

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

RAFAEL COSTA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA DE *SOLANUM* CLADOS
GARDNERI E THOMASIIFOLIUM (SOLANACEAE)**

Recife

2014

RAFAEL COSTA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA DE *SOLANUM CLADOS*
GARDNERI E *THOMASIIFOLIUM* (SOLANACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientador(a): Profa Dra. Maria de Fátima Agra

Recife
2014

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Silva, Rafael Costa

Caracterização morfoanatômica de *Solanum cladodes Gardneri* e *Thomasiifolium* (Solanaceae). / Recife: O Autor, 2014.

63 folhas: il, fig., tab.

Orientadora: Maria de Fátima Agra

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biologia Vegetal, Recife, 2014.

Inclui referências

- 1. Solanaceae 2. Botânica- classificação 3. Filogenia I. Agra, Maria de Fátima (orient.) II. Título**

583.952

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017- 522

RAFAEL COSTA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA DE *SOLANUM CLADOS GARDNERI* E
THOMASIIFOLIUM (SOLANACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Aprovada em: 26 / 02 / 2014

COMISSÃO EXAMINADORA

Orientadora: Prof. Dra. Maria de Fátima Agra- UFPB

1º examinador: Prof. Dr. José Iranildo Miranda de Melo- UEPB

2º examinador: Prof. Dra. Marccus Alves- UFPE

1º suplente: Prof. Dra. Maria Regina de Vasconcellos Barbosa- UFPB

2º suplente: Prof. Dra. Tânia Maria Sarmiento da Silva- UFRPE

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela constante presença, bondade e amor que duram para sempre. *“Porque dele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente. Amém.”* (Romanos 11:36)

Agradeço formalmente às instituições que tornaram este trabalho possível. Em primeiro lugar À Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do qual me orgulho fazer parte. À Universidade Federal da Paraíba e ao Laboratório de Taxonomia e Farmacobotânica que tem sido meu ambiente de trabalho ao longo dos últimos sete anos. Agradeço a CAPES pela Bolsa de Mestrado.

À minha orientadora Profa. Maria de Fátima Agra, por ter em mim depositado confiança mais uma vez, aceitando-me para mais dois anos de mestrado. Agora totalizamos sete anos de convivência, aprendizado profissional e pessoal, muitos ditados e metáforas que me acompanharão para o resto da vida e provavelmente usarei com meus próprios orientandos no futuro, feijoadas, viagens, conversas e risadas. Muito obrigado por ter me introduzido no mundo das Solanaceae.

Aos curadores e funcionários dos herbários visitados pelo livre acesso às coleções e em especial a Regina Celia Viana, curadora do IAN, pela maravilhosa recepção e por tratar um pesquisador como pesquisador.

Aos professores do PPGBV que fizeram parte da minha formação no mestrado em especial ao Prof. Marcus Alves, pelos ensinamentos e conselhos valiosos.

Aos professores do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal da Paraíba, Prof^o. Dr. Severino Jackson Guedes de Lima e Prof^o. Tibério Andrade dos Passos, pela possibilidade de realizar a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Aos membros da banca, Prof. Dr. José Iranildo Miranda, Prof. Dr. Marccus Alves, Profa Dra. Tania Sarmento e Profa. Dra. Maria Regina Vasconcellos, por terem aceitado o convite e pela valiosa contribuição.

Aos amigos do Laboratório de Taxonomia e Farmacobotânica, a velha geração: Kiriaki Nurit, Ionaldo Basílio, Nathália Diniz, Géssica Costa, Niara Porto, Fernanda Gláucia e Tarliane Pedrosa, e não poderia deixar de expressar meu agradecimento especial a Nathália companheira de aventuras, coletas, congressos e parques de

diversão e à Géssica que mesmo não sendo do laboratório a um certo tempo, continua sendo uma ótima amiga, muito obrigado pelas conversas, conselhos e risadas. À Ionaldo pelas ideias e contribuição neste trabalho; e a nova geração: Valéria Sampaio companheira de PPGBV por toda a ‘dissimulação’, Itamar Barbosa, pelos cafés e loucuras no laboratório, Anauara Lima, Vanessa Bomfim, Jayanne Miranda e Rosyris Diniz, que já foram minhas ‘alunas’ e também me proporcionam boas risadas.

Aos amigos que conquistei na pós-graduação em especial à Carol Pessoa, Déborah Oliveira, Renata Chikowski pela amizade, hospedagem, a certeza de bons momentos de descontração e convivência desde a Residência das Palmeiras. Agradeço igualmente à Lumena Duda que na reta final dividiu as mesmas tensões e como sempre, muitas risadas. Sem vocês o mestrado não teria sido o mesmo.

A minha querida Fernanda Formiga, companheira de todos os momentos, pelo amor, respeito, paciência e prontidão em todas as fases desse processo, que às vezes parece interminável. Suas palavras de incentivo fizeram toda a diferença nessa jornada. Meus agradecimentos e meu amor.

Aos meus queridos pais, Silvio e Mércia, que são meu porto seguro, sonham os mesmos sonhos que eu e acreditam que posso conquista-los. Obrigado pelo amor, paciência e dedicação sem limites.

A todos que de alguma forma contribuíram na elaboração desse trabalho.

RESUMO

Para avaliar a significância taxonômica de caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos e da anatomia foliar em novos agrupamentos de espécies de *Solanum* subg. *Leptostemonum*, um estudo morfoanatômico aliado a uma análise multivariada foi conduzindo em 11 espécies de *Solanum* clados Gardneri (*S. agrarium* Sendtn., *S. gardneri* Sendtn., *S. polytrichum* Moric, *S. schomburghii* Sendtn., *S. stenandrum* Sendtn., *S. talarense* Svenson e *S. tetramerum* Dunal) e Thomasiifolium (*S. buddleifolium* Sendtn., *S. paraibanum* Agra, *S. rupicola* Sendtn. e *S. thomasiifolium* Sendtn.). As análises de agrupamento hierárquico mostraram a formação de dois agrupamentos principais A e B correspondentes aos clados Gardneri (A) e Thomasiifolium (A). Apesar de o clado Gardneri ter obtido bom índice de bootstrap, as relações entre *S. schomburghii* e *S. polytrichum* com as demais espécies do clado Gardneri não são bem definidas. No clado Thomasiifolium há uma clara distinção entre os grupos formados por *S. paraibanum* e *S. rupicola*, e *S. thomasiifolium* e *S. buddleifolium*. As espécies do grupo A, pertencentes ao clado Gardneri, apresentam corola reflexa, sementes comprimidas, estômatos levemente acima do nível das células epidérmicas, pecíolo plano-convexo. As quatro espécies do grupo B apresentam unidades simpodiais plurifoliadas, sementes lenticuladas, estômatos ao nível da epiderme, pecíolo biconvexo-costelado. As espécies dos dois grupos apresentaram estômatos anisocíticos, mesofilo dorsiventral, colênquima angular e sistema vascular bicolateral que são caracteres comuns ao gênero. O estudo anatômico foliar dessas espécies, bem como as análises fenéticas conduzidas neste trabalho confirmam a importância da anatomia como subsídio para a taxonomia e a filogenia de *Solanum*.

Palavras-chave: *Solanum* subg. *Leptostemonum*. Morfoanatomia. Análise multivariada.

ABSTRACT

In order to evaluate the taxonomic significance of vegetative and reproductive morphology and leaf anatomy in new groupings of species of *Solanum* subg. *Leptostemonum* a morphoanatomic study combined with a multivariate analysis was conducted on 11 species of *Solanum* clades Gardneri (*S. agrarium* Sendtn., *S. gardneri* Sendtn., *S. polytrichum* Moric, *S. schomburghii* Sendtn., *S. stenandrum* Sendtn., *S. talarense* Svenson and *S. tetramerum* Dunal) and thomasiifolium (*S. buddleifolium* Sendtn., *S. paraibanum* Agra, *S. rupicola* Sendtn. and *S. thomasiifolium* Sendtn.). The hierarchical cluster analysis showed the formation of two major groups, A and B, corresponding to clades Gardneri (A) and Thomasiifolium (B). Despite the clade Gardneri have obtained good index of bootstrap, relations between *S. schomburghii* and *S. polytrichum* with other species in the clade Gardneri are not well defined. In clade Thomasiifolium there is a clear distinction between the groups formed by *S. paraibanum* and *S. rupicola*, and *S. thomasiifolium* and *S. buddleifolium*. The species of group A, belonging to clade Gardneri present reflex corolla, flattened seeds, stomata slightly above the level of the epidermal cells and plane-convex petiole. The four species of group B show plurifoliate sympodial units, lenticulate seeds, stomata at the level of the epidermis, biconvex-costelate petiole. The species of the two groups showed anisocytic stomata, dorsiventral mesophyll, angular collenchyma and bicollateral vascular system, that are common characters to the genus *Solanum*. The leaf anatomical study of these species, as well as the phenetic analyzes conducted in this study, confirm the importance of anatomy as a support to the taxonomy and phylogeny of *Solanum*.

Key-words: *Solanum* subg. *Leptostemonum*. Morphoanatomy. Multivariate analysis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Flores e frutos de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-B. *S. buddleifolium*: A. Ramo florido com flor estaminada; B. Ramo frutífero evidenciando bagas com epicarpo lustroso. C. Ramo florido com flor estaminada de *S. thomasiifolium*. D. Ramo florido de *S. agrarium* com flor hermafrodita. E-F. *S. paraibanum*: E. Ramo florido com flor hermafrodita; F. Ramo frutífero. G. Ramo florido de *S. gardneri* com flor hermafrodita. H. Ramo florido de *S. polytrichum* com flor hermafrodita. I. Ramo florido de *S. stenandrum* com flor hermafrodita..... 27

FIGURA 2 - Sementes de algumas espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A. Semente achatada de *S. agrarium*; B. Semente lenticulada de *S. buddleifolium*; C. Semente achatada de *S. gardneri*; D. Semente lenticulada de *S. paraibanum*; E. Semente lenticulada de *S. rupincola*; F. Semente achatada de *S. schomburghii*; G. Semente achatada de *S. stenandrum*; H. Semente achatada de *S. talarense*; I. Semente lenticulada de *S. thomasiifolium*..... 28

FIGURA 3 - Epiderme em vista frontal das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-B. Folha anfiestomática de *S. agrarium*: A. Face adaxial com estômatos anisocíticos; B. Face abaxial com estômatos anisocíticos. C-D: Folha hipostomática de *S. paraibanum*: C. Face adaxial; D. Face abaxial com estômatos anisocíticos. E-F: Folha hiposestomática de *S. polytrichum*: E. Face adaxial com tricomas; F. Face abaxial com estômatos anisocíticos. G-H. Folha hipostomática de *S. rupincola*: G. Face adaxial; H Face abaxial com estômatos anomocíticos 30

FIGURA 4 - Epiderme em vista frontal das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-B. Folha anfiestomática de *S. stenandrum*: A. Face adaxial com estômatos anisocíticos; B. Face abaxial com estômatos anisocíticos e anomocíticos. C-D. Folha anfiestomática de *S. talarense*: C. Face adaxial com estômatos anisocíticos; D. face abaxial com estômatos anisocíticos e anomocíticos. E-F: Folha hipostomática de *S. thomasiifolium*: E. Face adaxial; F. Face abaxial com estômatos anisocíticos..... 31

FIGURA 5 - Epiderme em vista frontal (Microscopia eletrônica de varredura) de espécies de *Solanum* clado Thomasiifolium. A-B: *S. buddleifolium*: A. Detalhe do estômato na face adaxial; B. Tricoma estrelado multiangulado na face abaxial. C-D: *S. thomasiifolium*: C. Face adaxial evidenciando tricomas estrelados multiangulados com raio central glandular. D. Face abaxial evidenciando estômatos. E-F: *S. paraibanum*. E. Face adaxial evidenciando tricoma porrecto-estrelado com raio central multicelular; F. Face abaxial evidenciando estômatos e tricoma porrecto-estrelado com raio central multicelular. 32

FIGURA 6 - Epiderme em vista frontal (Microscopia eletrônica de varredura) de espécies de *Solanum* clado Gardneri. A-B: *S. gardneri*: A. Face adaxial com tricomas estrelado; B. Face abaxial evidenciando estômatos. C-E: *S.*

schomburghii: C. Face adaxial com estômatos; D. Face abaxial evidenciando estômatos; E: Face abaxial evidenciando indumento tomentoso com tricomas porrecto-estrelados de raio central reduzido. F-H: *S. tetramerum*: F: Face abaxial evidenciando indumento tomentoso com tricomas multiangulados. G. Face adaxial com estômatos; H. Face abaxial evidenciando estômatos.
 33

FIGURA 7 - Nervura e mesofilo de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-G: Mesofilos dorsiventrals: A. *S. agrarium*; B. *S. buddleifolium*; C. *S. paraibanum*; D. *S. rupincola*; E. *S. schomburghii*; F. *S. stenandrum*; G. *S. thomasiifolium*. H-I. Estômatos em seção transversal: H. *S. buddleifolium* evidenciando estômatos na face adaxial ao nível das células epidérmicas; I. *S. agrarium* evidenciando estômatos na face abaxial, acima do nível das células epidérmicas. J-R: Nervuras biconvexas: J. *S. buddleifolium*; K. *S. paraibanum*; L. *S. thomasiifolium*; M. *S. agrarium*; N. *S. gardneri*; O. *S. schomburghii*; P. Detalhe da nervura *S. polytrichum* evidenciando colênquima angular abaixo da epiderme; Q. Detalhe da nervura *S. polytrichum* evidenciando o sistema vascular bicolateral; R. Detalhe da nervura de *S. paraibanum* evidenciando feixes esclerenquimáticos ao redor dos feixes vasculares.....35

FIGURA 8 - Pecíolo de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-D: Pecíolos com contorno biconvexo costelado de espécies do clado Thomasiifolium: A. *S. buddleifolium*; B. *S. paraibanum*; C. *S. rupincola*; D. *S. thomasiifolium*. E-K: Pecíolos com contorno plano-convexo de espécies do clado Gardneri: E. Pecíolo alado de *S. agrarium*; F. Pecíolo costelado de *S. gardneri*; G. *S. polytrichum*; H. Pecíolo costelado de *S. schomburghii*; I. Pecíolo costelado de *S. stenandrum*; J. Pecíolo alado de *S. talarense*; K. *S. tetramerum*. L. Detalhe do pecíolo de *S. polytrichum* evidenciando idioblasto com areia cristalina..... 37

FIGURA 9 - Fenograma gerado pela análise de agrupamento com base nos dados morfológicos e anatômicos das folhas das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. Distância euclidiana com coeficiente de correlação fenética de 0,94. Os números nos nós correspondem ao valor de bootstrap..... 39

GRÁFICO 1 - Gráfico de dispersão mostrando a relação entre as médias das medidas de comprimento e largura dos estômatos das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. 40

QUADRO 1 - Tabela 1- Amostras representativas dos espécimes de *Solanum* examinados nas análises anatômicas. 20

QUADRO 2 - Matriz de presença (1) e ausência (0) dos caracteres morfológicos gerais e anatômicos foliares de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. 34

QUADRO 3 - Caracteres anatômicos foliares das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. 41

QUADRO 5 - Análise do teste t das espécies de Solanum clados Gardneri e Thomasiifolium.....	43
--	-----------

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
1.1.1 O GÊNERO <i>SOLANUM</i> L.....	14
1.1.2 <i>SOLANUM</i> SUBG. <i>LEPTOSTEMONUM</i> (DUNAL) BITTER.....	15
1.1.3 ANATOMIA VEGETAL COMO SUPORTE À TAXONOMIA	17
1.2 OBJETIVOS	18
1.2.1 OBJETIVO GERAL	18
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
1.3 METODOLOGIA.....	19
1.3.1 COLETAS BOTÂNICAS E OBSERVAÇÕES DE CAMPO	19
1.3.2 TRATAMENTO DA ANÁLISE MORFOLÓGICA E ANATÔMICA	21
1.3.3 ANÁLISES FENÉTICAS	22
2 RESULTADOS	22
2.1 ANÁLISES DA MORFOLOGIA GERAL	22
2.2 ANÁLISE DA ANATOMIA FOLIAR.....	27
3 DISCUSSÃO	43
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO A - ARTIGO PUBLICADO NO PERÍODICO BOTANY	54

1 INTRODUÇÃO

Estudos moleculares recentes têm ajudado a identificar grupos monofiléticos representativos no gênero *Solanum*, como é o caso do clado *Leptostemonum*. Foi demonstrado que tal clado é composto por 14 grupos monofiléticos principais. Destes, se destacam os clados *Thomasiifolium* (*S. buddleifolium* Sendtn., *S. paraibanum*, *S. rupicola* Sendtn. e *S. Thomasiifolium* Sendtn.) e *Gadneri* (*S. agrarium* Sendtn., *S. gardneri* Sendtn., *S. polytrichum* Moric, *S. schomburghii* Sendtn. e *S. stenandrum* Sendtn.) que são novos agrupamentos de espécies que, em tratamentos anteriores, pertenciam a diferentes seções de *Solanum* subg. *Leptostemonum*. Esses novos clados são difíceis de definir morfológicamente e, nos tratamentos propostos para o grupo, os dados anatômicos têm sido negligenciados, os quais poderiam constituir uma importante fonte de informações para a sistemática do grupo. Estudos morfoanatômicos que forneçam subsídios à delimitação dos clados *Gardneri* e *Thomasiifolium* foram realizados com o objetivo de contribuir para uma delimitação morfológica e anatômica, como também para um maior conhecimento da taxonomia destes clados.

Assim, esta dissertação está organizada da seguinte forma:

Fundamentação teórica: Onde os temas concernentes à Sistemática e a taxonomia são abordados. Há informações sobre sistemática, distribuição geográfica, importância econômica, um breve histórico e comentários sobre a importância da anatomia em estudos sistemáticos.

Capítulo I- Corresponde ao estudo morfoanatômicos, aliado a uma análise multivariada, que foi conduzindo em 11 espécies de *Solanum* clados *Gardneri* e *Thomasiifolium* realizado para avaliar a significância taxonômica de caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos e da anatomia foliar em novos agrupamentos de espécies de *Solanum* subg. *Leptostemonum*, Estes resultados obtidos ao longo da pesquisa geraram o manuscrito intitulado: Importância taxonômica da morfologia vegetativa e reprodutiva e da anatomia foliar em espécies de *Solanum* clados *Gardneri* e *Thomasiifolium*.

Além dos capítulos listados acima, são apresentados no final da dissertação artigos publicados no período de desenvolvimento da dissertação instruções para as publicações do periódico (ANEXOS I)

1.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1.1 O gênero *Solanum* L.

Solanum foi proposto por Linnaeus, na primeira edição de *Species Plantarum* (1753), com 23 espécies. Nessa mesma obra o autor dividiu o gênero em dois subgrupos: *Inermia* e *Spinosa*, levando em consideração a presença ou ausência de acúleos, caracteres de grande importância que ainda são utilizados nos tratamentos atuais para o gênero. Esta subdivisão foi apoiada por Dunal (1813), com uma pequena modificação na terminologia de *Spinosa* para *Aculeata*.

Posteriormente, um trabalho de grande relevância para Solanaceae, principalmente para *Solanum*, foi realizado por Sendtner (1846) no seu tratamento para a *Flora Brasiliensis*, na qual descreveu 199 espécies do gênero e apresenta um sistema de classificação baseado na presença ou ausência de acúleos, morfologia das anteras e foi o primeiro a levar em consideração o indumento, como característica delimitante do grupo. Neste tratamento, ele propõe as divisões *Hypocritica*, *Leptostemona* e *Pachystemona*.

Outra grande contribuição para *Solanum*, foi o trabalho de Dunal (1852), que apresenta uma visão mundial do gênero. Além disso, o autor propõe categorias infragenéricas, sem hierarquias claramente definidas. Nesse trabalho o autor, em concordância com o trabalho de Sendtner (1846), propôs as divisões *Pachystemonum*, onde incluiu espécies inermes e com anteras oblongas, e *Leptostemonum*, espécies aculeadas com anteras atenuadas para o ápice, onde foram agrupadas muitas das espécies que atualmente compõem o subgênero *Leptostemonum*.

A categoria taxonômica “seção” foi utilizada no gênero *Solanum* pela primeira vez neste tratamento. Seithe (1962), baseando-se na morfologia dos tricomas propôs uma classificação que agrupavam numa divisão as plantas que apresentavam tricomas estrelados (*Stellatopilum*) e numa outra divisão aquelas com tricomas simples (*Solanum*).

D’Arcy (1972) formalizou as divisões infragenéricas de *Solanum* com suas lectotipificações. Em seu trabalho, o autor propôs uma sinopse provisória do gênero. Este tratamento ainda é comumente utilizado por uma grande parte dos taxonomistas em *Solanum*. Ele dividiu o gênero em sete subgêneros e 52 seções, baseado em

caracteres considerados mais eficientes para classificar tais divisões. Desses sistemas de classificação, apenas Seithe (1962) especificou as espécies a serem incluídas nas subdivisões.

No tratamento mais recente para o gênero, Nee (1999), trabalhando apenas com as espécies do Novo Mundo, divide o gênero em três subgêneros, *Solanum* subg. *Bassovia*, subg. *Leptostemonum* e subg. *Solanum*, usando caracteres como indumento, arquitetura foliar e morfologia da inflorescência.

