



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**CISTÓLITOS DE REPRESENTANTES DA TRIBO JUSTICIEAE  
(ACANTHACEAE) DO SEMIÁRIDO DA BAHIA, BRASIL**

JOSEANE SILVA CARNEIRO

FEIRA DE SANTANA - BAHIA

2011



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

## **CISTÓLITOS DE REPRESENTANTES DA TRIBO JUSTICIEAE (ACANTHACEAE) DO SEMIÁRIDO DA BAHIA, BRASIL**

JOSEANE SILVA CARNEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de *Mestre* em Ciências - Botânica.

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO DE ASSIS RIBEIRO DOS SANTOS (UEFS)

FEIRA DE SANTANA - BAHIA

2011

## **BANCA EXAMINADORA**

**Profa. Dra. Kelly Regina Batista Leite**

*Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia*

**Profa. Dra. Cláudia Elena Carneiro**

*Universidade Estadual de Feira de Santana*

**Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos (UEFS)**

*Universidade Estadual de Feira de Santana*

*Orientador e Presidente da Banca*

*Ao meu Deus, toda a honra e toda a glória.*

*Certeza ...*

*... de que apesar de minhas renúncias e loucuras, alguém me valoriza pelo que sou.*

*... que Amor é superior ao ódio e ao rancor, e que não existe vitória sem humildade e paz.*

*... que mesmo se hoje eu fracassar, amanhã será outro dia.*

*... que se eu não desistir dos meus sonhos e propósitos, talvez seja plenamente feliz.*

*... que eu nunca deixe minha esperança ser abalada por palavras pessimistas...*

*... que um dia, possa dizer às pessoas que nada foi em vão...*

*... que o amor existe.*

*... que vale a pena se doar às amizades e às pessoas.*

*... que a vida é bela sim, e que eu sempre dei o melhor de mim...*

*... que valeu a pena!!!*

*(Mario Quintana – adaptado)*

# AGRADECIMENTOS

---

## AGRADECIMENTOS

---

A meu Deus, por ser minha fortaleza em todos os momentos, por tudo o que fez e faz por mim, pelo seu amor incondicional.

À Universidade Estadual de Feira de Santana por subsidiar o desenvolvimento da minha pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana (PPGBot/UEFS), e todos os seus membros, pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior) pela concessão da bolsa.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro do Santos pelo exemplo de pesquisador e disponibilidade em me orientar na anatomia.

À Profa. Dra. Claudia Elena Carneiro por ter sido a responsável por estar na anatomia vegetal, o seu amor e estímulo pelo que faz acabou me cativando.

Aos professores e colegas da Pós-Graduação pelas discussões que contribuíram bastante na aquisição de conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Luciano Paganucci de Queiroz, curador do Herbário HUEFS, por ter cedido o material para análise.

Ao Prof. Antonio Neto pela ajuda nos cálculos estatísticos.

À Msc. Ana Luiza Côrtes, pela disposição e auxílio a cada nova dúvida. Sua ajuda foi muito importante.

Ao pessoal do LAMIC pela disposição em ajudar quando precisei do fotomicroscópio.

Ao pessoal do Laboratório de Micromorfologia Vegetal (LAMIV) – Paulino, Marcus, Ricardo, Jailson, Marileide, Luciene, Ana Paula, Vanessa, Cristina, Marcel, André e Jorge os quais me deram sempre incentivo pra continuar e principalmente foram incentivadores das minhas risadas. Paulino, Ricardo e Marcus muito obrigada por estarem disponíveis sempre que precisei.

À minha família, especialmente aos os meus pais, José Calânico e Ana, pelo exemplo de vida, incentivo e amor incondicional. Por sofrerem junto comigo, mesmo ao telefone, nem a distância amenizou toda a preocupação. Muito obrigada por tudo!

Aos meus padrinhos Emerson e Gorette que foram os grandes responsáveis pela minha criação, pelos meus estudos e permanência em Feira de Santana por todo este tempo, sem vocês com certeza a minha chegada e permanência a universidade seria muito árdua.

A Júnior por me suportar nos meus momentos de estresse e ter que estar sempre disponível para me levar e buscar altas horas na UEFS. Obrigada por compreender a minha ausência.

Aos meus sogros Rege e Neura, pela preocupação e acolhimento.

Aos meus amigos da UEFS, em especial a Grênivel e Aline sem vocês tudo seria muito mais difícil. E a Jumara pelo companheirismo.

Aos meus amigos, em especial, da Família Caminhada que orarem por mim a todo o momento, pela amizade e compreensão.

Obrigada a todos!!!



## SUMÁRIO

---

**AGRADECIMENTOS**

**RESUMO**

***ABSTRACT***

**1 INTRODUÇÃO.....14**

**2 MATERIAL E MÉTODOS.....18**

**3 RESULTADOS.....23**

**4 DISCUSSÃO.....33**

**5 REFERÊNCIAS.....36**

**RESUMO**

---

## Resumo

---

A presença de cistólitos é um dos caracteres diagnósticos da tribo Justiceae, uma das maiores entre as Acanthaceae. Os cistólitos são inclusões celulares, compostas por carbonato de cálcio e são encontrados frequentemente em células idioblásticas (litocistos) da epiderme foliar. A morfologia e distribuição dos cistólitos são variáveis entre diferentes táxons, sendo de grande importância em estudos taxonômicos. Um estudo mais pormenorizado dos cistólitos presentes nas folhas dos membros da tribo Justiceae (Acanthaceae) e a verificação da sua possível relevância taxonômica para os membros desta família é de grande importância. Para este estudo foram utilizados dez gêneros distribuídos em 22 espécies da tribo Justiceae (Acanthaceae) que ocorrem na região do semiárido da Bahia. Foram coletadas amostras de folhas das espécies para o estudo micromorfológico dos cistólitos, em espécimes depositados no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana; sempre que possível foram estudados dois ou mais espécimes. As amostras foram reidratadas e fixadas. Seções medianas das folhas foram retiradas para a análise dos cistólitos na epiderme. Para verificar a composição química do cistólito foi utilizado o teste com ácido acético glacial, obtendo resultado positivo. Os parâmetros métricos dos cistólitos foram obtidos tomando aleatoriamente 25 medidas (comprimento e largura maior) e os resultados submetidos à análise estatística. Todas as espécies examinadas apresentaram litocistos contendo cistólitos com grande variação no comprimento, largura e forma, os quais estão presentes em ambas as epidermes foliares. Os litocistos tenderam a ser globoides, grandes, de paredes primárias, celulósicas, finas e o interior sem ser preenchido completamente pelos cistólitos. Estes apresentam-se sésseis, solitários, elípticos, largos ou estreitos, uma ou ambas as extremidades arredondadas, superfície ornamentada com ondulações, com eixo maior longo e reto, mas apresentando também alguns poucos cistólitos curvados em todos os espécimes. As espécies foram agrupadas em três tipologias de cistólitos com base na morfologia: a) cistólitos longos e com ambas as extremidades arredondadas verificados em dez espécies; b) cistólitos longos, com apenas uma extremidade arredondada, verificados em sete espécies; c) cistólitos muito variáveis, verificados em cinco espécies. O estudo desta tribo aponta que os caracteres tamanho e forma dos cistólitos não são características que podem ser utilizadas isoladamente na classificação das espécies ou gêneros, sem que estes caracteres estejam associados a outros

caracteres, pois o tamanho e forma do cistólito, além de terem grande variabilidade, podem ser influenciados por fatores ambientais.

