

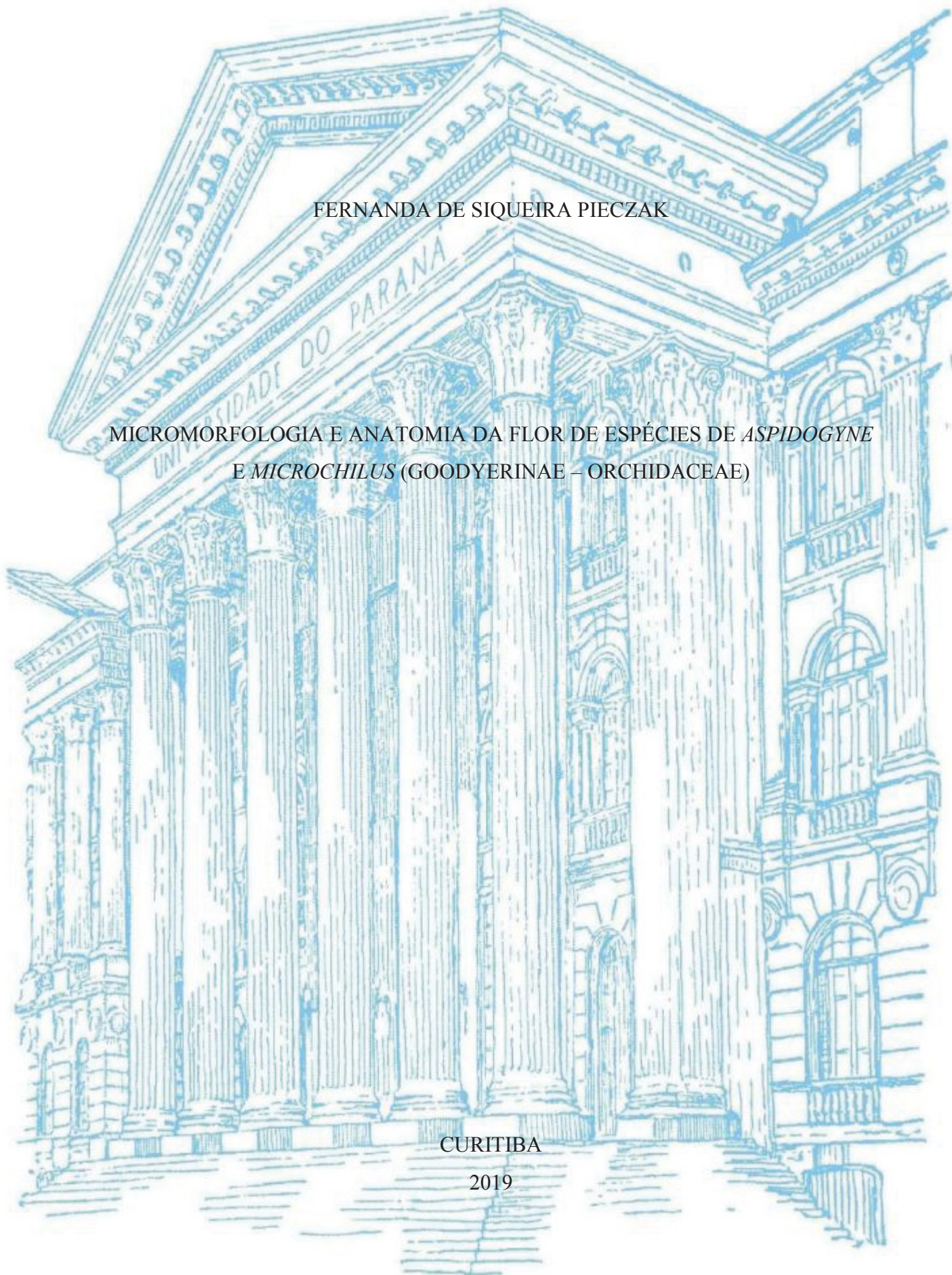
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FERNANDA DE SIQUEIRA PIECZAK

MICROMORFOLOGIA E ANATOMIA DA FLOR DE ESPÉCIES DE *ASPIDOGYNE*  
E *MICROCHILUS* (GOODYERINAE – ORCHIDACEAE)

CURITIBA

2019



FERNANDA DE SIQUEIRA PIECZAK

MICROMORFOLOGIA E ANATOMIA DA FLOR DE ESPÉCIES DE *ASPIDOGYNE* E  
*MICROCHILUS* (GOODYERINAE – ORCHIDACEAE)

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Botânica, Área de Concentração em Morfologia e Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de mestre em Botânica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Cleusa Bona

Coorientador: Prof. Dr. Eric de Camargo Smidt

CURITIBA

2019

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.  
Biblioteca de Ciências Biológicas.  
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Pieczak, Fernanda de Siqueira

Micromorfologia e anatomia da flor de espécies de *Apidogyne* e  
*Microchilus* (Goodyerinae - Orchidaceae). / Fernanda de Siqueira  
Pieczak. – Curitiba, 2019.

41 p.: il.

Orientador: Cleusa Bona

Coorientador: Eric de Camargo Smidt

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Botânica.

1. Orquidea 2. Nectários 3. Anatomia vegetal 4. Flores – Morfologia I.  
Título II. Bona, Cleusa, 1966- III. Smidt, Eric de Camargo IV.  
Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa  
de Pós-Graduação em Botânica.

CDD (20. ed.) 584.4





UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Setor de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Botânica




**Micromorfologia e Anatomia da flor de espécies de *Aspidogyne* e *Microchilus*  
(Goodyerinae - Orchidaceae)**

por

**Fernanda De Siqueira Pieczak.**

Dissertação aprovada como requisito parcial  
para obtenção do grau de Mestre no Programa  
de Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão  
formada pelos doutores

  
Luciana Lopes Fortes Ribas

  
Juliana Lischka Sampaio Mayer

  
Erika Amano

Curitiba, 29 de abril de 2019.

*Ao Albert.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Francisco e Reni, pelo incentivo e forças em todos os momentos. Por ser o ponto forte pelo o qual vale a pena persistir.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

Aos meus orientadores, dra. Cleusa Bona e dr. Eric de Camargo Smidt pela instrução durante esses dois anos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação de Botânica da UFPR que contribuíram para a minha formação.

Ao Mathias Engels, pelas flores concedidas de suas coletas.

À Rebekah Giese e Matheus Salles agradeço imensamente pela ajuda e colaboração no desenvolvimento do trabalho.

À Laura de Lannoy pelo tempo despendido para me auxiliar com equipamentos os quais precisei.

Aos técnicos e colegas dos laboratórios de Botânica Estrutural e Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR pelos conhecimentos compartilhado, tempo disponibilizado e conversas motivadoras.

Ao dr. Fabiano Rodrigo da Maia, professor e amigo que sempre buscou da melhor forma advertir e transmitir um pouco do conhecimento que possui. Foi mais do que essencial para a minha construção, um exemplo que levarei para a vida.

À minha psicóloga, Angela Cavalli, pessoa que foi essencial para que este projeto chegasse ao fim e para que muitas outras coisas continuassem acontecendo de forma leve e saudável. Com certeza você foi imprescindível no meu desenvolvimento. Meu mais genuíno muito obrigada.

Ao meu grande e maior amigo de longa data Rhaniel Gonçalves, também anatomista botânico, que sempre me ajudou com questões sobre a vida, o universo e tudo mais. A sua amizade é essencial e torna a minha vida muito melhor.

Ao Jean Machado, amigo que trago de outras etapas da vida e aos demais amigos que fiz durante o mestrado, Jefferson Alves, Jessica de Jesus, Nicolás Gutiérrez e o mais novo botânico Benjamin. Às melhores Anas que já conheci na vida: Anna Victoria Mauad, Ana Petisco e Ana Paula Cardozo. Daniela Imig que sempre me iluminou com sua sabedoria, admiro muito você. Aos demais amigos com os quais compartilhamos vários momentos, seja de estudo seja de comemorações e lazer: Luan Passos, Naiana Malheiros, Thiago Farias,

Andrey Cardozo, Miguel Machnicki, Maurício Nunes, Gabriela Feola, Camila Sampaio, José Juski, Milena Santos, Bruno Bastos, Tabata Klimeck, Giovana Peletti, Robertta Pellanda.

E por último, mas não menos importante, ao Lucas Ribeiro, homem que amo e que tem me acompanhado pela vida, tornando tudo mais interessante, mais desafiador e divertido. Sou grata por ser a pessoa mais maravilhosa que já conheci, pelo tempo ofertado, pela paciência, colaboração, pelo amor que tem me dedicado. É uma dádiva de vida.

*"O mais importante é ter uma vida fabulosa.  
Enquanto é fabulosa não me importa o tempo que viverei."*

*Freddie Mercury*



## RESUMO

Orchidaceae é uma das maiores famílias de angiospermas, possui distribuição cosmopolita e encontra-se bem representada no território brasileiro, aparecendo em todos os tipos de formação vegetal. A família encontra-se subdividida em cinco subfamílias e, dentro da subfamília Orchidoideae, a tribo Cranichideae abrange cerca de 100 gêneros e cerca de 1.800 espécies predominantemente terrícolas, sendo subdividida em oito subtribos: Chloraeinae, Cranichidinae, Galleotiellinae, Goodyerinae, Manniellinae, Pterostylidinae, Discyphinae e Spiranthinae. Dessas, a subtribo Goodyerinae é representada no Brasil por 37 espécies nativas em dois gêneros: *Aspidogyne* Garay e *Microchilus* C. Presl. No estado do Paraná são conhecidas 14 espécies do gênero *Aspidogyne* e duas espécies do gênero *Microchilus*. Os gêneros desta subtribo possuem a formação de um calcar, originado do labelo, cuja morfologia tem importância taxonômica. Considerando a escassez de conhecimentos anatômicos e da micromorfologia floral desta subtribo, o propósito do trabalho foi caracterizar a estrutura anatômica e micromorfológica das peças florais de espécies de *Aspidogyne*, *Microchilus* e *Ludisia discolor*, com o objetivo de identificar e caracterizar possíveis estruturas secretoras nas peças florais e em especial no calcar, assim como o processo secretor. As análises foram realizadas por meio da microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e transmissão seguindo técnicas convencionais em anatomia vegetal. Com exceção de *A. bidentifera* e *A. kuczynskii*, os tricomas foram encontrados na face abaxial das sépalas de todas as espécies, na face externa do ovário e em algumas espécies no interior do calcar. As papilas foram encontradas nas sépalas, labelo e calcar de todas as espécies, apresentando formato e localização diversificada, e não tendo necessariamente características de tecido secretor. Epiderme secretora foi encontrada na face abaxial das sépalas laterais apenas em *A. bidentifera* e na face abaxial do labelo de *A. commelinoides* e *M. arietinus*. O calcar é distinto entre as espécies, apresentando nectários característicos em seu interior. Observou-se na fase pré-antese o tecido epidérmico e subepidérmico com intensa atividade metabólica, com muitos plastídios contendo grãos de amido, mitocôndrias, e vesículas que se juntam a plasmalema e liberam o seu conteúdo em uma região subcuticular, distendendo a cutícula. Em um próximo estágio da flor, na fase pós-antese, o conteúdo celular é bastante diminuto e a secreção que antes estava na região subcuticular é liberada para o lúmen do calcar através de poros na cutícula, não havendo rompimento da mesma. É notória também a grande proporção de floema em relação ao xilema nos feixes vasculares próximos aos nectários. Estes são circundados por células com características secretoras. Os dados analisados atestaram que o calcar é a estrutura nectarífera presente na flor, sendo a secreção do tipo granulócrica. Os resultados de micromorfologia e anatomia floral das espécies estudadas podem ser usados como subsídio para futuros estudos ecológico, buscando uma melhor compreensão da interação entre essas plantas e seus polinizadores.

Palavras-chave: Micromorfologia do labelo. Nectários. Orquídeas. Papilas. Tricomas. Ultraestrutura do calcar.

## ABSTRACT

Orchidaceae is one of the largest families of angiosperms, has cosmopolitan distribution and is well represented in Brazilian territory, appearing in all types of plant formation. The family is subdivided into five subfamilies and within the subfamily Orchidoideae Endl., the Cranichideae tribe comprises about 100 genera and about 1,800 predominantly terrestrial species, being subdivided into eight subtribes: Chloraeinae, Cranichidinae, Galleotiellinae, Goodyerinae, Manniellinae, Pterostylidinae, Discyphinae and Spiranthininae. Of these, the subtribe Goodyerinae Klotzsch is represented in Brazil by 37 native species in two genera: *Aspidogyne* Garay and *Microchilus* C. Presl. In the state of Paraná 14 species of the genus *Aspidogyne* and two species of the genus *Microchilus* are known. The genera of this subtribe have the formation of a spur, originating from the labellum, whose morphology has taxonomic importance. Considering the scarcity of anatomical knowledge and the floral micromorphology of this subtribe, the purpose of the work was to characterize the anatomical and micromorphological structure of the floral parts of *Aspidogyne*, *Microchilus* and *Ludisia discolor* species, with the objective of identifying and characterizing possible secretory structures in flower parts in the spur, as well as the secretory process. The analyzes were performed using light microscopy, scanning electron microscopy and transmission following conventional techniques in plant anatomy. With the exception of *A. bidentifera* and *A. kuczynskii*, trichomes were found on the abaxial surface of the sepals of all species, on the outer surface of the ovary and some species within the spur. The papillae were found in the sepals, labellum and spur of all species, presenting a diverse format and location, and not necessarily having characteristics of secretory tissue. Secretory epidermis was found on the abaxial surface of the lateral sepals only in *A. bidentifera* and in the abaxial surface of the labellum of *A. commelinoides* and *M. arietinus*. The spur is distinct among the species, presenting characteristic nectaries in its interior. In the transmission electron microscopy analysis of this region, epidermal and subepidermal tissue with intense metabolic activity were observed in the pre-anthesis phase, with many plastids containing starch grains, mitochondria, and vesicles that join the plasmalemma and release their content in a subcuticular region, relaxing the cuticle. In the next stage of the flower, in the post-anthesis phase, the cellular content is very small and the secretion that was previously in the subcuticular region is released to the lumen of the calcar through pores in the cuticle, and there is no rupture thereof. The large proportion of phloem in relation to the xylem in the vascular bundles near the nectars is also well known. These are surrounded by cells with secretory characteristics. The analyzed data attest that the calcar is the nectariferous structure present in the flower, being the secretion of granulocrina type. The results of micromorphology and floral anatomy of the studied species can be used as a subsidy for future ecological studies, seeking a better understanding of the interaction between these plants and their pollinators.