Desde a monografia de Dunal (1852), centenas de trabalhos taxonômicos em *Solanum* têm sido desenvolvidos a nível seccional e tratamentos florísticos regionais. Monografias seccionais recentes incluem: sects. *Lepidotum* (Dunal) Seithe e *Cernuum* Carv.(CARVALHO, 1996); sect. *Allophylla* (Child) Bohs (BOHS, 1990); sect. *Pachyphylla* Dunal (como *Cyphomandra*, BOHS, 1994); sect. *Pteroidea* Dunal (KNAPP; HELGASON, 1997); sect. *Geminata* (KNAPP, 2002); sect. *Erythrotrichum* (AGRA, 2004); sect.. *Regmandra* (BENNET, 2008) Sect. *Gonatotrimum* (STERN et al, 2013).

1.1.2 *Solanum* subg. *Leptostemonum* (Dunal) Bitter

Solanum subg. *Leptostemonum* foi formalmente proposto por Bitter (1913) que elevou a seção *Leptostemonum* proposta por Dunal (1852), a nível de subgênero. As sinapomorfias que definem o grupo são as anteras atenuadas para o ápice, a presença de acúleos e o indumento composto de tricomas estrelados. Tais caracteres tem sido constantes, e vem sendo empregados nos tratamentos taxonômicos para o subgênero desde Linnaeus, que colocou as espécies atualmente pertencentes ao grupo em *Spinosa*.

O tratamento de maior relevância com as espécies do subgênero para o Brasil foi o de Sendtner (1846), no tratamento para a *Flora Brasiliensis*, no qual estabelece a Divisão *Leptostemona*, na qual incluiu 80 espécies subordinadas a três subdivisões. Nesta divisão são consideradas sinapomorfias, a presença de acúleos, as anteras atenuadas com poros diminutos.

Entretanto, o trabalho mais abrangente para o subgênero foi realizado por Whalen (1984), que propôs uma filogenia hipotética com base na morfologia, dividiu o subgênero em 34 grupos de espécies, no qual listou as espécies componentes de

cada grupo. De acordo com D'Arcy (1972), o subgênero *Leptostemonum* está formado por 22 seções formadas por espécies que apresentam anteras cônicas, tricomas estrelados e que são frequentemente aculeadas.

Em tratamento mais recente, Nee (1999), trabalhando apenas com as espécies do Novo Mundo, reconheceu dez seções dentro de *Solanum* subg. *Leptostemonum*, as quais apresentam registros de ocorrência para o território brasileiro.

Estudos moleculares têm ajudado a identificar grupos monofiléticos representativos no subgênero *Leptostemonum*, como demonstrado por Levin et al. (2006) que, numa tentativa de construir a filogenia molecular do subgênero, obteve 10 principais clados do subgênero, utilizando apenas espécies do Velho mundo.

Posteriormente, numa amostragem mais ampla com espécies de grupos não representados por Levin et al. (2006), principalmente das espécies brasileiras e neotropicais, Stern et al. (2011) obteve 14 clados bem suportados que, em sua maioria, correspondem àqueles já propostos por Levin et al. (2006). Nessa amostragem, representantes das seções *Acanthophora* Dunal, *Persicariae* Dunal e *Polytrichum* Child aparecem como parte do clado Gardneri, e algumas espécies de *Micracantha* e *Persicariae* Dunal como parte do clado Thomasiifolium.

Os membros do clado Gardneri são espécies nativas do Brasil, Caribe e uma espécie é do norte do Peru. Definir o clado Gardnerii morfologicamente é difícil. As possíveis características que unem essas espécies são: caule delgado, hábito herbáceo a arbustivo, acúleos retos, comumente aciculares, folhas pequenas em muitas espécies; inflorescências simples, paucifloras, laterais; cálices do fruto acrescentes e preferencia por habitats áridos, apenas uma espécie ocorre em ambientes da Amazônia (*S. schomburghii*). As espécies brasileiras que compõem o clado Gardneri são: *Solanum agrarium* Sendtn. (seção *Acanthophora*), *S. gardneri* Sendtn. (*Persicariae*), *S. polytrichum* Moric. (*Polytrichum*), *S. stenandrum* Sendtn. (*Acanthophora*) e *S. schomburghii* Sendtner (*Persicariae*).

O clado Thomasiifolium é um dos mais difíceis de definir morfologicamente, pois inclui espécies de dois grupos muito distintos, ambos encontrados no leste do Brasil. As espécies desse clado compartilham unidades simpodiais plurifoliadas, flores lilases a azuis, violetas e alvas, com corolas petalóides e também levemente coriáceas. Nesse grupo foram incluídas duas espécies de lianas (*S. paraibanum* Agra e *S. rupicola* Sendtn.), com acúleos recurvos, frutos grandes, acima de 5 cm de diâmetro, epicarpo com indumento hirsuto, e sementes grandes e negras, 3-4 mm

compr. Também posicionados nesse clado, ocorrem duas espécies (*S. thomasiifolium* Sendtner e *S. buddleifolium* Sendtner) exclusivas da flora brasileira, pertencentes à seção *Persicareae*, que apresentam hábito arbustivo, acúleos retos e menores, frutos glabros com 1,5 a 2,0 cm de diâmetro e sementes reniformes, beges, com 2,0-2,5 mm.

Estudos taxonômicos e morfoanatômicos que forneçam subsídios à delimitação dos clados *Gardneri* e *Thomasiifolium* são necessários para enriquecer o conhecimento do gênero *Solanum*, especialmente do subgênero *Leptostemonum*, uma vez que os resultados obtidos nas análises moleculares tem posicionado em um mesmo clado espécies até então pertencentes a seções distintas, evidenciando a importância da análise dos caracteres morfoanatômicos, ainda inexistentes para essas taxa, que, sem dúvida, poderão contribuir para uma delimitação morfoanatomica como também para um maior conhecimento da taxonomia dos clados *Gardneri* e *Thomasiifolium*.

1.1.3 Anatomia vegetal como suporte à taxonomia

De acordo com Dickinson (1975), em seu trabalho sobre as bases da filogenia em angiospermas, numerosos caracteres anatômicos tem tido uma valor sistemático em diferentes táxons, citando como exemplos características da cutícula e da epiderme e anexos, como os tipos de tricomas e estômatos, além de características do mesofilo (tipos, formas das células, números de camadas), presença de estruturas secretoras e cristais, padrões de venação e arranjos dos sistemas vasculares nas folhas e pecíolo.

A utilização da anatomia vegetal em sistemática data de 150 anos e é útil tanto para apoiar a identificação prática, quanto para a caracterização das relações filogenéticas entre as plantas (JUDD ET AL. 1999), especialmente quando associados aos aspectos ecológicos e comparativos (METCALFE; CHALK, 1983).

Segundo Judd (2002), os caracteres morfológicos são usados para propor hipóteses e relações filogenéticas, podendo ser encontrados em todas as partes das plantas, vegetativas e reprodutivas. Carlquist (1961) menciona que as folhas são órgãos anatomicamente variáveis, e que esta variação é, às vezes, específica para gêneros, espécies ou mesmo família.

Estudos de aspectos da morfologia da epiderme e a sua importância tem sido realizados em *Solanum* desde Solereder (1908), Roe (1972) até McDowell et al. (2011). A morfologia e a importância dos tricomas em *Solanum* tem importância taxonômica, sendo utilizada como caráter diagnóstico para delimitação a nível genérico e específico, bem como, na correlação entre a morfologia dos tricomas e a transcrição gênica para produção de metabólitos especializados como flavonoides encontrados em algumas espécies de *Solanum* subg. *Leptostemonum* por Silva et al. (2002, 2004).

A importância dos caracteres microscópicos da epiderme foliar e seus anexos têm sido reconhecida por diversos taxonomistas, e tem se mostrado relevante em alguns grupos taxonômicos, proporcionando uma ferramenta adicional, não apenas para estudos sistemáticos (STACE, 1984). Os caracteres epidérmicos de *Solanum*, especialmente os tricomas, são reconhecidos como uma ferramenta válida para estudos taxonômicos do gênero contribuindo não só para delimitações infragenéricas e infraespecíficas (ROE, 1972; SEITHE, 1962, 1979), como também no controle de qualidade de drogas vegetais (ARAÚJO ET AL. 2010). Poucos estudos têm sido realizados focando na anatomia da epiderme foliar em *Solanum*, com destaque para aqueles realizados para a seção *Acanthophora* (GRANADA-CHACON; BENITEZ-ROJAS, 2005), seção *Crinitum* (ARAÚJO ET AL., 2010), seção *Polytrichum* (NURIT-SILVA; AGRA, 2011) e algumas espécies de *Brevantherum* (SAMPAIO; AGRA, 2013)

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Fornecer subsídios à delimitação dos clados *Gardneri* e *Thomasiifolium* com apoio de uma análise multivariada da morfologia dos caracteres vegetativos e da anatomia da epiderme foliar e seus anexos.

1.2.2 Objetivo específico

- Contribuir com o conhecimento anatômico do gênero *Solanum*
- Identificar os caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos que possam apoiar a filogenia proposta por Stern et al.;
- Identificar os caracteres anatômicos da epiderme foliar e seus anexos que possam apoiar a filogenia proposta por Stern et al.;
- Identificar as principais inclusões celulares presentes nas folhas e estruturas do caule.

1.3 METODOLOGIA

1.3.1 Coletas Botânicas e Observações de Campo

Para o presente trabalho foram realizadas expedições de campo para coletas botânicas e observações de campo. As coletas foram realizadas nos estados de Bahia (*S. agrarium*, *S. polytrichum*, *S. rupincola*) Paraíba (*S. paraibanum*), Pernambuco, Sergipe (*S. thomasiifolium*). Na ocasião, foram realizadas observações de campo para obtenção de informações essenciais ao entendimento do grupo como dados morfológicos, fenológicos e ecológicos, como também foram tomadas fotos do material.

Parte das amostras coletadas foi herborizada segundo técnicas usuais e as exsiccatas depositadas no Herbário Geraldo Mariz (UFP), Universidade Federal de Pernambuco e, quando possível, duplicatas para o Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), da Universidade Federal da Paraíba. Amostras de partes reprodutivas (flores e frutos) e vegetativas (folhas, caule e ramos) foram fixadas em FAA 50% (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50 %) e, posteriormente, conservadas em álcool a 70°GL, para utilização nos estudos morfológicos e anatômicos.

Quadro 1 Amostras representativas dos espécimes de *Solanum* examinados nas análises anatômicas.

Espécies	Dados do local de coleta e coletor
<i>S. agrarium</i>	Brasil. Alagoas: Quebrangulo, 05-IX-2012, V. S. Sampaio et al 97 (JPB). Paraíba: Campina Grande, M. F. Agra et al 3709, 3734 (JPB); Santa Rita, 18-VII-2008, M. F. Agra et al 7033 (JPB). Ceará: Fortaleza, 24-II-1977, L. Z. Almeida, s.n. (EAC)
<i>S. buddleifolium</i>	Brasil. Bahia: Abaíra, 20-IV-1998, R. M. Hind & R. F. Queiroz 50072 (HUEFS); Ilhéus, 13-XII-1988, R. M. Harley 27226 (CEPEC); Livramento do Brumado, 25-X-1988, R. M. Harley, R. M. et al 25610 (CEPEC); Rio de Contas, 02-II-2002, A. M. Carvalho et al 7048 (CEPEC). Minas Gerais: Diamantina, 11-VII-1972, G. Hatschbach et al 1000 (MBM).
<i>S. gardneri</i>	Brasil. Bahia: Filadélfia, 18-II-1974, R. M. Harley 16167 (CEPEC); Itatim, M. F. Agra et al 7195 (JPB); Poçoões, 05-III-1978, S. A. Mori et al s.n. (CEPEC); Senhor do Bonfim, 16-VI-2001, T. S. Nunes et al. 592 (HUEFS); Uauá, 21-V-2003, J. Costa et al. 401 (CEPEC)
<i>S. polytrichum</i>	Brasil. Bahia: Marauá, S. G. Vinha 155 (CEPEC); Una, III-2013, R. Costa-Silva et al 68, 70 (UFP)
<i>S. paraibanum</i>	Brasil. Paraíba: João Pessoa, 11-VII-2008, M. F. Agra 7008 (JPB); 15-IX-2013, R. Costa-Silva (JPB). Pernambuco: Cabo de Santo Agostinho, 10-VI-2006, J. A. Siqueira et al 1396 (UFP); Igarassu, 17-XII-2009, J. D. Garcia 1370 (JPB).
<i>S. rupicola</i>	Brasil. Bahia: Amargosa, 2-XII-2009, Agra et al 7186; Porto Seguro, 06-IV-1994, Amorim et al 4441 (CEPEC); Una, 08-III-1993, A. M. Amorim et al. 1088 (CEPEC)
<i>S. schomburghii</i>	Brasil. Amapá: Oiapoque, 20-VII-2005, A. Lobão et al. 773 (IAN); 31-I-1950, R. L. Siqueira 25750 (IAN); 17-VII-1960, W. A. Engler s.n. (IAN). Roraima: Boa Vista do Rio Branco, 19-IX-1943, N.T. Silva s.n. (IAN); J.M. Pires & P. Leite 186 (IAN)
<i>S. stenandrum</i>	Brasil. Bahia: Abaíra, 14-II-1992, B. Stannard et al 52089 (CEPEC); Mucugê, 13-II-1994, R. M. Harley 18618 (CEPEC). Palmeiras, 04-VII-1994, M. L. Guedes et al 004 (ALCB). Vitória da Conquista, M. F. Agra et al 7208 (JPB)
<i>S. talarense</i>	Peru. Cajamarca: Cajamarca, 12-III-1981, Abundio Sagástegui, A. 9612 (MO), 21-V-1981, Abundio Sagástegui, A. et al. 7912 (MO), 25-VI-1983, Miranda, A. L. 9220 (MO). Contumaza: 29-V-1996, Sánchez, I. M. 2973 (MO).
<i>S. tetramerum</i>	Cuba: 15-VII-1986, Smith 3152 (MO). República Dominicana: Azua, 3-V-1986, García, R. G. 1365 (MO); Independencia, 1987, Zanon, T. A. et al. 39369 (MO).
<i>S. thomasiifolium</i>	Brasil. Bahia: Rio das Contas, 5-X-2009, M. F. Agra et al. 7204, 7207 (JPB); Lençóis, 16-VII-1994, R. Orlandi et al. 340 (ALCB). Minas Gerais: Santo Antônio do Itambé, 1987, C. Kameyama et al. s.n. (SP) Sergipe: Capela, N. M. Porto s.n. (JPB);

1.3.2 Tratamento da análise morfológica e anatômica

As análises morfológicas dos caracteres reprodutivos e vegetativos foram realizadas em amostras frescas, fixadas e em exsicatas dos herbários nacionais, com o apoio de estereomicroscópio para a elaboração de descrições, chaves analíticas, ilustrações e identificações. Foram analisadas cerca de 1200 exsicatas pertencentes aos seguintes herbários: ASE, CEPEC, HUEFS, IAN, JPB, MG, MBM, MO, NY, RB, UFP. Sempre que necessário também foram utilizados materiais herborizados submetidos ao processo de reversão de herborização (Smith and Smith 1942) e estocados em etanol 70%.

Os termos morfológicos empregados seguiram Harris & Harris (2001) e Gonçalves & Lorenzi (2011). A terminologia aplicada aos tipos de indumentos e tricomas seguiram Roe (1971), Seithe (1979), Hewson (1988) e Mentz et al. (2000). Nas descrições das espécies foram feitas análises do tipo de ramificação simpodial de acordo com Child (1979) e Child & Lester (1991).

Para as análises anatômicas das 11 espécies (*S. agrarium*, *S. buddleifolium*, *S. Gardneri*, *S. polyrichum*, *S. paraibanum*, *S. rupincola*, *S. schomburghii*, *S. stenandrum*, *S. talarense*, *S. tetramerum* e *S. thomasiifolium*) foram utilizadas três folhas da região entre terceiro e quinto nós, de 5 indivíduos, de onde foram retirados fragmentos das regiões medianas de nervura principal, bordo, região entre nervuras e pecíolo para realização das secções transversais e paradérmicas. Posteriormente, as secções foram clarificadas com hipoclorito de sódio (2 %), neutralizados com ácido acético (0,1%), lavados em água destilada, corados com mistura de safranina e azul de astra, montados entre lâmina e lamínula, com glicerina (50%), sendo as lâminas vedadas com esmalte incolor. Para checar a constância das estruturas epidérmicas, pelo menos cinco lâminas foram montadas de diferentes parte de uma única folha para cada espécie. As observações e obtenção de imagens foram realizadas em fotomicroscópio (modelo AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) com sistema U-PHOTO, acoplado a uma câmara filmadora (modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic instruments inc., New York, USA) e a um microcomputador. Os espécimes utilizados no estudo anatômico estão listados na Quadro 1. A classificação dos estômatos e tricomas foi baseada em Wilkinson (1979). Medidas do comprimento e largura dos estômatos foram tomadas e um gráfico de dispersão foi gerado. Foi

aplicado um teste t para avaliar se há variação significativa entre o tamanho dos estômatos das espécies.

Para obtenção das imagens de microscopia eletrônica, amostras fixadas em FAA50 foram desidratadas em série etanólica e levadas à secagem em ponto crítico de CO₂; colocadas nos suportes com fita dupla-face e posteriormente metalizadas com ouro. A captura de imagens foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (modelo Zeiss, LEO 1430 VP, Cambridge, Inglaterra).

1.3.3 Análises fenéticas

Órgãos vegetativos aéreos e reprodutivos de todas as espécies estudadas foram caracterizados morfolologicamente e, especialmente, folhas foram caracterizadas anatomicamente e comparadas entre si, a partir de 82 características descritas na matriz de caracteres do quadro 2. A matriz foi montada inicialmente no Microsoft Excel e posteriormente exportada para o programa PAST versão 2.17 para realização de análises multivariadas, como a análise hierárquica de agrupamento através do algoritmo UPGMA adotando-se a distância euclidiana.

2 RESULTADOS

2.1 Análises da morfologia Geral

Hábito

A análise do hábito de 11 espécies dos clados Gardneri e Thomasiifolium revelou a presença de dois tipos principais: liana e arbusto. O tipo liana foi registrado para *S. paraibanum* e *S. rupicola*. O hábito arbustivo e suas variantes foi comum as demais espécies.

O hábito arbustivo é comum a *S. buddleifolium* e *S. thomasiifolium*. O tipo subarbustivo ereto foi comum a *S. agrarium*, *S. stenandrum* e *S. tetramerum* que são espécies muito próximas, alcançando até 1,5 de altura. *S. gardneri* e *S. tetramerum*,

são subarbustos prostrados ou suberetos. *S. polytrichum* e *S. schomburghii* são arbustos eretos.

Unidades simpodiais

Nas espécies estudadas, o tipo de ramificação simpodial plurifoliada foi o mais observado, estando presente nas espécies *S. buddleifolium*, *S. paraibanum*, *S. rupincola*, *Solanum thomasiifolium*, do clado Thomasiifolium e em *S. schomburghii* do clado Gardneri. O tipo unifoliado foi observado em *S. gardneri* e *S. tetramerum*, enquanto *S. agrarium*, *S. polytrichum*, *S. stenandrum* e *S. talarense* apresentam ramificações do tipo difoliada.

Folhas

As folhas da maioria das espécies do clado Gardneri apresentam um formato geral oval podendo variar até oval-elíptica, exceto *S. polytrichum*, *S. schomburghii* e *S. tetramerum*, que apresentam folhas elípticas, podendo chegar à lanceoladas em *S. schomburghii*. As margens são lobadas em *S. agrarium*, *S. stenandrum* e *S. talarense*, que também apresentam ápice agudo e base obtusa, ou subcordada em *S. stenandrum*. Folhas com margens inteiras são observadas em *S. gardneri*, *S. tetramerum* e *S. schomburghii*, que apresentam ápice agudo à exceção de *S. tetramerum* com ápice truncado ou arredondado.

As folhas das espécies do clado Thomasiifolium são ovais ou oval-elípticas em *S. buddleifolium* e *S. thomasiifolium*, com base cordada a subcordada, margens ondeadas a lobadas e ápices agudos. Já *S. paraibanum* apresenta folhas com formato oblongo-elíptico, base e ápices agudos e margem lobada, enquanto *S. rupincola* tem folhas obovadas, base aguda, margens inteiras e ápice truncado ou arredondado.

Indumento e tricomas

Quanto ao indumento, o tipo tomentoso na face abaxial foi observado em *S. buddleifolium*, *S. gardneri*, *S. schomburghii* (Fig. 6E), *S. tetramerum* (Fig. 6F) e *S. thomasiifolium* onde a distribuição de tricomas é tão compacta, que em algumas espécies não é possível evidenciar e classificar os tricomas em vista frontal, apenas pela microscopia eletrônica ou em seções transversais da lâmina foliar. Em *S. gardneri*, *S. agrarium*, *S. stenandrum* e *S. talarense* o indumento é piloso, enquanto em *S. paraibanum* e *S. rupincola* o indumento é hirsuto nas duas faces.