**Palavras-chave:** Acanthaceae, Justicieae, Cistólito, Anatomia Vegetal

|

# ABSTRACT

---

## Abstract

---

The presence of cystoliths is one of the diagnostic characters of the subtribe *Justicieae*, one of the largest among the *Acanthaceae* family. Cystoliths are cellular inclusions composed of calcium carbonate and are often found on idioblastic cells (lithocysts) leaf epidermis. Morphology and distribution of lithocysts are variable among different taxa, is of great importance in taxonomic studies. For this study, we include ten genera of 22 species of subtribe *Justicieae* (*Acanthaceae*) that occur in the semiarid region of Bahia. Samples were collected from leaves of the species for the micromorphological study of cystoliths on specimens deposited in the Herbarium of Universidade Estadual de Feira de Santana, when possible two or more specimens were studied. The leaf samples were rehydrated and fixed. Leaf sections were collected for analysis of cystoliths in the epidermis. To check the chemical composition of cystoliths, we dealt with the glacial acetic acid test, obtaining positive results. The metric parameters of cystoliths were obtained by taking 25 random measurements (length and width) and the results submitted to the statistics. All species examined showed lithocysts containing cystoliths with great variation in length, width and shape, which are present in both leaf epidermises. The lithocysts tended to be globoids, big, with primary, thin, cellulosic walls, and without being completely filled by cystoliths. These are sessile, solitary, elliptical, wide or narrow, one or both ends rounded, ornamented with undulating surface, with long, straight axis, but also presenting a few cystoliths curved in all specimens. The species were grouped into three types cystoliths based on morphology: a) cystoliths long and rounded at both ends occurred in ten species; b) cystoliths long, with one rounded end, seen in seven species, c) highly variable cystoliths, observed in five species. The study shows that studied species of *Justicieae* subtribe can not be segregated themselves by size and shape of cystoliths separately, even to segregate the genera, unless these traits are associated with other characters, since the size and shape of cystolith have great variability, and they may be influenced by environmental factors.

**Key words:** *Acanthaceae*, *Justicieae*, Cystolith, Plant Anatomy

# 1 INTRODUÇÃO

---

## Introdução

---

A família Acanthaceae Juss. abrange cerca de 250 gêneros e 3.200 espécies com distribuição predominantemente pantropical, tendo o Brasil como um dos principais centros de diversidade, com cerca de 41 gêneros e 342 espécies (Profice *et al.* 2010). Seus representantes, na maioria das vezes, são compostos por ervas e arbustos com folhas geralmente decussadas, inflorescências com brácteas folhosas, flores pentâmeras, gamopétalas, com 2 ou 4 estames, algumas vezes estaminódios presentes, anteras geralmente biloculares e os frutos na maioria das vezes é uma cápsula loculicida (Côrtes 2009).

Tradicionalmente a família Acanthaceae está dividida em quatro subfamílias: Nelsonioideae, Mendoncioideae, Thunbergioideae e Acanthoideae; tendo Justiceae como a maior tribo dentro da família, sendo constituída por cerca de 100 gêneros e 2.000 espécies predominantemente tropicais (Scotland & Vollesen 2000).

Esta família é de grande importância na ornamentação de jardins e ambientes, e também possui importância ecológica por serem abundantes em florestas úmidas e dominantes em ambientes semi-áridos (Ezcurra 2002). Além de ser reconhecida também por ser uma das poucas famílias que apresentam vários tipos de cristais em suas células, como por exemplo os cristais de oxalato e de carbonato de cálcio (cistólito), o que torna esse caráter muito característico para a família.

A deposição de cálcio biológico na planta é um fenômeno comum. Há muito se sabe que os sais de cálcio insolúveis na forma de sulfato, carbonato e oxalato ocorrem em uma grande variedade de plantas (Solereeder 1908). Embora menos comum do que o oxalato de cálcio, o carbonato de cálcio é encontrado nas células de algumas plantas como uma incrustação nas paredes ou sob a forma de um depósito chamado cistólito.

O cistólito consiste de um corpo celulósico impregnado com carbonato de cálcio (Welle 1980), e pode ser verificado em vários órgãos e tecidos, contudo é mais frequente na epiderme das folhas (Esau 1974; Kuo-Huang & Yen 1996). Normalmente, os cistólitos estão localizados na superfície alargada das células idioblásticas epidérmicas, denominadas de litocisto, onde o carbonato de cálcio é depositado ao longo de uma extensão celulósica que se prende à parede da célula (Dickison 2000). Alguns desses idioblastos podem apresentar um pedúnculo que prende o cistólito à parede da célula (nas Moraceae, p.e.) ou

apresentar-se sem essa estrutura - sésseis, como nas Acanthaceae (Solereder 1908).

Pouco se sabe sobre o significado fisiológico desses depósitos de carbonato de cálcio, mas acredita-se que os litocistos são fisiologicamente células muito ativas na regulação de cálcio e íons de carbono (Sugimura *et al.* 1999) e possivelmente estes compostos são reservatórios para o processo de fotossíntese (Lin *et al.* 2004).

Fatores ambientais como ausência de luz, principalmente em indivíduos jovens, assim como ausência de dióxido de carbono na atmosfera, podem inibir o desenvolvimento dos cistólitos (Metcalf & Chalk 1983; Sandoval-Zapotitla *et al.* 2005). A quantidade de material depositado nos cistólitos está determinada pela quantidade de cálcio no solo ou substrato no qual a planta se desenvolveu. Enquanto o tamanho, mas não o número, dos cistólitos está determinado pela concentração de dióxido de carbono atmosférico. Uma iluminação reduzida ou uma exposição prolongada à escuridão inibe a formação dos cistólitos (Sandoval-Zapotitla *et al.* 2005).

Ao contrário dos cristais de oxalato de cálcio que são encontrados em várias famílias (Agavaceae, Annonaceae, Araceae, Begoniaceae, Cactaceae, Dioscoriaceae, Fabaceae, Lauraceae, Liliaceae, Melastomataceae e Rubiaceae), os de carbonato de cálcio são encontrados em poucas eudicotiledôneas, como nas Ulmaceae, Cannabaceae, Moraceae, Urticaceae, além de serem encontrados também em outras famílias como Acanthaceae, Boraginaceae, Cucurbitaceae, Gesneriaceae, Oleaceae (Solereder 1908; Franceschi & Horner 1980; Fahn 1990; Dickison 2000).

A morfologia e distribuição dos litocistos são variáveis entre diferentes táxons, sendo de grande importância em estudos taxonômicos (Solereder 1908; Metcalf & Chalk 1950; Inamdar 1970; Dickison 2000). Entretanto, Inamdar *et al.* (1990) reportam que a morfologia dos cistólitos pode não auxiliar na diferenciação entre gêneros e espécies.

Segundo Groult (1999), o tamanho e a forma dos cistólitos, além da densidade e orientação em relação à nervura central são bons caracteres taxonômicos para diferenciar os táxons. Entretanto, apesar da considerada relevância taxonômica dos cistólitos para as famílias citadas por alguns autores, ainda são poucos os trabalhos que os relacionam à taxonomia de grupos.

Dos trabalhos encontrados sobre litocistos e cistólitos, a sua grande maioria refere-se a membros das famílias Moraceae e Urticaceae; para Acanthaceae existem alguns trabalhos centrados em poucos pesquisadores sendo os mais recentes por Inamdar *et al.* (1990), Kuo-Huang & Yen (1996) e Lin *et al.* (2004). Segundo esses últimos, nas Acanthaceae, os cistólitos ocorrem frequentemente na superfície (epiderme ou tecidos



subepidérmicos), sendo este um dos caracteres mais evidentes para o reconhecimento de gêneros.

Este trabalho visou o estudo mais pormenorizado dos cistólitos presentes nas folhas dos membros da tribo Justiceae (Acanthaceae) que ocorrem no semiárido da Bahia, e verificar a sua possível relevância taxonômica para os membros desta família.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

---

## Material e Métodos

---

O estudo de Côrtes (2009) indicou dez gêneros e 27 espécies da tribo Justiceae (Acanthaceae) para a região do semiárido da Bahia, dessas espécies apenas 22 foram obtidas para o estudo de prospecção micromorfológica, as demais espécies não puderam ser inseridas, por se tratarem de unicatas.