Key words: Labellum micromorphology. Nectaries. Orchids. Papillae. Trichomes. Spur ultrastructure.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>4</b>
<b>2.1A FAMÍLIA ORCHIDACEAE</b>	<b>4</b>
<b>2.2 A TRIBO CRANICHIDAE</b>	<b>6</b>
<b>2.3 A SUBTRIBO GOODYERINAE</b>	<b>7</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>9</b>
<b>4 RESULTADOS</b>	<b>11</b>
<b>4.1 OVÁRIO</b>	<b>11</b>
<b>4.2 SÉPALAS</b>	<b>12</b>
<b>4.3 LABELO</b>	<b>15</b>
<b>5 DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os dados mais atuais da classificação da família Orchidaceae aponta a tribo Cranichideae composta por de 100 gêneros e cerca de 1.800 espécies, distribuídas em oito subtribos: Chloraeinae, Cranichidinae, Galleotiellinae, Goodyerinae, Manniellinae, Pterostylidinae, Discyphinae e Spiranthinae (CHASE *et al.*, 2015). Os representantes da tribo estão extensamente espalhados pelos trópicos e subtropicais, com espécies em regiões temperadas da Austrália, Ásia e das Américas do Norte e do Sul (PRIDGEON *et al.* 2003). As Cranichideae são em sua maioria herbáceas terrestres, litófitas ou raramente epífitas, são plantas pequenas que possuem raízes grossas agrupadas ou espalhadas ao longo de um rizoma espesso. Dispõem de folhas membráceas que são arranjadas em uma roseta basal ou em espiral em torno de uma haste. Sua inflorescência é terminal, racemosa e as flores são pequenas, tubulares com viscidio terminal e polínias farináceas ou sécteis que se abrem parcialmente (PRIDGEON *et al.*, 2003; SALAZAR *et al.*, 2003). No Brasil as Cranichideae encontram-se representadas pelas subtribos Cranichidinae, Goodyerinae, Discyphinae e Spiranthinae (PRIDGEON *et al.* 2003, SALAZAR *et al.* 2014, BARROS *et al.* 2017).

A subtribo Goodyerinae possui 32 gêneros e aproximadamente 750 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do Novo e Velho Mundo (PRIDGEON *et al.*, 2003; ORMEROD, 2005, 2009, 2013), apresentando no Brasil dois gêneros nativos: *Aspidogyne* Garay e *Microchilus* C. Presl com cerca de 30 espécies nativas encontradas nos domínios fitogeográficos da Mata Atlântica, Amazônia e Cerrado (BFG, 2015), além de *Ludisia discolor* (Ker Gawl.) Blume, espécie asiática cultivada como ornamental (MENEGUZZO, 2012). O gênero *Aspidogyne* apresenta cerca de 70 espécies, sendo 30 destas encontradas na América do Sul e Central (ORMEROD, 2008) e 26 no Brasil (BARROS *et al.*, 2017). De acordo com Garay (1977), o gênero *Microchilus* é constituído por aproximadamente 135 espécies, distribuídas do México à Argentina, com 10 espécies no Brasil.

As Goodyerinae são caracterizadas pelo hábito distinto, com uma porção basal e horizontal do caule denominada caule radífero de onde partem as raízes, e uma porção ereta e mais desenvolvida de onde surgem as folhas, chamado caule foliado. Embora as características vegetativas sejam relativamente uniformes, as flores são variadas e frequentemente bastante especializadas, com coluna curva e polínias sécteis com viscidio mais ou menos evidente (DRESSLER, 1993; PRIDGEON *et al.*, 2003).

Apesar do grande número de gêneros em Goodyerinae, os estudos até o momento se concentram em taxonomia (GARAY, 1977; MENEGUZZO, 2012; ORMEROD, 2008, 2009, 2013), filogenia e sistemática (FREUNDENSTEIN, 1991; FREUNDENSTEIN E RASMUSSEN, 1999; CHASE *et al.*, 2003; SALAZAR, 2003; CHASE, 2015), polinização (ACKERMAN, 1975; KALLUNKI, 1976, 1981; SIGIURA E YAMAGUCHI, 2005; SINGER E SAZIMA, 2001), e mais restritos os de morfologia e anatomia vegetativa (ANDREOTA *et al.*, 2015; BONA *et al.*, dados não publicados). Estudos da micromorfologia e nectários florais, embora sejam essenciais para o entendimento dos processos ecológicos relacionados a polinização por insetos (FIGUEIREDO E PAIS, 1992; PAIS E FIGUEIREDO, 1994; STPICZYNSKA, 1997; STPICZYNSKA E MATUSIEWICZ, 2001) ainda carecem de ser feitos pra Goodyerinae.

A maioria das Orchidaceae possuem na superfície das sépalas e pétalas tecidos especializados na produção de odores, os chamados osmóforos, os quais atuam como atrativos florais para os insetos polinizadores (SINGER, 2003; DAVIES E STPICZYNSKA, 2014; KOWALKOWSKA *et al.*, 2014). Uma vez atraídos para a flor, esses insetos podem ser recompensados com néctar, um dos fatores de incentivo a visita floral, que em algumas espécies de orquídeas pode ser produzido e secretado em nectários superficiais no labelo ou entre a coluna e o labelo (DRESSLER, 1993). O conhecimento sobre a localização e o funcionamento dessas estruturas secretoras como atrativos florais pode auxiliar no entendimento da funcionalidade dessas em relação aos polinizadores (SWIECZKOWSKA E KOWALKOWSKA, 2015; TEIXEIRA *et al.*, 2004).

Os tecidos nectaríferos são os atrativos de algumas orquídeas, porém quando comparado ao número de espécies da família, os estudos anatômicos dessas estruturas são escassos (LEITÃO *et al.*, 2014). Sabe-se que o calcar encontrado na base do labelo das flores de Goodyerinae está associado à atividade nectarífera e ao sistema de polinização (DRESSLER 1993, SINGER E SAZIMA, 2001). Populações de *Goodyera* R.Br. da América do Norte e Latina são autocompatíveis e polinizadas por abelhas do gênero *Bombus* (ACKERMAN, 1975; KALLUNKI, 1976, 1981; SIGIURA E YAMAGUCHI, 2005). *Aspidogyne argentea* (Vell.) Garay, *A. longicornu* (Cogn.) Garay e *Erythrodes arietina* (Rchb.f. & Warm.) Ames (sinonimizada como *Microchilus arietinus* (Rchb.f. & Warm.) Ormerod) são plantas autogâmicas mas que dependem de polinizadores e, por conta disso, oferecerem néctar no interior do calcar como recompensa floral (SINGER E SAZIMA, 2001). Embora alguns polinizadores bem como a oferta de néctar, tenham sido reconhecidos por Singer e Sazima (2001) para espécies de Goodyerinae neotropicais, ainda é desconhecida a organização da

estrutura no interior do calcar e como esse néctar é secretado (DUGARTE-CORREDOR E ARIAS, 2012).

Estruturas secretoras de néctar são bastante variadas, podendo ocorrer na forma de papilas, esporões, tricomas glandulares e cunículos (PRIDGEON *et al.*, 1999; STPICZYNSKA *et al.*, 2003; DAVIES E TURNER, 2004; KOWALKOWSKA *et al.*, 2014) e são encontradas no labelo (BOTTEGA E CORSI, 2000; TEIXEIRA *et al.*, 2004; DAVIES E STPICZYNSKA, 2007; BELL *et al.*, 2009; DAVIES E STPICZYNSKA, 2009, 2014) e calcar (STPICZYNSKA *et al.*, 2011). Em Goodyerinae os estudos micromorfológicos das peças florais estão ausentes, apesar de indicarem uma associação específica aos polinizadores (COSTA *et al.*, 2017) e auxiliarem nos estudos evolutivos e taxonômicos (DAVIES E STPICZYNSKA, 2006, 2014; STPICZYNSKA *et al.*, 2003), uma vez que a monofilia dos gêneros é considerada improvável (CHASE *et al.*, 2015).

A micromorfologia das flores está diretamente relacionada à polinização, considerando que as peças florais têm funções específicas na atração de polinizadores (WHITNEY *et al.*, 2011; COSTA *et al.*, 2017), sendo as pétalas uma das estruturas mais bem estudadas quando se trata de micromorfologia floral associada à polinização (CARLQUIST, 1969, MUDALIGE *et al.*, 2003; WHITNEY, 2009, 2011; ARGIROPOULOS E RHIZOPOULOU, 2012; WHITNEY, 2013; COSTA *et al.*, 2017). As pétalas de flores de muitas espécies podem favorecer a atração de polinizadores através de pistas olfativas, visuais e táteis (WHITNEY *et al.*, 2011), o que muitas vezes pode ser ocasionado pela ocorrência e dimensões das células epidérmicas cônicas, as quais alteram a absorção da luz e influenciam o brilho e a intensidade da cor da flor (KAY *et al.*, 1981). Portanto, a diversidade micromorfológica das flores e a interação com os polinizadores influenciam o sucesso reprodutivo da planta (WHITNEY *et al.*, 2009, ALCORN *et al.*, 2012).

Considerando a escassez de dados sobre a micromorfologia da flor e a importância de acrescentar novas informações florais as Goodyerinae, o presente trabalho apresenta um estudo comparado da estrutura anatômica e micromorfológica da flor e ultraestrutura do calcar de espécies de *Aspidogyne*, *Microchilus* e micromorfologia de *Ludisia*, buscando descrever e analisar as micro variações ocorrentes entre as espécies, bem como a busca atrativos e recompensas florais dentro do grupo, bem como seus respectivos processos de secreção.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A FAMÍLIA ORCHIDACEAE

Orchidaceae Juss. é uma das maiores famílias de plantas vasculares, com estimativas indicando que o número de espécies possa chegar a 30.000, totalizando por volta de 7% de todas as angiospermas (CHASE, 2005). Revisões atuais apontam que Orchidaceae possui 25.000 espécies distribuídas em 736 gêneros e a reorganização das espécies em novos gêneros tem sido frequentemente proposta (CHASE *et al.*, 2015).

As orquídeas, como são conhecidas, apresentam ampla distribuição geográfica, sendo encontradas em quase todos os ambientes, exceto em desertos verdadeiros (STERN, 2014). Os neotrópicos possuem grande riqueza e diversidade de orquídeas e aproximadamente 2.500 espécies ocorrem no território brasileiro, sendo que no Estado do Paraná ocorrem 616 espécies distribuídas em 119 gêneros (BARROS *et al.*, 2017). Esta grande capacidade adaptativa aos mais variados tipos de ambientes deve-se principalmente às diversas variações vegetativas presentes na família, apresentando inúmeras estratégias relacionadas, efetivamente, à obtenção e reserva de água e nutrientes (DRESSLER, 1993; OLIVEIRA E SAJO, 1999; FIGUEROA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2010; DUGARTE-CORREDOR E ARIAS; 2012; ANDREOTA *et al.*, 2015). Segundo Pinheiro *et al.* (2004) há uma conservação da organização e composição da morfologia floral, apesar das variações que ocorrem. Esta organização e composição podem estar relacionadas com a seleção reprodutiva, que é a principal responsável pelo sucesso da família, verificado pelo grande número de espécies que a constituem.

A constituição floral das plantas foi moldada pela evolução durante milhares de anos, sendo fundamentalmente associada com um vasto número de interações plantas-insetos, desenvolvendo não apenas superfícies especializadas para limitar (GAUME *et al.*, 2004; RIEDERER E MÜLLER, 2006; OELSCHLÄGEL *et al.*, 2009; BULLOCK E FEDERLE, 2010; POPPINGA *et al.*, 2010; SCHOLZ *et al.*, 2010; PRÜM *et al.*, 2012) ou melhorar o acesso de insetos (DAI *et al.*, 2002; KOCH E BARTHLOTT, 2009; WHITNEY *et al.*, 2009; ALCORN *et al.*, 2012), mas também tecidos mecanicamente adaptados para resistir à alimentação desses (LUCAS *et al.*, 2000; READ E STOKES, 2006; SANSON, 2006; HANLEY *et al.*, 2007; PEIFFER *et al.*, 2009; PLETT *et al.*, 2010; SOROKA *et al.*, 2011). Em consequência a esse processo evolutivo, resultou o sucesso reprodutivo das plantas, tornando-as capazes de influenciar o comportamento dos insetos com sistemas mecânicos

complexos, sobretudo no que se refere a polinização (PRIDGEON *et al.*, 2003; RATNAYAKE *et al.*, 2007; REITH *et al.*, 2007; NICHOLSON *et al.*, 2008; WARREN E JAMES, 2008; OELSCHLÄGEL *et al.*, 2009; RUAN E DA SILVA, 2011; ALCORN *et al.*, 2012).

As orquídeas são plantas facilmente reconhecíveis por possuir flores fortemente zigomorfas, onde o androceu e gineceu são parcialmente fundidos formando o ginostêmio ou coluna (DRESSLER, 1993). Esta zigomorfia também ocorre devido a presença de estaminódios e/ou da supressão completa do estame, uma pétala modificada denominada labelo, o qual geralmente é acompanhado por estruturas diversas, como por exemplo nectários em forma de calcar cilíndrico. Do mesmo modo a ressupinação do ovário e do pedicelo, visível na maioria das espécies, contribui para a morfologia altamente modificada das flores da família (BOX *et al.*, 2008). Na coluna, o estigma encontra-se separado da antera funcional pelo rostelo, estrutura relativamente membranácea que nada mais é do que um lobo do estigma modificado cuja função principal é impedir a autofecundação (SZLACHETKO E RUTKOWSKI, 2000). O ovário é ínfero e o fruto cápsula abre-se através de fendas laterais liberando numerosas e diminutas sementes (BARROS *et al.*, 2017; DRESSLER E CHASE, 1995; PINHEIRO *et al.*, 2004; RUSCHI, 1997).

Embora as orquídeas apresentem uma grande variedade fenotípica, a organização básica das peças florais é típica de plantas monocotiledôneas, e as singularidades das suas partes estão associadas, essencialmente, aos recursos produzidos para atrair diferentes polinizadores, sobretudo fragrâncias, óleos e néctar (DRESSLER, 1993).