Foram observados dois tipos básicos de tricomas: simples e estrelados. Os tricomas do tipo simples glandulares e eglandulares foram observados apenas em espécies do clado Gardneri: *S. agrarium*, *S. stenandrum* e *S. talarense*. Tricomas estrelados foram predominantes e com morfologia bastante diversificada e complexa. Os tricomas estrelados observados foram dos seguintes tipos: estrelados simples, correcto-estrelados, multiangulados e complexos destes. O tipo estrelado simples, com 4 a 6 raios laterais e um raio central, foi observado em *S. agrarium*, *S. stenandrum* e *S. talarense*; o tipo correcto-estrelado foi observado em ambas as faces de *S. schomburghii* e *S. gardneri*; multiangulados, sésseis ou pediculados, glandulares ou não, foram observados em *S. polytrichum*, *S. buddleifolium*, *S. gardneri*, *S. tetramerum* e *S. thomasiifolium*. Variações desses tricomas estrelados foram observadas nas faces adaxiais de *S. paraibanum* e *S. rupincola*, com tricomas estrelados sésseis com os raios laterais muito curtos e o raio central pluricelular. Além disso, em *S. thomasiifolium* e *S. buddleifolium*, foram observados tricomas estrelados e multiangulados pedicelados, com raios eglandulares e glandulares.

Inflorescências & Expressão Sexual

Com relação ao padrão de inflorescência, observou-se a presença de monocásios simples com inflorescências curtas, laterais, helicoides, com 2-3 flores, sendo andromonóicas, com uma flor basal hermafrodita e as flores terminais estaminadas em *S. agrarium*, *S. stenandrum* e *S. talarense*. Em *S. gardneri* e *S. tetramerum* os monocasios também são reduzidos, porém são terminais, andromonóicas com padrão de expressão sexual semelhante à *S. agrarium*. Inflorescências semelhantes a racemos não-ramificados foram observadas em *S. polytrichum*, com 5-10 flores, sendo 2-3 basais hermafroditas e as terminais estaminadas. *S. schomburghii* apresenta inflorescências terminais, corimbosas, 3-7 flores, andromonóicas, com a flor terminal estaminada e as demais hermafroditas.

Inflorescências laterais, simples, escorpioides, com 1-3 flores foram observadas em *S. paraibanum* e *S. rupincola*, a flora distal geralmente estaminada. Inflorescências semelhantes a racemos não-ramificados também foram observadas em *S. buddleifolium* e *S. thomasiifolium*, com 3-10 flores e padrão de expressão sexual semelhante a *S. paraibanum* e *S. rupincola* com a flor terminal estaminada e as demais flores hermafroditas.

Flor

As flores do gênero *Solanum* geralmente apresentam corolas pentâmeras que podem ser estreladas ou apresentar uma membrana interpetalar que dá um aspecto rotáceo-estrelado à corola, como observado em *S. thomasiifolium* (Fig 1C) e *S. buddleiifolium* (Fig. 1A), porém a ocorrência da tetrameria em *S. tetramerum* é comum a alguns grupos de espécies. As espécies do clado Gardneri apresentam corola reflexa (Fig, 1D, G-I), enquanto as espécies do clado Thomasiifolium podem ser planas no momento da ântese, como observado em *S. thomasiifolium* (Fig 1C) e *S. buddleiifolium* (Fig. 1A) e, ou apresentar corola introflexa como *S. rupincola* e *S. paraibanum* (Fig. 1E) .

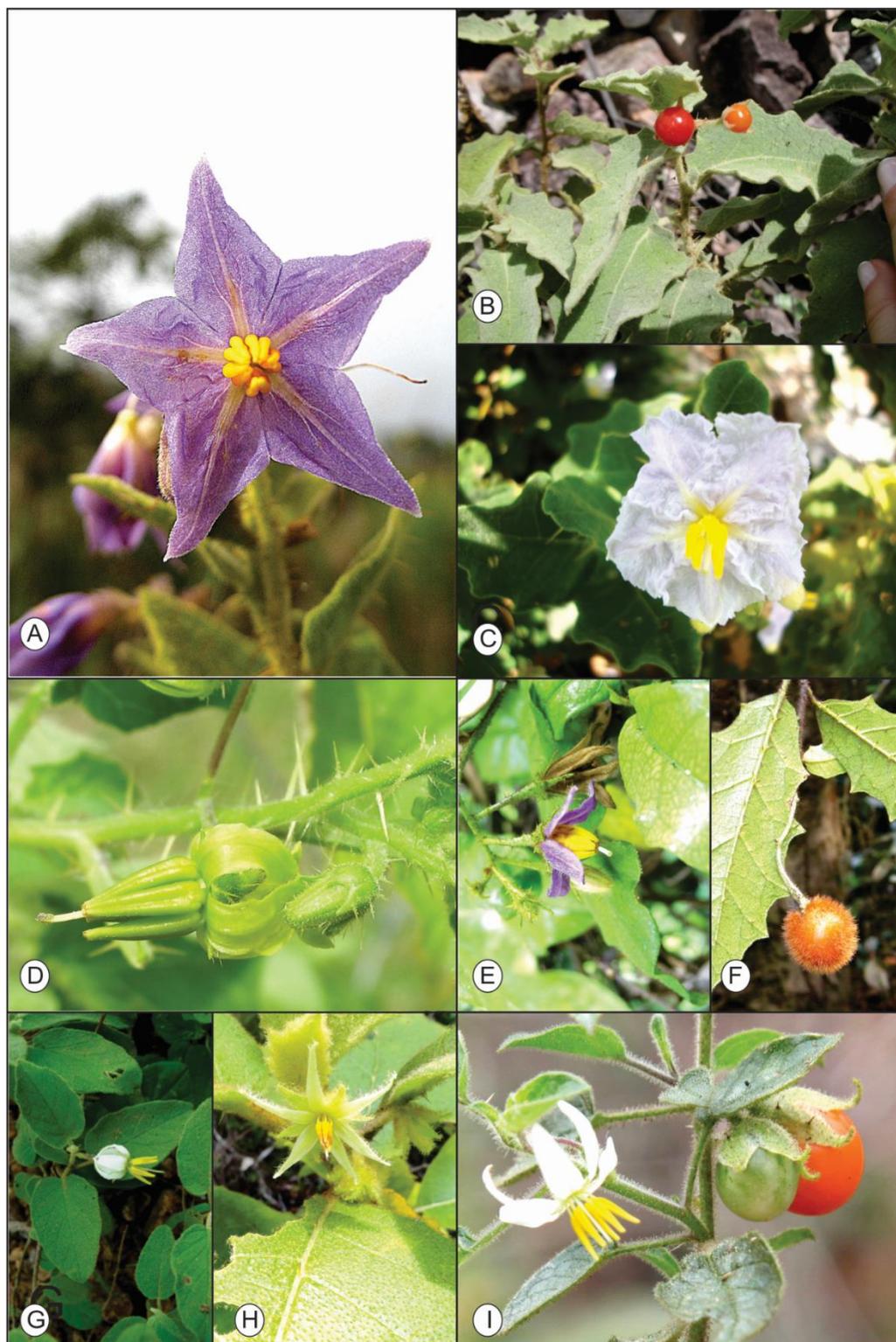
Os Frutos

Nas espécies do clado Thomasiifolium o epicarpo no fruto maduro é glabro ou hirsuto, com a cor variando de vermelho a alaranjado. *Solanum buddleiifolium* (Fig. 1B) e *S. thomasiifolium* apresentaram frutos com epicarpós glabros, verdes variegados quando imaturos e vermelhos lustrosos no fruto maduro, com cerca de 0,6-1 cm de diâmetro. *S. paraibanum* e *Solanum rupincola* apresentam frutos com epicarpo lustroso, alaranjados com indumento hirsuto ferrugíneo e com cerca de 3-5 cm de diâmetro. Nas espécies do clado Gardneri a cor do epicarpo variou de verde a amarelo ou vermelho. *S. agrarium*, *S. gardneri*, *S. polytrichum* *S. talarense* e *S. tetramerum* apresentam epicarpo variando de verde a amarelo. *S. stenandrum* (Fig 1I), e *S. schomburghii* apresentam bagas glabras com epicarpo vermelho opaco.

O cálice é persistente no fruto em todas as espécies de *Solanum* e vários membros da subg. *Leptostemonum* mostram vários padrões de acrescência do cálice. A situação mais comum é uma leve expansão e endurecimento do cálice durante o desenvolvimento do fruto, mas em certos grupos de espécies o cálice acrescente é muito mais pronunciado.

O cálice acrescente, com os lobos do cálice se estendendo até a região mediana da baga foi observado em *S. agrarium*, *S. gardneri*, *S. schomburghii*, *S. stenandrum* (Fig. 1) e *S. talarense*. Em *S. polytrichum* é observada a acrescência total do cálice que apresenta lobos aculeados. O cálice acrescente com lobos atingindo o 1\3 basal da baga foi observado em *S. buddleiifolium* e *S. thomasiifolium*. O cálice em *S. paraibanum* (Fig. 1F), *S. rupincola* e *S. tetramerum* não apresenta acrescência.

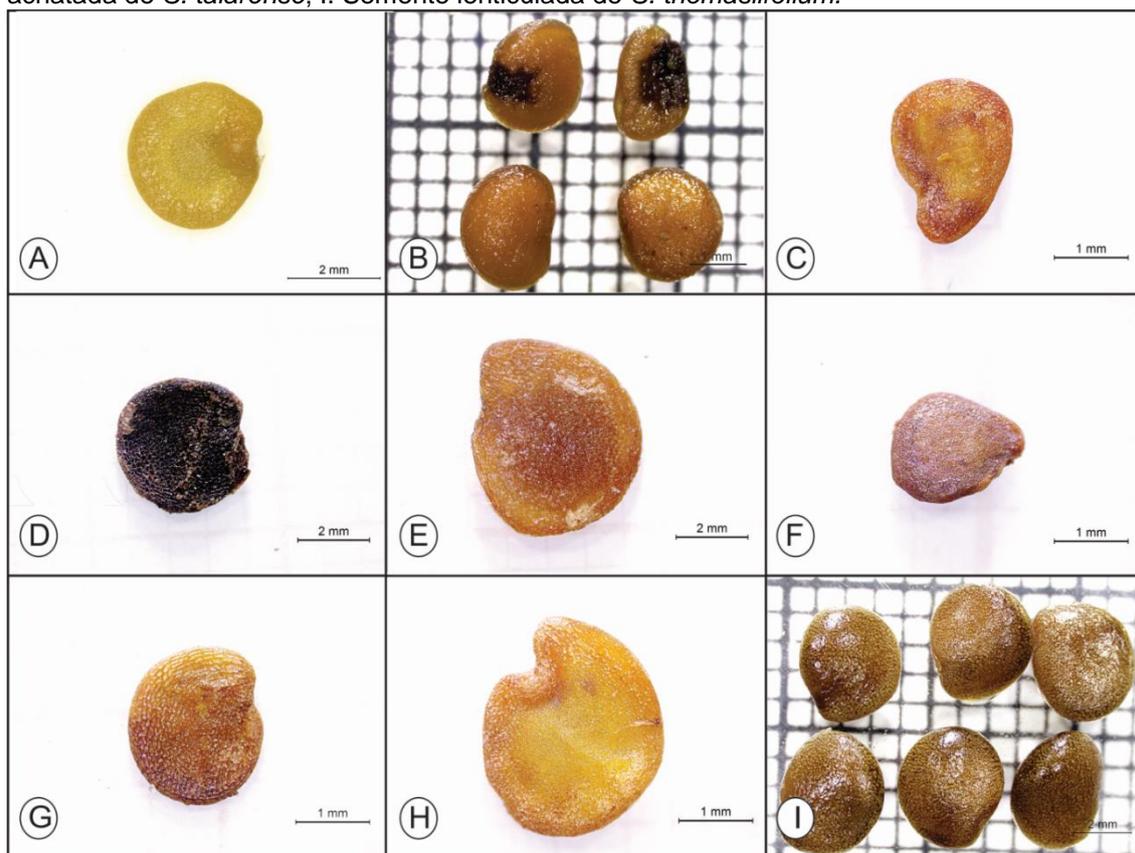
Figura 1 - Flores e frutos de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-B. *S. buddleifolium*: A. Ramo florido com flor estaminada; B. Ramo frutífero evidenciando bagas com epicarpo lustroso. C. Ramo florido com flor estaminada de *S. thomasiifolium*. D. Ramo florido de *S. agrarium* com flor hermafrodita. E-F. *S. paraibanum*: E. Ramo florido com flor hermafrodita; F. Ramo frutífero. G. Ramo florido de *S. gardneri* com flor hermafrodita. H. Ramo florido de *S. polytrichum* com flor hermafrodita. I. Ramo florido de *S. stenandrum* com flor hermafrodita.



Sementes

As sementes apresentam formato subreniformes nas espécies estudadas. Nas espécies do clado Gardneri, as sementes são comprimidas (Fig. 2A,C,F-H), enquanto nas espécies do clado Thomasiifolium elas são lenticuladas (Fig 2B,D,E e I).

Figura 2 - Sementes de algumas espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A. Semente achatada de *S. agrarium*; B. Semente lenticulada de *S. buddleifolium*; C. Semente achatada de *S. gardneri*; D. Semente lenticulada de *S. paraibanum*; E. Semente lenticulada de *S. rupicola*; F. Semente achatada de *S. schomburghii*; G. Semente achatada de *S. stenandrum*; H. Semente achatada de *S. talarense*; I. Semente lenticulada de *S. thomasiifolium*.



Fonte: Costa-Silva, 2014.

2.2 Análise da anatomia foliar

Formato das células epidérmicas

As células epidérmicas das espécies de *Solanum* dos clados Gardneri e Thomasiifolium apresentaram formato geral irregular em ambas as faces (Fig. 3 e 4), com exceção de *S. polytrichum*, com possui células poligonais na face abaxial (Fig. 3F) e *S. schomburghii* e *S. gardneri* com células poligonais na face adaxial. O padrão sinuoso do contorno das paredes anticlinais mostrou-se constante na face abaxial de todas as espécies, com exceção de algumas amostras de populações de *S.*

polytrichum coletadas no Sul da Bahia que se mostraram retas a curvas (Fig. 3F); na face adaxial o padrão observado é de contorno reto a curvo em *S. schomburghii* e *S. gardenri* e sinuoso para *S. agrarium*, *S. buddleifolium*, *S. paraibanum*, *S. rupincola*, *S. stenandrum*, *S. talarense*, *S. tetramerum* e *S. thomasiifolium*.

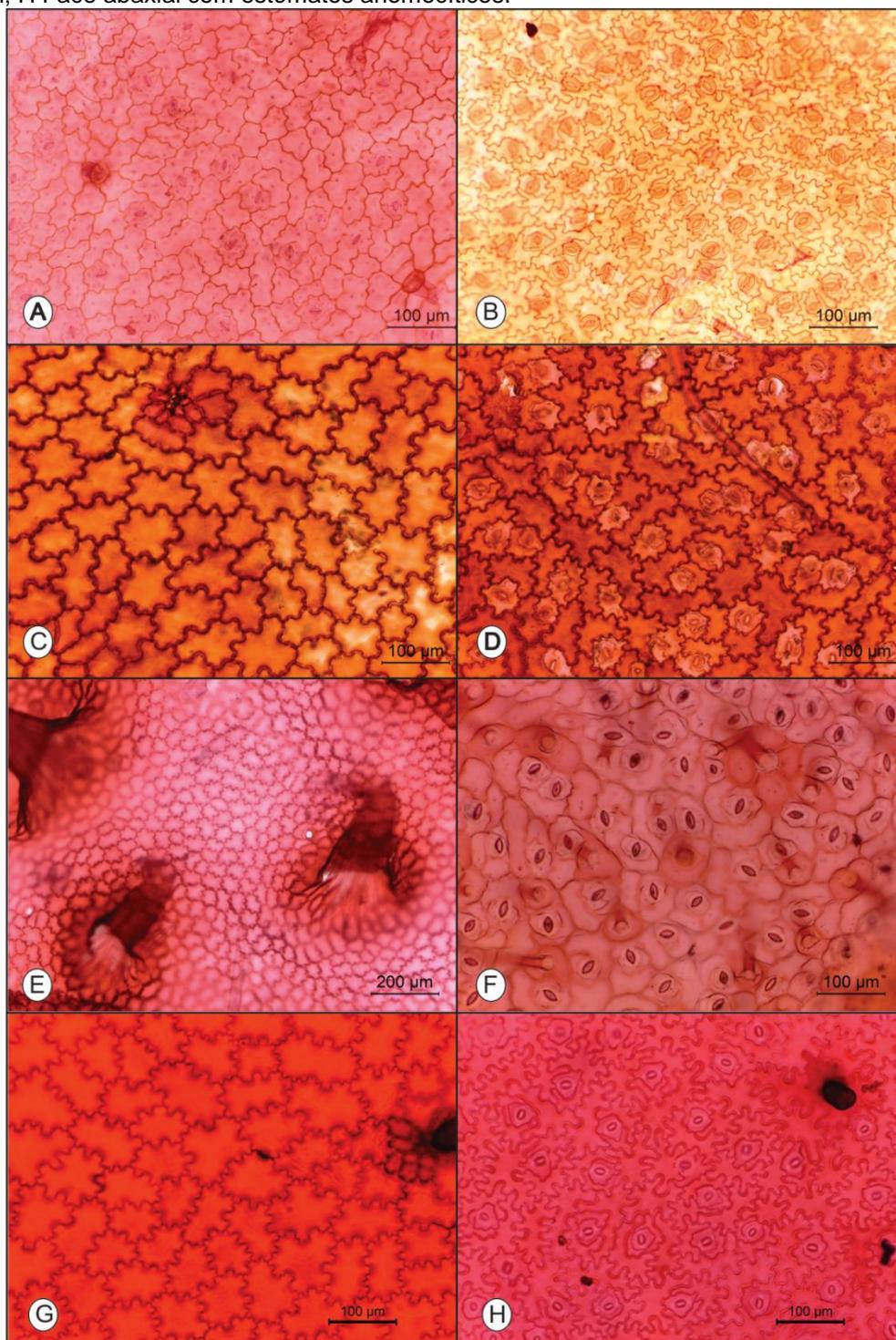
Complexo estomático

As lâminas foliares das espécies do clado Gardneri são do tipo anfiestomático (Fig 3A,B; 4A-D), apresentando estômatos em ambas as faces, com exceção de *S. polytrichum* que é hipoestomática (Fig. 1E,F). Nas espécies do clado Thomassifolium, o padrão observado foi hipoestomático (Fig. 3C, D, G, H), exceto para *S. buddleiifolium* que apresentou o tipo anfihipoestomática pela presença de esparsos estômatos na face adaxial (Fig. 5 A-B; 7H) - até um estômato por campo, no aumento de 20x.

Com relação aos tipos de estômatos, em *S. buddleiifolium*, *S. paraibanum*, *S. rupincola* e *S. polytrichum* foram observados apenas estômatos anisocíticos. Nas demais, espécies foram observados dois tipos, anisocíticos e anomocíticos, porém houve a predominância do tipo anisocítico, observados em: *S. thomasiifolium* (95%), *S. agrarium* (84,2%), *S. schomburghii* (93,6), *S. stenandrum* (86,6%), *S. talarense* (75,86%) e *S. tetramerum* (75%), é possível observar estômatos anomocíticos: Em algumas espécies os tipos de estômatos foram diferentes numa mesma superfície, com estômatos anisocíticos e anomocíticos simultaneamente, observados em *S. thomasiifolium* (5%), *S. agrarium* (15,8%), *S. schomburghii* (6,4%), *S. stenandrum* (13,4%), *S. talarense* (24,13%) e *S. tetramerum* (25%); ver Tabela 3.

