

A

NATOMIA FLORAL DE *EPIDENDRUM FULGENS* BRONGN. (ORCHIDACEAE - EPIDENDROIDEAE) COM ÊNFASE NO NECTÁRIO E SUA FUNCIONALIDADE

ANA SÍLVIA FRANCO PINHEIRO MOREIRA

Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-090, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil; e-mail: moreira_ana@yahoo.com.br

DANIELA FUHRO

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Ecologia, Av. Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, 90501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

ROSY MARY DOS SANTOS ISAIAS

Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-090, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil; e-mail: rosy@icb.ufmg.br

RESUMO: *Epidendrum fulgens* Brongn. (Orchidaceae) possivelmente integra um sistema mimético floral juntamente com *Asclepias curassavica* L. e *Lantana camara* L. O estudo anatômico do nectário localizado na coluna de *E. fulgens* pode auxiliar no esclarecimento deste sistema. Nesta espécie, o nectário apresenta variações funcionais durante seu desenvolvimento. No botão floral, o revestimento é formado por epiderme simples com numerosos tricomas, nos quais os núcleos e nucléolos são conspicuos e o conteúdo citoplasmático é denso, sugerindo alta atividade metabólica e produção de secreção. Entretanto, quando a coluna completa sua formação, os tricomas apresentam-se menos numerosos, dispersos e sem indicativo de secreção. Apesar de não terem sido identificados compostos nutritivos na cavidade do nectário na flor madura, a presença de câmaras com insetos demonstra a possível atração química em alguma etapa do desenvolvimento floral.

PALAVRAS-CHAVE: Anatomia, *Epidendrum fulgens*, flores, nectário, Parque Estadual de Itapeva.

ABSTRACT: *Epidendrum fulgens* Brongn. (Orchidaceae) possibly belongs to a floral mimetic system together with *Asclepias curassavica* L. and *Lantana camara* L. The anatomical study of the nectary located in *E. fulgens* column may add data to understand this system. In this species, the nectary presents functional variations during its development. In the floral bud, the dermal system presents simple epidermis with numerous trichomes in which the nuclei and nucleoli are conspicuous with dense cytoplasmatic content, suggesting high metabolic activity and secretion. However, when the column is mature, the trichomes are less numerous, sparse, and with no apparent secretion. Even though no nutritive compounds were identified at the nectary cavity in mature flowers, the presence of insects inside chambers denotes a possible chemical attraction at any point of its floral development.

KEY WORDS: Anatomy, *Epidendrum fulgens*, flowers, nectary, Parque Estadual de Itapeva.

INTRODUÇÃO

As Orchidaceae são conhecidas pela diversidade de forma e cor de suas flores, atraindo polinizadores potenciais em uma relação muitas vezes específica (Dressler, 1993; Pabst & Dungs, 1975).

Nesta família, a principal recompensa ofertada aos polinizadores é o néctar, poden-

do também ocorrer óleos, fragrâncias, ceras e substâncias viscosas semelhantes a resinas, nas quais já foram identificados alcalóides, lipídios e proteínas (Davies et al., 2003; De Vries & Stiles, 1990; Flach et al., 2004; Singer & Koehler, 2004).

Diferentes estruturas produtoras de néctar podem ser encontradas, como espora, tricomas glandulares e cunículo, estrutura proveniente de um tubo floral entre o ová-

rio e a base do perianto (Davies et al., 2003; Dressler, 1993; Pridgeon et al., 1999; Singer & Koehler, 2004). São ainda encontradas estruturas distintas de nectários capazes de produzir atrativos aos polinizadores, como os osmóforos, produtores de fragrâncias, e os elaióforos, produtores de óleos (Dressler, 1993; Pridgeon & Stern, 1983; Pridgeon et al., 1999; Teixeira et al., 2004). Em *Epidendrum*, a base do labelo é geralmente unida com a coluna formando um tubo contínuo com o cunículo. O nectário resultante desta fusão é proeminente em algumas espécies (Dressler, 1993) e pode conter numerosas papilas (Pansarin, 2003).