A epiderme da flor pode apresentar variadas estruturas associadas, as quais são relativamente comuns em plantas, como por exemplo: tricomas, papilas ou glândulas (KRONESTEDT-ROBARDS *et al.*, 1986; DAVIES E TURNER, 2004; BERNADELLO, 2007; DAVIES E STPICZYNSKA, 2006; DAVIES E STPICZYNSKA, 2008; DAVIES E STPICZYNSKA, 2010; DUGARTE-COREDOR E ARIAS, 2012; DAVIES E STPICZYNSKA, 2014). Estas estruturas podem atuar tanto na defesa da planta contra herbivoria e insetos saqueadores (LUCAS *et al.*, 2000; SCHOLZ *et al.*, 2010), quanto ser órgãos secretores de incentivos e recompensas florais, podendo secretar néctar, óleos, fragrâncias, ceras ou outras substâncias resinosas e lipídicas (DAVIES E STPICZYNSKA, 2014; KOWALKOWSKA *et al.*, 2014; NUNES *et al.*, 2014, 2015). Há ainda a possibilidade da presença de secreções não aparentes que só são acessíveis a insetos roedores, pois estas se encontram em papilas dentro do calcar (DAVIES *et al.*, 2003; DAVIES E STPICZYNSKA, 2008a, 2009; DAVIES E TURNER, 2004).

Alguns gêneros de Orchidaceae apresentam uma estrutura saculiforme ou tubular denominada calcar que está associada com a atividade nectarífera dessas orquídeas, bem como ao seu sistema de polinização (DRESSLER, 1993). Em um estudo com *Aerides* Lour, Stpiczynska *et al.* (2011) concluíram que esta estrutura evoluiu duas vezes dentro do grupo, em regiões geograficamente distintas, o que segundo Kocyan *et al.*, (2008), pode ter sido influenciada pelos polinizadores. Uma vez estabelecida a correlação entre a micromorfologia floral e polinizadores, enfatiza-se a necessidade de se conhecer o presente grupo, visto que esta estrutura é observada nos representantes da subtribo Goodyerinae.

## 2.2 A TRIBO CRANICHIDEAE

Análises moleculares recentes dividiram a família Orchidaceae em cinco subfamílias: Apostasioideae, Vanilloideae, Cyripidioideae, Orchidoideae e Epidendroideae, indicando que a redução de três para uma única antera fértil ocorreu pelo menos duas vezes, durante a história evolutiva do grupo (CHASE *et al.*, 2003). Dessas, Orchidoideae é a subfamília da qual a tribo Cranichideae pertence (CHASE *et al.*, 2003; PRIDGEON *et al.*, 2003).

Não foram reconhecidas, até o presente momento, sinapomorfias morfológicas para todas as subtribos de Cranichideae. Em Cranichidinae a coluna é pontiaguda, algumas vezes unida com o labelo ou com as pétalas e as polínias são frágeis e clavadas; enquanto em Goodyerinae a coluna é curva e as polínias sécteis com viscidio mais ou menos evidente, em Spiranthinae as margens do labelo unem-se com a base da coluna formando um nectário profundo e as polínias são macias e granuladas (DRESSLER, 1993; PRIDGEON *et al.*, 2003).

Em um estudo dos órgãos vegetativos de representantes das subtribos Cranichidinae, Goodyerinae e Spiranthinae, Andreota *et al.*, (2015) concluíram que características anatômicas têm importância ecológica e fisiológica, como por exemplo: o espessamento do velame auxilia na absorção de água e nutrientes do solo e evita a transpiração excessiva, a cutícula das folhas confere proteção contra radiação e dessecação, corroborando com trabalhos anteriores (OLIVEIRA E SAJO, 1999; FIGUEROA *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2010; DUGARTE-CORREDOR E ARIAS; 2012).

Estudos anatômicos e morfológicos são meios necessários para se compreender a relação entre a morfologia e o ambiente em que a planta se encontra e os processos envolvidos entre eles. Contudo, de acordo com Pridgeon *et al.*,(2003) não há informações anatômicas e morfológicas florais sobre os gêneros pertencentes a Goodyerinae, e conforme

Chase *et al.*, (2015) a monofilia dos gêneros do grupo como são conhecidas atualmente são consideradas improváveis.

### 2.3 A SUBTRIBO GOODYERINAE

As características anatômicas dos órgãos vegetativos em Goodyerinae são muito semelhantes às demais Cranichideae e descritas conjuntamente às demais espécies da tribo (PRIDGEON *et al.*, 2003; STERN, 2014). Embora o padrão comum das raízes em Cranichideae é a presença de velame com paredes espessadas ou com discretos espessamentos escalariformes e presença de espirantossomos (PRIDGEON *et al.*, 2003, FIGUEROA *et al.*, 2008; DUGARTE-CORREDOR E ARIAS, 2012; ANDREOTA *et al.*, 2015; BERNAL *et al.*, 2015), segundo Engels *et al.* (2016), Goodyerinae possui velame uniestratificado com paredes finas, exoderme com paredes delgadas e suberizadas, presença de colênquima na raiz, e presença de espirantossomos, caracteres que podem estar associados ao tipo de vida húmica. O caule apresenta cutícula fina; estrias de Caspary na endoderme, sendo um novo caractere na tribo, e variação no número de feixes vasculares, passando de 15-48 na tribo para 10-50 na subtribo; presença de espirantossomos constante em todas as espécies. O caule radíclero contém mais amido do que o caule foliado. Folhas com cutícula fina hipostomáticas e xilema binário (PRIDGEON *et al.*, 2003, STERN, 2014; ENGELS *et al.*, 2016).

As flores são ressupinadas com ovário piloso; sépalas normalmente pilosas na face externa; pétalas aderidas lateralmente à sépala dorsal; labelo dotado de calcar, uma estrutura saculiforme ou tubular, a qual está presente em outros grupos de Orchidaceae; coluna diferenciada devido às especializações no rostelo e no viscidio (ENGELS, 2014). Em alguns gêneros, durante a remoção do polinário, o viscidio rompe parte do rostelo, deixando no remanescente rostelar uma “cicatriz” com padrão definido, utilizado como caráter taxonômico (ENGELS, 2014).

Localizar e conhecer a morfologia das estruturas secretoras pode auxiliar no entendimento da funcionalidade dessas em relação aos polinizadores (SWIECZKOWSKA E KOWALKOWSKA, 2015, TEIXEIRA *et al.*, 2004). Estruturas secretoras de néctar são bastante variadas, podendo ocorrer na forma de papilas, esporões, tricomas glandulares e cunículos (estrutura proveniente de um tubo floral entre o ovário e a base do perianto) (DAVIES *et al.*, 2003; DAVIES E TURNER, 2004; PRIDGEON *et al.*, 1999) e embora as papilas também sejam encontradas nas sépalas e pétalas (MOREIRA *et al.*, 2008; TEIXEIRA

*et al.*, 2004)coluna e na antera da flor, estas ainda não são bem estudadas dentro do grupo e possuem valor taxonômico (DAVIES E STPICZYNSKA, 2006, 2014).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas as flores de dez espécies de Goodyerinae, sendo sete de *Aspidogyne*: *A. argentea* (Vell.) Garay, *A. bidentifera* (Schltr.) Garay, *A. commelinoides* (Barb.Rodr.) Garay, *A. foliosa* (Poepp. & Endl.) Garay, *A. juruenensis* (Hoehne) Meneguzzo, *A. kuczynskii* (Porsch) Garay, *A. longicornu* (Cogn.) Garay, duas de *Microchilus*: *M. arietinus* (Rchb.f. & Warm.) Ormerod e *M. austrobrasiliensis* (Porsch) Ormerod, e *Ludisia discolor* (Ker Gawl.) Blume (Tabela 1). Os nomes válidos e sinônimos exceto para *Ludisia discolor*, foram adotados de acordo com BFG (2015), Govaerts (2017) e combinações propostas por Meneguzzo (2012). As amostras de *Aspidogyne* e *Microchilus* foram obtidas em campo nos Estados do Paraná e Santa Catarina e armazenadas em álcool 70%, enquanto *L. discolor* foi adquirida de cultivadores.

TABELA 1 – LISTA DAS ESPÉCIES ESTUDADAS CONTENDO O *VOUCHER* E O LOCAL DA COLETA.

<b>Espécie</b>	<b>Voucher ou número de coleta</b>	<b>Localidade</b>
<i>Aspidogyne argentea</i>	M. E. Engels 529	Brasil, Joinville, SC
<i>A. bidentifera</i>	M. E. Engels 600	Brasil, Blumenau, SC
<i>A. commelinoides</i>	T. F. Santos & A. Cardozo 266	Brasil, Tijucas do Sul, Vossoroca, PR.
<i>A. foliosa</i>	M. E. Engels & T. A. Meyer 6177	Coronel Domingos Soares, SC
<i>A. juruenensis</i>	M. E. Engels 599	Brasil, Guaraqueçaba, PR
<i>A. kuczynskii</i>	M. E. Engels 527	Brasil, Céu Azul, PR
<i>A. longicornu</i>	M. E. Engels 510	Brasil, Ilha do Mel, Paranaguá, PR
<i>Microchilus arietinus</i>	M. E. Engels 528	Brasil, Antonina, PR
<i>M. austrobrasiliensis</i>	M. E. Engels 383	Brasil, Carambeí, PR
<i>Ludisia discolor</i>	F. S. Pieczak 93900	Brasil, Curitiba, PR

FONTE: ENGELS (2016).

LEGENDA: O MATERIAL COLETADO FOI DEPOSITADO NO HERBÁRIO UPCB, COM DUPLICATAS DESTINADAS PARA OS HERBÁRIOS MBM E SP (ENGELS, 2016).

Todas as peças florais foram examinadas por microscopia de luz (ML) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). O calcar de *Aspidogyne commelinoides*, *A. longicornu* e *Microchilus arietinus* foi analisado em microscopia eletrônica de transmissão (MET). As peças florais de *Ludisia discolor* foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura.

Para as análises em ML, as amostras das flores foram fixadas em FAA 50 (JOHANSEN, 1940) ou em glutaraldeído e formaldeído (KARNOVSKY, 1965 modificado por KRAUS E ARDUIN, 1997). Em sequência as amostras foram desidratadas em série etílica até álcool 70%, pré-infiltradas em historesina Leica<sup>®</sup> mais álcool 70% (1:1), infiltradas e incluídas de acordo com as indicações do fabricante.



Secções seriadas em plano transversal foram feitas para todas as peças florais (sépala dorsal, sépalas laterais, pétalas, labelo e calcar e em plano longitudinal para a região distal do calcar de *A. commelinoides*. O material foi seccionado com 7 µm de espessura em micrótomo de rotação manual Leica® RM 2145; as lâminas foram coradas com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1964) e montadas de forma permanente. As fotomicrografias foram obtidas por meio do fotomicroscópio Olympus BX41 com câmera digital SC30 acoplada. *A. foliosa* e *L. discolor* foram analisadas apenas em microscopia de varredura.

Para as análises em MEV as amostras foram fixadas em FAA 50 (JOHANSEN, 1940), desidratadas em série etílica, secas via ponto crítico com gás carbônico (Balzers Union FL 9496 SCD 030), aderidas ao suporte metálico com fita adesiva de cobre, metalizadas com ouro e por fim analisadas ao microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM – 6360LV Scanning Electron Microscope) do Centro de Microscopia Eletrônica (CEM) da Universidade Federal do Paraná.

Para análise em MET, o calcar foi fixado em glutaraldeído 2,5% e paraformaldeído (KARNOVSKY, 1965, modificado por KRAUS E ARDUIN, 1997) imediatamente após a coleta e em seguida as amostras foram lavadas em tampão fostato 0,1M. Após, o material foi pós-fixado em tetróxido de ósmio (OsO<sub>4</sub>) 1% e lavado em água destilada. Subsequentemente as amostras foram desidratadas em série etílica total e incluídas em historesina LRWhite® “Medium Grade” (Fluka) seguindo as instruções do fabricante.

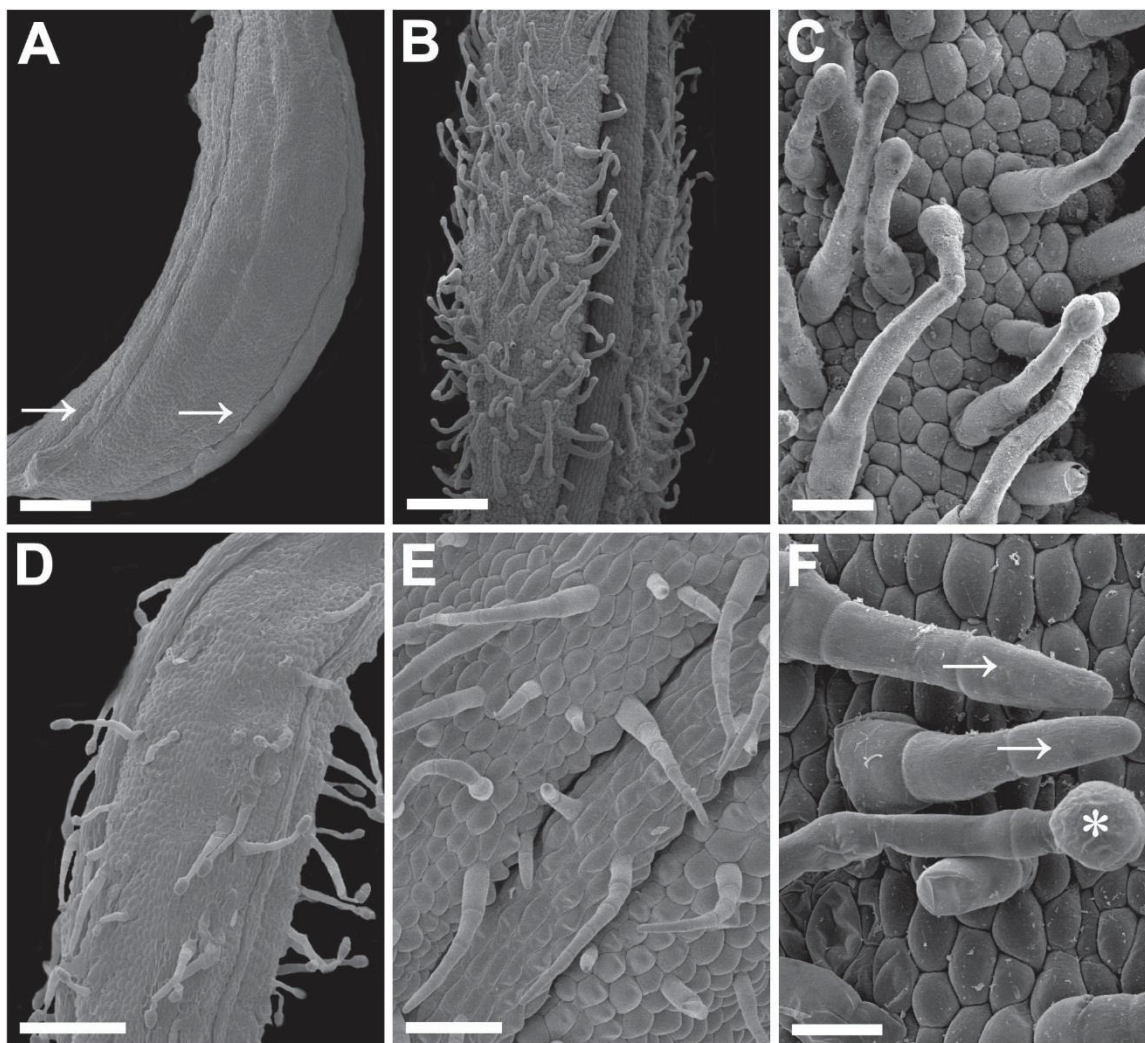
As secções semifinas foram feitas em Ultramicrótomo Leica Ultracut UCT, utilizando navalhas de vidro, com espessura de 500 nm; montadas em lâminas de vidro e coradas com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1964). As secções ultrafinas foram feitas em navalha de diamante, com espessuras entre 60 a 100 nm, depositadas em suportes (“grids”) de cobre de 200 mesh, contrastados em solução de acetato de uranila 2% e solução de citrato de chumbo 10% (REYNOLDS, 1963). As análises foram realizadas em microscópio eletrônico de transmissão JEOL – 1200 EX II no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 OVÁRIO