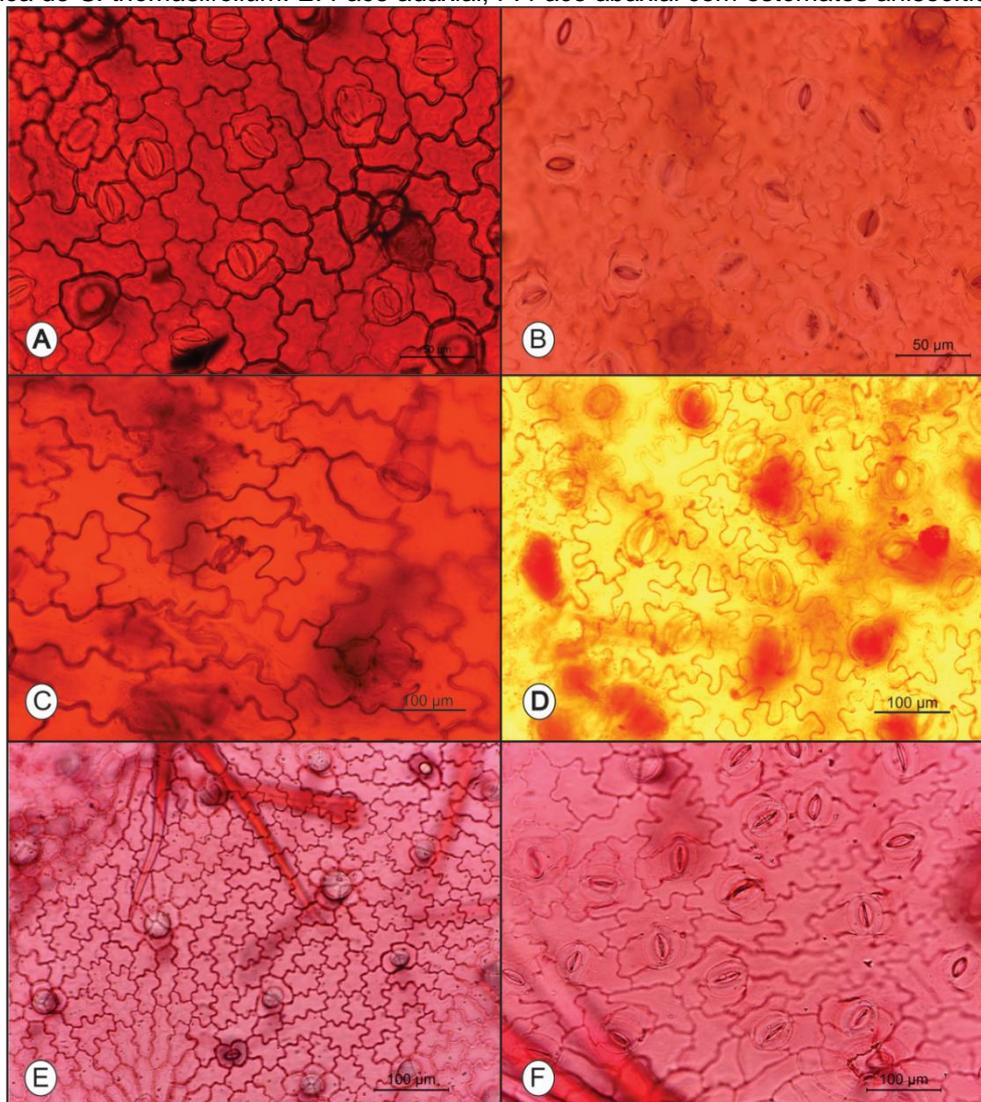
A posição dos estômatos em relação às células epidérmicas foi visível dois tipos, com uma clara diferenciação entre os tipos de cada clado, sendo observados estômatos acima do nível da epiderme no clado Gardneri (Fig 7I) e estômatos ao nível da epiderme no clado Thomasiifolium (Fig. 7H).

Figura 3 - Epiderme em vista frontal das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-B. Folha anfiestomática de *S. agrarium*: A. Face adaxial com estômatos anisocíticos; B. Face abaxial com estômatos anisocíticos. C-D: Folha hipoestomática de *S. paraibanum*: C. Face adaxial; D. Face abaxial com estômatos anisocíticos. E-F: Folha hiposestomática de *S. polytrichum*: E. Face adaxial com tricomas; F. Face abaxial com estômatos anisocíticos. G-H. Folha hipoestomática de *S. rupincola*: G. Face adaxial; H Face abaxial com estômatos anomocíticos.



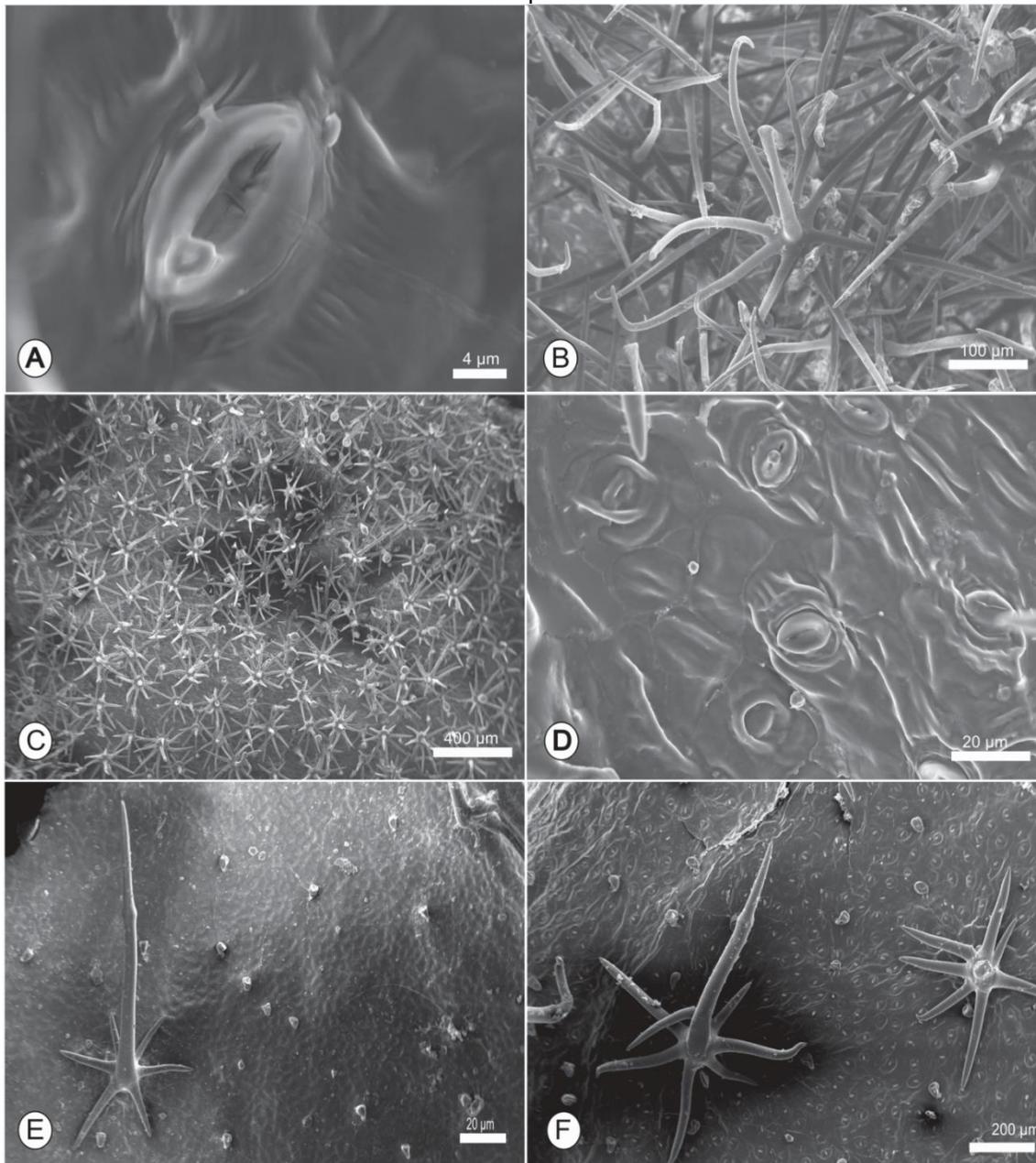
Fonte: Costa-Silva, 2014.

Figura 4 - Epiderme em vista frontal das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-B. Folha anfiestomática de *S. stenandrum*: A. Face adaxial com estômatos anisocíticos; B. Face abaxial com estômatos anisocíticos e anomocíticos. C-D. Folha anfiestomática de *S. talarense*: C. Face adaxial com estômatos anisocíticos; D. face abaxial com estômatos anisocíticos e anomocíticos. E-F: Folha hipoestomática de *S. thomasiifolium*: E. Face adaxial; F. Face abaxial com estômatos anisocíticos.



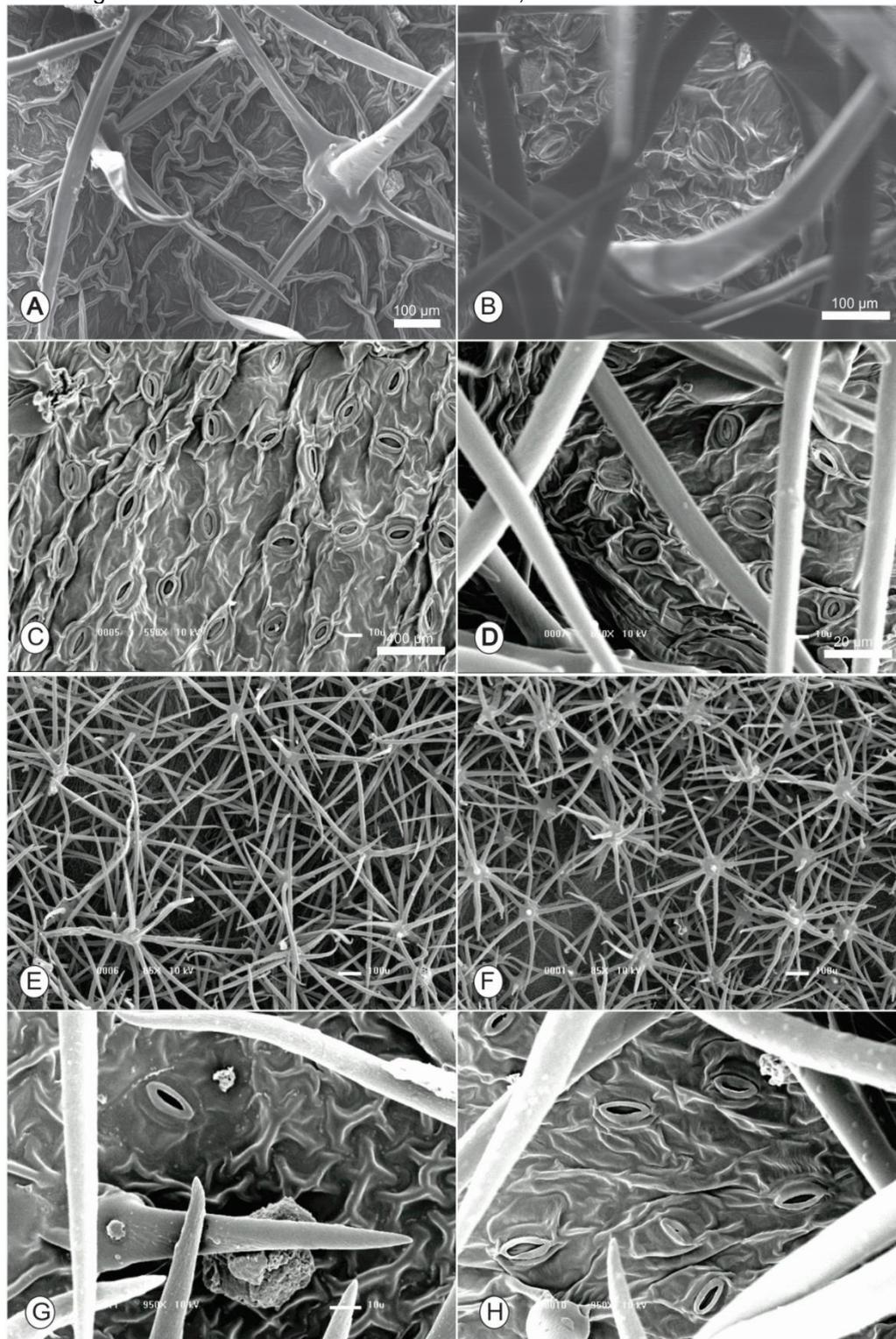
Fonte: Costa-Silva, 2014.

Figura 5 - Epiderme em vista frontal (Microscopia eletrônica de varredura) de espécies de *Solanum* clado Thomasiifolium. A-B: *S. buddleifolium*: A. Detalhe do estômato na face adaxial; B. Tricoma estrelado multiangulado na face abaxial. C-D: *S. thomasiifolium*: C. Face adaxial evidenciando tricomas estrelados multiangulados com raio central glandular. D. Face abaxial evidenciando estômatos. E-F: *S. paraibanum*. E. Face adaxial evidenciando tricoma porrecto-estrelado com raio central multicelular; F. Face abaxial evidenciando estômatos e tricoma porrecto-estrelado com raio central multicelular.



Fonte: Costa-Silva, 2014.

Figura 6 - Epiderme em vista frontal (Microscopia eletrônica de varredura) de espécies de *Solanum* clado Gardneri. A-B: *S. gardneri*: A. Face adaxial com tricomas estrelado; B. Face abaxial evidenciando estômatos. C-E: *S. schomburgkii*: C. Face adaxial com estômatos; D. Face abaxial evidenciando estômatos; E. Face abaxial evidenciando indumento tomentoso com tricomas porrecto-estrelados de raio central reduzido. F-H: *S. tetramerum*: F. Face abaxial evidenciando indumento tomentoso com tricomas multiangulados. G. Face adaxial com estômatos; H. Face abaxial evidenciando estômatos.



Análise do tamanho dos estômatos

Dados das medidas do tamanho dos estômatos foram submetidos a um teste estatístico t (Gráfico 1, quadro 4). Foi observado que o comprimento do estômato de *S. buddleifolium* (44,21 μm) é o maior entre as espécies estudadas, enquanto *S. polytrichum* apresenta o menor comprimento (17,29). Não há diferença significativa entre as médias de comprimento do estômato de *S. gardneri* e *S. schomburghii*. Adicionalmente, *S. paraibanum* e *S. rupicola* também não apresentam diferença significativa.

Quadro 2 - Análise do teste *t* das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium

Espécies	AGRA	BUDD	GARD	PARA	POLY	RUPI	SCHO	STEN	TALA	TETR	THOM
AGRA	-										
BUDD	58,477	-									
GARD	13,036	55,073	-								
PARA	1,9723	35,713	7,5324	-							
POLY	47,716	108,23	15,505	32,155	-						
RUPI	4,3413	38,104	9,9242	1,783	38,676	-					
SCHO	21,541	85,839	0,025	15,048	30,183	19,564	-				
STEN	4,781	68,161	10,147	4,7903	46,91	7,872	18,38	-			
TALA	7,96	29,492	17,466	4,8756	45,203	4,281	29,02	7,33	-		
TETR	1,885	34,968	11,205	0,64	34,598	0,543	18,59	6,743	7,33	-	
THOM	8,6642	34,624	12,434	5,008	43,786	3,472	24,44	12,461	1,861	2,908	-

AGRA: *S. agrarium*; BUDD: *S. buddleifolium*; GARD: *S. gardneri*; PARA: *S. paraibanum*; POLY: *S. polytrichum*; RUPI: *S. rupicola*; SCHO: *S. schomburghii*; STEN: *S. stenandrum*; TALA: *S. talarense*; TETR: *S. tetramerum*; THOM: *S. thomasiifolium*.

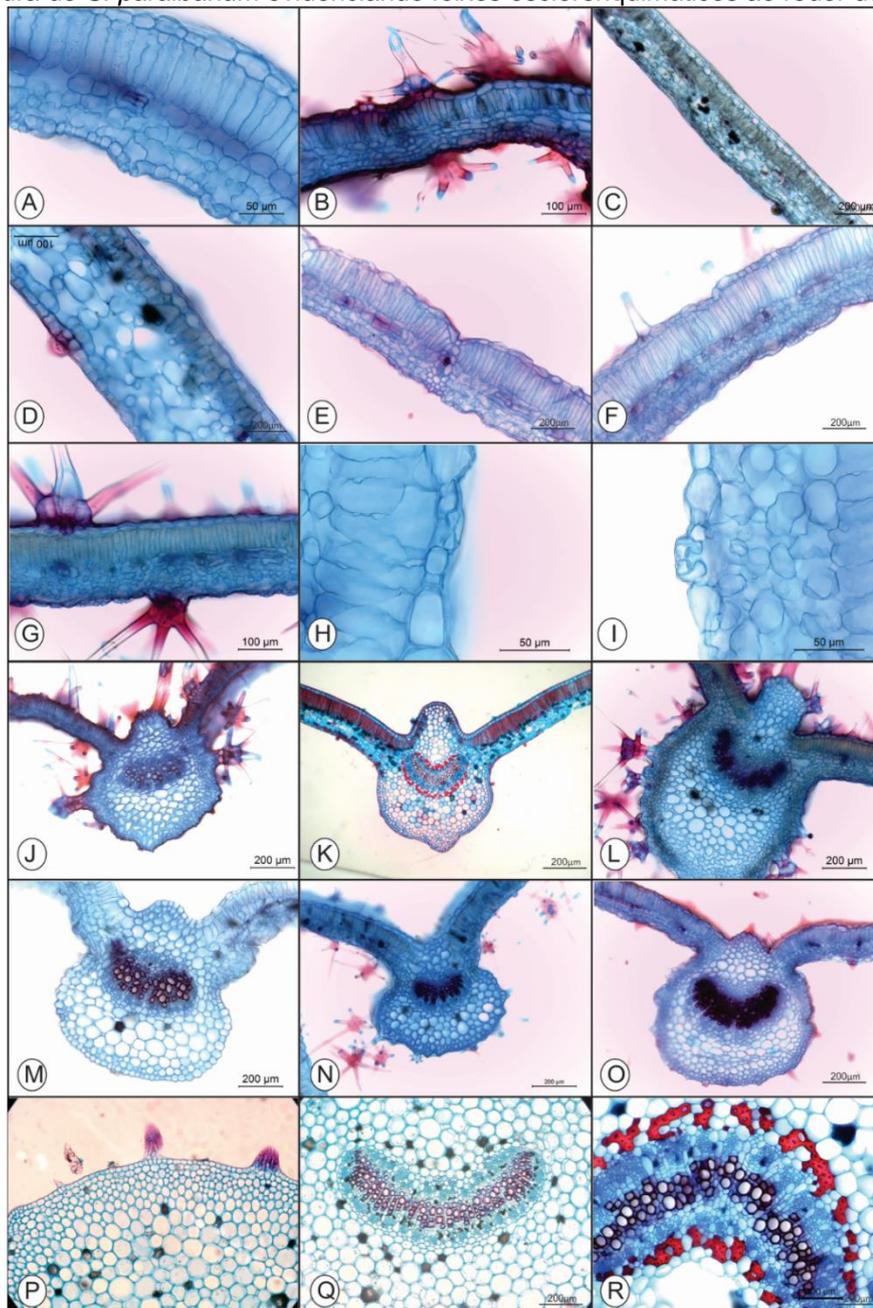
Fonte: Costa-Silva, 2014.

Lâmina foliar

A epiderme, em seção transversal, é unisseriada e o mesofilo com o padrão dorsiventral foi comum a todas as espécies, de ambos os clados estudados (Fig. 7A-G). O parênquima paliçádico é formado por uma única série de células. Em *S. gardneri* o parênquima paliçádico é interrompido por idioblastos de areia cristalina. Os feixes vasculares de menor calibre que ocorrem na lâmina foliar apresentam extensão da bainha apenas em *S. schomburghii* (Fig. 7E). O parênquima esponjoso apresentou células alongadas em *S. buddleifolium* e arredondadas nas demais espécies dos dois clados. Em relação à área total do mesofilo, enquanto as demais espécies apresentam uma distribuição equiparada dos dois tecidos variando de 48%, em *S. schomburghii*, a 54% em *S. stenandrum*, em *S. paraibanum*, *S. rupicola* e *S. polytrichum* observou-se o parênquima paliçádico com a menor proporção em relação a área total de

mesofilo, aproximadamente 37,3%, 16% e 26,1%. Os dados das medidas encontram-se no Quadro 3.

Figura 7 - Nervura e mesofilo de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-G: Mesofilos dorsiventrals: A. *S. agrarium*; B. *S. buddleifolium*; C. *S. paraibanum*; D. *S. rupicola*; E. *S. schomburghii*; F. *S. stenandrum*; G. *S. thomasiifolium*. H-I. Estômatos em seção transversal: H. *S. buddleifolium* evidenciado estômatos na face adaxial ao nível das células epidérmicas; I. *S. agrarium* evidenciando estômatos na face abaxial, acima do nível das células epidérmicas. J-R: Nervuras biconvexas: J. *S. buddleifolium*; K. *S. paraibanum*; L. *S. thomasiifolium*; M. *S. agrarium*; N. *S. gardneri*; O. *S. schomburghii*; P. Detalhe da nervura *S. polytrichum* evidenciando colênquima angular abaixo da epiderme; Q. Detalhe da nervura *S. polytrichum* evidenciando o sistema vascular bicolateral; R. Detalhe da nervura de *S. paraibanum* evidenciando feixes esclerenquimáticos ao redor dos feixes vasculares.



Fonte: Costa-Silva, 2014.