Estudos com espécies de *Epidendrum* apresentam diversos polinizadores potenciais para o gênero (Adams & Goss, 1976; Catling, 1990; DeVries & Stiles, 1990; Goss, 1977; Goss & Adams, 1976; Pansarin, 2003; van der Pijl & Dodson, 1966), como o ninfalídeo *Heliconius erato* e o hesperídeo *Euphydes leptosema* para *E. denticulatum* (Almeida & Figueiredo, 2003), ninfalídeos da subfamília Ithomiinae, espécies de Hesperiiidae e mariposas da família Artiiidae para *E. paniculatum* (Pansarin, 2003). Em *E. paniculatum*, Pansarin (2003) observou que as borboletas desenrolam a probóscide introduzindo-a no nectário. O néctar não fica exposto e o lepidóptero, provavelmente, precisa raspar sua probóscide na epiderme do nectário e danificar a cutícula para poder ter acesso a ele.

Epidendrum apresenta distribuição neotropical, com cerca de 1.500 espécies distribuídas desde o sudeste dos Estados Unidos (norte da Califórnia) até o nordeste da Argentina (Hágsater & Arenas, 2005). *Epidendrum fulgens* Brongn. pertence ao grupo Amphyglottidae (Pabst & Dungs, 1975), juntamente com *E. ansiferum*, *E. denticulatum*, *E. elongatum*, *E. secundum* e *E. purpureum*. Esta planta é comum em dunas e campos arenosos do litoral norte do Rio Grande do Sul, encontrada também em butiazais, às vezes como epífita, e na borda das florestas de restinga arenosa (Rocha, 2004).

E. fulgens é polinizador-dependente, apresenta sucesso na reprodução vegetativa e parece integrar um possível sistema mimético floral, juntamente com *Asclepias curassavica* L. (Apocynaceae) e *Lantana camara* L. (Verbenaceae) (Boyden, 1980), conforme estudos realizados no Parque Estadual de Itapeva, Rio Grande

do Sul (Fuhro, 2006). Sabe-se que *A. curassavica* e *L. camara* oferecem néctar como recurso aos visitantes florais, enquanto *E. fulgens*, apesar da presença do nectário na base da coluna, parece não o fazer (Fuhro, 2006). Sendo assim, este trabalho caracteriza a anatomia das flores de *E. fulgens*, a estrutura e a funcionalidade de seu nectário, complementando o conhecimento sobre a espécie e seu sistema de polinização.

MATERIAL E MÉTODOS

Botões florais e flores de *E. fulgens* Brongn. foram coletados entre novembro de 2004 e janeiro de 2005 no Parque Estadual de Itapeva, município de Torres, Rio Grande do Sul, fixados em FAA₅₀ (formaldeído 37%, ácido acético glacial e álcool etílico 50°GL) por no mínimo 48 h e armazenados em álcool etílico 70°GL (Johansen, 1940). A exsicata da espécie em estudo foi preparada e depositada no Herbário ICN (UFRGS) sob o n° 142760.

Para a preparação de lâminas histológicas semipermanentes, cortes transversais de botão floral, pétalas, sépalas, coluna e ovário foram obtidos com o auxílio de lâmina de barbear e clarificados em solução comercial de hipoclorito de sódio 50% (Kraus & Arduin, 1997). Os cortes foram lavados em água corrente, corados com safranina (C.I. 50240) e azul de astra (C.I. não indicado) (1:9 v/v) (Kraus & Arduin, 1997), ambos com concentração modificada para 0,5%, e montados entre lâmina e lamínula com gelatina glicerinada de Kaiser (Kraus & Arduin, 1997).

Para as lâminas histológicas permanentes, todo o material foi incluído em historresina Leica® ou Paraplast®. Para as preparações em historresina, as amostras foram desidratadas em série etanólica, incluídas conforme recomendações do fabricante, seccionadas com espessura de 5-7 µm em micrótomo rotatório (Jung-Biocut mod. 2035) e coradas com azul de toluidina 0,05% em NaHPO₄ 0,1 M (pH 6,8) (O'Brien & McCully, 1981). Para a inclusão em Paraplast®, as amostras foram desidratadas em série butanólica, seccionadas com espessura de 10-12 µm em micrótomo rotatório (Jung-Biocut mod. 2035), coradas com safranina (C.I. 50240) e azul de astra (C.I. não indicado) (1:9 v/v) com concentração modificada

para 0,5% (Kraus & Arduin, 1997) e montadas com Entellan®.