Assim, dessas espécies foram coletadas amostras (folhas maduras) para o estudo micromorfológico dos cristólitos, em espécimes depositados no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS). Sempre que possível dois ou três espécimes de cada espécie foram utilizados para o estudo, dos quais foram obtidos um mínimo de três folhas. Quando o número de espécimes do Estado não foi suficiente, e apenas a título de completar o número de amostras, foram utilizados espécimes de outros estados do semiárido que não a Bahia.

Espécies estudadas:

### *Anisacanthus* Nees

*Anisacanthus trilobus* Lindau - **Bahia**: Santo Sé, 1/IV/2002, K.R.B. Leite *et al.* 187 (HUEFS); Delfino, 7/III/1997, P. Gasson *et al.* 6115 (HUEFS); Bela Vista, 25/III/2004, M.V. Moraes 657 (HUEFS).

### *Clistax* Mart.

*Clistax speciosus* Nees - **Bahia**: Abaíra, 25/V/1992, W. Ganev 397 (HUEFS); Palmeiras, 21/III/2003, E. Melo *et al.* 3539 (HUEFS); Caetité, 12/IV/2005, E.B. Miranda *et al.* 799 (HUEFS).

### *Dicliptera* Juss.

*Dicliptera mucronifolia* Nees - **Bahia**: Cachoeira, 01/VIII/1980, Gr. P. do Cavalo 591 (HUEFS). **Paraíba**: Araruna, 27/IX/2002, R. Lima *et al.* 1654 (HUEFS).

### *Harpochilus* Nees

*Harpochilus neesianus* (Mart.) ex. Nees - **Bahia**: Glória, 06/VI/2004, M.V.M. Oliveira 702 (HUEFS); Canudos, 26/VI/2002, L.P. Queiroz 7158 (HUEFS).

### *Justicia* L.

*Justicia aequilabris* (Nees) Lindau - **Bahia**: Ipuacu, 13/VII/2007, E. Melo *et al.* 122129 (HUEFS); Caetité, 22/IV/2008, A.L. Côrtes *et al.* 96 (HUEFS); Ipuacu,

19/VII/2007, A.L. Côrtes *et al.* 18 (HUEFS).

*Justicia asclepiadea* (Nees) Wassh. & C. Ezcurra - **Bahia**: Caetité, 12/IV/2005, E.B. Miranda *et al.* 18 (HUEFS); Caetité, 22/IV/2008, A.L. Côrtes. *et al.* 96 (HUEFS).

*Justicia angustissima* A. Côrtes & Rapini - **Bahia**: Rio de Contas, 26/II/2004, R.M. Harley *et al.* 54973 (HUEFS); Caetité, 12/IV/2005, E.B. Miranda *et al.* 802 (HUEFS); Rio de Contas, 26/III/2008, A.L. Côrtes *et al.* 77 (HUEFS).

*Justicia chlamidocalyx* A. Côrtes & Rapini - **Bahia**: Morro do Chapéu, 14/IV/2007, E. Melo *et al.* 4694 (HUEFS); Guanambi, 15/IV/2002, F. França *et al.* 3781 (HUEFS).

*Justicia comata* (L.) Lam. - **Bahia**: Conceição da Barra, 31/VI/1980, L.R. Noblick 1962 (HUEFS).

*Justicia congrua* (Nees) Lindau - **Bahia**: Abaíra, 1/IV/1999, R.M. Harley *et al.* 54047 (HUEFS).

*Justicia glaziovii* Lindau - **Bahia**: Cachoeira, 01/VII/1980, Gr. P. do Cavalo 487 (HUEFS); Ipirá, 4/X/1986, L.P. Queiroz *et al.* 970 (HUEFS); Ipuacu, 11/X/2007, E. Melo *et al.* 5157 (HUEFS).

*Justicia harleyi* Wassh. - **Bahia**: Caturama, 4/VII/2007, A.A. Conceição *et al.* 2380 (HUEFS); Ibipitanga, 3/VII/2007, A.A. Conceição *et al.* 2312 (HUEFS).

*Justicia laevilinguis* (Nees) Lindau - **Bahia**: Feira de Santana, 6/V/1983, L.R. Noblick *et al.* 2604 (HUEFS); Caetité, 10/I/2008, A.L. Côrtes *et al.* 65 (HUEFS).

*Justicia lepida* (Moric.) Wassh. - **Bahia**: Morro do Chapéu, 1/V/1999, F. França *et al.* 2777 (HUEFS); Pindobaçu, 12/VIII/1999, E.B. Miranda *et al.* 148 (HUEFS); Senhor do Bonfim, 12/VII/2005, D. Cardoso *et al.* 656 (HUEFS).

*Justicia simonisia* V.A.W. Graham - **Bahia**: Urandi, 21/IV/2008, A.L. Côrtes *et al.* 91 (HUEFS); Urandi, 4/IV/2002, T. Ribeiro *et al.* 406 (HUEFS).

*Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard - **Bahia**: Tucano, 20/IV/2005, D. Cardoso *et al.* 477 (HUEFS); Caturama, 22/IV/2008, A.L. Côrtes *et al.* 100 (HUEFS); Paramirim, 29/IV/2007, A.A. Conceição *et al.* 1963 (HUEFS).

*Justicia xipotensis* (Roem. & Schult.) A. Côrtes & Rapini - **Bahia**: Ituaçu,

23/VI/1987, L.P. Queiroz *et al.* 1690 (HUEFS); Brotas de Macaúbas, 2/VI/2007, A.A. Conceição *et al.* 1690 (HUEFS).

***Poikilacanthus* Lindau**

*Poikilacanthus bahiensis* (Nees) Wassh. - **Bahia**: Boquira, 5/IV/1984, H.P. Bautista *et al.* 934 (HUEFS); Rio de Contas, 5/II/2001, R.M. Harley *et al.* 54098 (HUEFS); Santo Sé, 2/IV/2002, E.R. Souza *et al.* 133 (HUEFS).

***Pseuderanthemum* Raldk.**

*Pseuderanthemum modestum* (Nees) Radlk. - **Bahia**: Feira de Santana, 24/III/2007, E. Melo *et al.* 4634 (HUEFS); Ipuacu, 28/VIII/2008, A. Côrtes *et al.* 112 (HUEFS); **Minas Gerais**: Jacinto, 23/I/2004, J. Costa *et al.* 479 (HUEFS).

***Rhytiglossa* Nees**

*Rhytiglossa chamaedryoides* Nees - **Bahia**: Rio de Contas 26/III/2008, A.L. Côrtes *et al.* 75 (HUEFS); Rio de Contas, 26/II/2004, A.L. Côrtes *et al.* 54072 (HUEFS).

***Schaueria* Nees**

*Schaueria humuliflora* Nees & Mart. - **Bahia**: Anguera, 12/XII/2006, D. Cardoso *et al.* 1480 (HUEFS); Ipuacu, 24/III/2007, E. Melo *et al.* 4637 (HUEFS); Ipuacu, 05/V/2007, E. Melo *et al.* 4752 (HUEFS).

***Thyrsacanthus* Nees**

*Thyrsacanthus ramosissimus* Moric. - **Bahia**: Maracás, 25/III/2008, A. Côrtes *et al.* 67 (HUEFS); Rui Barbosa, 28/VII/2004, L.P. Queiroz *et al.* 9383 (HUEFS); Maracás, 23/IV/2002, R.P. Oliveira *et al.* 765 (HUEFS).

As amostras de folhas herborizadas foram reidratadas, fervidas em água com gotas de glicerina e, em seguida, fixadas em álcool a 70% para posterior análise. Para verificar a composição química do cristólito foi utilizado o teste com ácido acético glacial, para a distinção do carbonato de cálcio (Kraus & Arduin 1997).