Os resultados apresentados a seguir encontram-se sumarizados na Tabela 2. O ovário é pubescente na superfície externa de todas as espécies analisadas, com exceção de *Aspidgyne bidentifera* que é glabro (Fig. 1A). Os tricomas glandulares são multicelulares, com pedicelo longo e multicelular (Fig. 1B - F) e extremidade globosa. A extremidade globosa pode conter apenas uma célula, predominante em *Microchilus arietinus* (Fig. 1B, C), ou até cinco células, predominante em *A. argentea* (Fig. 1D). Ocorrem também tricomas tectores, com as células da extremidade alongada, os quais foram observados em *Ludisia discolor* (Fig. 1E) e *M. austrobrasiliensis*, sendo observados nesta última espécie os dois tipos de tricomas, glandulares e tectores (Fig. 1F). As demais espécies apresentam tricomas com a extremidade globosa, contendo um número variável de células, entre uma até cinco.

FIGURA 1 – SUPERFÍCIE EXTERNA DO OVÁRIO EM ESPÉCIES DE GOODYERINAE.



FONTE: (A, B, C, D, F) Cleusa Bona; (E) o autor (2019).

LEGENDA: Microscopia eletrônica de varredura. (A) *Aspidogyne bidentifera*. Ovário glabro, com células justapostas e sulcos (seta) formando uma leve torção no órgão. Barra = 500  $\mu\text{m}$ . (B) *Microchilus arietinus*. Ovário pubescente com tricomas capitados contendo predominantemente uma célula na extremidade. Barra = 500  $\mu\text{m}$ . (C) *M. arietinus*. Detalhe dos tricomas com uma célula na cabeça. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (D) *A. argentea*. Ovário pubescente com tricomas multicelulares portando cabeça predominantemente com cinco células. Barra = 500  $\mu\text{m}$ . (E) *Ludisia discolor*. Tricomas tomentosos com extremidade alongada sem células globosas. Barra = 200  $\mu\text{m}$ . (F) *M. austrobrasiliensis*. Detalhe dos tricomas tomentosos (seta) e tricomas capitados com uma célula na cabeça (\*). Barra = 50  $\mu\text{m}$ .

## 4.2 SÉPALAS

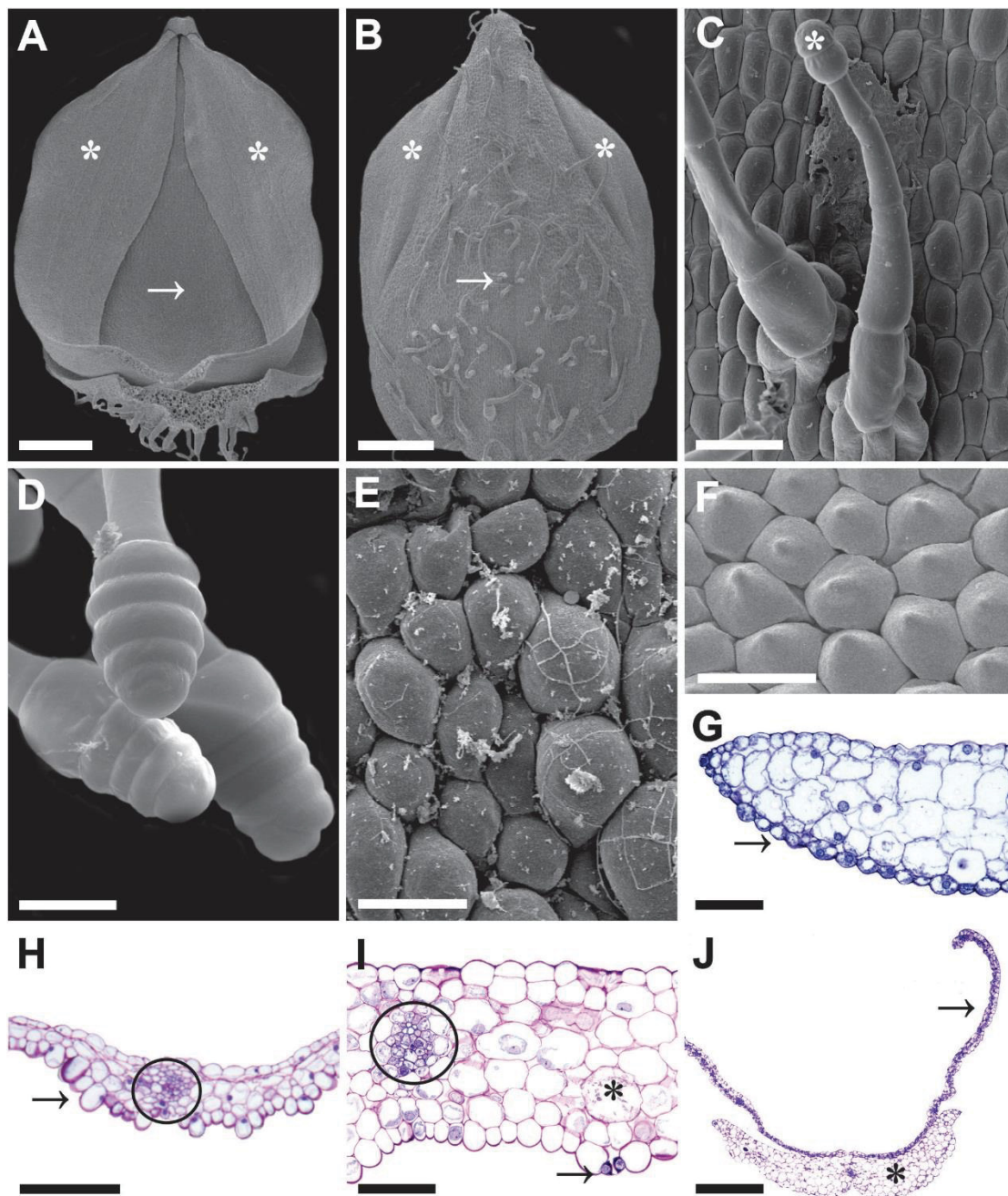
A superfície das sépalas é glabra em ambas as faces em *Aspidogyne bidentifera* e *Ludisia discolor*, nas demais espécies apresenta face adaxial glabra e a face abaxial pubescente (Fig. 2A, B, G). Os tricomas são capitados com pedicelo longo pluricelular e cabeça alongada com duas a cinco células alinhadas (Fig. 2C, D). Em vista frontal as células epidérmicas são papilosas obpiriformes em *Microchilus austrobrasiliensis* (Fig. 2E) e com papilas cônicas em *L. discolor* (Fig. 2F). Nas demais espécies a superfície apresenta células

retangulares a arredondadas (Fig. 2A, B e C). Em vista transversal a epiderme se mostra uniestratificada, com células de formato arredondado, com paredes delgadas (Fig. 2G, H). A face abaxial das sépalas laterais é secretora em *A. bidentifera*, com células de conteúdo denso, núcleo central e vacúolos menores em relação às células da face adaxial (Fig. 2G). Em ambas as espécies de *Microchilus* a face abaxial apresenta células papilosas sem aspecto de célula secretora (Fig. 2H). Estômatos esparsos ocorrem na face abaxial (Fig. 2I). O mesofilo é homogêneo em todas as espécies, com três a cinco camadas de parênquima com células mais arredondadas próximas a epiderme e irregulares no centro (Fig. 2G, H, I). A espessura do mesofilo varia conforme a espécie e possui mais camadas na região proximal da sépala. As sépalas são vascularizadas com um único feixe vascular disposto na região mediana do limbo (Fig. 2H, I). Idioblastos com ráfides estão distribuídos aleatoriamente no mesofilo de todas as espécies (Fig. 2G, I).

As pétalas aderidas internamente na região proximal à sépala dorsal e são glabras em ambas as faces (Fig. 2B), delgadas em comparação as sépalas e formadas basicamente da epiderme e uma ou duas camadas de mesofilo parenquimático com células achatadas de formato e disposição irregular (Fig. 2J) e um feixe vascular central.



FIGURA 2 – MICROMORFOLOGIA E ESTRUTURA ANATÔMICA DAS SÉPALAS DE ESPÉCIES DE GOODYERINAE.



FONTE: (A, B, C, F, I, J) o autor (2019); (D, E, G, H) Cleusa Bona.

LEGENDA: (A – F) Microscopia eletrônica de varredura, (G – J) microscopia de luz. (A) *Aspidogyne foliosa*. Face adaxial da sépala dorsal (seta) com pétalas glabras (\*) aderidas internamente. Barra = 1 mm. (B) *A. foliosa*. Sépala dorsal com face abaxial pubescente (seta) e pétalas (\*) glabras. Barra = 1 mm. (C) *A. commelinoides*. Tricoma capitado da sépala dorsal (\*). Barra = 100 µm. (D) *A. argentea*. Ápice dos tricomas capitados da sépala dorsal. Barra = 50 µm. (E) *Microchilus austrobrasiliensis*. Papilas obpiriformes da face abaxial da sépala lateral. Barra = 50 µm. (F) *Ludisia discolor*. Face abaxial da sépala lateral mostrando papilas cônicas. Barra = 100 µm. (G) *A. bidentifera*. Corte transversal da região mediana da sépala lateral evidenciando face abaxial (seta) secretora. Barra = 100 µm. (H) *M. austrobrasiliensis*. Corte transversal da sépala lateral mostrando papilas da face abaxial (seta) e feixe vascular central (círculo). Barra = 200 µm. (I) *A. longicornu*. Corte transversal da sépala mostrando feixe vascular central (círculo), idioblasto com ráfides (\*) e estômato na face abaxial (seta). Barra = 100 µm. (J) *A. commelinoides*. Corte transversal na região proximal da sépala dorsal (\*) e pétalas (seta) inseridas internamente à sépala. Barra = 500 µm.