Testes histoquímicos foram realizados utilizando-se: reagente de lugol para a detecção de amido (Johansen, 1940); reagente de Fehling para açúcares redutores (Sass, 1951); reagente de Schiff (PAS-Periodic Acid Schiff) para carboidratos insolúveis (Jensen, 1962); Sudan Red B para lipídios (Johansen, 1940); e vermelho de rutênio para substâncias pécticas (Jensen, 1962).

RESULTADOS

Epidendrum fulgens é terrestre e apresenta inflorescência corimbosa com haste longa (Figura 1A). As flores possuem três sépalas e três pétalas vermelhas, sendo a terceira pétala (labelo) modificada e geralmente amarela, embora ocorra variação no padrão de coloração (Figura 1B). O labelo encontra-se fundido à coluna, apresentando-se livre apenas em seu ápice. A coluna projeta-se do centro da flor, é formada pela fusão do androceu e do gineceu, com a antera localizada em seu ápice e, abaixo desta,

está a superfície estigmática (Figuras 1C e 1D). O pólen é agrupado em quatro polínias. O ovário situa-se na base da coluna, é ínfero e pouco desenvolvido, contendo milhares de óvulos.

As pétalas e sépalas apresentam epiderme simples, papilosa, com estômatos apenas na face abaxial. O mesofilo é homogêneo, formado por quatro a seis camadas celulares, sendo identificados três feixes vasculares colaterais pouco desenvolvidos. Na coluna, observa-se um longo nectário que se inicia aproximadamente 1 cm abaixo da inserção do cálice e da corola e funde-se ao estilete na altura do estigma (Figuras 2A-2C). No botão floral, o nectário é revestido internamente por epiderme simples e contém grande quantidade de tricomas com núcleo e nucléolo conspícuos e conteúdo citoplasmático denso, o que sugere intensa atividade metabólica e possível produção de secreção nesta fase de desenvolvimento (Figura 2D). Na coluna da flor madura, os tricomas estão em maior densidade na região basal do nectário, sendo mais esparsos e com conteúdo celular pouco conspícuo no ápice (Figura 2E).

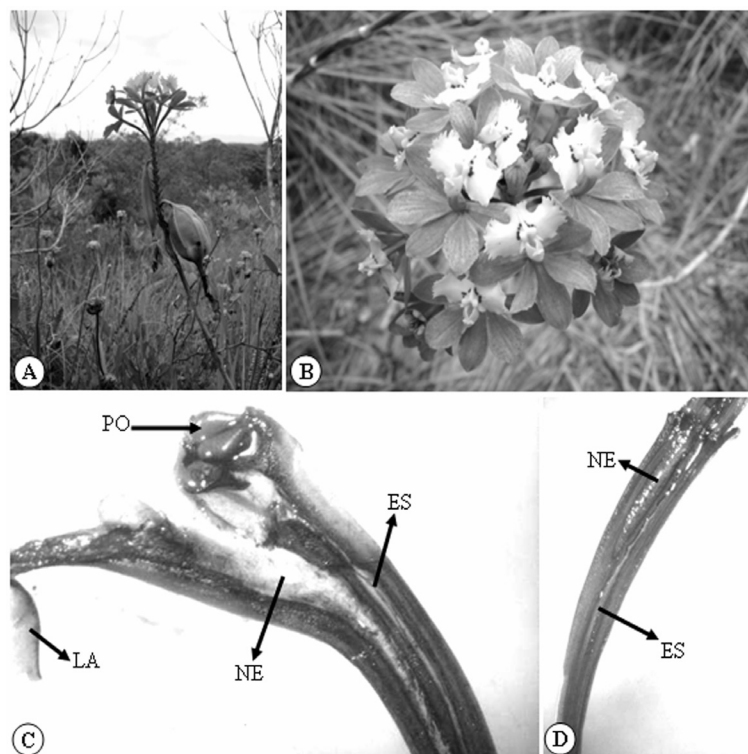


Figura 1 – *Epidendrum fulgens* Brongn. **A.** Área de coleta no Parque Estadual de Itapeva, município de Torres, Rio Grande do Sul; **B.** Inflorescência corimbosa e flores; **C.** Detalhe da coluna mostrando labelo, estigma, estilete, nectário e polínias; **D.** Detalhe da região abaixo das sépalas e pétalas, pouco acima do ovário, evidenciando estilete e nectário (ES = estilete; LA = labelo; NE = nectário; PO = polínias).