A partir do material fixado foram retiradas seções medianas das folhas para a análise da morfologia do cristólito, utilizando-se o método de Jeffrey (Macêdo 1997) para a dissociação da epiderme. As amostras obtidas foram coradas com safranina a 1%, com uma parte da amostra foram montadas lâminas semi-permanentes para a análise da inserção do cristólito na epiderme e a parte restante da epiderme foram colocadas em microtubos as quais foram agitadas vigorosamente para que os cristólitos se desprendessem da epiderme, sendo em seguida montadas as preparações com os cristólitos em lâminas

semi-permanentes. Para a análise da inserção do cistólito na epiderme foram feitas seções transversais da lâmina foliar à mão livre ou em micrótomo após inclusão em resina histológica (Feder & O'Brien 1968). As seções anatômicas foram coradas com azul de astra e safranina (Kraus & Arduim 1997).

Após esse processamento, as preparações foram analisadas em microscópio de luz binocular e as fotomicrografias obtidas em microscópio com câmara fotográfica digital acoplada.

Para obtenção dos parâmetros métricos dos cistólitos foram tomadas aleatoriamente 25 medidas (comprimento e largura) por espécime das amostras obtidas das lâminas agitadas em microtubos, e os resultados foram submetidos à estatística convencional (média e desvio padrão). Para comparar os espécimes entre si, foi utilizado o programa Statistica 7.0, no qual os dados morfométricos foram submetidos à análise do teste Kruskal-Wallis (para análise de 3 espécimes) ou teste Mann-Whitney (para análise de 2 espécimes) ao nível de 5% de probabilidade, uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal.

A terminologia utilizada quanto a morfologia do cistólito seguiu o padrão utilizado por Inamdar *et al.* (1990).

## **3 RESULTADOS**

---

## Resultados

---

Todas as espécies examinadas apresentaram cristólitos presentes na epiderme foliar (Fig. 1-10) – abaxial e adaxial, sendo essa inclusive uma das características para a tribo Justiceae. Foi verificada uma grande variação no comprimento e largura desses cristólitos, tanto entre os gêneros, espécies, como também entre os espécimes. Em todos os espécimes, a reação para verificar a constituição química por carbonato de cálcio foi positiva.

As células idioblásticas, os litocistos, que contêm cada cristólito são grandes, de paredes primárias, celulósicas, finas e o seu interior não chega a ser preenchido completamente pelo cristólito (Fig. 4, 9, 10). Elas variam em forma, tendem a seguir a forma alongada ou globoide (Fig. 6, 7). Os cristólitos estão posicionados na lâmina foliar sem qualquer organização (Fig. 4, 10), estando transversal ou longitudinalmente à nervura principal, mas sempre posicionados no sentido horizontal (Fig. 3, 8).

Em relação à forma, há uma relativa variação nos cristólitos observados (Fig. 11-32). Nas amostras estudadas, todos os cristólitos apresentaram-se solitários (Fig. 2), um único cristal por célula idioblástica; de forma elíptica ou bastoniforme (Fig. 13, 18); largos (Fig. 12, 24) ou estreitos (Fig. 23, 29', 32); uma ou ambas as extremidades arredondadas (Fig. 12, 21). O eixo maior dos cristólitos é longo e reto, mas em todos os espécimes apareceram alguns poucos cristólitos curvados. Uma característica dos cristólitos foi a ausência de um pedicelo ou base para sua fixação na parede do litocisto, são sésseis. Os cristólitos apresentaram superfície ornamentada com ondulações em todos os espécimes estudados, entretanto em *Harpochilus neesianus* (Fig. 13), *Justicia comata* (Fig. 16) e *Rhytiglossa chamaedryoides* (Fig. 26) essas ondulações são mais acentuadas.

Em algumas amostras, os cristólitos apresentaram um centro mais denso de material mineral, rodeado por uma parte menos densa e mais refringente. Isso foi observado em *Justicia aequilabris* (Fig. 29), *J. angustissima* (Fig. 14'), *J. asclepiadea*, *J. laevilinguis* (Fig. 17'), *J. thunbergioides*, *Thyrsacanthus ramosissimus* (Fig. 27') e *Schaueria humuliflora*. Em *J. xipotensis*, um dos espécimes apresentou essa porção mais densa do depósito de cálcio em pequenas porções, granuladamente (Fig. 32).

O tamanho dos cristólitos (comprimento e largura) mostrou-se bastante variável entre as espécies (Tab. 1), desde cristólitos com comprimento mínimo de 21  $\mu\text{m}$  (*Harpochilus*

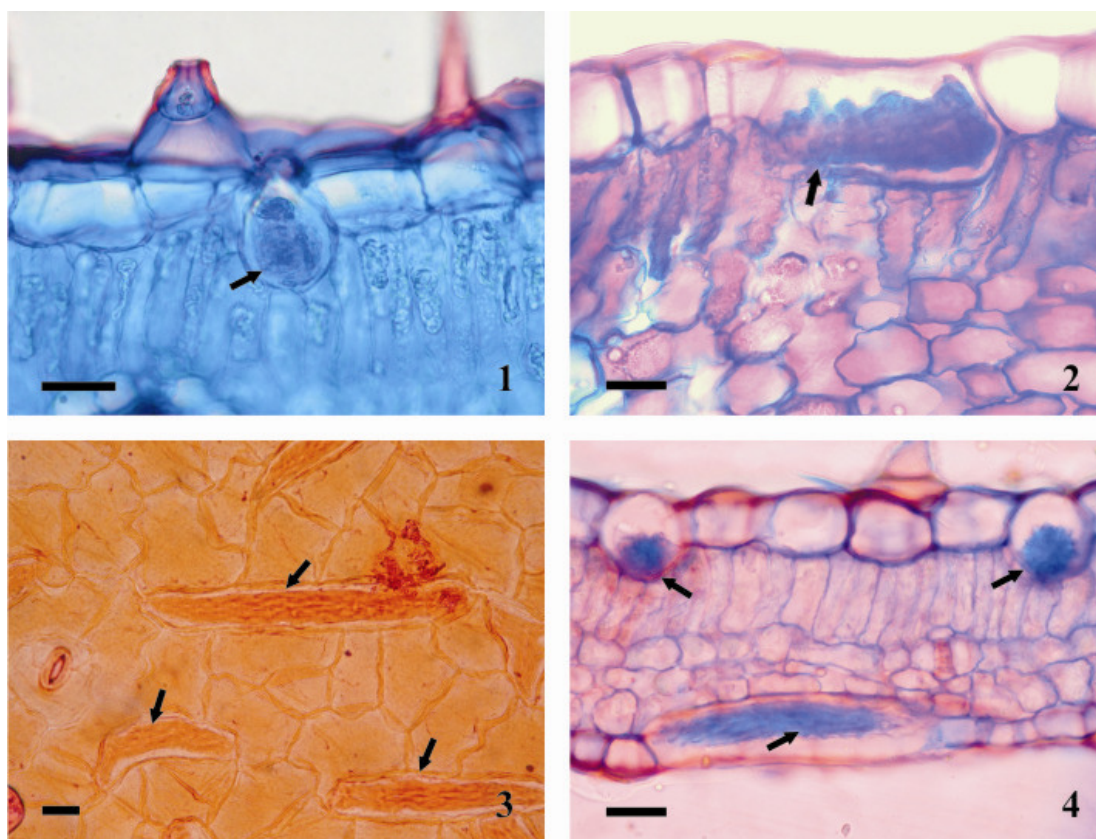


*neesianus*) a espécie apresentando um tamanho máximo de 155 µm (*Justicia congrua*), vale ressaltar que espécies de mesmo gênero apresentaram uma variação média de comprimento tão significativa quanto às espécies de gênero diferentes.