### 4.3 LABELO

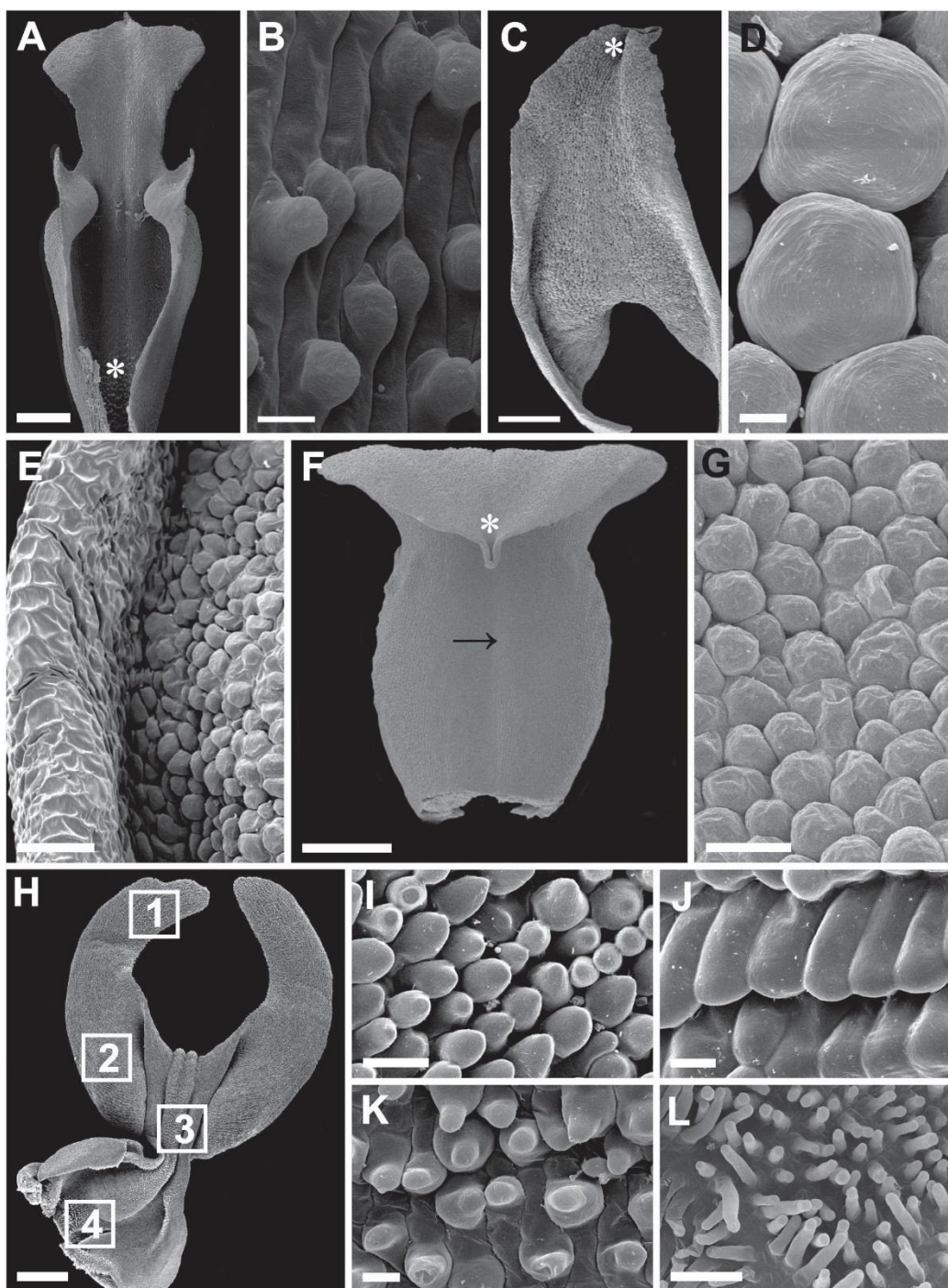
O labelo varia morfológica e micromorfológicamente entre as espécies (Fig. 3, 4, 5) podendo ser lobado (*Aspidogyne argentea* (Fig. 3B), *A. bidentifera*, *A. foliosa* (Fig. 3F), *A. juruenensis* (Fig. 3I), *A. kuczynskii* (Fig. 4A), *A. longicornu* (Fig. 4C), *Ludisia discolor* (Fig. 4F) e *Microchilus arietinus* (Fig. 4G)), ou inteiro (*A. commelinoides* (Fig. 3D) e *M. austrobrasiliensis* (Fig. 5A)). A face abaxial é glabra em todas as espécies (Fig. 3, 4, 5). A face adaxial difere entre as espécies: poucas papilas obpiriformes na base em *A. argentea* (Fig. 3A, B); papilas obpiriformes em toda a extensão do labelo em *A. commelinoides* (Fig. 3C, D), exceto nas margens (Fig. 3E); papilas obpiriformes no ápice em *A. foliosa* (Fig. 3F, G,); *A. juruenensis* (Fig. 3H) apresenta papilas cônicas no ápice (Fig. 3I), lameliformes (com células fundidas) na base dos lóbulos (Fig. 3J), mamiliformes na região mediana (Fig. 3K) e tricomas papilares na base (Fig. 3L); tricomas papiliformes esparsos e papilas obpiriformes na base (Fig. 4A, B) e poucas papilas cônicas na margem dos lóbulos em *A. kuczynskii*; papilas obpiriformes alongadas no centro do ápice (Fig. 4C, 4D), e cônicas nas margens do ápice em *A. longicornu* (Fig. 4E); papilas obpiriformes a mamiliformes na região distal em *L. discolor* (Fig. 4F, G); papilas cônicas (Fig. 4H, I) e mamiliformes (Fig. 4J) no ápice em *M. arietinus*; células convexas a ligeiramente papilosas na região apical (Fig. 5A, B) e papilas cônicas a mamiliformes nas margens do ápice em *M. austrobrasiliensis* (Fig. 5C). A cutícula apresenta estriações perpendiculares ao comprimento da célula em *A. argentea* (Fig. 5D), *A. kuczynskii* (Fig. 5B) e *L. discolor* (Fig. 5E). Nas papilas cônicas e mamiliformes, as estriações são circulares e concêntricas, e foram observadas em papilas de *A. commelinoides* (Fig. 3E) e *M. austrobrasiliensis* (Fig. 5C). Em *M. arietinus* as estriações das papilas cônicas são longitudinais (Fig. 4I, J). As demais espécies não apresentam estriações na cutícula.

A epiderme face abaxial apresenta células com aparência secretora na base do labelo em *A. commelinoides* (Fig. 5G) e *M. arietinus* (Fig. 5H). Essas células são arredondadas e bem maiores comparadas às células epidérmicas adaxiais. Situadas na região mediana do limbo, exceto nas margens, possuem conteúdo denso, muitos vacúolos e núcleo grande. Na face adaxial as células são papilosas ou não, com paredes finas e muito vacuolizadas, sem aspecto secretor (Fig. 5G). O mesofilo é composto de cinco a sete camadas de células parenquimáticas, mais estreito nas laterais (Fig. 5F, G) e possui idioblastos com ráfides esparsos em todas as espécies (Fig. 5G). Os feixes vasculares são em número de cinco, sendo



um central e dois em cada lateral do labelo, apresentam predominância de floema, sendo circundado por células de aparência secretora (Fig. 5F, G).

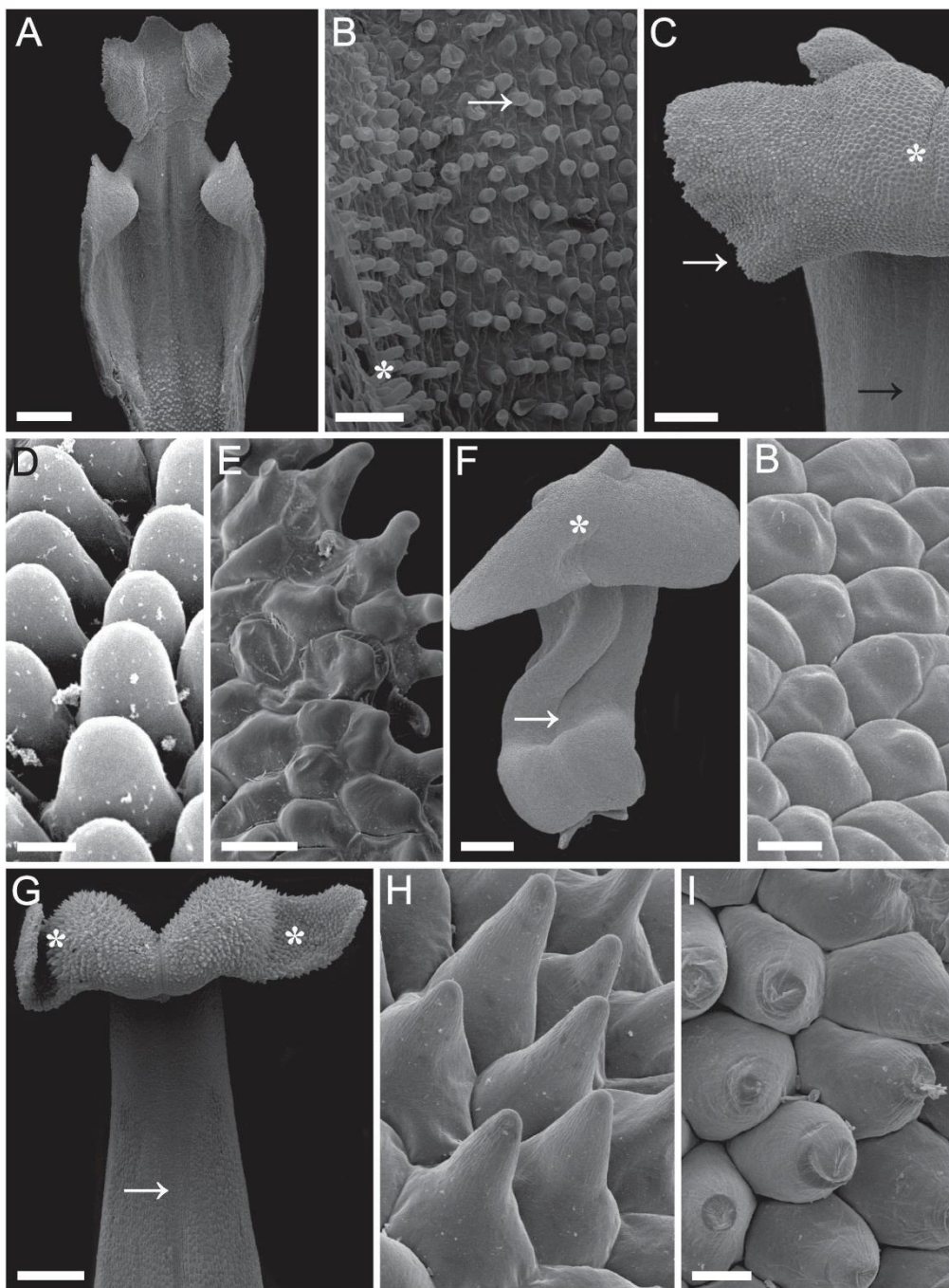
FIGURA 3 – MICROMORFOLOGIA DO LABELO DE ESPÉCIES DE *Aspidogyne* (GOODYERINAE).



FONTE: (A - G) O autor (2019); (H - L) Cleusa Bona.

LEGENDA: Microscopia eletrônica de varredura. (A) *Aspidogyne argentea*. Vista geral da face adaxial com papilas obpiriformes na base (\*). Barra = 500  $\mu$ m. (B) *A. argentea*. Detalhe das papilas obpiriformes. Barra = 20  $\mu$ m. (C) *A. commelinoides*. Vista geral da face adaxial com papilas obpiriformes no ápice (\*). Barra = 500  $\mu$ m. (D) *A. commelinoides*. Detalhe das papilas obpiriformes com cutícula estriada. Barra = 10  $\mu$ m. (E) *A. commelinoides*. Detalhe evidenciando margem sem papilas. Barra = 100  $\mu$ m. (F) *A. foliosa*. Face abaxial (seta) e face adaxial do ápice com papilas obpiriformes (\*). Barra = 1 mm. (G) *A. foliosa*. Detalhe das papilas obpiriformes com cutícula estriada. Barra = 50  $\mu$ m. (H - L) *A. juruenensis*. (H) Vista geral da face adaxial destacando os tipos de papilas (quadrados). Barra = 1 mm. (I) Detalhe das papilas cônicas (quadrado 1 da fig. H). Barra = 50  $\mu$ m. (J) Detalhe das papilas lameliformes (quadrado 2 da fig. I). Barra = 20  $\mu$ m. (K) Detalhe das papilas mamiliformes (quadrado 3 da fig. I). Barra = 20  $\mu$ m. (L) Detalhe dos tricomas papilares (quadrado 4 da fig. I). Barra = 100  $\mu$ m.

FIGURA 4 – MICROMORFOLOGIA DO LABELO DE ESPÉCIES DE *Aspidogyne* E *Microchilus* (GOODYERINAE).

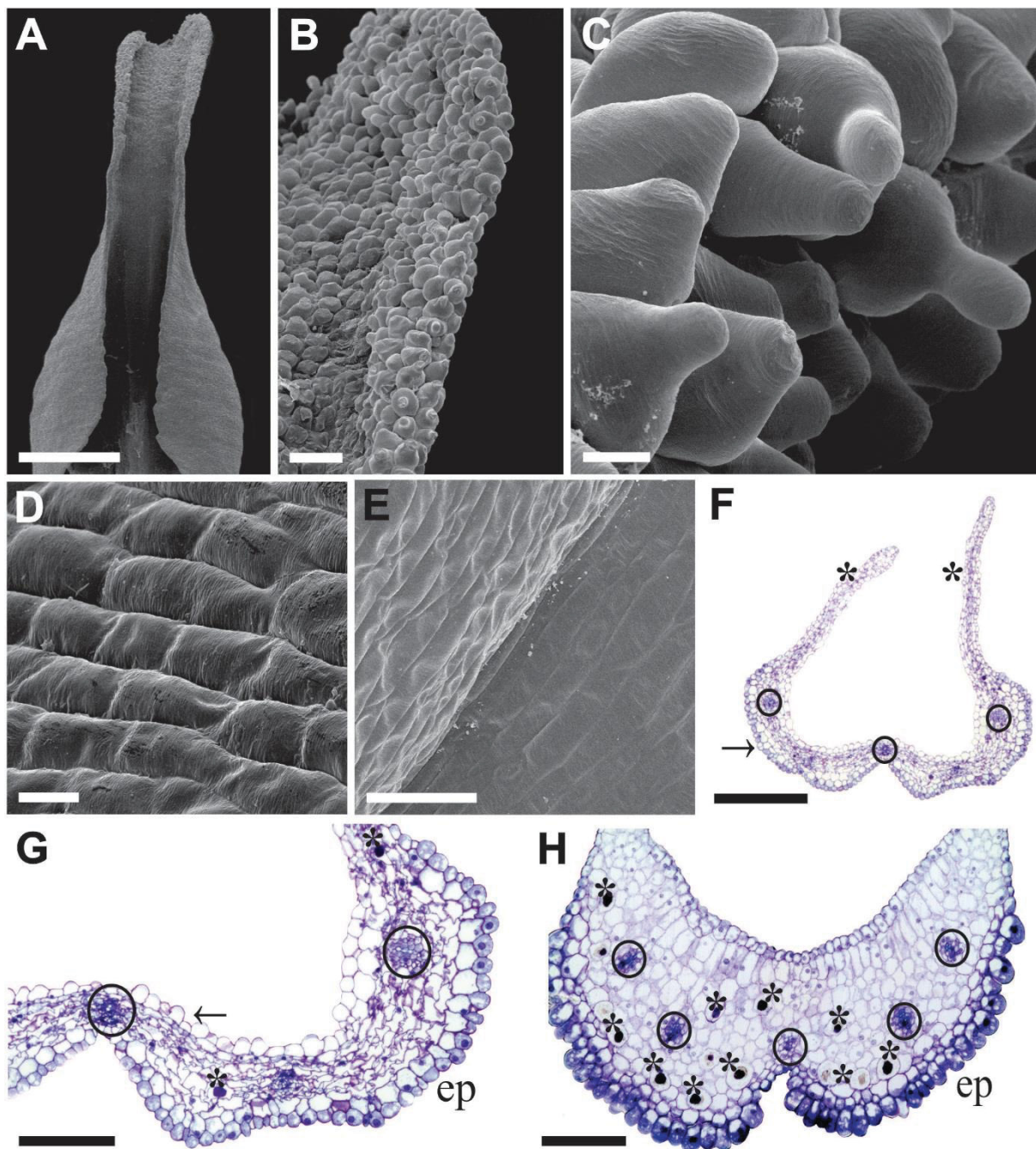


FONTE: O autor (2019).