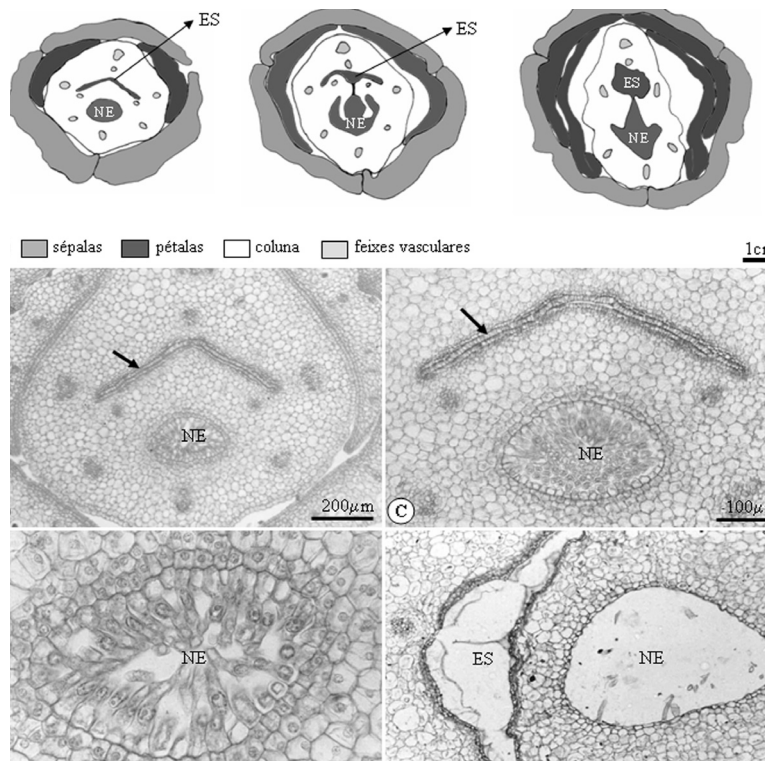


Figura 2 – *Epidendrum fulgens* Brongn. **A.** Esquema geral de corte transversal em três porções (basal, mediana e apical) do botão floral, mostrando a presença de um nectário longo que se une ao estilete no ápice da coluna; **B.** Vista geral de corte transversal do botão floral mostrando a disposição dos verticilos florais e da coluna, contendo o estilete (seta) e o nectário; **C.** Detalhe da coluna contendo o estilete (seta) e o nectário; **D.** Detalhe do nectário no botão floral, com tricomas numerosos, com núcleos e nucléolos conspícuos e conteúdo citoplasmático denso; **E.** Vista do estilete e do nectário no ápice de coluna diferenciada (ES = estilete; NE = nectário).

Os testes histoquímicos não demonstraram a presença de amido, carboidratos insolúveis, açúcares redutores ou lipídios na cavidade do nectário ou nos tecidos adjacentes. Poucos grãos de amido foram observados nas proximidades dos feixes vasculares da coluna (Figuras 3A e 3B). O vermelho de rutênio revelou a natureza péctica das paredes celulares nos nectários já diferenciados (Figuras 3C e 3D).

A relação entre as flores de *E. fulgens* e artrópodes não-polinizadores foi documentada durante o processamento do material (Figuras 4A-4D), tendo sido detectada a presença de insetos no interior dos nectários (Figuras 4A e 4B), e a formação de estruturas anômalas, provavelmente como resultado da oviposição na região apical da coluna (Figuras 4C e 4D).

DISCUSSÃO

As pétalas e sépalas de *E. fulgens* apresentam epiderme simples e papilosa em algumas regiões, mesofilo homogêneo e sem especializações para fotossíntese, conforme

descrito para outras flores, incluindo aquelas de Orchidaceae (Teixeira et al., 2004). Os poucos tecidos esclerificados no mesofilo do labelo, formado por um parênquima homogêneo, podem auxiliar no processo de polinização, uma vez que, embora aumentem a resistência, conservam a mobilidade desta pétala (Borba & Semir, 1998; Teixeira et al., 2004). A vascularização é pouco desenvolvida, coerente com a efemeridade e o baixo metabolismo requerido por estes verticilos.