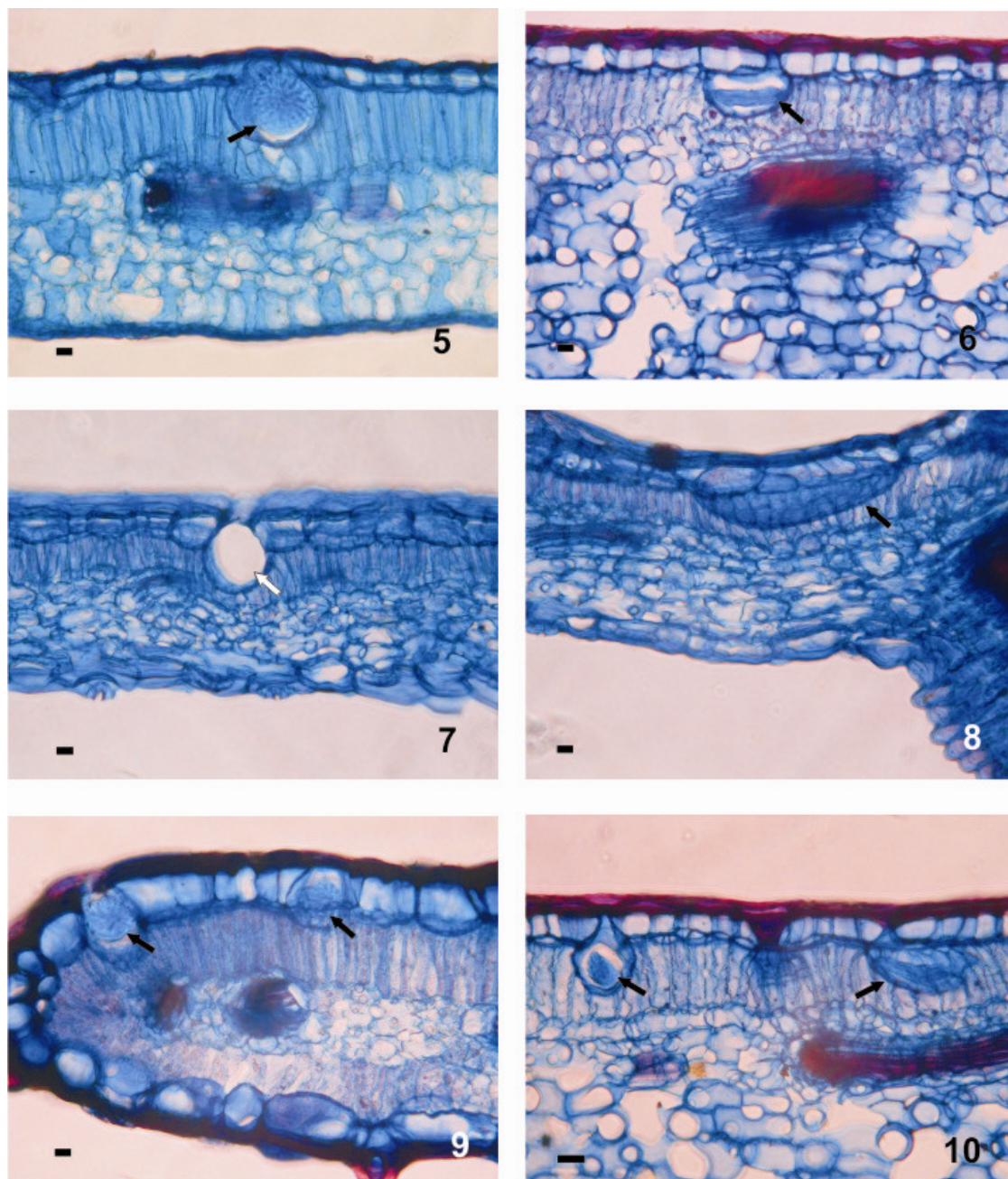
Em relação ao comprimento, os cystólitos de *Clistax speciosus*, *Dicliptera mucronifolia*, *Justicia aequilabris*, *J. asclepiadea*, *J. glaziovii*, *J. lepida*, *J. xipotensis* e *Rhytiglossa chamaedryoides* apresentaram valores significativamente compatíveis entre os diferentes espécimes (Tab. 1). Nas demais espécies, a variação foi imensa, e os espécimes de uma mesma espécie apresentaram cystólitos com comprimentos diferentes estatisticamente. Em relação à largura, houve muita variação, com exceção dos cystólitos de *Justicia harleyi*, *J. laevilinguis*, *J. lepida* e *Rhytiglossa chamaedryoides* (Tab. 1) – nas quais a largura foi mais homogênea.

Com base na morfologia geral dos cystólitos, as espécies foram agrupadas em três tipologias de cystólitos:

- a)** cystólitos longos e com ambas extremidades arredondadas, com superfície ondulada (Fig. 11-20) - *A. trilobus*, *C. speciosus*, *H. neesianus*, *J. angustissima*, *J. clamidocalyx*, *J. comata*, *J. laevilinguis*, *P. bahiensis*, *P. modestum*, *S. humuliflora*;
- b)** cystólitos longos, com uma extremidade afilada e outra arredondada, com superfície ondulada (Fig. 21-27') - *J. congrua*, *J. harleyi*, *J. lepida*, *J. simonisia*, *J. thunbergioides*, *R. chamaedryoides* e *T. ramosissimus*;
- c)** cystólitos muito variáveis, a forma varia de espécime para espécime na ondulação da superfície ou no afilamento da extremidade (Fig. 28-32') - *D. mucronifolia*, *J. aequilabris*, *J. asclepiadea*, *J. glaziovii* e *J. xipotensis*.