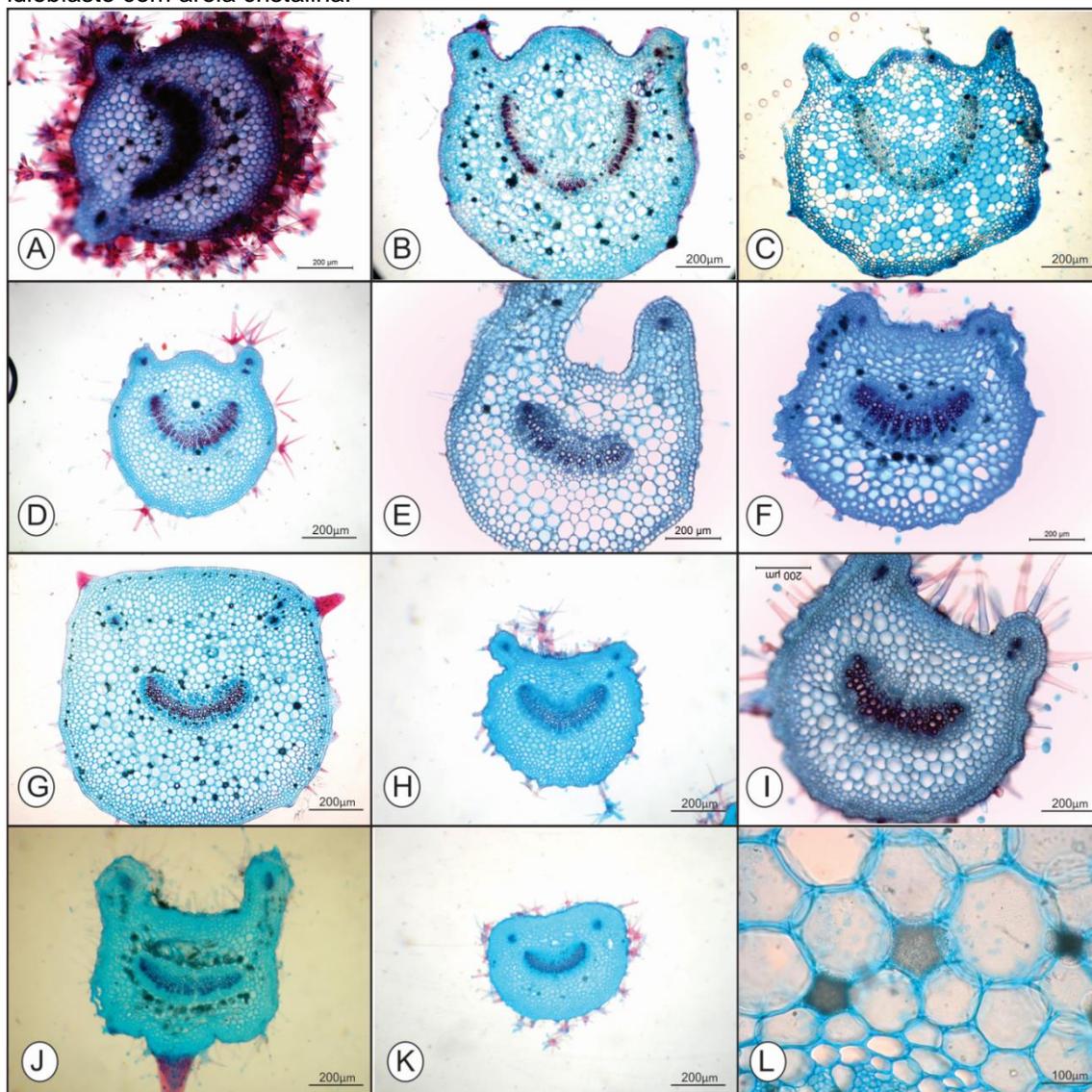
Nervura principal

A face abaxial da nervura principal possui contorno convexo em todas as 11 espécies (Fig 7 J-R). A face adaxial nas espécies *S. buddleiifolium* (Fig 7J), *S. schomburghii* (Fig. 7O) e *S. tetramerum* apresenta contorno convexo agudo, enquanto em *S. agrarium* (Fig. 7M) e *S. gardneri* (Fig. 7N) o contorno é reduzido ou plano; nas demais espécies a face adaxial da nervura é acuminada. O parênquima paliçádico invade a região da nervura em *S. paraibanum* (Fig. 7K) e *S. rupincola*. Ocorre tecido de sustentação formado por colênquima do tipo angular em todas as espécies (Fig. 7P) e a região mais interna do córtex pode ser formada apenas parênquima de preenchimento. Há ocorrência de idioblastos contendo areia cristalina nas nervuras de todas as espécies. A ocorrência de feixes esclerenquimáticos circundando os feixes vasculares pode ser observada em *S. paraibanum* (Fig. 7 R,S) e *S. rupincola*, mas essa característica é influenciada pelo hábito dessas plantas. Na medula da nervura principal encontra-se o sistema vascular bicolateral (Fig. 7Q) variando de um a três feixes vasculares com distribuição em forma de arco.

Pecíolo

O contorno do pecíolo em seção transversal é biconvexo costelado em *S. buddleiifolium*, *S. paraibanum*, *S. rupincola* e *S. thomasiifolium* (Fig. 8 A-D). O sistema vascular é composto por um conjunto de feixes vasculares central e de dois a quatro feixes acessórios. A distribuição dos feixes vasculares centrais forma uma arco em *S. buddleiifolium* (Fig. 8A) e *S. thomasiifolium* (Fig. 8D) e apresenta formato de U em *S. paraibanum* (Fig, 8B) e *S. rupincola* (Fig. 8C). A distribuição em forma de semi-arco dos feixes vasculares e o contorno do tipo plano-convexo pode ser observado nas espécies do clado Gardneri (Fig. 8E-K), porém é costelado em *S. gardneri* (Fig. 8F) e *S. stenandrum* (Fig. 8I), e alado em *S. agrarium* (Fig. 8E).

Figura 8 - Pecíolo de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium. A-D: Pecíolos com contorno biconvexo costelado de espécies do clado Thomasiifolium: A. *S. buddleifolium*; B. *S. paraibanum*; C. *S. rupicola*; D. *S. thomasiifolium*. E-K: Pecíolos com contorno plano-convexo de espécies do clado Gardneri: E. Pecíolo alado de *S. agrarium*; F. Pecíolo costelado de *S. gardneri*; G. *S. polytrichum*; H. Pecíolo costelado de *S. schomburghii*; I. Pecíolo costelado de *S. stenandrum*; J. Pecíolo alado de *S. talarense*; K. *S. tetramerum*. L. Detalhe do pecíolo de *S. polytrichum* evidenciando idioblasto com areia cristalina.

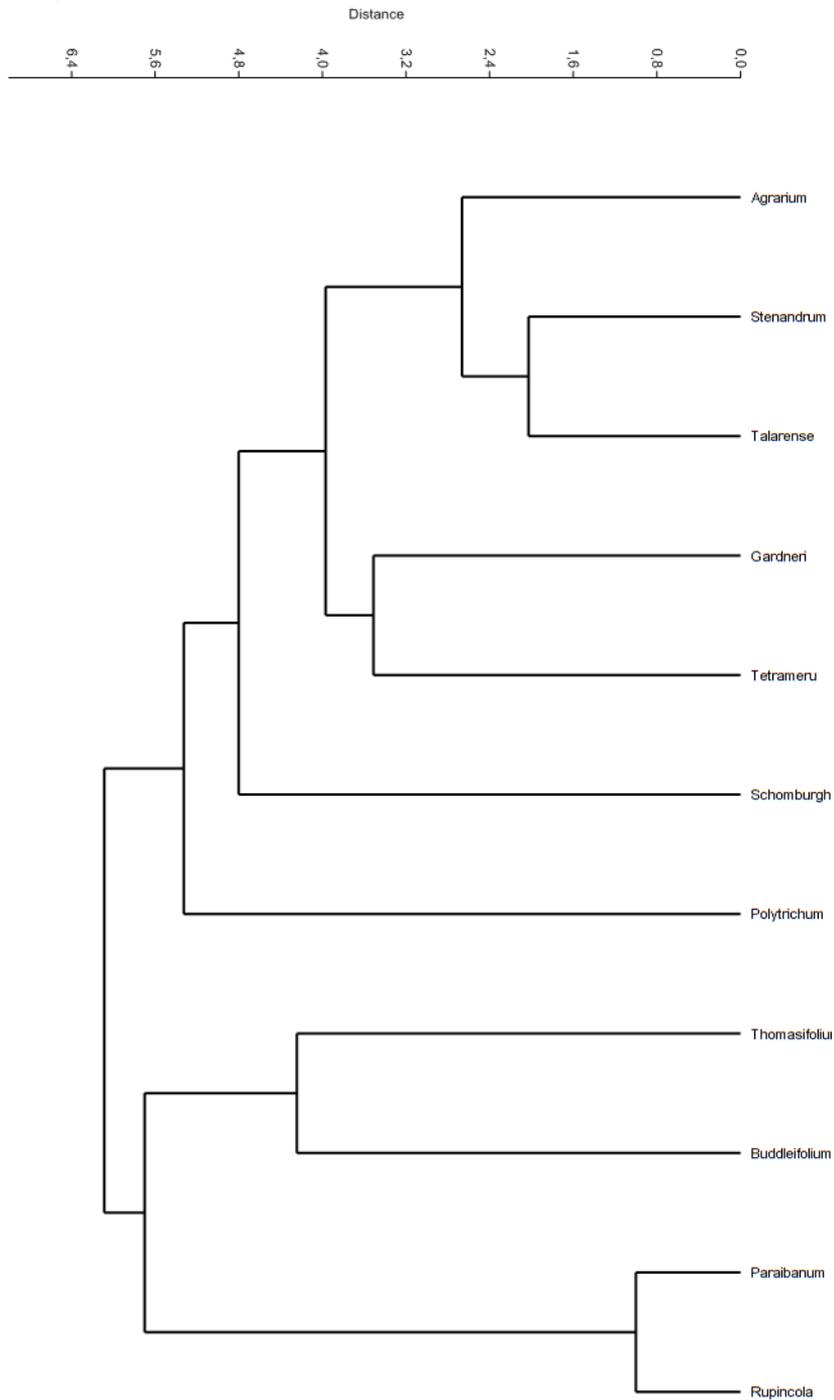


Fonte: Costa-Silva, 2014.

Análise agrupamento hierárquico

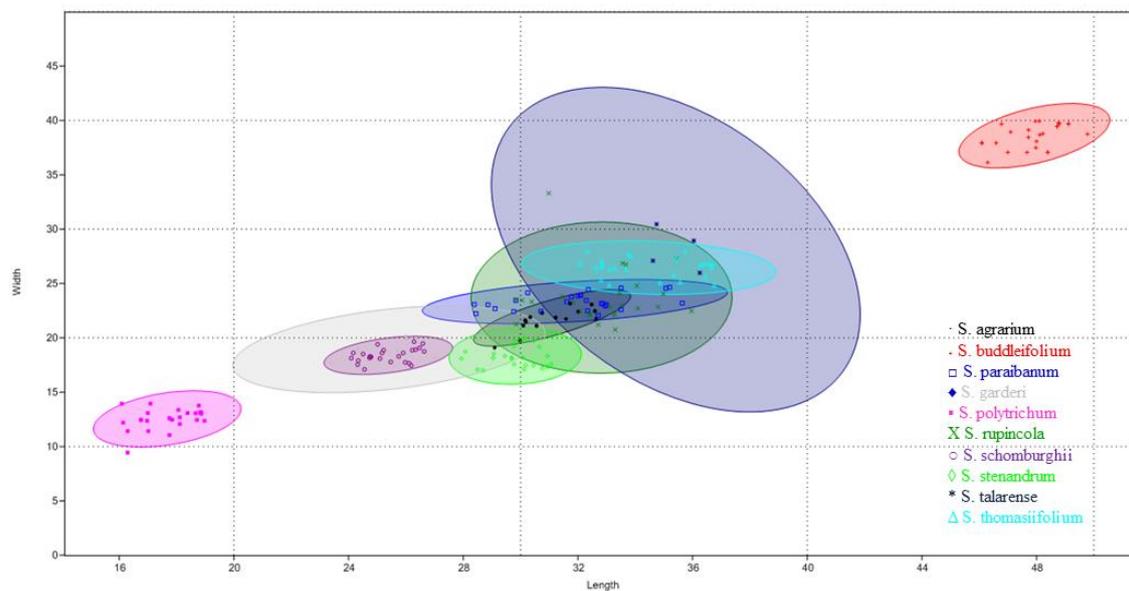
O fenograma gerado pela análise de agrupamento com base na distância euclidiana e coeficiente de correlação fenético de 0,93 tem nove agrupamentos artificiais representados por letras de A a I (Figura 9). Os grupos A e B têm os melhores suportes de bootstrap, confirmando a segregação dos dois principais clados. As espécies do grupo A, pertencentes ao clado Gardneri, apresentam corola reflexa, sementes comprimidas, estômatos levemente acima do nível das células epidérmicas, pecíolo plano-convexo. As quatro espécies do grupo B apresentam unidades simpodiais plurifoliadas, sementes lenticuladas, estômatos ao nível da epiderme, pecíolo biconvexo-costelado. O hábito liana, o indumento hisurto, acúleos recurvos, corola introflexa, presença de esclerênquima ao redor do tecido vascular e o feixe vascular em formato de U no pecíolo separa o grupo I do grupo H. *S. polytrichum* se separa das demais do grupo A pela epiderme hipoestomática e células epidérmicas com paredes anticlinais curvas na face abaxial, enquanto *S. schomburghii* se separa das demais espécies do seu grupo pelas paredes anticlinais retas das células epidérmicas da face adaxial.

Figura 9 - Fenograma gerado pela análise de agrupamento com base nos dados morfológicos e anatômicos das folhas das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasifolium. Distância euclidiana com coeficiente de correlação fenética de 0,94. Os números nos nós correspondem ao valor de bootstrap.



Fonte: Costa-Silva, 2014.

Gráfico 1 - Gráfico de dispersão mostrando a relação entre as médias das medidas de comprimento e largura dos estômatos das espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium.



Fonte: Costa-Silva, 2014.

Quadro 3 - Matriz de presença (1) e ausência (0) dos caracteres morfológicos gerais e anatômicos foliares de espécies de *Solanum* clados Gardneri e Thomasiifolium

			Buddleiifo	Paraiban	Rupicola	Thomasiifolium	Agrarium	Gardneri	Polytrichu	Schombui	Stenandr	Talarense	Tetramer
Hábito	1	Arbusto	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	Liana	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Tipo de indumento nos ramos	3	Pubescente	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1
	4	Tomentoso	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1
	5	Hirsuto	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Acúleos	6	Aciculares	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1
	7	Cônicos	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
	8	Recurvos	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Un. simpodial	9	Difoliada	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0
	10	Plurifoliada	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0
	11	Unifoliada	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Tipo de indumento no pecíolo	12	Pubescente	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
	13	Tomentoso	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1
	14	Hirsuto	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Coloração do indumento no pecíolo	15	Hialino	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
	16	Amarelo	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1
	17	Ferrugíneo	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Dimensão da folha	18	Até 7 cm	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1
	19	>7 cm	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0
Consistência da folha	20	Cartácea	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1
	21	Membranácea	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0
Margem	22	Inteira	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	23	Lobada	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1
Base	24	Cordada	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	25	Oblíqua	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0
	26	Reniforme	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	27	Cuneada	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
	28	Truncada	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Indumento na face adaxial	29	Piloso	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1
	30	Tomentoso	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	31	Hirsuto	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	32	Escabro	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Corola	33	Rotácea	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	34	Estrelada	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
	35	Reflexa	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
	36	Introflexa	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	37	Plana	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Indumento do epicarpo	38	Glabro	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	39	Hirsuto	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Ornamentação das sementes	40	Reticulada	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	41	Papilosa	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	42	Faveolada	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sementes	43	Comprimidas	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
	44	Infladas	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Distribuição estomática	45	Anfiestomática	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1
	46	Anfihipoestomática	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	47	Hipoestomática	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0

Tipos de estômatos na face adaxial	48	Anisocítico	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1
Tipos de estômatos na face abaxial	49	Anisocítico	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	50	Anomocítico	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1
Células epidérmicas na face adaxial	51	Reta	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	52	Sinuosa	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
Células epidérmicas na face abaxial	53	Curva	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	54	Sinuosa	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
	55	Convexa											
Células estomáticas	56	Ao nível	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	57	Em saliência	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
Paredes anticlinais do parênquima paliçádico	58	Reta	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1
	59	Estriada	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
Células do parênquima esponjoso	60	Arredondada	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	61	Alongada	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
	62	Quadrangulares	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Contorno da nervura principal	63	Plano-convexo	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	64	Biconvexo	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
Esclerênquima	65	Presença\ausência	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Forma do feixe na nervura principal	66	Semiarco	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0
	67	Arco	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1
Contorno do pecíolo	68	Biconvexo costelado	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	69	Plano-convexo	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	70	Plano-convexo costelado	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1
Tipo de colênquima no pecíolo	71	Angular	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Forma do feixe no pecíolo	72	Arco	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	73	Semiarco	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
	74	"U"	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Nº de feixes na região mediana do pecíolo	75	1-4	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	76	5-7	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Areia cristalina	77	Parênquima	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
	78	Colênquima	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0
	79	Floema	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0
Tr. Simples	80		0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
Tr. Estrelados	81	Porrecto	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
	82	Multiangulado	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1

Fonte: Costa-Silva, 2014.

Quadro 4 - Caracteres anatômicos foliares das espécies de *Solanum* clados *Gardneri* e *Thomasiifolium*

Taxa	Face Adaxial			Face Abaxial			Mesofilo				
	Formato das células	Paredes anticlinais	Complexo estomático	Formato das células epidérmicas	Paredes anticlinais	Tamanho do estômato (µm)	Tipo de estômato (%)		Média da Área total (µm)	Paliçádico (µm)	Esponjoso (µm)
							Anisocítico	Anomocítico			
<i>S. buddleifolium</i>	irregular	curva	presente	irregular	sinuosa	44,21 x 35,98	100	-	98,98	43,84	39,74
<i>S. paraibanum</i>	irregular	sinuosa	ausente	irregular	sinuosa	31,89 x 23,33	100	-	50,84	18,97	31,31
<i>S. rupicola</i>	irregular	sinuosa	ausente	irregular	sinuosa	32,53 x 22,51	100	-	80,05	12,81	66,8
<i>S. thomasiifolium</i>	irregular	sinuosa	ausente	irregular	sinuosa	33,06 x 26,09	95	5	110,29	53,74	56,07
<i>S. agrarium</i>	irregular	sinuosa	presente	irregular	sinuosa	31,32 x 22,07	84,2	15,8	83,91	43,84	39,74
<i>S. gardneri</i>	irregular	curva	ausente	irregular	sinuosa	25,41 x 18,95	?	?	117,76	63,11	53,27
<i>S. polytrichum</i>	irregular	sinuosa	ausente	poligonal	Retas a curvas	17,29 x 11,64	100	-	-	-	-
<i>S. schomburghii</i>	poligonal	Reta a curva	presente	Irregulares	Curvas	25,12 x 18,77	93,6	6,4	84,65	40,85	43,75
<i>S. stenandrum</i>	irregular	sinuosa	presente	irregular	sinuosa	29,79 x 18,54	86,6	13,4	98,23	53,75	43,71
<i>S. talarense</i>	irregular	sinuosa	presente	irregular	sinuosa	35,41 x 28,12	75,86	24,13	119,06	62,33	52,35
<i>S. tetramerum</i>	irregular	sinuosa	presente	irregular	sinuosa	32,86 x 23,17	75	25	72,81	36,49	37,01

Fonte: Costa-Silva, 2014.

3 DISCUSSÃO

Segundo Whalen (1984), o hábito arbustivo observado na maioria das espécies de *Solanum* subg. *Leptostemonum* é considerado o mais primitivo e também observado em todas as espécies do subg. *Bravanthrum*, grupo considerado mais basal dentro do gênero. O hábito trepador observado em *S. paraibanum* e *S. rupincola* que nos tratamentos tradicionais eram posicionadas na seção *Micracantha*, caracterizada por ser um grupo de lianas, evoluiu independentemente em diferentes grupos, sendo considerado um caráter polifilético.

No gênero *Solanum*, o crescimento vegetativo é inicialmente monopodial e as folhas são arrançadas em espiral, mas com o início da floração, o padrão de desenvolvimento se torna simpodial. Cada inflorescência é ontogeneticamente terminal, e a continuação do ramo é iniciada na axila da folha abaixo. Cada ramo lateral, com sua inflorescência terminal é chamado de unidade simpodial (WHALEN, 1984). O comprimento destas unidades simpodiais, medido em número de nós, pode variar de unifoliolada a plurifoliada. Quanto às unidades simpodiais, o padrão plurifoliado é o mais basal no subg. *Leptostemonum* apesar de sua distribuição esparsa entre as espécies do grupo. Isso sugere que dentre os dois grupos estudados nesse trabalho, o clado *Thomasiifolium* retém as características mais primitivas.

A interpretação da morfologia foliar em *Solanum* subg. *Leptostemonum* é complicada pela sua plasticidade, principalmente pelo fato de muitas espécies exibirem formas transicionais com folhas relativamente largas, armadas e lobadas enquanto jovens, a folhas pequenas, esparsamente armadas e inteiras quando maduras (WHALEN, 1984). Essa plasticidade têm levado a equívocos quanto à delimitação de determinadas taxa, a exemplo de *S. paraibanum* e *S. rupincola*. Por serem espécies de liana com bagas grandes de indumento hirsuto, há muitas coleções misturadas dessas espécies nos herbários brasileiros, principalmente devido ao tipo de margem da lamina foliar de *S. rupincola*, que é inteiro, e está dentro da variação esperada para os formatos da folha de *S. paraibanum*. Porém *S. rupincola* se distingue claramente pelo formato geral obovado da lâmina foliar com margens revolutas, enquanto *S. paraibanum* apresenta folhas elípticas a ovadas e pela morfologia mais delgadas do cálice.