O gineceu e o androceu estão reunidos na coluna, estrutura típica da família (Dressler, 1993; Pabst & Dungs, 1975; Pridgeon et al., 1999). O nectário encontra-se entre o ovário e o perianto, estendendo-se pela coluna até fundir-se ao estigma, confirmando sua classificação como cunículo, anteriormente descrito por Dressler (1993), Pridgeon et al. (1999) e Pansarin (2003) para outras espécies do gênero. Poucos grãos de amido foram detectados nas proximidades dos feixes vasculares da coluna, o que é condizente com órgãos efêmeros.

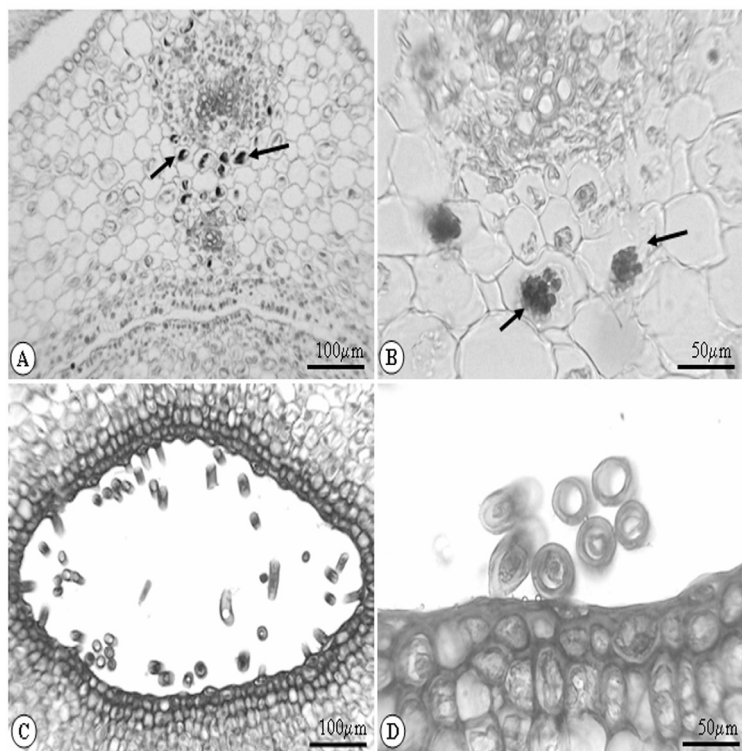


Figura 3 – Testes histoquímicos em flores de *Epidendrum fulgens*. **A.** Reagente de lugol; vista geral da coluna; **B.** Reagente de lugol; detalhe do feixe vascular apresentando grãos de amido nos tecidos adjacentes; **C.** Vermelho de rutênio; vista geral do nectário; **D.** Vermelho de rutênio; detalhe do epitélio interno evidenciando a natureza química do espessamento da parede primária.