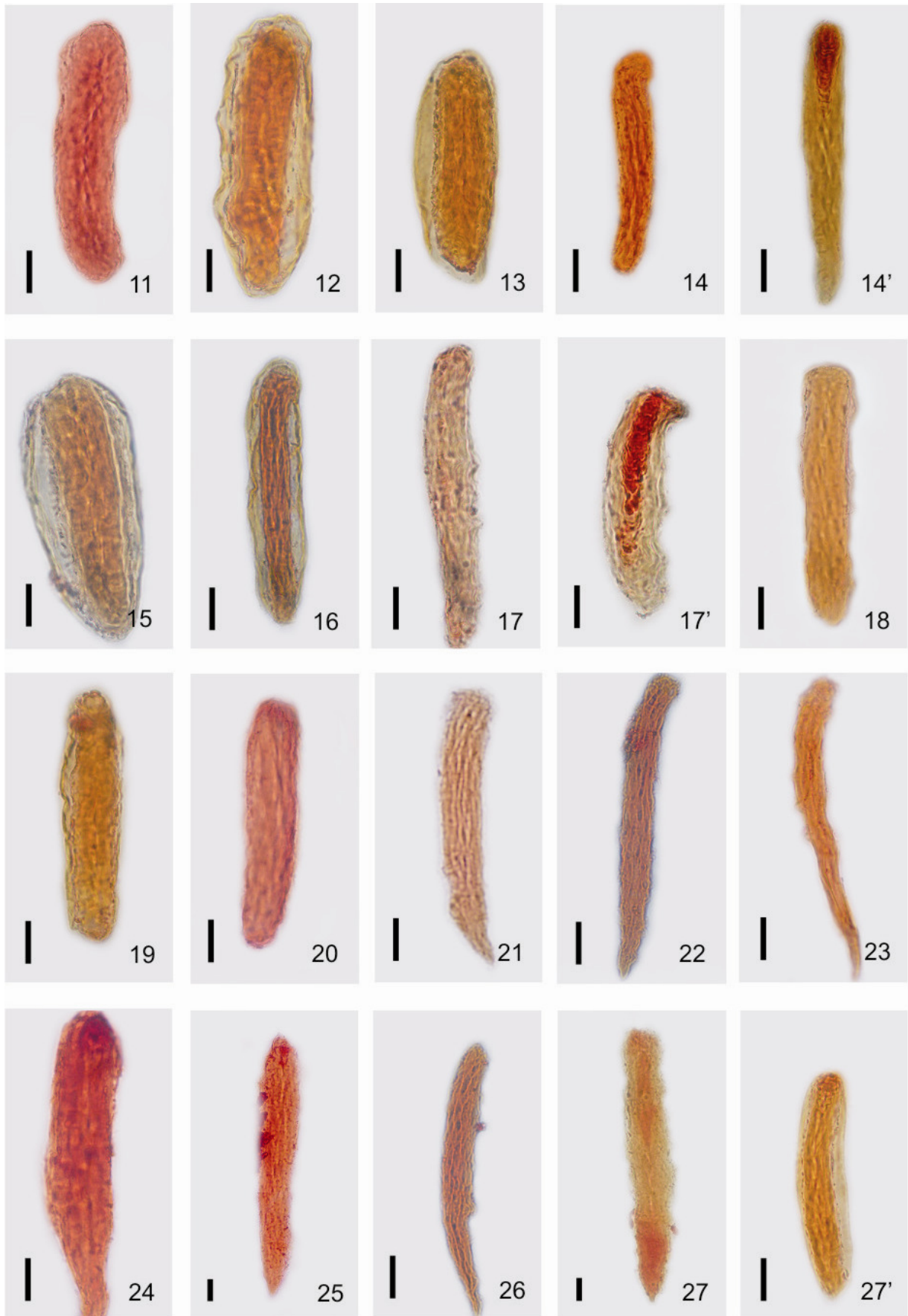


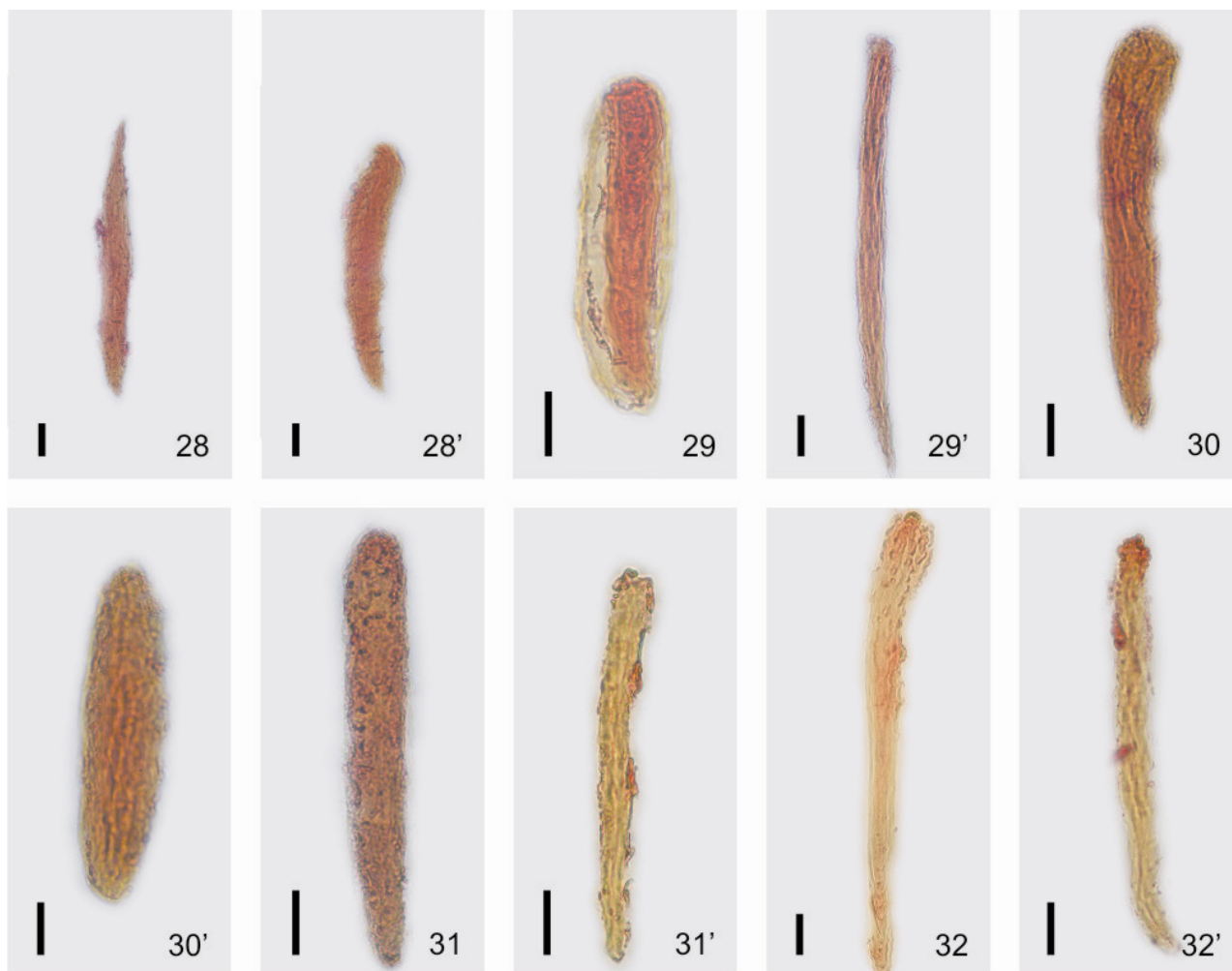
**Figuras 1-4.** Seções transversais e paradérmica da lâmina foliar de representantes da tribo Justicieae (Acanthaceae) que ocorrem no semiárido da Bahia, Brasil. 1. *Harpochilus neesianus* (Mart.) ex. Nees., célula idioblástica contendo cristólito em corte transversal. 2. *Justicia aequilabris* (Nees) Lindau, cristólitos solitários, séssil. 3-4. *Justicia thunbergioides* (Lindau) Leonard. 3- Seção paradérmica, face abaxial. 4- Seção transversal em resina histológica, cristólitos sem qualquer organização, posicionados sempre no sentido horizontal. Seta = cristólito. (Barra= 20 $\mu$ m)



**Figuras 5-10.** Seções transversais da lâmina foliar de representantes da tribo Justicieae (Acanthaceae) que ocorrem no semiárido da Bahia, Brasil. 5. *Anisacanthus trilobus* Lindau., célula idioblástica contendo cystólito em corte transversal. 6. *Justicia congrua* (Nees) Lindau, cystólito de forma alongada não preenchendo totalmente o litocisto. 7-8. *Justicia simonisia* V.A.W. Graham. 7. Célula idioblástica, litocisto, cystólito retirado no processamento. 9-10. *Poikilacanthus bahiensis* (Nees) Wassh. 9. Distribuição dos cystólitos no bordo foliar. 10. Distribuição dos cystólitos no sentido horizontal sem qualquer organização. Seta = cystólito. Seta branca= litocisto. (Barra= 20 $\mu$ m)

**Figuras 11-27.** Cistólitos representantes da tribo Justiceae (Acanthaceae) que ocorrem no semiárido da Bahia, Brasil. 11-20. Cistólitos com ambas extremidades arredondadas. 11. *Anisacanthus trilobus* Lindau. 12. *Clistax speciosus* Nees. 13. *Harpochilus neesianus* (Mart.) ex. Nees. 14-14'. *Justicia angustissima* A. Côrtes & Rapini. 15. *Justicia chlamidocalyx* A. Côrtes & Rapini. 16. *Justicia comata* (L.) Lam. 17-17'. *Justicia laevilinguis* (Nees) Lindau. 18. *Poikilacanthus bahiensis* (Nees) Wassh. 19. *Pseuderanthemum modestum* (Nees) Radlk. 20. *Schaueria humuliflora* Nees & Mart. 21-27. Cistólitos com uma das extremidades afiladas. 21. *Justicia congrua* (Nees) Lindau. 22. *Justicia harleyi* Wassh. 23. *Justicia lepida* (Moric.) Wassh. 24. *Justicia simonisia* V.A.W. 25. *Justicia thunbergioides* (Lindau). 26. *Rhytiglossa chamaedryoides* Nees. 27. *Thyrsacanthus ramosissimus* Moric. 14',17',27'. Cistólitos com centro mais denso de material mineral. (Barra= 20µm)





**Figuras 28-32.** Cistólitos representantes da tribo Justicieae (Acanthaceae) que ocorrem no semiárido da Bahia, Brasil, com variação no afilamento das extremidades. 28-28'. *Dicliptera mucronifolia* Nees. 29-29'. *Justicia aequilabris* (Nees) Lindau. 29. cistólitos com centro mais denso de material mineral. 30-30'. *Justicia asclepiadea* (Nees) Wassh. & C. Ezcurra. 31-31'. *Justicia glaziovii* Lindau. 32-32'. *Justicia xipotensis* (Roem. & Schult.) A. Côrtes & Rapini. 32. Porção mais densa, na parte superior, de material mineral em pequenas porções granuladamente. (Barra= 20  $\mu$ m).

