENGLAND & D. CHANG, 1969. Taxonomic affinities within the "Rough" lemon group (*Citrus jambhiri* Lush.) as aided by gas chromatography of their essential leaf oils. *Proc. First Int. Citrus Symp.*, 1:441-453.
- SCOTT, F.M. & K. BAKER, 1947. Anatomy of "Washington Navel" orange rind in relation to water spot. *Bot. Gaz.*, 108(4):459-475.
- SCOTT, F.M.; M.R. SCHROEDER & F.M. TURREL, 1948. Development, cell shape, suberization of internal surface and abscission in the leaf of the "Valência" orange, *Citrus sinensis*. *Bot. Gaz.*, 109:381-411.
- STINNO, G.R.; M.M. EL-AZZOUNI; K.M. ABDALLA & A.M. MOHSEN, 1974. Varietal studies on the stomatal frequency of *Citrus* leaves in relation to zone of plantation in A. R. Egypt. *Egypt. J. Hort.*, 1(2):145-156.
- SWINGLE, W.T., 1943. The Botany of *Citrus* and its Wild relatives. In: *The Citrus Industry*, Univ. Calif. Press., (1):129-474.
- TANAKA, T., 1954. Species problem in *Citrus*. *Jap. Soc. Prom. Sci.*, Ueno, Tokio. 152 pp.
- TANAKA, T., 1961. *Citrologia. Semi-centennial commemoration papers on Citrus studies.* Citrologia Supporting Foundation, Osaka, Japan. 114 pp.

- TATUM, J.H.; E. BERREY & C.J. HEARN, 1974. Characterization of *Citrus* cultivars and separation of nucellar and zygotic seedlings by thin layer chromatography. *Proc. Florida State Hort. Soc.*, 87:75-81.
- TURREL, F.M., 1947. *Citrus* leaf stomata: structure, composition and pore size in relation to penetration of liquids. *Bot. Gaz.*, 108:476-483.
- VASCONCELLOS, H.O.; L.N. DUARTE & C.M. ARAÚJO, 1975. Estudo cromossômico de (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), laranja 'Folha Murcha'. *Anais do III Congresso Brasileiro de Fruticultura*, (2):640-643.
- WEBBER, I.E. & H.S. FAWCETT, 1935. Comparative histology of healthy and psorosis-affected tissues of *Citrus sinensis*. *Hilgardia*, 9(2):71-93.
- WOLFE, H.S., 1959. Some problems in *Citrus* nomenclature. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 7:18-21.