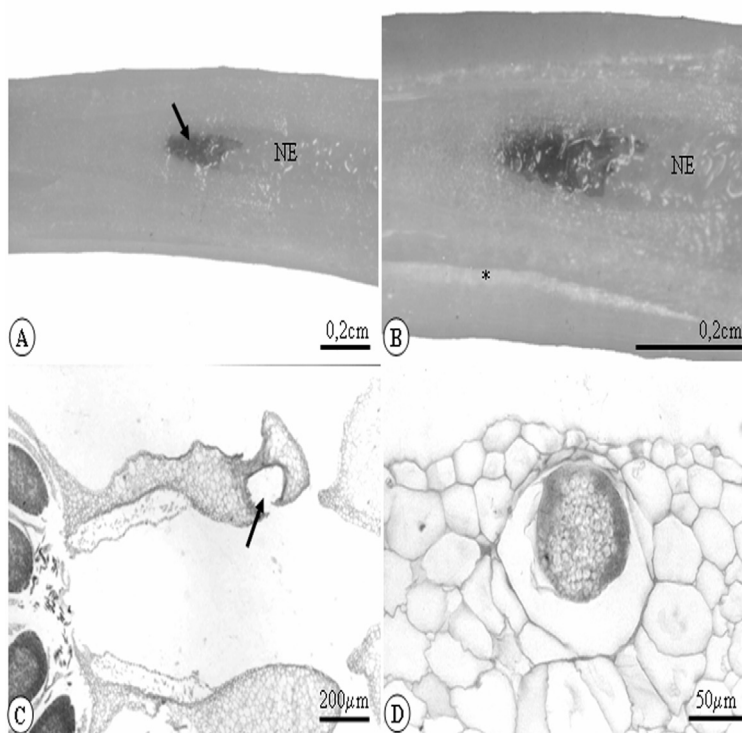


Figura 4 – Documentação da possível relação entre flores de *Epidendrum fulgens* Brongn. e artrópodes não-polinizadores. **A.** Vista geral do nectário e detalhe na região da coluna; **B.** Vista geral do nectário evidenciando inseto em seu interior; **C.** Vista geral da região apical da coluna; **D.** Detalhe da região apical da coluna mostrando oviposição (NE = nectário; * = estilete).

A presença de tricomas com conteúdo citoplasmático conspicuo em toda a extensão do botão floral indica intensa atividade metabólica e sugere secreção de néctar. Entretanto, com o amadurecimento da flor, estes tricomas apresentam conteúdo celular inconspicuo, são esparsos na base do nectário e tornam-se mais raros em direção ao estigma.

Não foram detectados amido, carboidratos insolúveis, açúcares redutores ou lipídios no nectário. Em *E. paniculatum*, o néctar fica retido dentro do nectário, sendo necessário aos polinizadores (lepidópteros) a raspagem da epiderme para acesso a este recurso (Pansarin, 2003).

Van der Pijl & Dodson (1966) e DeVries & Stiles (1990) observaram que flores de *E. paniculatum* atraíam machos de lepidópteros, provavelmente pela presença de alcalóides pirrolizidínicos e em decorrência da presença do odor emitido por suas flores. Porém, Luning (1964) e Pansarin (2003) não detectaram alcalóides em flores de *E. paniculatum*, eliminando a hipótese de que a atração dos polinizadores ocorra pela presença dessas substâncias. A atração, neste caso, pode se dar pelo simples fato de estas plantas ocorrerem nos mesmos micro-habitats que as espécies de Ithomiinae, que se dirigem às flores para obter néctar ou por terem sido atraídos pela fragrância, como proposto por Pliske (1975). Em *E. fulgens*, também não foram encontrados alcalóides, corroborando esta proposição.

A natureza péctica das paredes celulares dos nectários pode ser interpretada como resultado da efemeridade do órgão, não tendo sido observado gasto de energia com a síntese de lignina. Além disso, a baixa ocorrência de tecidos esclerificados permite o acesso fácil dos insetos.

A presença de insetos no interior e na proximidade dos nectários extraflorais indica que estes têm atividade secretora em algum momento, atraindo, além dos possíveis polinizadores, outros visitantes, pilhadores e até mesmo galhadores em potencial. A funcionalidade dos nectários observada em *E. fulgens* reduz a possibilidade da existência do complexo mimético juntamente com *Asclepias curassavica* e *Lantana camara*, proposto por Boyden (1980) e Fuhro (2006), uma vez que este é baseado

na premissa de que *E. fulgens* é polinizador-dependente e incapaz de produzir néctar.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Professores Gilson Rudinei Pires Moreira e Aldo Mellender de Araújo, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, ao Programa de Pós-graduação em Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e à CAPES pelo fornecimento das bolsas de estudo a Ana Sílvia F. P. Moreira e Daniela Fuhro.