**Tabela 1.** Morfometria dos cistólitos das espécies da tribo Justiceieae (Acanthaceae) do semiárido da Bahia, Brasil. Média e desvio padrão; valores seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade.

Espécies	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )			Largura ( $\mu\text{m}$ )			
	Espécimes	1	2	3	1	2	3
<i>Anisacanthus trilobus</i>		38,68 $\pm$ 8,60 a	41,62 $\pm$ 7,06 ab	44,62 $\pm$ 7,25 b	11,44 $\pm$ 1,98 a	14,79 $\pm$ 2,78 b	9,33 $\pm$ 7,25 c
<i>Clistax speciosus</i>		39,95 $\pm$ 7,33 a	41,41 $\pm$ 7,73 a	44,91 $\pm$ 7,95 a	7,50 $\pm$ 2,00 a	10,91 $\pm$ 2,24 a	9,37 $\pm$ 7,95 b
<i>Dicliptera mucronifolia</i>		64,40 $\pm$ 17,39 a	72,76 $\pm$ 16,38 a	--	6,20 $\pm$ 1,32 a	9,72 $\pm$ 2,05 b	--
<i>Harpochilus neesianus</i>		54,48 $\pm$ 10,42 a	39,20 $\pm$ 11,02 b	--	7,64 $\pm$ 1,55 a	11,88 $\pm$ 2,18 b	--
<i>Justicia aequilabris</i>		59,00 $\pm$ 13,90 a	48,08 $\pm$ 10,79 b	55,20 $\pm$ 11,92 ab	5,32 $\pm$ 0,69 a	6,40 $\pm$ 1,35 a	6,88 $\pm$ 1,20 b
<i>J. angustissima</i>		65,08 $\pm$ 16,85 a	62,92 $\pm$ 12,63 a	42,00 $\pm$ 8,95 b	11,12 $\pm$ 2,14 a	6,96 $\pm$ 1,67 b	6,00 $\pm$ 1,04 b
<i>J. asclepiadea</i>		60,80 $\pm$ 14,56 a	61,72 $\pm$ 13,41 a	--	6,80 $\pm$ 1,60 a	14,36 $\pm$ 2,82 b	--
<i>J. clamidocalyx</i>		53,08 $\pm$ 13,64 a	42,88 $\pm$ 10,05 b	--	9,64 $\pm$ 2,44 a	12,00 $\pm$ 2,66 b	--
<i>J. comata</i>		40,64 $\pm$ 9,89	--	--	7,80 $\pm$ 2,46	--	--
<i>J. congrua</i>		82,28 $\pm$ 29,53	--	--	12,44 $\pm$ 2,23	--	--
<i>J. glaziovii</i>		51,64 $\pm$ 8,59 a	49,04 $\pm$ 10,62 a	48,44 $\pm$ 13,69 a	5,12 $\pm$ 0,52 a	5,52 $\pm$ 1,12 b	8,36 $\pm$ 1,75 b
<i>J. harleyi</i>		67,32 $\pm$ 16,62 a	81,20 $\pm$ 22,72 b	--	6,36 $\pm$ 1,31 a	6,52 $\pm$ 1,63 a	--
<i>J. laevilinguis</i>		36,64 $\pm$ 8,94 a	52,44 $\pm$ 11,04 b	--	11,00 $\pm$ 2,84 a	11,48 $\pm$ 1,85 a	--
<i>J. lepida</i>		62,62 $\pm$ 15,15 a	49,80 $\pm$ 10,34 b	53,76 $\pm$ 16,74 ab	6,50 $\pm$ 2,00 a	6,72 $\pm$ 1,69 a	7,64 $\pm$ 2,84 a
<i>J. simonisia</i>		77,40 $\pm$ 14,61 a	60,60 $\pm$ 14,72 b	--	15,00 $\pm$ 2,10 a	10,12 $\pm$ 1,78 b	--

Espécies	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )			Largura ( $\mu\text{m}$ )			
	Espécimes	1	2	3	1	2	3
<i>J. thunbergioides</i>		64,76 $\pm$ 19,9 4 a	47,76 $\pm$ 11,52 b	67,68 $\pm$ 19,93 a	9,80 $\pm$ 1,84 a	6,40 $\pm$ 1,15 a	8,56 $\pm$ 1,55 b
<i>J. xipotensis</i>		53,08 $\pm$ 14,34 a	60,48 $\pm$ 24,49 a	--	6,28 $\pm$ 1,48 a	6,68 $\pm$ 1,84 b	--
<i>Poikilacanthus bahiensis</i>		50,68 $\pm$ 15,44 b	66,12 $\pm$ 16,29 a	57,00 $\pm$ 11,50 ab	9,60 $\pm$ 2,25 a	12,24 $\pm$ 1,58 a	12,88 $\pm$ 4,36 b
<i>Pseuderanthemum modestum</i>		45,12 $\pm$ 9,79 a	43,36 $\pm$ 6,78 a	36,28 $\pm$ 10,97 b	12,36 $\pm$ 1,97 a	7,56 $\pm$ 1,15 b	6,12 $\pm$ 0,88 c
<i>Rhytiglossa chamaedryoides</i>		67,68 $\pm$ 18,72 a	64,20 $\pm$ 14,04 a	--	7,76 $\pm$ 1,80 a	7,68 $\pm$ 1,34 a	--
<i>Schaueria humuliflora</i>		82,72 $\pm$ 15,21 a	70,84 $\pm$ 18,14 ab	69,64 $\pm$ 13,93 b	10,88 $\pm$ 2,38 a	8,88 $\pm$ 1,50 b	7,50 $\pm$ 1,12 c
<i>Thysacanthus ramosissimus</i>		63,52 $\pm$ 16,95 a	45,24 $\pm$ 8,97 b	49,64 $\pm$ 10,73 b	14,28 $\pm$ 3,90 a	8,72 $\pm$ 1,42 b	10,16 $\pm$ 1,7 b



## 4 DISCUSSÃO

---

## Discussão

---

A presença de células idioblásticas (litocistos) contendo cristólitos nas espécies estudadas é característica das espécies da tribo Justiceae (Acanthaceae) cujos representantes sempre os apresentam (Scotland & Vollesen 2000). Estes cristólitos estão situados dentro de litocistos, células epidérmicas que se caracterizam pela presença de uma concentração elevada de mitocôndrias, retículo endoplasmático e aparelho de Golgi em relação às outras células da epiderme (Watt *et al.* 1987). E sua função pode estar relacionada diretamente com a fotossíntese, servindo como reservatório de cálcio e íons de carbono (Sugimura *et al.* 1999; Lin *et al.* 2004). Morfologicamente, os cristólitos dos representantes da tribo Justiceae do semiárido da Bahia são semelhantes aos referidos por alguns autores cujas características principais são se apresentarem solitários, ausência de estrutura celulósica (pedicelo) presa ao litocisto e forma elíptica (Metcalf & Chalk 1965; Inamdar 1970; Welle 1980; Larcher & Boeger 2006).

As ondulações ou estriações observadas na superfície dos cristólitos de algumas espécies também foram verificadas por Inamdar *et al.* (1990) em outros táxons da família. Sandoval-Zapotitla *et al.* (2005) referiram que estas ondulações se tornam mais evidentes com o acréscimo de álcool sobre o cristólito, retirando assim o seu excesso de água.