LEGENDA: Microscopia eletrônica de varredura. (A) *Aspidogyne kuczynskii*. Labelo lobado em vista geral, face adaxial. Barra = 500  $\mu$ m. (B) *A. kuczynskii*. Tricomas papiliformes (\*) e papilas obpiriformes alongadas no ápice adaxial (seta). Barra = 100  $\mu$ m. (C) *A. longicornu*. Labelo lobado com vista da face adaxial do ápice, com papilas obpiriformes alongadas (\*), papilas cônicas na margem (seta branca), e face abaxial glabra (seta preta). Barra = 500  $\mu$ m. (D) *A. longicornu*. Detalhe das papilas obpiriformes alongadas no ápice. Barra = 20  $\mu$ m. (E) *A. longicornu*. Detalhe das papilas cônicas da margem do ápice. Barra = 50  $\mu$ m. (F) *Ludisia discolor*. Visão geral do labelo evidenciando face adaxial (\*) e face abaxial (seta). Barra = 25  $\mu$ m. (G) *L. discolor*. Detalhe das papilas obpiriformes a mamiliformes no ápice da face adaxial do labelo. Barra = 50  $\mu$ m. (H) *Microchilus arietinus*. Visão geral do labelo mostrando a face adaxial dos lóbulos (\*) e face abaxial (seta). Barra = 500  $\mu$ m. (I) *M. arietinus*. Detalhe das papilas cônicas presentes nos lóbulos apicais. Barra = 50  $\mu$ m. (J) *M. arietinus*. Detalhe das papilas mamiliformes do ápice. Barra = 20  $\mu$ m.



FIGURA 5 – MICROMORFOLOGIA E ANATOMIA DO LABELO DE ESPÉCIES DE GOODYERINAE.



FONTE: (A – G) o autor (2019); (H) Cleusa Bona.

LEGENDA: (A – E) Microscopia eletrônica de varredura; (F – H) microscopia eletrônica de luz. (A) *Microchilus austrobrasiliensis*. Visão geral mostrando ausência de lobos. Barra = 1 mm. (B) *M. austrobrasiliensis*. Detalhe do ápice com células papilosas. Barra = 100  $\mu$ m. (C) *M. austrobrasiliensis*. Detalhe das papilas cônicas a mamiliformes presentes no ápice. Barra = 20  $\mu$ m. (D) *Aspidogyne argentea*. Estriações perpendiculares na cutícula das células epidérmicas da face adaxial. Barra = 20  $\mu$ m. (E) *Ludisia discolor*. Estriações perpendiculares na cutícula das células epidérmicas da face adaxial. Barra = 100  $\mu$ m. (F) *A. commelinoides*. Corte transversal da região mediana evidenciando a face abaxial secretora (seta), feixes vasculares (círculo) e bordos afilados (\*). Barra = 500  $\mu$ m. (G) *A. commelinoides*. Corte transversal da região proximal evidenciando a face abaxial secretora (ep), face adaxial papilosa (seta), feixes vasculares (círculo) e mesofilo com células achatadas. Barra = 200  $\mu$ m. (H) *M. arietinus*. Corte transversal da região mediana evidenciando a face abaxial secretora (ep), mesofilo com células turgidas, feixes vasculares (círculos) e idioblastos com ráfides (\*). Barra = 200  $\mu$ m.

O calcar é cilíndrico-fusiforme em *Aspidogyne argentea*, *A. bidentifera*, *A. commelinoides*, *A. foliosa*, *A. juruenensis*, *A. kuczynskii*, *Microchilus arietinus* (Fig. 6A), linear com ligeira curvatura na região mediana em *A. longicornu* (Fig. 6B), ou esférico em *M. austrobrasiliensis* (Fig. 6C). A superfície externa é glabra em todas as espécies (Fig. 6A, B, C, 7) e a epiderme é simples, com células arredondadas em corte transversal e paredes delgadas (Fig. 6D, E, G). O mesofilo possui cinco a sete camadas de células parenquimáticas (Fig. 6D, G), com três a oito feixes vasculares, dependendo da espécie, com tecido floemático predominante circundado por grande quantidade de células com conteúdo celular denso (Fig. 6D, E, G) e presença de idioblastos com ráfides dispersos aleatoriamente (Fig. 6G). A epiderme interna possui papilas obpiriformes desde a entrada do calcar até a região mediana em *A. commelinoides* (Fig. 6D, F) e tricomas papiliformes em *A. argentea*, *A. bidentifera*, *A. juruenensis* (Fig. 6G, H). Em *A. kuczynskii* encontramos ambas as papilas, obpiriformes e tricomas papilares, se estendendo desde a entrada até a região mediana do calcar (Fig. 6I). A epiderme interna é desprovida de papilas e tricomas em *A. foliosa*, *A. longicornu* e em ambas as espécies de *Microchilus* (Fig. 6J). *Ludisia discolor* não apresenta calcar.

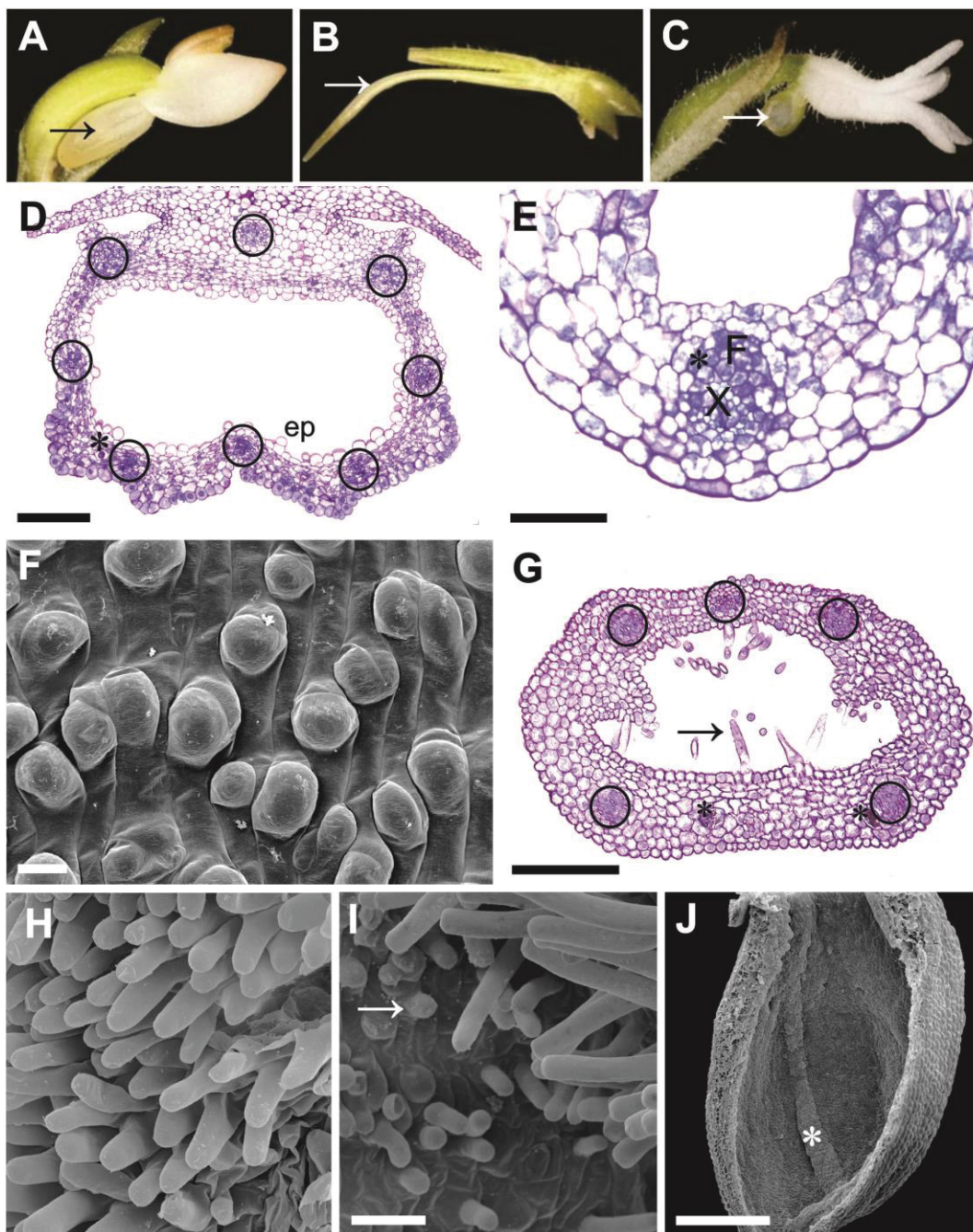
Nectários estruturados com células secretoras características foram registrados no calcar de todas as espécies. Formado por duas saliências pouco proeminentes, iniciando na região mediana e terminando na região distal em *A. argentea*, *A. foliosa* (Fig. 7A) e *A. kuczynskii* (Fig. 7B, C); duas protuberâncias salientes na região distal em *A. commelinoides* (Fig. 7D, E); quatro cordões da região mediana até a distal em *A. juruenensis* (Fig. 7F) e em *A. longicornu* (Fig. 7G); quatro cordões que se iniciam na região proximal, terminando antes da região distal em *M. arietinus* (Fig. 7H, I); e quatro cordões proeminentes que se iniciam na região proximal acompanhando a curvatura na região distal em *M. austrobrasiliensis* (Fig. 6J, 7J).

A epiderme dos nectários apresenta cutícula ininterrupta em estágio de pré-antese, onde não foram visualizados poros ou fissuras (Fig. 8A, B). A secreção acumula-se entre a cutícula e a parede periclinal externa das células epidérmicas, causando um descolamento da cutícula (Fig. 8A, B). Tanto as células epidérmicas quanto as subepidérmicas possuem citoplasma denso, com núcleo grande e central, numerosos vacúolos pequenos, muitas vesículas nas membranas junto às paredes periclinais externas e anticlinalis, retículo endoplasmático rugoso em abundância, mitocôndrias, dictiossomos, vesículas com conteúdo hialino e amiloplastos (Fig. 8B). Numerosos plasmodesmas estão presentes nas paredes das células adjacentes. Na flor em antese, os plastídios com amido são pouco visíveis ou estão ausentes (Fig. 8C) e a secreção ainda pode ser visualizada entre a cutícula e a parede. Na

cutícula nota-se também a presença de estrias eletrondensas perpendiculares a superfície (canais de secreção) (Fig. 8D) e secreção no lume do calcar externamente a cutícula (Fig. 8D).



FIGURA 6 – FLOR, ANATOMIA E MICROMORFOLOGIA DO CALCAR DE ESPÉCIES DE *Aspidogyne* E *Microchilus* (GOODYERINAE).

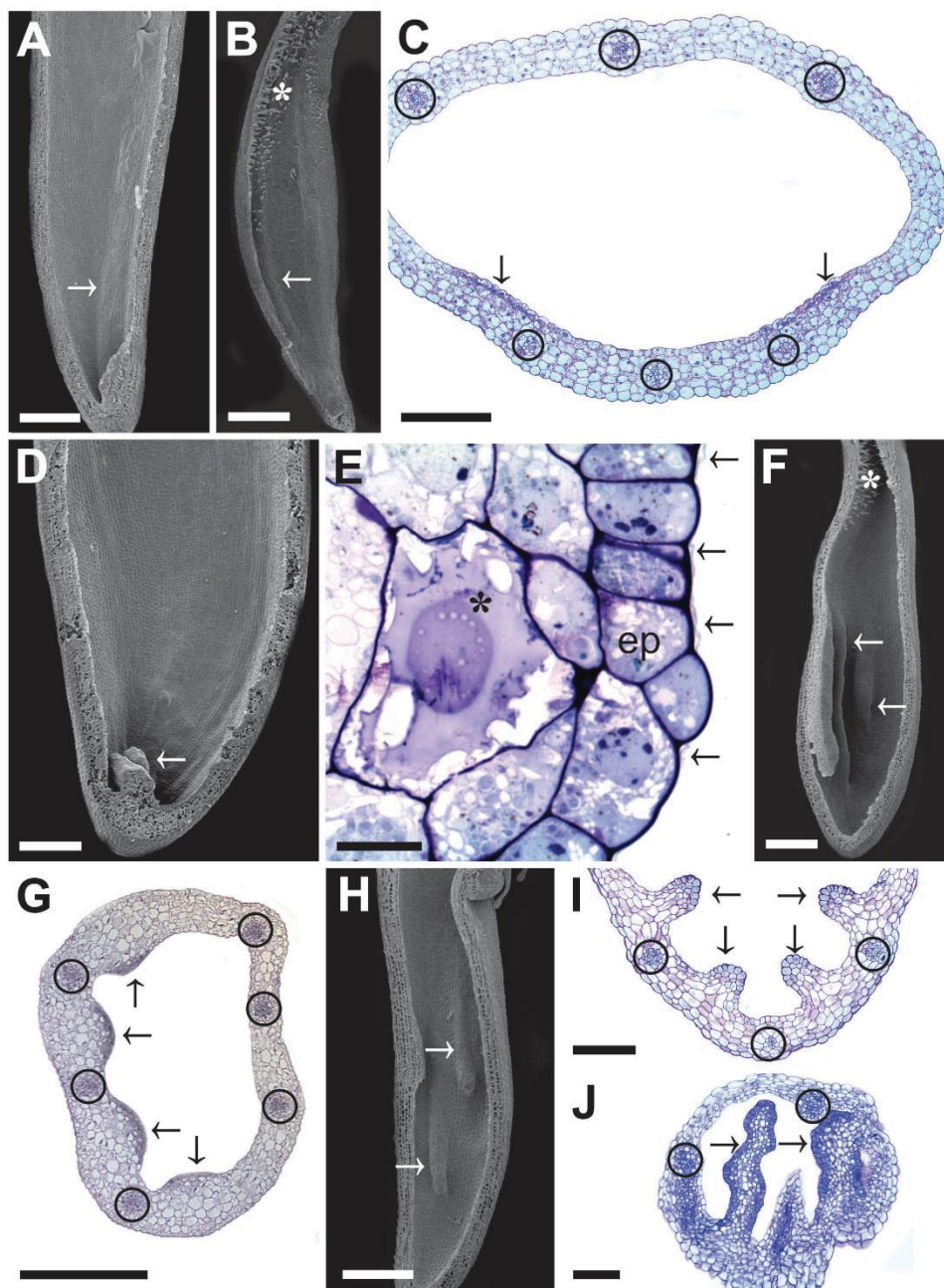


FONTE: (A – C) Eric de Camargo Smidt; (D, E, F, I, J) o autor (2019); (G, H) Cleusa Bona.