Mesmo ocorrendo em biomas diferentes, houve problemas de identificação no material de herbário de *S. buddleifolium* e *S. thomasiifolium*, provavelmente, devido a

ausência de um número representativo de coletas e observações de campo para *S. buddleifolium* que, por muito tempo permaneceu conhecida apenas do tipo. Além de *S. thomasiifolium* apresentar uma distribuição mais ampla, ocorrendo em vários biomas como a caatinga e o cerrado e também apresentar grande variação em sua morfologia foliar, cujas folhas e ramos, apresentam acúleos cônicos na planta adulta, mas muitas vezes são densamente armados com acúleos aciculares nas formas juvenis, assemelhando-se a alguns espécimes de *S. buddleifolium*, exclusiva dos campos rupestres da de Minas Gerais e Bahia. O material herborizado dessas duas espécies é muito semelhante, devido à sobreposição de alguns caracteres de *S. thomasiifolium* à *S. buddleifolium*, porém no material fresco e na análise da flor de material seco, é clara separação entre essas espécies, principalmente com relação à corola: rotácea, em *S. thomasiifolium*, e estrelada, com lobos bem definidos, em *S. buddleifolium*.

Em amostras de herbário *S. agrarium* pode assemelhar-se a *S. stenandrum*, entretanto em campo e em amostras frescas essas espécies são facilmente distintas, não só pelos caracteres vegetativos quanto pelos caracteres reprodutivos. Ambas estão posicionadas na seção *Acanthophora* (NEE, 1979, 1991; WHALEN, 1984), por um conjunto de caracteres que incluem a presença de tricomas simples em toda a planta. *Solanum talarense* também é uma espécie posicionada na seção *Acanthophora* por Nee (1991), apesar de sua afinidade com a seção *Melogenia*. Com base nos resultados aqui obtidos, evidencia-se que é uma espécie com afinidades com *S. agrarium* e *S. stenandrum* como demonstrado no fenograma (Figura 9).

A relação morfoanatômica de *S. polytrichum* e *S. schomburghii* com as demais espécies que compõem o clado Gardneri não são muito claras, como pode ser observado no fenograma (Figura 9). Em tratamentos anteriores, estas espécies estavam incluídas nas seções *Polytrichum* e *Persicareae*, respectivamente. Para Nee (1999), essas seções formaram assembleias heterogêneas de grupos provavelmente não naturais. *Solanum* sect. *Persicareae* é um grupo de espécies com diversas adaptações para ambientes áridos, porém *S. schomburghii* diferencia-se das demais por habitar ambientes úmidos, às margens de rios da Amazônia. As características que delimitam a seção *Polytrichum* (WHALEN, 1984; NEE, 1999), são a presença tricomas estrelados estipitados e o cálice acrescentado geralmente armado no fruto.

A distribuição e tipologia dos tricomas têm importância taxonômica nos diferentes níveis infragenéricos, sendo que, em *Solanum*, alguns deles têm valor

diagnóstico, úteis no estabelecimento de afinidades e padrões distintivos para seções ou espécies (SEITHE, 1962, 1979; ROE, 1972; NURIT-SILVA ET AL. 2012).

Os tipos de tricomas observados nas espécies desse estudo, entretanto, não trazem nenhum esclarecimento quanto ao posicionamento dessas espécies nesses novos clados, refletindo em vez disso, afinidades com outras espécies que em tratamentos tradicionais estavam posicionadas nas mesmas seções (*Acanthophora*, *Micracantha*, *Persicareae* e *Polytrichum*). Os tricomas simples observados em *S. agrarium*, *S. stenandrum* e *S. talarense* são característicos da seção *Acanthophora* (NEE, 1991; GRANADA-CHACÓN; ROJAS, 2004), enquanto tricomas estrelados longo-pediculados observados em *S. polytrichum* são comuns nas espécies da seção *Polytrichum*, de acordo com Nurit-Silva; Agra (2011); e tricomas estrelados multiangulados observados em *S. buddleifolium*, *S. gardneri*, *S. thomasiifolium* são comuns às espécies da seção *Persicareae* (Nee, 1991).

Em *Solanum* subg. *Leptostemonum*, as inflorescências são cimosas podendo ser simples ou ramificadas. Em ambos os tipos, os eixos onde estão as flores se estruturam em um monocásio, com as extremidades curvadas (WHALEN, 1984). De acordo com Child (1979), pode-se observar uma contínua redução das formas nas inflorescências que vai desde cimeiras corimbosas com muitas flores, hermafroditas até inflorescências simples, paucifloras, com flores estaminadas.

Inflorescências racemosas simples semelhantes às encontradas em *S. polytrichum*, *S. buddleifolium* e *S. thomasiifolium* evoluíram várias vezes dentro do gênero *Solanum* e a distribuição desse caráter nos táxons infragenéricos tem pouca consistência em relação a outros caracteres (WHALEN, 1984), uma vez que este tipo de inflorescência e as simples paucifloras podem ser encontradas em um mesmo grupo de espécies, a exemplo do Clado Gardneri.

O número de flores hermafroditas varia entre espécies relacionadas, entre indivíduos de uma mesma espécie e até mesmo entre inflorescências de uma mesma planta (WHALEN; COSTICH 1984). A condição ancestral em vários grupos pode ter sido uma fraca andromonoecia com apenas poucas flores estaminadas no ápice das inflorescências e a redução na proporção das flores hermafroditas é uma tendência que em alguns grupos culmina em inflorescências simples com apenas uma flor hermafrodita na base da inflorescência (WHALEN, 1984). Estas evidências sugerem que *S. buddleifolium* e *S. thomasiifolium* apresentam as característica mais primitivas

no clado *Thomasiifolium* e *S. polytrichum* e *S. schomburghii* no clado *Gardneri*, em relação ao desenvolvimento das inflorescências.

Os frutos do tipo baga, comum às espécies de *Solanum*, apresentam caracteres bastante distintivos nas espécies analisadas, principalmente com relação ao tamanho, cor e indumento do epicarpo, constituindo-se de um caráter fortemente distintivo entre os taxos, porém sem uma correlação com os cladogramas.

Com relação aos estudos anatômicos, a análise da epiderme revelou que o padrão sinuoso do contorno das paredes anticlinais apresentado nas espécies analisadas é comum ao das demais espécies de *Solanum*, como reportado para *Acanthophora* (GRANADA-CHACÓN; ROJAS 2004), *Geminata* (ROJAS, 2007), *Crinitum* (ARAÚJO ET AL., 2010), *Polytrichum* (NURIT-SILVA; AGRA 2011), *Torva* (NURIT-SILVA ET AL., 2012), entre outros, não se constitui em um caráter distintivo para as espécies analisadas, nem taxonomicamente informativo em relação ao agrupamento dos cladogramas *Gardneri* e *Thomasiifolium*. As amostras de *S. polytrichum* coletadas na Bahia que apresentaram-se com células de paredes anticlinais curvas na face abaxial, diferindo do padrão reportado para esta espécie por NURIT-SILVA; AGRA (2011), com base na observação de amostras de áreas mais secas.

A distribuição dos estômatos com padrão hipoestomático é mais comum em *Solanum*, como já referido por Metcalfe and Chalk (1950), Rojas and Mesa (1991), and Nurit-Silva et al. (2011, 2012). Entretanto, o padrão anfiestomático observado nas espécies do clado *Gardneri*, já reportado anteriormente para espécies da seção *Acanthophora* por Granada-Chacón & Rojas 2004, inclusive *S. agrarium*, é comum às espécies que ocorrem em áreas expostas ao sol e pode ser explicado como uma adaptação a ambientes com altas taxas fotossintéticas (MOTT ET AL. 1982). Essa resposta adaptativa explica a ocorrência ocasional de estômatos na face adaxial de *S. buddleifolium* e a sua ausência de estômatos na face adaxial de *S. polytrichum*, pertencente ao clado *Gardneri*.

Os tipos de estômatos observados nas espécies do clado *Gardneri* e *Thomasiifolium*, anisocíticos e anomocíticos, são comuns em *Solanum*, inclusive em uma mesma lâmina foliar (METCALFE; CHALK 1950; AHMAD, 1964; ROJAS; RODRÍGUEZ 1991; COSA ET AL. 1998; NURIT-SILVA ET AL. 2007, 2012; NURIT-SILVA; AGRA 2011).

As análises do teste estatístico *t* demonstraram que o tamanho dos estômatos não influenciou no agrupamento dos cladogramas *Gardneri* e *Thomasiifolium*, uma vez que

muitas espécies dos dois clado apresentam uma sobreposição nas médias das medidas. Porém o menor tamanho de estômatos foi observado em *S. polytrichum*, que também é a única espécie com paredes anticlinais retas a curvas na face abaxial, evidenciando mais uma vez as fracas relações deste táxon com os demais.

Hare (1944) ressaltou o cuidado ao se utilizar características do pecíolo em inferências taxonômicas uma vez que, características vasculares do pecíolo evoluíram primariamente em resposta à necessidades mecânicas, assumindo a forma que melhor sustenta a curvatura vertical resultante do peso da folha, bem como o estresse lateral devido a ação do vento. Dessa forma, esse caráter é principalmente adaptativo e funcional e por essa razão têm pouca significância taxonômica caso não haja uma constância desse caráter no táxon em questão. Nesse contexto, o sistema vascular em formato de U, arco ou semi-arco observados nas espécies dos caldos *Gardneri* e *Thomasiifolium* podem ter apenas valor funcional. Porém, a constância no formato do contorno geral em todas as amostras das espécies estudadas indica que tal caráter é taxonomicamente informativo.

A epiderme unisseriada, o mesofilo dorsiventral, tecido de sustentação formado por colênquima, feixes vasculares bicolaterais, idioblastos contendo areia cristalina corresponderam aos padrões já referidos por Metcalfe e Chalk (1950) para Solanaceae, que também é similar ao já descrito para várias outras espécies de *Solanum* (COSA ET AL.; 1998; COSA ET AL., 2002; NURIT-SILVA ET AL. 2007, 2012; LIMA ET AL. 2009; NURIT-SILVA; AGRA 2009; ARAÚJO et al. 2010).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser um grupo bastante heterogêneo, as espécies de *Solanum* clados *Thomasiifolium* e *Gardneri* apresentaram certo nível de afinidade, como demonstrado nas análises realizadas neste estudo. Os caracteres morfológicos vegetativos, como o padrão de ramificação simpodial, e reprodutivos, tais como flor e sementes, em conjunto com caracteres antômicos foliares, como posição dos estômatos e a anatomia do pecíolo, foram taxonomicamente significativos para o agrupamento desses taxóns. O estudo anatômico foliar dessas espécies, bem como as análises fenéticas conduzidas neste trabalho confirmam a importância da anatomia como subsídio para a taxonomia e a filogenia de *Solanum*.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, K. J. Epidermal studies in *Solanum*. **Lloydia**, v. 27, p. 243-50, 1964.
- AGRA, Maria de Fátima. Diversity and Distribution of *Solanum* subgenus *Leptostemonum* in Brazil, In: D.M. Spooner, L. Bohs, J. Giovannoni, R.G. Olmstead, D. Shibata (eds.). **Acta Horticulturae - VI International Solanaceae Conference: Genomics Meets Biodiversity**, Madison, Wisconsin, Vol. 745, p.31-43. 2007.
- ARAÚJO, Nathalia Diniz; COELHO, Victor Peçanha de Miranda; AGRA, Maria de Fátima. Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de *Solanum crinitum* Lam. *Solanum gomphodes* Dunal e *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., Solanaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v 20. p. 666-674. 2010.
- BARANOVA, Margarita. Principles of comparative stomatographic studies of flowering plants. **The Botanical Review**, v. 58, n. 1, p. 49-99, 1992.
- BAKKER, J. C. Effects of humidity on stomatal density and its relation to leaf conductance. **Scientia Horticulturae**, v. 48, n. 3-4, p. 205-212, 1991.
- Benítez-Rojas, C. E. and Rodríguez, P. 1991. Taxonomía y anatomía de *Solanum* Sect. *Brevantherum* Seithe (Solanaceae) en Venezuela. **An. Jard. Bot. Madrid**, v. 49, p. 67-76, 1991.
- ROJAS, Carmen Benítez. Reseña crítica del estudio de la familia Solanaceae en Venezuela. In: **Proceedings of the VI Congreso Latinoamericano de botánica: Mar del Plata, Argentina**. p. 2-8. 1994.
- ROJAS, Carmen Benítez. Anatomy of the foliar epidermis of the *Solanum nudum* species group of *Solanum* sect. *Geminata* (Solanaceae). In: **VI International Solanaceae Conference: Genomics Meets Biodiversity 745**. p. 287-294. 2006.
- BOHS, Lynn. Major clades in *Solanum* based on ndhF sequences. In: R.C. Keating, V.C. Hollowell, (eds.). **Croat Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. A festschrift for William G. D'Arcy: the legacy of a taxonomist**, Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Vol. 104, p.27-49. 2005
- CHILD, Alan. A review of branching patterns in the Solanaceae. In Hawkes, J. G., Lester, N., Skelding, A. D. eds, **the Biology and Taxonomy of Solanaceae**. London: Academic Press, p. 345-356. 1979.
- CHILD, Arthur; LESTER, R. N. Life form and branching within the Solanaceae. **Solanaceae III. Taxonomy, chemistry, evolution. Royal Botanical Garden, Kew**, p. 151-159, 1991.
- COSA, María Teresa; BRUNO, Gloria; DOTTORI, Nilda. Anatomía de los órganos vegetativos en *Solanum juvenale* y su comparación con *S. elaeagnifolium* (Solanaceae). **Anales del Instituto de Biología. Serie Botánica**, v. 69, n. 1, 1998.

COSA, Maria Teresa.; HADID, Mirian; DOTTORI, nilda; BRUNO, Gloria. Anatomía de Órganos Vegetativos en *Solanum palinacanthum*, *S. sisymbriifolium* y *S. euacanthum* (Solanaceae). **An. Inst. Biol. Univ. Autón. México, Ser. Bot.**, v. 73, n. 1, p.27-38. 2002.

D'ARCY, W. G. Solanaceae II: typification of subdivisions of *Solanum*. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, v. 59, p. 262-278. 1972.

D'ARCY, W. G. The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. Pp. 75-137 in J. G. Hawkes, R. N. Lester, M. Nee & N. Estrada R. (eds.). **Solanaceae III: taxonomy, chemistry, evolution**. Royal Botanic Gardens, Kew. 1991.

D'ARCY, W.G. The classification of the Solanaceae. **The biology and taxonomy of the Solanaceae**. London: Academic Press p. 3-47. 1979.

DICKINSON, W.C. **Integrative Plant Anatomy**, Harcourt Academic Press, San Diego. 2000.

DIXIT, V. P., VARMA, M., MATHUR, R., SHARMA, S. Hipocholesterolemia and antiatherosclerotic effects of solasodine in cholesterol fed rabbits. **Phytotherapy research**, v. 6, p. 270-273. 1992.

DAUNTER, B., CHAM, B.E. Solasodine glycosides. In vitro preferential toxicity for human cancer cells. **Cancer Letters**, v. 55, p. 209-220. 1990.

DUNAL, . **Histoire naturelle, médicale et économique des Solanum, et des genres qui ont été confondus avec eux**. Eux. Montpellier.1813.

DUNAL, Michel-Félix. Solanaceae. In: A.P. De Candolle (ed). **Prodromus Systematis Universalis Naturalis Regni Vegetabilis**. v. 13, n. 1, p. 1-690. Paris. 1852.

FRIEDMAN, Mendel, LEE, Kap-Rang, KIM, Huyn-Jeong, LEE, In-Seon, KOZOKUE, Nobuyuke. Anticarcinogenic effects of glycoalkaloids from potatoe against human cervical, liver, lymphoma, and stomach cancer cells. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 6162-6169. 2005.

GRANADA-CHACÓN, William A.; DE ROJAS, Carmen E. Benítez. Morfología de tricomas foliares en especies de *Solanum* seccion *Acanthophora* (Solanaceae), presentes en Venezuela. **SIDA, Contributions to Botany**, p. 1675-1694, 2005.

GONÇALVES, Eduardo Gomes; LORENZI, Harri J. **Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2007.

HARE, C. Leighton. On the taxonomic value of the anatomical structure of the vegetative organs of the dicotyledons. 5. The anatomy of the petiole and its taxonomic value. In: **Proc. Linn. Soc., Lond.** p. 223-9. 1944.

HARRIS, James G.; HARRIS, Melinda Woolf. **Plant identification terminology: an illustrated glossary**. Spring Lake, Utah: Spring Lake Publishing, 1994.

HEWSON, H.J. **Plant Indumentum**: a handbook of terminology. Australian Flora and Fauna Series Number 9. Bureau of Flora and Fauna, Canberra. 1988.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.F. **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**. Massachusetts, Sinauer Associates. 1999.

KEUKENS, Erik AJ. Dual specificity of sterol-mediated glycoalkaloid induced membrane disruption. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1110, n. 2, p. 127-136, 1992.

KUO, R.; HSU, Shu Hui; LI, Ying Ping; LIN, Wei-Ling; LIU, Feng; Chang, Li-Ching; LIN, Chih-Chao; SHEU, Hamm Ming. Anticancer activity evaluation of the *Solanum* glycoalkaloid solamargine. Triggering apoptosis in human hepatoma cells. **Biochem. Pharmacol.**, v. 60, p. 1865-1873. 2000.

KNAPP, Sandra. & T. HELGASON. A revision of *Solanum* section *Pter-oidea* Dunal: Solanaceae. **Bull. Nat. Hist. Mus. London**, Bot. 27: 31-73. 1997.

KNAPP, Sandra. A revision of the *Solanum nitidum* group (section *Holophylla* pro parte): Solanaceae. **Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.)**, **Bot.** 19: 63-102. 1989.

KNAPP, Sandra. Tobacco to tomatoes: a phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n°. 377, p. 2001-2022, 2002.

KNAPP, Sandra, BOHS, Lynn, NEE, Michael. & SPOONER, D.M. Solanaceae – A model for linking genomics with biodiversity. **Comp. Funct. Genomics** 5: 285–291. 2004.

KRAUS, Jane Elizabeth; ARDUIN, Marcos. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Edur, 1997.

LEVIN, Rachel A.; MYERS, Nicole R.; BOHS, Lynn. Phylogenetic relationships among the “spiny solanums”(*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). **American Journal of Botany**, v. 93, n. 1, p. 157-169, 2006.

LINNAEUS, Carl von. **Species plantarum**. Stockholm. 1753.

MENTZ, Lilian Auler; OLIVEIRA, Paulo Luiz de; SILVA, Marcia Vignoli. Tipologia dos tricomas das espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae) na Região Sul do Brasil. **Iheringia. Série botânica**, v. 54, p. 75-106, 2000.

MENTZ, Lilian Auler; OLIVEIRA, Paulo Luiz de. O gênero *Solanum* na Região Sul do Brasil. **Pesquisas, Série. Botânica** 54: 1-327. 2004.

METCALFE, Charles Russell; CHALK, Laurence. **Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, Stem, and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses** by CR Metcalfe,... and L. Chalk, with the Assistance of MM Chattaway, CL Hare, FR Richardson, EM Slatter. Clarendon Press, 1950.

NEE, Michael. Patterns in biogeography in *Solanum*, section *Acanthophora*. **Linnean Society symposium series**. 1979.

NEE, Michael. Synopsis of *Solanum* in the new world. **Solanaceae IV: advances in biology and utilization**. Kew: **The Royal Botanic Gardens, Kew**, p. 285-333, 1999.

NURIT-SILVA, Kiriaki; AGRA, Maria De Fátima; BASÍLIO, Ionaldo José Lima Diniz. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Solanum paniculatum* L. e *Solanum rhytidoandrum* Sendtn.(Solanaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. pg. 243-245, 2007.

NURIT-SILVA, Kiriaki; AGRA, Maria De Fátima. Estudo Morfoanatômico de Órgãos Vegetativos de *Solanum caavurana* Vell. (Solanaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, p. 675-681. 2009.

NURIT-SILVA, Kiriaki; AGRA, Maria De Fátima. Leaf Epidermal Characters of *Solanum* Section *Polytrichum* (Solanaceae) as Taxonomic Evidence. **Microscopy Research and Technique**. 74 (12): 1186-91. 2011.

NURIT-SILVA, Kiriaki, Costa-Silva, Rafael, Basílio, BASÍLIO, Ionaldo José Lima Diniz, AGRA, Maria De Fátima. Leaf epidermal characters of Brazilian species of *Solanum* section *Torva* as taxonomic evidence. **Botany** 90: 1–9. 2012.

ROE, Keith. E. A revision of *Solanum* section *Brevantherum* (Solanaceae) in North and Central America. **Brittonia** 19: 353-373. 1967.

ROE, Keith E. A revision of *Solanum* section *Brevantherum* (Solanaceae). **Brittonia**, v. 24, n. 3, p. 239-278, 1972.

ROJAS, Carmen Benítez. Anatomy of the foliar epidermis of the *Solanum nudum* species group of *Solanum* sect. *Geminata* (Solanaceae). In: **VI International Solanaceae Conference: Genomics Meets Biodiversity 745**. 2006. p. 287-294.

SEITHE, Almut. 62 Die Haararten der Gattung *Solanum* L. und ihre taxonomische Verwertung. **Bot. Jb**, v. 81, p. 261-335, 1961.

SEITHE, A. Hair types as taxonomic characters in *Solanum*. Hawkes, J, G., Lester, R, N., Skelding, A, D ed (s). **The biology and taxonomy of the Solanaceae**. Academic Press: London, p. 307-19, 1979.

SENDTNER, O.. Solanaceae. In C. von Martius (Ed.), **Flora brasiliensis** (Martius) 10: 5-338. 1846

SILVA, T.M.S.; BRAZ, R.; de CARVALHO, M.G.; AGRA, M.F. Flavonoids and an alkalamide from *Solanum paludosum* Moric. **Biochem Syst Ecol**. 30: 479–481. 2002.