Em relação à presença de um centro mais densa nos cristólitos, ou seja, cristólitos com áreas com diferentes densidades, observado em *Justicia aequilabris*, *J. angustissima*, *J. asclepiadea*, *J. laevilinguis*, *J. thunbergioides*, *J. xipotensis*, *Thyrsacanthus ramosissimus* e *Schaueria humuliflora* não foi mencionado por nenhum autor. Contudo, é possível que na parte externa, menos densa do cristólito, seja uma área recém formada e com pouca incrustação de sais de cálcio. Para o real diagnóstico disto, outros estudos são necessários e não só um exame microscópico.

A grande variação nas dimensões dos cristólitos estudados foi reportada por Larcher & Boeger (2006) em *Odontonema strictum* Nees, também da tribo Justiceae. Nesse trabalho, os autores estudaram cinco indivíduos e detectaram uma ampla variação métrica nos cristólitos.

Franceschi & Horner (1980) relataram que vários parâmetros físicos e químicos, tais como pressão, luz, pH e concentração de íons afetam o crescimento e deposição de cálcio. Assim muitos são os possíveis fatores que interferem na formação e crescimento

dos cristólitos.

Para a classificação dos tipos de cristólito, Inamdar *et al.* (1990) verificaram a ocorrência, tipo, tamanho e frequência dos cristólitos em 46 espécies de Acanthaceae. Para as espécies de *Justicia*, esses autores reportaram a presença de cristólitos com ambas as extremidades afiladas e outro com apenas uma extremidade afilada e curvado. Esse último tipo não foi considerado em nossa classificação, visto que em todos os espécimes analisados foram observados cristólitos curvados. Já para as espécies de *Dicliptera*, eles reportaram a presença de cristólitos com apenas uma extremidade afilada; isso só foi observado em apenas um dos espécimes analisados, no outro foi verificado a presença de ambas as extremidades afiladas. E para *Pseuderanthemum*, foi verificado como o relatado pelos autores, ambas as extremidades arredondadas.

Nos estudos para a família Acanthaceae, Metcalfe & Chalk (1950) classificaram os cristólitos em sete categorias; Karlstrom (1980) e Inamdar *et al.* (1990) classificaram em onze categorias. Nesses trabalhos, os autores observaram uma grande variação de tamanho e forma dos cristais, separando assim alguns táxons por meio da caracterização dos cristólitos. Esse grande número de categorias morfológicas dos cristólitos referido por esses autores é justificado pelo fato de seus estudos terem englobado espécies de vários gêneros e tribos, o que explicaria a diversificação dos tipos.

Ahamad (1978), em seu estudo para o gênero *Fittonia* Coem. da tribo Justiceae (composta por apenas três espécies), demonstrou a variação dos cristólitos entre os espécimes coletados nas mesmas condições ambientais. Assim, esse estudo é de grande importância, pois mostra que mesmo espécies cultivadas sobre as mesmas condições podem apresentar variação morfológica do cristólito em diferentes espécimes.

Inamdar *et al.* (1990), nos mostram que as características encontradas na morfologia dos cristólitos não podem ser utilizadas como ferramenta para classificação taxonômica dos grupos, pois ao estudar tribos diferentes observa-se que caracteres encontrados podem ser comuns a táxons totalmente distintos.

O estudo da tribo Justiceae aponta que o caráter tamanho e formato do cristólito não é uma característica que pode ser utilizada isoladamente na classificação de espécies ou gêneros, como mostrado por Inamdar *et al.* (1990), sem que estes caracteres estejam associados a outros caracteres, pois como observado, o tamanho e formato do cristólito podem ser influenciados por vários fatores ambientais.

## 5 REFERÊNCIAS

---

## Referências

---

- Ahamad, K.J. 1978. Epidermal studies in *Fitonia comans* (Acanthaceae). **Feddes Repertorium** **89**: 369-374.
- Côrtes, A.L.A. 2009. **Justicieae (Acanthaceae) do Bioma Caatinga do Estado da Bahia**. Dissertação de Mestrado. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- Dickison, W.C. 2000. **Integrative Plant Anatomy**. New York, Harcourt/Academic Press.
- Esau, K. 1974. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo, Edgard Blücher.
- Ezcurra, C. 2002. El género *Justicia* (Acanthaceae) en Sudamérica Austral. **Annals Missouri Botanical Garden**. **89**: 225-280.
- Fahn, A. 1990. **Plant Anatomy**. Oxford, Pergamon Press.
- Feder, N & O'Brien, T.P. 1968. Plant microtechnique; some principles and new methods. **American Journal of Botany** **55**: 123-142.
- Franceschi, V.R. & Horner, H.T. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. **Botanical Review** **46**: 361-427.
- Groult, M-L. 1999. Apport de l'étude des cystolithes foliaires á la taxinomie du complexe néotropical *Pilea microphylla* (L.) Liebm. et espèces affines. **Sciences de la Vie** **322**: 817-823.
- Inamdar, J.A. 1970. Epidermal structure and ontogeny of caryophyllaceous stomata in some Acanthaceae. **Botanical Gazzete** **131**: 261-268.
- Inamdar, J.A.; Chaudhari, G.S. & Ramana, R.T.V. 1990. Studies on the cystoliths of Acanthaceae. **Feddes Repertorium** **101**: 417-424.
- Karlstrom, P.O. 1980. Epidermal leaf structures in species of Asystasieae, Pseuderanthemeae, Graptophyllaceae and Odontonemeae (Acanthaceae). **Botanical Notiser** **133**: 1-16.

Kraus, J.E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro, EDUR.

Kuo-Huang, L. & Yen, T. 1996. The development of lithocysts in the leaves and sepals of *Justicia procumbens* L. **Taiwania** **41**: 17-26.

Larcher, L. & Boeger, M. R. 2006. Anatomia foliar de *Odontomena strictum* (Ness) O. Kuntze (Acanthaceae). **Biotemas** **19**: 23-31.

Lin, M.; Yen, T. & Kuo-Huong, L. 2004. Formation of calcium carbonate deposition in the cotyledons during the germination of *Justicia procumbens* L. (Acanthaceae) seeds. **Taiwania** **49**: 250-262.

Macêdo, N.A. 1997. **Manual de técnicas em histologia vegetal**. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana.

Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1950. **Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford, Clarendon Press.

Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1965. **Anatomy of the dicotyledons, leaves, stem, and wood in relations to taxonomy with notes on economic uses**. Oxford, Clarendon Press.

Metcalf, C. R. & Chalk, L. 1983. **Anatomy of the dicotyledons, wood structure and conclusion of the general introduction**. Oxford, Clarendon Press.

Profice, S.R.; Kameyama, C.; Côrtes, A.L.A.; Braz, D.M.; Indriunas, A.; Vilar, T.; Pessoa C.; Ezcurra, C. & Wasshausen, D. 2010. Acanthaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000033> (acesso em 20/09/2010).

Sandoval-Zapotitla, E.; Rojas, A.L.; Guzmán, C.R.; Carmona, L.J.; Ponce, R.M.S.; León, C.G.; Loyola, C.B.; Vallejo, M.A.Z. & Medina, A.A. 2005. **Técnicas Aplicadas al Estudio de la Anatomía Vegetal**. Mexico, UNAM. (Cuadernos IBUNAM, 38)

Scotland, R.W. & Vollesen, K. 2000. Classification of Acanthaceae. **Kew Bulletin** **55**: 513-589.

Solereder, H. 1908. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Oxford, Clarendon Press.

Sugimura, Y.; Mori, T.; Nitta, I.; Kotani, E.; Furusawa, T.; Tatsumi, M.; Kusakari, S.I.;

Wada, M. & Morita, Y. 1999. Calcium deposition in idioblasts of mulberry leaves. **Annals of Botany** **83**: 543-550.

Watt, W.M.; Morrell, C.K.; Smith, D.L. & Steer, M.W. 1987. Cystolith development and structure in *Pilea cadierei* (Urticaceae). **Annals of Botany** **60**: 71-84.

Welle, B.J.H. 1980 Cystoliths in the xylem of the *Sparattanthelium* (Hernandiaceae). **IAWA Bulletin** **1**: 43-48.