LEGENDA: (A – C) Flores; (D, E e G) microscopia de luz; (F, H – J) microscopia eletrônica de varredura. (A) *Aspidogyne bidentifera*. Calcar cilíndrico-fusiforme (seta). (B) *A. longicornu*. Calcar linear apresentando ligeira curvatura na região mediana (seta). (C) *Microchilus austrobrasiliensis*. Calcar esférico (seta). (D) *A. commelinoides*. Corte transversal na entrada do calcar evidenciando papilas na epiderme da região interna (ep), presença de feixes vasculares no mesofilo (círculos) e idioblastos com ráfides (seta). Barra = 50 µm. (E) *A. commelinoides*. Feixe vascular evidenciando xilema (X), floema (F) e células com características secretoras ao lado do feixe vascular (\*). Barra = 100 µm. (F) *A. commelinoides*. Papilas obpiriformes na epiderme interna da entrada do calcar. Barra = 200 µm. (G) *A. juruenensis*. Corte transversal na entrada do calcar evidenciando tricomas papiliformes (seta), feixes vasculares (círculo) e idioblastos com ráfides (\*). Barra = 200 µm. (H) *A. juruenensis*. Tricomas papiliformes na epiderme interna na entrada do calcar. Barra = 50 µm. (I) *A. kuczynskii*. Face adaxial com papilas obpiriformes (seta) e tricomas papiliformes. Barra = 50 µm. (J) *M. austrobrasiliensis*. Face adaxial glabra com nectário saliente (\*). Barra = 500 µm.



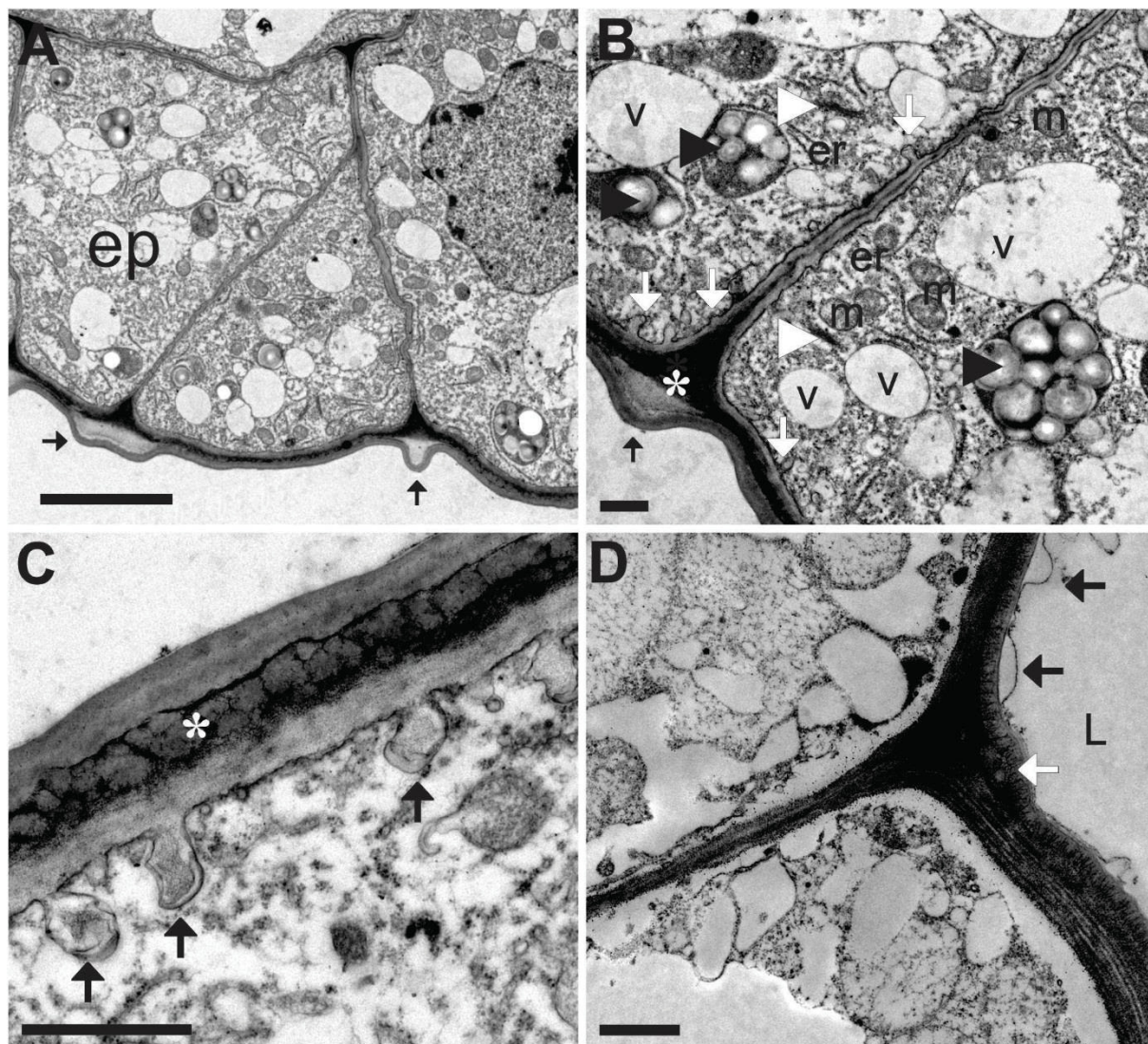
FIGURA 7 – MICROMORFOLOGIA E ANATOMIA DO CALCAR DE ESPÉCIES DE *Aspidogyne* E *Microchilus* (GOODYERINAE).



FONTE: (A, B, D, E, F, H) o autor (2019); (C, G, I, J) Cleusa Bona.

LEGENDA: (A, B, D, F, H) microscopia eletrônica de varredura; (C, E, G, I, J) microscopia de luz. (A) *Aspidogyne foliosa*. Corte longitudinal do calcar evidenciando o nectário com duas saliências pouco proeminentes (seta). Barra = 500  $\mu$ m. (B) *A. kuczynskii*. Corte longitudinal mostrando o nectário pouco proeminente (seta) e tricomas papiliformes na entrada do calcar (\*). Barra = 500  $\mu$ m. (C) *A. kuczynskii*. Corte transversal da região mediana do calcar mostrando feixes vasculares (círculo) e evidenciando os nectários (seta) pouco proeminentes. Barra = 200  $\mu$ m. (D) *A. commelinoides*. Região distal do calcar com nectários proeminentes (seta). Barra = 500  $\mu$ m. (E) *A. commelinoides*. Corte transversal do nectário evidenciando epiderme secretora (ep) com a cutícula descolada (seta) e idioblasto com ráfide (\*). Barra = 20  $\mu$ m. (F) *A. juruenensis*. Corte longitudinal evidenciando três nectários alongados (seta). Barra = 500  $\mu$ m. (G) *A. longicornu*. Corte transversal evidenciando quatro nectários proeminentes na porção mediana do calcar (seta) e feixes vasculares (círculo). Barra = 500  $\mu$ m. (H) *Microchilus arietinus*. Secção longitudinal evidenciando nectários proeminentes na região mediana (setas). Barra = 500  $\mu$ m. (I) *M. arietinus*. Corte transversal mostrando detalhes dos nectários (setas) na região mediana e feixes vasculares (círculos). Barra = 200  $\mu$ m. (J) *M. austrobrasiliensis*. Corte transversal na região distal do calcar mostrando os nectários proeminentes (seta) e feixes vasculares (círculo). Barra = 200  $\mu$ m.

FIGURA 8 – ULTRAESTRUTURA DO NECTÁRIO DE ESPÉCIES DE GOODYERINAE.



FONTE: O autor (2019).

LEGENDA: Microscopia eletrônica de transmissão. **(A)** *Aspidoogyne longicornu*. Corte transversal do calcar da flor em pré-antese evidenciando epiderme secretora (ep) com cutícula descolada da parede celular (seta). Barra = 5  $\mu$ m. **(B)** *A. longicornu*. Corte transversal do calcar da flor em pré-antese mostrando a secreção (\*) depositada internamente a cutícula (seta), vesículas (seta branca) aderidas ao plasmalema, dictiosomos (cabeça de seta branca), mitocôndrias (m), plastídios com grãos de amido (cabeça de seta preta), vacúolos (v), retículo endoplasmático (er). Barra = 1  $\mu$ m. **(C)** *A. longicornu*. Corte transversal do calcar da flor em antese mostrando detalhe das vesículas (seta preta) sendo liberadas pelo plasmalema e secreção (\*) acumulada internamente a cutícula. Barra = 1  $\mu$ m. **(D)** *Microchilus arietinus*. Corte transversal do calcar da flor em antese mostrando a cutícula com poros (seta branca) e secreção (seta preta) no interior do calcar (L). Barra = 1  $\mu$ m.

TABELA 2 – RESULTADOS DA MICROMORFOLOGIA E ANATOMIA DE ESPÉCIES DE GOODYERINAE.

<b>Estrutura</b>	<b>Características</b>	<i>A. arg.</i>	<i>A. bid.</i>	<i>A. com.</i>	<i>A. fol.</i>	<i>A. jur.</i>	<i>A. kuc.</i>	<i>A. lon.</i>	<i>L. dis.</i>	<i>M. ari.</i>	<i>M. aus.</i>	
<b>Ovário</b>	Tricomas tectores	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	
	Tricomas glandulares	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
<b>Sépala dorsal</b>	Tricomas glandulares (abaxial)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
	Papilas (adaxial)	+	+	+	+	+	+	-	+	?	-	
<b>Sépala lateral</b>	Tricomas glandulares (abaxial)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	
	Papilas obpiriformes (adaxial)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
	Epiderme secretora (abaxial)	-	+	-	?	-	-	-	?	-	-	
	Inteiro	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	
<b>Labelo</b>	Lobado	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	
	Papilas (adaxial)	+	?	+	+	-	+	+	+	-	+	
	Obpiriforme	Cônica	-	?	-	-	+	+	+	-	+	-
		Mamiliforme	-	?	-	-	+	-	-	-	+	+
		Tricoma papilar	-	?	-	-	+	+	-	-	-	-
		Lameliforme	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	Localização das papilas	Proximal	+	?	+	-	+	+	-	-	-	-
		Meio	-	?	+	-	+	-	-	-	-	-
		Distal	-	?	+	+	+	-	+	+	+	+
		Margens	-	?	-	-	-	+	+	-	+	+
Estriação da cutícula das papilas	Perpendicular	+	?	-	-	-	+	-	+	-	-	
	Circular	-	?	+	-	-	-	-	-	-	+	
	Paralela	-	?	-	-	-	-	-	-	+	-	
	Epiderme externa secretora	-	-	+	?	-	-	-	?	+	-	
<b>Calcar</b>	Cilíndrico fusiforme	+	+	+	+	+	+	-	*	+	-	
	Linear	-	-	-	-	-	-	+	*	-	-	
	Saculiforme	-	-	-	-	-	-	-	*	-	+	
	Nº de nectários	2	?	2	2	4	2	4	-	4	4	
	Forma do nectário	Proeminente	-	?	+	-	+	-	+	*	+	+
		Não proeminente	+	?	-	+	-	+	-	*	-	-
	Papila (adaxial)	Obpiriforme	-	-	+	?	-	+	-	*	-	-
		Tricoma papilar	+	+	+	?	+	+	-	*	-	-
		Proximal	+	+	+	?	+	+	-	*	-	-
	Localização das papilas	Meio	-	-	-	?	-	+	-	*	-	-

FONTE: O autor (2019).

LEGENDA: *A. arg.*: *Aspidogyne argentea*; *A. bid.*: *A. bidentifera*; *A. com.*: *A. commelinoides*; *A. fol.*: *A. foliosa*; *A. jur.*: *A. juruenensis*; *A. kuc.*: *A. kuczynskii*; *A. lon.*: *A. longicornu*; *L. dis.*: *Ludisia discolor*; *M. ari.*: *Microchilus arietinus*; *M. aus.*: *M. austrobrasiliensis*. (+) presente; (-) ausente; (?) não foi visualizado; (\*) não possui a estrutura.



## 5 DISCUSSÃO

Os dados micromorfológicos e anatômicos florais aqui descritos, como os tipos celulares que compõem a epiderme das sépalas, pétalas e labelo, e a presença de nectários na base do labelo encontram-se relacionados aos mecanismos de polinização, uma vez que o processo evolutivo nas flores das orquídeas aparentemente pode ser conduzido pela pressão exercida pelos polinizadores (JOHNSON E STEINER, 1997; COZZOLINO *et al.*, 2001).

Entre as espécies estudadas apenas *Aspidogyne bidentifera* e *Ludisia discolor* apresentam sépalas glabras e *A. bidentifera* é a única que não possui tricomas no ovário. Nas demais espécies são predominantes os tricomas glandulares, com extremidade secretora composta geralmente de duas a cinco células, no entanto tricomas tectores também foram registrados. *L. discolor* é a única espécie que possui somente tricomas tectores no ovário, diferindo de *A. kuczynskii*, *Microchilus arietinus* e *M. austrobrasiliensis* com ambos os tipos de tricomas e as demais espécies de *Aspidogyne* somente com tricomas glandulares.

O ovário possui uma ressupinação de 180°, que ocorre nas flores de Cranichidinae e é o caráter principal para separar essa subtribo das demais que compõem a tribo Cranichideae (SALAZAR *et al.*, 2009). Segundo os resultados moleculares de Álvarez-Molina, Cameron (2009), as flores não ressupinadas evoluíram mais de uma vez a partir da condição ancestral ressupinada, sendo encontradas em *Prescottia* e nas demais Cranichidinae. Para Spiranthinae, a ressupinação floral é interpretada como uma reversão ao caráter ancestral (DRESSLER, 1993; ÁLVAREZ-MOLINA E CAMERON, 2009).

As papilas são estruturas muito comuns nas peças florais, encontradas no tecido epidérmico das diferentes peças (sépalas, pétalas ou labelo) e são especialmente variáveis em estrutura e distribuição no labelo das Orchidaceae (DAVIES *et al.*, 2003; DAVIES E STPICZYNSKA, 2008, 2009, 2014). Nas Goodyerinae aqui analisadas estão presentes também na face adaxial das sépalas dorsais de todas as espécies (exceção *Aspidogyne longicornu* e *Microchilus austrobrasiliensis*; *M. arietinus* – sem informação) e mais raramente nas sépalas laterais (*M. austrobrasiliensis* e *M. arietinus*). As papilas podem ajudar na atração de polinizadores, pois concentram os raios luminosos ampliando o contraste de cores e conferindo à superfície um aspecto cintilante (KAY *et al.*, 1981). Como estas células agem como lentes, focando a luz e aumentando o contraste, causam um efeito visual de uma textura mais brilhante ou aveludada na superfície (VOGELMANN, 1996). Algumas papilas são tecidos secretórios como osmóforos e elaióforos, que secretam substâncias odoríferas as quais atuam na atração de polinizadores e visitantes florais, como no caso de

*Grobya amherstiae* Lindl. (Catasetinae, Orchidaceae), que possui osmóforos na forma de papilas na face abaxial do labelo (PANSARIN *et al.*, 2009). Nas Goodyerinae aqui analisadas as papilas não possuem aparência secretora, no entanto foi observado epiderme abaxial com aparência secretora nas sépalas de *A. bidentifera* e no labelo de *A. commelinoides* e ambas *Microchilus*, sendo possível sugerir que essas células também sejam osmóforos.