REFERÊNCIAS

- Adams, R. M. & G. L. Goss. 1976. The reproductive biology of the epiphytic orchids of Florida III – *Epidendrum anceps* Jacquin. Am. Orch. Soc. Bull. 45: 488-492.
- Almeida, A. M. & R. A. Figueiredo. 2003. Ants visit nectaries of *Epidendrum denticulatum* (Orchidaceae) in a Brazilian rainforest: effects on herbivory and pollination. Braz. J. Biol. 63: 551-558.
- Borba, E. L. & J. Semir. 1998. Wind-assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* (Orchidaceae) species occurring in the Brazilian campos rupestres. Lindleyana 13: 203-218.
- Boyden, T. C. 1980. Floral mimicry by *Epidendrum ibaguense* (Orchidaceae) in Panama. Evolution 34: 135-136.
- Catling, P. M. 1990. Auto-pollination in the Orchidaceae. p.121-158. In: J. Arditti (Ed), Orchid biology, reviews and perspectives. Timber Press, Portland. v.5.
- Davies, K. L., M. P. Turner & A. Gregg. 2003. Lipoidal labellar secretions in *Maxillaria Ruiz & Pav.* (Orchidaceae). Ann. Bot. 91: 439-446.
- DeVries, P. J. & F. G. Stiles. 1990. Attractions of pyrrolizidine alkaloid seeking Lepidoptera to *Epidendrum paniculatum* orchids. Biotropica 22: 290-297.
- Dressler, R. L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Discorides Press, Portland.

- Flach, A., R. C. Dondon, R. B. Singer, S. Koehler & A. J. Marsaioli.** 2004. The chemistry of pollination in selected Brazilian Maxillariinae orchids: floral rewards and fragrance. *J. Chem. Ecol.* 30: 1045-1056.
- Fuhro, D.** 2006. O sistema *Asclepias curassavica* L., *Epidendrum fulgens* Brongn. e *Lantana camara* L. constitui um complexo mimético, com borboletas como operadores? Um estudo no Parque Estadual de Itapeva, Torres, RS. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Goss, G. J.** 1977. The reproductive biology of the epiphytic orchids of Florida V – *Epidendrum difforme* Jacquin. *Am. Orch. Soc. Bull.* 46: 630-636.
- Goss, G. J. & R. M. Adams.** 1976. The reproductive biology of the epiphytic orchids in Florida IV – Sexually selective attraction of moths to the floral fragrance of *Epidendrum anceps* Jacquin. *Am. Orch. Soc. Bull.* 45: 997-1001.
- Hágsater, E. & M. A. S. Arenas.** 2005. *Epidendrum* L. p. 236-251. In: A. M. Pridgeon, P. J. Cribb, M. W. Chase & F. N. Rasmussen. (Eds), *Genera Orchidearum*. Oxford University Press, Oxford.
- Jensen, W. A.** 1962. *Botanical histochemistry, principles and practice*. W. H. Freeman, San Francisco.
- Johansen, D. A.** 1940. *Plant microtechnique*. McGraw Hill, New York.
- Kraus, J. E. & M. Arduin.** 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- Luning, B.** 1964. Studies on Orchidaceae alkaloids I. *Act. Chem. Scand.* 18: 1507-1516.
- O'Brien, T. P. & M. E. McCully.** 1981. *The study of plant. Structure principles and selected methods*. Termarcaphi Pty, Melbourne.
- Pabst, G.F. & J. Dungs.** 1975. *Orchidaceae brasiliensis*. KurtSchmiersow, Hildesheim. v. 1.
- Pansarin, E.** 2003. Biologia reprodutiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz e Pavón (Orchidaceae). *Rev. Bras. Bot.* 26: 203-211.
- Pliske, T. E.** 1975. Attraction of Lepidoptera to plants containing pyrrolizidine alkaloids. *Environ. Entom.* 4: 455-473.
- Pridgeon, A. M. & W. L. Stern.** 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 70: 1233-1243.
- Pridgeon, A. M., P. J. Cribb, M. W. Chase & F. N. Rasmussen.** 1999. *Genera Orchidacearum*. Oxford University Press, Oxford. v. 1.
- Rocha, F. S.** 2004. Sinopse taxonômica e distribuição ecológica de Orchidaceae terrestres no litoral norte do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Sass, J. E.** 1951. *Botanical microtechnique*. The Iowa State College Press, Ames.
- Singer, R. B. & S. Koehler.** 2004. Pollinarium morphology and floral rewards in Brazilian Maxillariinae (Orchidaceae). *Ann. Bot.* 93: 39-51.
- Teixeira, S. P., E. L. Borba & J. Semir.** 2004. Lip anatomy and its implications for the pollination mechanisms *Bulbophyllum* species (Orchidaceae). *Ann. Bot.* 93: 499-505.
- van der Pijl, L. & C. H. Dodson.** 1966. *Orchid flowers: their pollination and evolution*. University of Miami, Coral Gables.

Recebido em 4/IV/2008
Aceito em 30/VIII/2008