SILVA, T.M.S.; NASCIMENTO, R.J.B.; CAMARA C.A.; CASTRO, R.N.; BRAZ, R.; AGRA, M.F.; de CARVALHO, M.G. Distribution of flavonoids and N-transcaffeoyl-tyramine in *Solanum* subg. *Leptostemonum*.. **Biochem Syst Ecol** 32: 513–516. 2004.

SMITH, Frank H.; SMITH, Elizabeth C. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. **American Journal of Botany**, p. 464-471, 1942.

SOLEREDER, Hans. **Systematic Anatomy of the dicotyledons**. Vol. 1. Oxford: Clarendon Press. 1908.

STACE, Clive. **The taxonomic importance of the leaf surface**. 1984.

STERN, Stephen R.; WEESE, Terri; BOHS, Lynn A. Phylogenetic relationships in *Solanum* section *Androceras* (Solanaceae). **Systematic botany**, v. 35, n. 4, p. 885-893, 2010.

STERN, Stephen; AGRA, Maria de Fátima; BOHS, Lynn. Molecular delimitation of clades within New World species of the. **Taxon**, v. 60, n. 5, p. 1429-1441, 2011.

STERN, Stephen; BOHS, Lynn. An explosive innovation: Phylogenetic relationships of *Solanum* section *Gonatotrichum* (Solanaceae). **PhytoKeys** 8: 83-98, 2012.

WEESE, Terri L.; BOHS, Lynn. A three-gene phylogeny of the genus *Solanum* (Solanaceae). **Systematic Botany**, v. 32, n. 2, p. 445-463, 2007.

WHALEN, Michael D.; G. J. ANDERSON. Distribution of gametic self-incompatibility and infrageneric classification in *Solanum*. **Taxon** 30: 761-767. 1981.

WHALEN, Michael D. Taxonomy of *Solanum* section *Androceras*. **Gentes Herb.** 11: 359-426. 1979.

WHALEN, Michael D. Conspectus of species groups in *Solanum* subgenus *Leptostemonum*. **Gentes Herb. (Ithaca)**, v. 12, n. 4, p. 179-282, 1984.

ANEXO A - Artigo Publicado no Periódico Botany

806

Leaf epidermal characters of Brazilian species of *Solanum* section *Torva* as taxonomic evidence

Kiríaki Nurit-Silva, Rafael Costa-Silva, Ionaldo J.L.D. Basílio, and
 Maria de Fátima Agra

Abstract: To evaluate their taxonomic significance, the yet unknown epidermal characters of the leaves of 10 species of *Solanum* section *Torva* Nees (Solanaceae) from Brazil were determined using light and scanning electron microscopy. Our results indicated that the leaf epidermis showed epidermal cells of straight to wavy outlines. The curved pattern of anticlinal cell walls was predominant on the adaxial surface, and the wave pattern was predominant on the abaxial surface. Leaves are amphistomatic in six species (*Solanum acutifolium* Dunal, *Solanum bonariense* L., *Solanum guaraniticum* A. St-Hil., *Solanum metrobotryon* Dunal, *Solanum scuticatum* M. Nees, and *Solanum torvum* Sw.) and hypostomatic in four species (*Solanum adpressum* Witsack, *Solanum paniculatum* L., *Solanum subumbellatum* Vell., and *Solanum variabile* Mart.). Four different types of stomata (anisocytic, anomocytic, paracytic, and diacytic) were recognized, with the anisocytic type predominant on adaxial and abaxial surfaces. The combination of some micro-morphological characters such as density, distribution and type of stellate trichomes, the anticlinal walls of epidermal cells, and also the type and distribution of stomata proved to be the most useful and distinctive characters for the separation of species. This set of characters also may help as additional support in quality control of species having medicinal importance.

Key words: Solanaceae, *Solanum* subg. *Leptostemonum*, trichomes of *Solanum*, leaf anatomy, spiny *Solanum*.

Résumé : Afin d'évaluer leur signification taxonomique, les auteurs ont étudié en microscopie optique et électronique par balayage des caractères jusqu'ici inconnus, sur les feuilles de 10 espèces de *Solanum* section *Torva* Nees (Solanaceae), du Brésil. Les résultats indiquent la présence de cellules épidermiques avec des contours droits ou sinueux. Le patron courbe des parois cellulaires anticlinales domine sur la surface adaxiale et le patron sinueux sur la face abaxiale, avec une prédominance du patron sinueux sur la surface abaxiale. On observe une distribution amphistomatique chez 6 espèces (*Solanum acutifolium* Dunal, *Solanum bonariense* L., *Solanum guaraniticum* A. St-Hil., *Solanum metrobotryon* Dunal, *Solanum scuticatum* M. Nees et *Solanum torvum* Sw.) et hypostomatique chez 4 espèces (*Solanum adpressum* Witsack, *Solanum paniculatum* L., *Solanum subumbellatum* Vell. et *Solanum variabile* Mart.). On reconnaît également quatre différents types de stomates (anisocytique, anomocytique, paracytique et diacytique), le type anisocytique étant prédominant sur les surfaces adaxiales et abaxiales. La combinaison de certains caractères micro-morphologiques comme la densité, la distribution et le type des trichomes étoilés, les parois anticlinales des cellules épidermiques ainsi que le type et la distribution des stomates s'avèrent comme les caractères distinctifs les plus utiles pour distinguer les espèces et peuvent également constituer un support additionnel pour effectuer le contrôle de qualité d'espèces d'importance médicinale.

Mots-clés : Solanaceae, *Solanum* subg. *Leptostemonum*, trichomes des *Solanum*, anatomie foliaire, *Solanum* spinuleux.

[Traduit par la Rédaction]

Introduction

According to Dickson (2000), the leaf epidermis has a number of important diagnostic features that offer valuable clues to the identification of the plants, such as the shape and orientation of stomata, the type and shape of guard cells and subsidiary cells, as well as the structure of the epidermal cell walls. The characteristics of the leaf epidermal tissue has been used by several authors including Uphof (1962), Scatena et al. (2005), Yang and Lin (2005), and Porto et al. (2011) owing to its importance and particularly by Seithe

(1962), Roe (1972), Nurit-Silva et al. (2007), and Nurit-Silva and Agra (2011) in *Solanum*.

According to Carlquist (1961) and Stace (1984), anatomical characters can present themselves as valuable additional tools, which can be used to characterize families, genera, or establish affinities between them.

In addition, the morphology and distribution of trichomes have also been shown to be of taxonomic significance at different hierarchical levels of *Solanum*, which are useful in establishing infrageneric and interspecific affinities (Seithe 1962, 1979; Roe 1972). Moreover, some authors suggested a

Received 24 October 2011. Accepted 28 March 2012. Published at www.nrcresearchpress.com/cjbo on 9 August 2012.

K. Nurit-Silva, I.J.L.D. Basílio, and M.F. Agra. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Biotecnologia, Seção de Botânica, Universidade Federal de Paraíba, Caixa Postal 5009, 58015-970, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

R. Costa-Silva. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rêgo s/n°, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil.

Corresponding author: Maria de Fátima Agra (e-mail: agramf@ufpb.br).

Table 1. Voucher specimens of *Solanum* sect. *Torva* species.

Species	Voucher specimen
<i>Solanum acutibotum</i> Dunal	BOLIVIA. Santa Cruz: Wines, 21-XII-1998, M. Nee 38007 (RB)
<i>Solanum adpersum</i> Watsch	BRASIL. Paraná: Guaquecupira, 00-VII-1997, L.R.M. Sora & Santana 183 (RB)
<i>Solanum bonariense</i> L.	BRASIL. São Paulo: Petróle, 27-IX-1973, S. Parigot s.n. (SPF 17706)
<i>Solanum guaraniticum</i> A. St.-Hil.	BRASIL. Paraná: Faxinal, 18-VII-1987, E.Y. Uchibaba s.n. (FUEL 4635)
<i>Solanum metrobotryon</i> Dunal	BRASIL. Rio de Janeiro: Teresópolis, 28-IV-2010, M.F. Agra et al. 7275 (JPB)
<i>Solanum paniculatum</i> L.	BRASIL. Paraná: João Pessoa, 26-IV-2008, M.F. Agra et al. 6486 (JPB)
<i>Solanum scaticum</i> M. Nee	BRASIL. São Paulo: Campinas, 07-V-2009, M.F. Agra & Neri 7122 (JPB)
<i>Solanum subumbellatum</i> Vell.	BRASIL. Minas Gerais: Serra do Itacolomi, 26-IV-2011, M.F. Agra et al. 7334 (JPB)
<i>Solanum torvum</i> Sw.	BRASIL. Paraná: João Pessoa, 20-VIII-2008, M.F. Agra et al. 6758 (JPB)
<i>Solanum variabile</i> Mart.	BRASIL. São Paulo: 26-IV-2011, M.F. Agra et al. 7380 (JPB)

correlation between the morphology of trichomes and gene transcription for production of specialized biosynthetic metabolites, as indicated by the presence of flavonoids in some species of Brazilian *Solanum* (Silva et al. 2004).

Solanum sect. *Torva* Nees belonging to the subgenus *Lepantosomonum* has about 45 species, and it is widely distributed in the Americas, Africa, Asia, New Guinea, and Pacific Islands. According to the molecular studies by Stern et al. (2011), the *Torva* clade is consistent and corresponds to earlier concepts of Whalen (1984) and Nee (1999). The section constitutes a well characterized group, and the species can be recognized by the following characters: large shrubs with plumbulate sympodia; herbage with prickles on stems; petioles and midribs, especially during early stages of development; large and highly branched inflorescences; whitish to brown stellate pubescence on the stems and leaves; stellate and somewhat plicate corollas; and glabrous and juicy berries (Agra 2007).

According to our studies (Agra 2007), in Brazil the section is comprised of the following species: *Solanum acutibotum* Dunal, *Solanum adpersum* Watsch, *Solanum bonariense* L., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil., *Solanum metrobotryon* Dunal, *Solanum paniculatum* L., *Solanum scaticum* M. Nee, *Solanum subumbellatum* Vell., *Solanum torvum* Sw., and *Solanum variabile* Mart. Of these, three are endemic to Brazil: *S. adpersum*, to Atlantic Forest of São Paulo and Paraná; *S. metrobotryon*, to the Atlantic Forest of Rio de Janeiro and São Paulo; and *S. subumbellatum* to the Cerrado and the Atlantic Forest (Stehmann et al. 2010).

Many species of *Solanum* are known as "jurubeba" in Brazil, a native word from Tupi-Guarani that refers to the presence of thorns on the plant (Agra 1999). These are used in folk medicine for various purposes. *Solanum paniculatum* stands out not only for its various medicinal uses and wide distribution in Brazil but also as the only species of *Solanum* recognized as a herbal remedy in the Brazilian Pharmacopoeia (1929), whose roots and stems are cited for the treatment of anemia and liver and digestive disorders. Because of the wide distribution and great morphological plasticity it has been commonly confused with other species of the genus, especially with *S. scaticum* (Brazil and Bolivia) and *S. torvum* (widely distributed around the world), which are endowed with the same medicinal properties and are used as a substitute for *S. paniculatum* (Agra et al. 2007).

The morphological similarities between some species of *Solanum* sect. *Torva* are so remarkable that sometimes the distinction between these species is a difficult task. Further-

more, these species not only share a set of morphological characters but also exhibit great plasticity in their vegetative forms, particularly of leaves, which often makes their correct identification difficult. The leaf epidermis surfaces of 10 species of the section *Torva* found in Brazil were investigated here to evaluate its taxonomic significance. This study is aimed at evaluating the taxonomic utility of epidermal characters in *Solanum* sect. *Torva* and for the quality control of the species with medicinal importance, as information about their epidermal characters were so far unknown.

Material and methods

Material studied

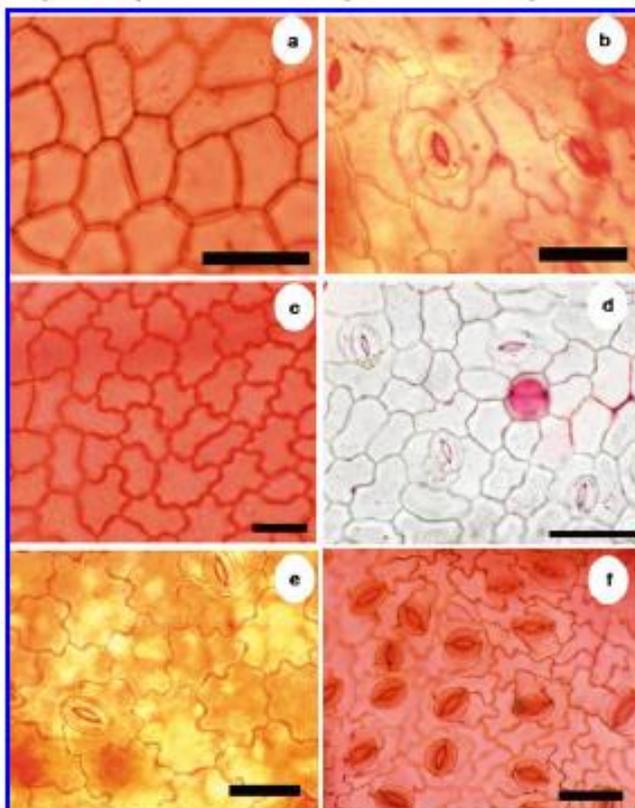
Samples of six species of *Solanum* (*S. metrobotryon*, *S. paniculatum*, *S. scaticum*, *S. subumbellatum*, *S. torvum*, and *S. variabile*) were collected from August 2008 to March 2011 in five States of Brazil: Bahia, Paraíba, Minas Gerais, Rio de Janeiro, and São Paulo. The plant material was divided in two parts: one for analysis using a light microscope and the other for examination using a scanning electron microscope (SEM). The leaf samples were fixed in formaldehyde - acetic acid - 50% ethanol (FAA) for 48 h, and stored in ethanol (70%) (Johansen 1940). In addition, leaf samples from herbaria specimens of four species (*S. acutibotum*, *S. adpersum*, *S. bonariense*, and *S. guaraniticum*) were obtained from three herbaria: Herbarium of Universidade Estadual de Londrina (FUEL), Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB), and Herbarium of Universidade de São Paulo (SPF).

The voucher specimens of fertile plants (with flowers and fruits) were collected and dried following the method described by Forman and Bridson (1989) and deposited at the Herbarium Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), with duplicates at the Herbarium of The New York Botanical Garden (NY). A list of voucher specimens used in the present study, including some notes on the location of the plants, is given in Table 1.

Anatomical procedures

For light microscopic observations, the leaf epidermis was removed from both surfaces by manual sections performed with cutting blades. Cross sections of leaf blades were made by hand, with the help of cutting blades. Subsequently, the sections were cleared with sodium hypochlorite (10%), neutralized with acetic water (0.2%), washed in distilled water and stained with a solution of safranin (1%), and mounted with glycerinated gelatin (50%). Photomicrographs were taken with a digital camera mounted on a light microscope.

Fig. 1. Light micrographs of leaf epidermis of species of *Solanum* sect. *Tornea*, in frontal view. (a) *Solanum adpressum*: adaxial surface with straight anticlinal walls of epidermal cells. (b) *Solanum bonariense*: adaxial surface with wavy anticlinal walls of epidermal cells and anisocytic stomata. (c) *Solanum subumbellatum*: adaxial surface with wavy anticlinal walls of epidermal cells. (d) *Solanum torvum*: adaxial surface with curved anticlinal walls of epidermal cells and anisocytic stomata. (e) *Solanum bonariense*: abaxial surface with wavy anticlinal walls of epidermal cells and diacytic stomata. (f) *Solanum adpressum*: abaxial surface with wavy anticlinal walls and anisocytic stomata. Scale bar = 50 μ m.



The classification of stomata and trichomes were based on Wilkinson (1979) and Theobald et al. (1979), respectively. Micrographs were taken of the epidermis of all the species studied. Those not presented here are available upon request.

For SEM of leaf epidermis, we used the standard methodology of Anderson (1951). Small pieces of leaves, about 1 cm², were fixed in a solution of 4% glutaraldehyde in 0.1 mol/L potassium phosphate buffer (pH 7.0) for 24 h at 48 °C. The pieces were then washed in 0.1 mol/L sodium cacodylate buffer (pH 7.0), followed by postfixation in 1% OsO₄ in 0.1 mol/L Na-cacodylate buffer (pH 7.0) for 1 h at room temperature. Finally, the pieces were dehydrated in an ascending ethyl series, critically point dried, affixed on alu-

minum stubs by double-sided adhesive tape, air dried, and sputter coated with gold (20 nm). For observations and photographs a JBOJ. JSM-5600 SEM at an accelerating voltage of 15 kV was used.

Results

Epidermis and stomata

In frontal view, it was observed that the anticlinal walls of leaf epidermal cells have either straight, slightly curved, curved, or wavy outlines. The shape of the anticlinal wall of leaf epidermal cells varies between different species and also within a species. The straight type was observed only on the

Fig. 2. Schematic drawing of anticlinal walls of leaf epidermis of *Solanum* sect. *Torva*, in frontal view. (a–b) *Solanum acutilobum*: slightly curved anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces. (c–d) *Solanum adspersum*: straight and wavy anticlinal walls of epidermal cells of adaxial and abaxial surfaces, respectively. (e–f) *Solanum brevitermum*: curved to wavy and wavy anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces, respectively. (g–h) *Solanum guianense*: curved anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces. (i–j) *Solanum macrobotryon*: wavy anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces. Scale bar = 50 μm .

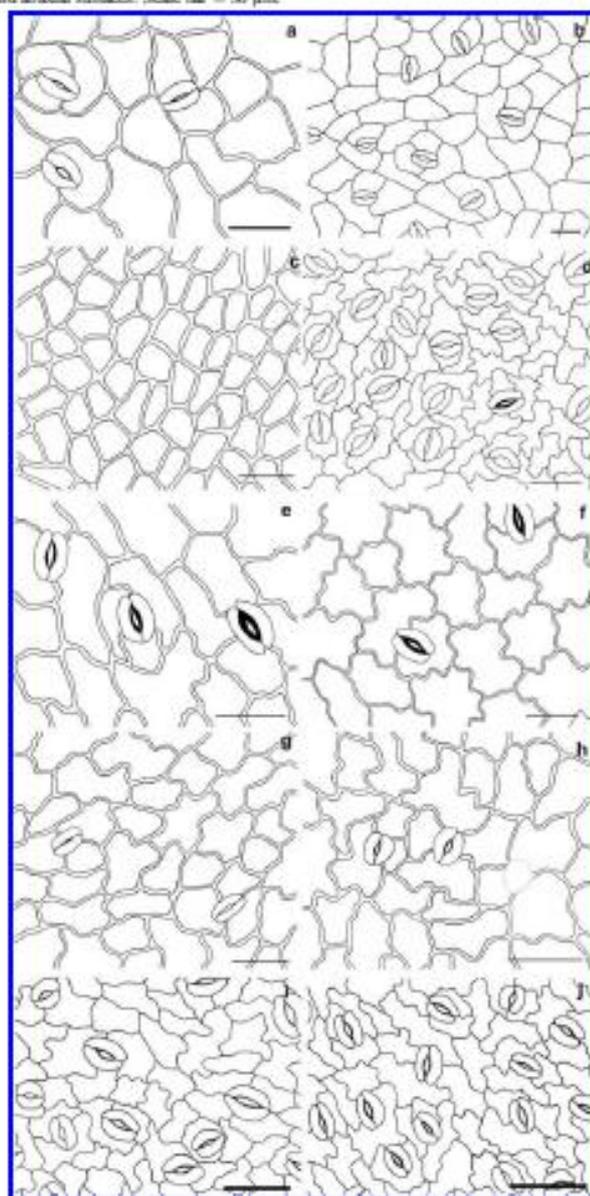
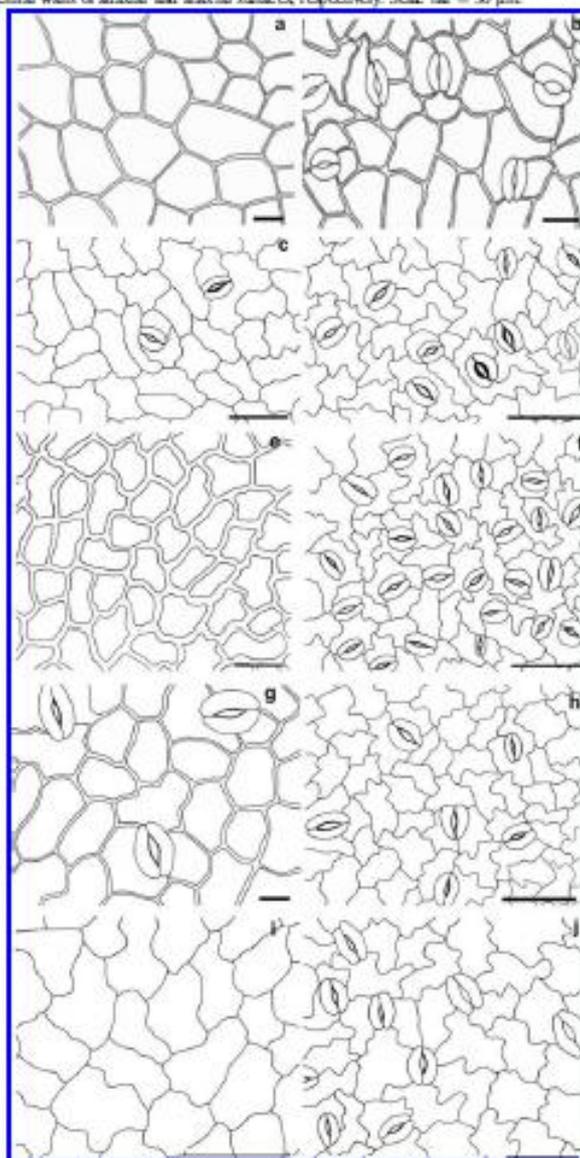


Fig. 3. Schematic drawing of anticlinal walls of leaf epidermis of *Solanum* sect. *Torva*, in frontal view. (a–b) *Solanum purpureolum*: straight anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces of leaf epidermis, respectively. (c–d) *Solanum rostratum*: slightly curved and wavy anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces, respectively. (e–f) *Solanum umbellatum*: curved to wavy and wavy anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces, respectively. (g–h) *Solanum torvum*: curved and wavy anticlinal walls of the adaxial and abaxial surfaces, respectively. (i–j) *Solanum variable*: curved and wavy anticlinal walls of adaxial and abaxial surfaces, respectively. Scale bar = 90 μ m.



surface of the adaxial epidermis of two species, *S. adpersum* (Figs. 1a and 2c) and *S. paniculatum* (Fig. 3a). The curved pattern of anticlinal wall of epidermal cells was predominant on the adaxial surface, whereas the wave pattern was predominant on the abaxial surface (Table 2).

Some species showed the same pattern of leaf epidermal cells on both the adaxial and abaxial leaf surfaces (Fig. 2; Table 2). This pattern was observed in *S. acutilobum* (Figs. 2a-2b) and *S. guaraniticum* (Figs. 2g-2h), which have epidermal cells with curved anticlinal walls, and *S. metrobotryon* with wavy anticlinal cell walls (Table 2).

In cross section, the epidermal cell outlines are tabular in a single layer with periclinal convex walls, which are covered by a thin or thicker cuticle. The thin cuticle was predominant and observed in most of the species. Three species that occur in open and sunny areas showed a thicker cuticle, *S. adpersum*, *S. scaticum*, and *S. subumbellatum*.

In relation to stomatal distribution patterns, the amphistomatic pattern of stomata was observed on the leaves of six species: *S. acutilobum* (Figs. 2a-2b), *S. bonariense* (Fig. 2e-2f), *S. guaraniticum* (Figs. 2g-2h), *S. metrobotryon* (Figs. 2i-2j), *S. scaticum* (Figs. 3c-3d), and *S. torvum* (Figs. 3g-3h). The hypostomatic pattern was observed on the leaves of four species: *S. adpersum* (Figs. 2c-2d), *S. paniculatum* (Fig. 3a), *S. subumbellatum* (Figs. 3e-3f), and *S. variable* (Figs. 3i-3j).

Four different types of stomata (anisocytic, anomocytic, paracytic, and diacytic) were recognized on the leaf epidermis of *Solanum* sect. *Torva*. In the anisocytic type, the stoma is usually surrounded by three subsidiary cells, of which one is markedly smaller than the others. Stomata of this type are predominant on adaxial and abaxial surfaces (Table 2). In the anomocytic type, the stoma is surrounded by a varying number of cells that do not differ from those of the epidermis. Stomata of this type were also recorded on adaxial surfaces of three species (*S. acutilobum*, *S. bonariense*, and *S. metrobotryon*) and on abaxial surfaces of four species (*S. adpersum*, *S. bonariense*, *S. metrobotryon*, and *S. variable*). Diacytic (stoma accompanied by two subsidiary cells, whose common wall is at right angles to the guard cells) and paracytic stomata (stoma with one or more subsidiary cells on each side parallel to the long axis of the pore and guard cells) were observed only on the abaxial surface of *S. bonariense* and *S. subumbellatum* (Fig. 3f), respectively (Table 2).

The presence of two different types of stomata in the same epidermis (both abaxial and adaxial surfaces) was observed on the adaxial epidermis of *S. acutilobum* and *S. bonariense*, and on abaxial surfaces of *S. guaraniticum* (Figs. 2g-2h) and *S. subumbellatum* (Figs. 1c and 3e-3f; Table 2). In cross section, the stomata of all species are located at the same or slightly elevated level in relation to the epidermal cells.

Indument and trichomes

Species of *Solanum* sect. *Torva* have a different indument on each leaf surface. Most species have glabrescent leaves on the adaxial surfaces of adult plants, unlike the young plants which have a hairy or tomentose indumentum. In contrast, the abaxial surface has a compact and whitish, tomentose or velutinous indument in both young and adult plants.

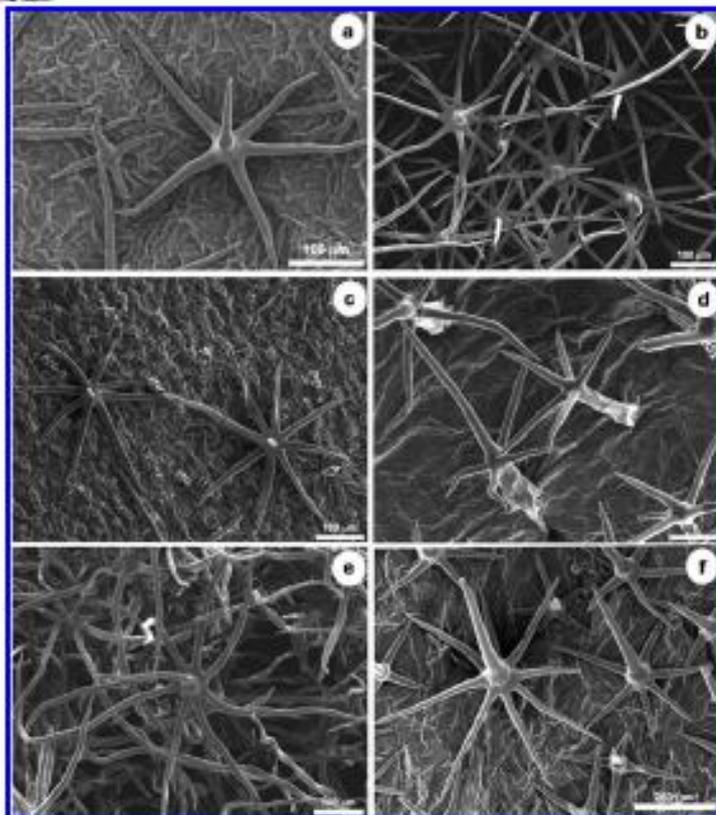
The shape and distribution of stellate trichomes are quite variable in the studied species, occurring mainly as the porrect-

Table 2. Selected leaf epidermal characters of species of *Solanum* sect. *Torva*.

Species	Stomata distribution	Stomata type		Anticlinal cell walls		Stellate trichomes								
		Stomata type		Anticlinal cell walls		Adaxial		Abaxial		Adaxial		Abaxial		
		Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	MS	SES	CR	MS	SES	CR	MS	SES	CR
<i>Solanum acutilobum</i> Dunal	Amphistomatic	Anisocytic anomocytic	Anisocytic	Slightly curved	Slightly curved	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum adpersum</i> Watssek	Hypostomatic	-	Anomocytic	Straight	Wavy	-	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>Solanum bonariense</i> L.	Amphistomatic	Anomocytic	Anisocytic	Curved to wavy	Wavy	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum guaraniticum</i> A. St.-Hil.	Amphistomatic	Anisocytic	Anisocytic	Curved	Curved	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum metrobotryon</i> Dunal	Amphistomatic	Anomocytic	Anisocytic anomocytic	Wavy	Wavy	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum paniculatum</i> L.	Hypostomatic	-	Anomocytic	Straight	Slightly curved	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum scaticum</i> M. Nee	Amphistomatic	Anisocytic	Anisocytic	Curved	Wavy	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum subumbellatum</i> Vell.	Hypostomatic	-	Anisocytic and paracytic	Curved to wavy	Wavy	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum torvum</i> Sw.	Amphistomatic	Anisocytic	Anisocytic	Curved	Wavy	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum variable</i> Dunal	Hypostomatic	-	Anomocytic	Curved to wavy	Wavy	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Note: MS, multiseriate (width: 3:8); SES, sessile; CR, central ray; +, character present; ++, character dominant; -, character absent; 1, one-celled central ray; 2, many-celled central ray.

Fig. 4. SEM micrographs of trichomes of leaf epidermis of *Solanum* sect. *Torva*, in frontal view (a–f) *Solanum acutilobum*: sessile and stalked stellate trichomes on adaxial and abaxial surfaces, respectively. (c) *Solanum adpressum*: sessile pectin-stellate trichomes on adaxial surface. (d) *Solanum matroboryon*: stalked-thicker stellate trichomes on adaxial surface. (e) *Solanum paniculatum*: tomentose indument, stalked stellate trichomes, with long and many-celled central ray on abaxial surface. (f) *Solanum scoticum*: sessile and stalked stellate trichomes on adaxial surface.



stellate type, either sessile or stalked. Stellate multiangulate trichomes were also found, but they were less common and observed on the adaxial epidermis of *S. matroboryon* (Fig. 4d) and *S. variable* (Fig. 5e).

Pectin-stellate trichomes, sessile with a reduced central ray, were observed on the leaves of four species: *S. acutilobum* (Fig. 4a), *S. adpressum*, *S. bowariense*, and *S. torvum* (Fig. 5c). Stellate trichomes with an elongated many-celled central ray were also recorded on the leaves of seven species (Table 2).

The stellate-stalked trichomes were predominantly found on abaxial leaf surfaces of most species including *S. matroboryon* (Fig. 4d), *S. paniculatum*, *S. subumbellatum* (Figs. 5a–5b), and *S. variable* (Fig. 5e). Stellate trichomes were also found on the adaxial surface of *S. bowariense*, *S. scoticum*, *S. variable*, and *S. matroboryon*. However, stellate trichomes with a very thickened stalk were present in *S. matroboryon* (Fig. 4d). Sessile trichomes were also found

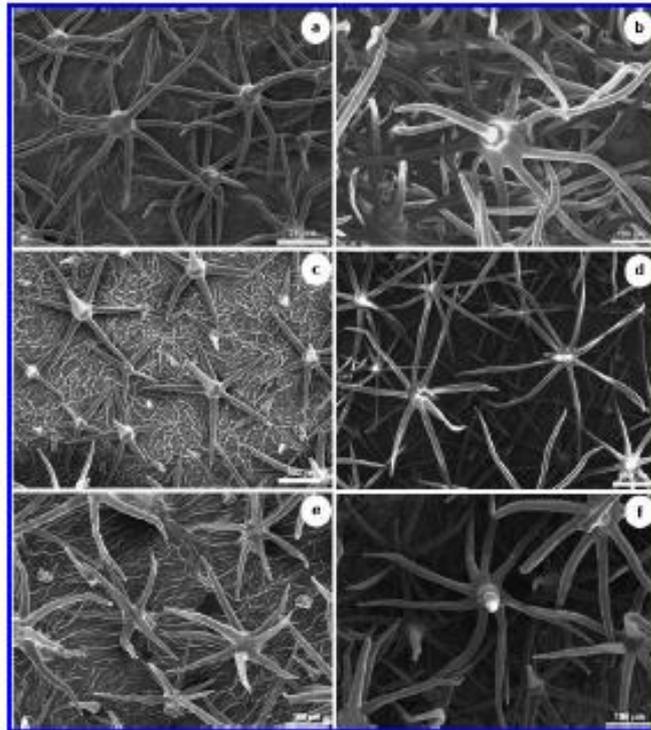
on the adaxial surface of all species, except *S. matroboryon*, and on the abaxial epidermis of five species (Table 2).

Discussion

The anticlinal cell walls of leaf epidermis of the studied species proved to be quite diverse, with intraspecific as well as interspecific differences. Based on the characters observed, we can say that the morphology of the anticlinal walls of the epidermis and trichomes constitute interspecific taxonomic evidence for the separation and delimitation of species of *Solanum* sect. *Torva*.

The amphistomatic pattern of distribution of stomata on blade leaves was predominant and also represents a common character of *Solanum*, according to Mercalle and Chalk (1950). Anisocytic stomata were observed on the abaxial surface of most species of *Solanum* sect. *Torva*, except in *S. adpressum*, *S. matroboryon*, and *S. variable*.

Fig. 5. SEM micrographs of trichomes of leaf epidermis of *Solanum* sect. *Torva*, in frontal view (a–b) *Solanum rubrobellatum*: sessile and stalked stellate trichomes on adaxial and abaxial surfaces, respectively. (c–d) *Solanum torvum*: sessile and stalked stellate trichomes on adaxial and abaxial surfaces, respectively. (e–f) *Solanum variable*: stalked stellate-multiangulate trichomes on adaxial surface and pectin-stellate on abaxial surface.



The anomocytic stomata observed in some species is the most common type of stomata found in *Solanum* (Metcalf and Chalk 1950; Ahmad 1964; Nurit-Silva et al. 2007; Nurit-Silva and Agra 2011) and also described for other sections of the genus (Rojas 2007), therefore not constituting a distinguishing character. However, the paracytic and diacytic types, also observed on *S. bonariense* and *S. rubrobellatum*, are less frequent in *Solanum* and in Solanaceae (Metcalf and Chalk 1950), although they were already described for other species of *Solanum* (Ahmad 1964).

The whitish to brown indument occurring in species of *Solanum* sect. *Torva* consists mainly of stellate trichomes, being predominantly pectin-stellate, sessile, or long-stalked, as observed in most species studied, except in *S. variable* and *S. munitoryon*. Stellate trichomes with a very thickened and long stalk were recorded only in *S. munitoryon*, which can be considered as a distinctive character for this species as a member of the section *Torva*. This type of trichome is rare in *Solanum* species of this section and was probably one of

the reasons for the misidentification of specimens of *S. munitoryon* in herbaria as *S. hexandrum*, a species of the *Cristatum* group. However, this type of trichome is found in the species of the sections *Cristatum* (Amiljo et al. 2010) and *Polytrichum* (Nurit-Silva and Agra 2011), as well as in some species of *Solanum* subg. *Brevantherum* (Roe 1972).

Among the species with important medicinal uses, *S. paniculatum* can be distinguished from *S. torvum* and *S. scaberrimum* by its whitish indument, contour of the cell walls, and trichomes on abaxial surface. Moreover, *S. torvum* and *S. scaberrimum* share several epidermal characters, except for the indument and types of trichomes.

In the present study, characteristics of the leaf epidermis of species of *Solanum* were found to have utility as taxonomic evidence for the separation of the species of *Solanum* sect. *Torva*. Thus, a combination of some micro-morphological characters such as density, distribution and type of stellate trichomes, the shape of the anticlinal walls of epidermal cells, and also the type and distribution of stomata on adaxial and

abaxial surfaces proved to be the most useful and distinctive characters for the separation of species. This set of characters may also contribute to the taxonomy, as well as to the quality control of studied species of medicinal importance.

Acknowledgements

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support and scholarships to the authors; the curators of herbaria IPB, RB, SP, and SPF for their pleasant cooperation during our visit to their facilities; Dulce G. Oliveira for technical assistance; Janabrata Bhattacharyya and Eduardo Jesus de Oliveira for the English revision; and the anonymous referees for their helpful comments and suggestions.

References

- Agra, M.F. 1999. Diversity and distribution of *Solanum* subgenus *Leptotemonium* in North-East of Brazil. In *Solanaceae IV: Advances in biology and utilization*. Edited by M. Nee, D. Symon, R.N. Lester, and J.P. Jessop. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 197–203.
- Agra, M.F. 2007. Diversity and distribution of *Solanum* subgenus *Leptotemonium* in Brazil. *Acta Hort.* 745: 31–43.
- Agra, M.F., Freitas, P.F., and Barbosa-Filho, I.M. 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.* 17(1): 114–140.
- Almond, K.J. 1964. Epidermal studies in *Solanum*. *Lloydia*, 27(3): 243–250.
- Anderson, T.F. 1951. Techniques for the preservation of three-dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 13(4 Series II): 130–134. doi:10.1111/j.2164-0947.1951.tb01007.x.
- Andrzej, N.D., Coelho, V.P.M., and Agra, M.F. 2010. Estudo farmacobotânico comparativo de filhas de *Solanum crispum* Lam. *Solanum gonplodes* Danal e *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. *Solanaceae*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 20(5): 666–674. doi:10.1590/S0102-695X2010005000016.
- Carlquist, S.J. 1961. Comparative plant anatomy: a guide to taxonomic and evolutionary application of anatomical data in angiosperms. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Dickson, W.C. 2000. Integrative plant anatomy. Academic Press, San Diego.
- Farmacopéia Brasileira. 1929. São Paulo, Brazil.
- Forman, L., and Bidson, D. 1989. The herbarium handbook. Royal Botanic Gardens, Kew, Great Britain.
- Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- Metcalf, C.R., and Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses. Clarendon Press, Oxford.
- Nee, M. 1999. Synopsis of *Solanum* in the New World. In *Solanaceae IV: Advances in biology and utilization*. Edited by M. Nee, D.E. Symon, R.N. Lester, and J.P. Jessop. The Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 233–285.
- Nair-Silva, K., and Agra, M.F. 2011. Leaf epidermal characters of *Solanum* sect. *Polytrichum* (*Solanaceae*) as taxonomic evidence. *Microsc. Res. Tech.* 74(12): 1186–1191. doi:10.1002/jemt.21013. PMID:21563273.
- Nair-Silva, K., Bastião, J.J.L.D., and Agra, M.F. 2007. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Solanum paniculatum* L. e *Solanum rhytidantrum* Sealdm. *Rev. Bras. de Bioc.* 5(1): 243–245.
- Porto, N.M., Figueiredo, R.C.R.Q., Oliveira, A.F.M., and Agra, M.F. 2011. Leaf epidermal characteristics of *Cinampela* L. (*Menispermaceae*) species from northeastern Brazil. *Microsc. Res. Tech.* 74(4): 370–376. PMID:20734407.
- Roe, K. 1972. A revision of *Solanum* section *Brevantherum* (*Solanaceae*). *Brittonia*, 24(3): 259–278. doi:10.2307/2805665.
- Rojas, C.B. 2007. Anatomy of the foliar epidermis of the *Solanum* nudum species group of *Solanum* sect. *Geminata* (*Solanaceae*). *Acta Hort.* 745: 287–293.
- Scatena, V.L., Giulietti, A.M., Borba, E.L., and Van Der Berg, C. 2005. Anatomy of Brazilian *Eriocaulaceae*: correlation with taxonomy and habitat using multivariate analyses. *Plant Syst. Evol.* 253(1–4): 1–22. doi:10.1007/s00606-004-0295-z.
- Seithe, A. 1962. Die haarearten der Gattung *Solanum* L. und ihre taxonomische Verwertung. *Bot. Jahrb. Syst.* 81: 261–336.
- Seithe, A. 1979. Hair types as taxonomic characters in *Solanum*. In *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. Edited by J.G. Hawkes, R.N. Lester, and A.D. Skellerng. Academic Press, London, pp. 307–319.
- Silva, T.M.S., Nascimento, R.I.B., Cláudio, C.A., Castro, R.N., Bezerra-Filho, R., Agra, M.F., and Carvalho, M.G. 2004. Distribution of flavonoids and *N*-methylcinnamyl-tyramine in *Solanum* subg. *Leptotemonium*. *Biochem. Syst. Ecol.* 32(5): 513–516. doi:10.1016/j.bse.2003.10.013.
- Stace, C.A. 1984. The taxonomic importance of leaf surface. In *Current concepts in plant taxonomy*. Edited by V.H. Heywood and D.M. Moore. Academic Press, London, pp. 67–94.
- Stehmann, J.R., Mentz, L.A., Agra, M.F., Vignoli-Silva, M., and Giacomin, L. 2010. *Solanaceae*. In *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB014720>).
- Stern, S., Agra, M.F., and Böhs, L. 2011. Molecular delimitation of clades within New World species of the “spiny solanums” (*Solanum* subg. *Leptotemonium*). *Taxon*, 60(5): 1429–1441.
- Theobald, W.L., Knuthik, J.L., and Rollins, R.C. 1979. Trichome description and classification. In *Anatomy of the Dicotyledons*. Edited by C.R. Metcalf. Clarendon Press, Oxford, pp. 40–53.
- Uphof, J.C. 1962. Plant hairs. In *Encyclopedia of plant anatomy*. Vol. IV. Berlin.
- Whalen, M.D. 1984. Conspectus of species of *Solanum* subgenus *Leptotemonium*. *Gen. Herb.* 12(4): 179–282.
- Wilkinson, H.P. 1979. The plant surface (mainly leaf). Part I: Stomata. In *Anatomy of the dicotyledons*. Edited by C.R. Metcalf and L. Chalk. Oxford University Press, Oxford, pp. 97–117.
- Yang, Z.R., and Lin, Q. 2005. Comparative morphology of the leaf epidermis in *Schizandra* (*Schizandraceae*). *Bot. J. Linn. Soc.* 148(1): 39–56. doi:10.1111/j.1095-8339.2005.00396.x.