A ornamentação das paredes externas dos apêndices epidérmicos (tricomas e papilas) presentes na epiderme das peças florais está geneticamente determinada (BAUMANN *et al.*, 2007; DI STILIO *et al.*, 2009). A superfície das papilas e células epidérmicas possui estrias que são resultantes do processo de deposição de cutícula e das pressões de crescimento geradas pela parede celular (KOUROUNIOTI *et al.*, 2013). Essas ornamentações estriadas fornecem grande apoio para os tarsos de insetos polinizadores, facilitando o pouso na superfície da flor, pois essas microestruturas podem ser consideradas como antiderrapantes (KEVAN E LANE, 1985; WHITNEY *et al.*, 2009a; COSTA *et al.*, 2017). Foi observado que algumas abelhas são visitantes mais constantes às flores com células cônicas do que as pétalas de flor de variedades que não as possuem, podendo indicar uma maior facilidade de pouso quando há as estrias (CHRISTENSEN E HANSEN, 1998; ALCORN *et al.*, 2012). Essas características das papilas foram identificadas em seis das espécies estudadas, (*Aspidogyne argentea*, *A. commelinoides*, *A. kuczynskii*, *Ludisia discolor*, *Microchilus arietinus* e *M. austrobrasiliensis*) podendo ser utilizado como carácter taxonômico ou associado ao tipo de polinizador.

No labelo as papilas mais comuns são do tipo obpiriforme, só ausentes em *Aspidogyne juruenensis* e *Microchilus arietinus* e as cônicas estão presentes em 50% das espécies analisadas (ver tabela 2). Papilas mamiliformes foram registradas somente em *A. juruenensis*, *M. arietinus* e *M. austrobrasiliensis*. A espécie com maior variação na morfologia das papilas foi *A. juruenensis* com quatro tipos e a única com papilas lamelares. As espécies *A. argentea*, *A. commelinoides*, *A. foliosa* e *L. discolor* são as que apresentam o labelo mais homogêneo em ornamentação, apresentando somente papilas obpiriformes. As papilas comumente estão relacionadas como osmóforos (KOWALKOWSKA *et al.*, 2014), no entanto não foi possível afirmar a função das papilas devido a ausência de testes histoquímicos.

Idioblastos contendo ráfides são abundantes em todas as peças florais das espécies analisadas. Davies (1999) relatou a presença de idioblastos com ráfides em folhas, e Davies *et al.* (2000) descreveram idioblastos em tecidos florais de *Maxillaria* Ruiz & Pav. e sugeriram que estes cristais podem ser simplesmente produtos excretórios e talvez desencorajar a



herbivoria. No entanto, alguns autores acreditam que os cristais associados à morfologia externa das flores, podem ter uma função de coleta e reflexão de luz (FRANCESCHI E HORNER, 1980; FRANCESCHI, 2001; NUNES *et al.*, 2015). Drusas de um tipo especial, identificadas em espécies do gênero *Anacheilium* Rchb. ex Hoffmanns. (Orchidaceae), são fluorescentes quando submetidas à luz ultravioleta e provavelmente colaboram para tornar a flor muito mais visível aos insetos polinizadores, os quais enxergam no espectro do ultravioleta (PABST *et al.*, 1980), sendo razoável sugerir que essas células talvez estejam envolvidas na atração de polinizadores. Nas Goodyerinae foi possível observar idioblastos em todas as peças florais, mas com maior prevalência no labelo e no calcar, sendo possível sugerir que a presença notável no labelo pode estar relacionada com a atração aos polinizadores, enquanto que no calcar, seria mais plausível significar defesa contra insetos herbívoros. Sabe-se que muitas características da flor da orquídea são importantes para atrair a atenção de potenciais visitantes florais e polinizadores e estão diretamente envolvidas no processo de polinização: a forma, a cor, o tamanho e a quantidade de flores disponíveis.

O calcar é predominantemente cilíndrico fusiforme (*Aaspidogyne argentea*, *A. bidentifera*, *A. commelinoides*, *A. foliosa*, *A. juruenensis*, *A. kuczynskii* e *Microchilus arietinus*) diferindo em *A. longicornu* e *M. austrobrasiliensis*, que são linear e saculiforme, respectivamente. A morfologia do calcar é considerada taxonomicamente importante (KOCYAN *et al.*, 2008) e por ser uma estrutura secretora de néctar, com importante recompensa para os insetos, demonstrou-se que a variação no tipo do calcar é intimamente relacionado com a adaptação a diferentes espécies de polinizadores (HODGES, 1997; BELL *et al.*, 2009; KRAMER E HODGES, 2010). Espécies de Aeridinae (Orchidaceae) de calcar curto são principalmente polinizadas por abelhas e besouros, enquanto aquelas com calcar longo são geralmente polinizadas por mariposas (TOPIK *et al.*, 2005). *A. longicornu* produz vários microlitros de néctar e é polinizada por machos e fêmeas de *Euglossa chalybeata* Dressler e *Euglossa ignita* Smith interpretação para o fracasso na polinização por parte dos demais visitantes florais se baseia na diferença entre a morfologia do polinário e do labro desses insetos. Em outras palavras, as abelhas com probóscide mais longa que o nectário fracassarão como polinizadores, passando a ser consideradas abelhas pilhadoras, uma vez que somente saquearão o néctar sem realizar a polinização, já que seus labros podem não entrar em contato com o polinário (SINGER E SAZIMA, 2001).

A epiderme interna do calcar apresentou-se glabra (*Aspidoyne longicornu*, *Microchilus arietinus* e *M. austrobrasiliensis*), com papilas (*A. commelinoides*, *A. kuczynskii*) ou com tricomas papilares nas demais espécies. Essas papilas e os tricomas são unicelulares e

possuem formato cônico ou obpiriforme como em muitas outras Orchidaceae (STPICZYNSKA, 1997; STPICZYNSKA *et al.*, 2003; STPICZYNSKA E MATUSIEWICZ, 2001; DAVIES E STPICZYNSKA, 2008a; BELL *et al.*, 2009). Os tricomas e papilas estão localizados principalmente na entrada do calcar sem relação com os nectários, que se desenvolvem mais internamente. A localização desses difere da registrada em espécies de *Ascocentrum* Schltr. e *Papilionanthe* Schltr. (STPICZYNSKA *et al.*, 2011), com provável função de secreção e reabsorção do néctar (STPICZYNSKA *et al.*, 2003; DAVIES E STPICZYNSKA, 2008b).

Enquanto Stpiczynska *et al.* (2011) verificaram uma associação dos apêndices epidérmicos com os feixes vasculares, em Goodyerinae isso não ocorre, além de não apresentarem estrutura típica de célula secretora. Nas espécies de Goodyerinae aqui analisadas descartamos a hipótese de que os tricomas e papilas participem de secreção ou reabsorção de néctar, pois não há uma relação com os nectários, estão localizados em um ponto distante dos nectários. Por isso acreditamos que tenham uma função tátil, para a percepção do polinizador e também para proteção da entrada do calcar contra a possível invasão de outros insetos.

O interior do calcar de todas as espécies estudadas apresentou estruturas secretoras organizadas de forma particular (exceção de *Ludisia discolor* que não possui calcar), com variações morfológicas notáveis entre as espécies. As duas espécies de *Microchilus* apresentaram quatro cordões proeminentes, enquanto as espécies de *Aspidogyne* possuem dois a quatro cordões proeminentes ou não proeminentes como em *A. kuczynskii* e *A. longicornu*. Essas estruturas secretoras podem ser consideradas nectários, o que pode ser confirmado pela ultraestrutura das células epidérmicas secretoras, tecido subepidérmico secretor e associação dos cordões secretores aos feixes vasculares com floema bem desenvolvido. Isso está em conformidade com estudos anteriores que mostram uma relação entre a presença de feixes vasculares e a produção de néctar (STPICZYNSKA *et al.*, 2003). Outra característica desses tecidos que possibilitam que sejam definidos como nectários, é que durante o estágio de antese, onde o processo de secreção é mais intenso, foi possível observar no interior da célula epidérmica e subepidérmica uma grande quantidade de vesículas e organelas relacionadas a atividade metabólica intensa (mitocôndrias, retículo endoplasmático e dictiossomos) além da abundância de amiloplastídios, sendo esses últimos fonte de energia para processos altamente metabólicos e de açúcares para a síntese de néctar (DURKEE *et al.*, 1981; SAWIDIS *et al.*, 1989; NEPI *et al.*, 1996; SAWIDIS, 1998). Na fase pós-antese podemos registrar diminuição no tamanho dos grãos de amido, sendo pouco visíveis. Esta alteração pode ser associada ao

consumo do amido para produção do néctar (DURKEE *et al.*, 1981; SAWIDIS *et al.*, 1989; NEPI *et al.*, 1996; SAWIDIS, 1998).

A distensão da cutícula durante a secreção do néctar é evidente, já na pré-antese, e também foi observada em certas Maxillariinae e Laeliinae (DAVIES *et al.*, 2003; DAVIES E STPICZYNSKA, 2007, 2008a; STPICZYNSKA *et al.*, 2003, 2009). Pelas estruturas observadas na pré e pós-antese podemos interpretar que o néctar secretado é liberado por um processo de secreção granulócrica (DAVIES E STPICZYNSKA, 2008A; STPICZYNSKA *et al.*, 2003, 2009), onde o néctar fica inicialmente armazenado entre a parede periclinal externa da célula epidérmica e a cutícula, distendida, e posteriormente atravessa a cutícula por meio de poros e é liberada no interior da cavidade do calcar. Com isso, evidenciamos que a cutícula que recobre a região do nectário pode ser total ou parcialmente permeável, como registrado em papilas dos nectários de *Gymnadenia* R.Br. (STPICZYNSKA E MATUSIEWICZ, 2001) e *Rosmarinus* L. (BOTTEGA E CORSI, 2000). Nessa etapa também foi observada uma diminuição de organelas celulares no interior da célula epidérmica.

As células do parênquima associado ao nectário e que perfazem os feixes vasculares possuem numerosas mitocôndrias, retículo endoplasmático liso e rugoso, dictiossomos, numerosos amiloplastos e pequenas vesículas, condizente com a secreção granulócrica, bem como grande quantidade de plasmodesmos (DAVIES E STPICZYNSKA, 2008a; STPICZYNSKA *et al.*, 2003, 2009). A presença dos plasmodesmos como indício do movimento do pré-néctar pelo apoplasto ou simplasto no interior do tecido secretor e a posterior eliminação pelo plasmalema foi proposta por vários pesquisadores (GUNNING E HUGHES, 1976; SAWIDIS *et al.*, 1987, 1989; ROBARDS E STARK, 1988; SAWIDIS, 1991, 1998; ZELLNIG *et al.*, 1991).

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados da análise micromorfológica e anatômica das dez espécies de Goodyerinae revelaram uma estrutura micromorfológica da flor diversa entre as espécies e que pode ser considerado de valor ecológico, analisando a relação entre esses atributos da flor com os polinizadores. O calcar das espécies analisadas é uma estrutura nectarífera, contendo em seu interior de dois a quatro nectários com localização distinta no formato de cordões proeminentes na maioria das espécies, em algumas os nectário é somente um tecido secretor, sem ser proeminente à epiderme. A secreção de néctar é granulócrina e é produzida no parênquima e epiderme dos nectários e liberada no lúmen do calcar. Os dados aqui relatados têm grande importância para o conhecimento de ecologia do grupo, podendo ser uma forte base para futuros estudos de estratégias de polinização.

## REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, J. D. Reproductive biology of *Goodyera oblongifolia* (Orchidaceae). **Mandroño**, v. 23, p. 191-198, 1975.
- ALCORN, K.; WHITNEY, H.; GLOVER, B. Flower movement increases pollinator preference for flowers with better grip. **Functional Ecology**, v. 26, p. 941-947, 2012.
- ANDREOTA, R. C.; BARROS, F.; SAJO, M. G. Root and leaf anatomy of some terrestrial representatives of the Cranichideae tribe (Orchidaceae). **Braz. J. Bot.**, v. 38, n. 2, p. 367-378, 2015.
- ARGIROPOULOS, A.; RHIZOPOULOU, S. Micromorphology of the petals of the invasive weed, *Oxalis pes-caprae*. **Weed Biology and Management**, v. 12, p. 47-52, 2012.
- BARROS, F.; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A.; FRAGA, C. N.; PESSOA, E. M.; FORSTER, W.; MENINI NETO L.; FURTADO S. G.; NARDY C.; AZEVEDO C. O.; GUIMARÃES L. R. S. Orchidaceae in: Lista de Espécies da Flora do Brasil. 2015 Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10986>. Acesso em 04/04/2017.
- BAUMANN, K.; PEREZ-RODRIGUEZ, M.; BRADLEY, D.; VENAIL, J.; BAILEY, P.; JIN, H.; KOES, R.; ROBERTS, K.; MARTIN C. Control of cell and petal morphogenesis by R2R3 MYB transcription factors. **Development**, v. 134, p. 1691-1701, 2007.
- BELL, A. K.; ROBERTS, D. L.; HAWKINS, J. A.; RUDALL, P.J.; BOX, M. S.; BATEMAN, R. Comparative micromorphology of nectariferous and nectarless labellar spurs in selected clades of subtribe Orchidinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 160: p. 369–387, 2009.
- BERNADELLO, G. A systematic survey of floral nectaries. In S. W. NICOLSON, M. NEPI, AND E. PACINI. **Nectaries and Nectar**. Springer, Amsterdam, The Netherlands, p.19-128, 2007.
- BERNAL, A. A.; SMIDT, E. C.; BONA, C. Spiral root hairs in Spiranthinae (Cranichideae: Orchidaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v38, n. 2, p. 411-416, 2015.
- BFG (The Brazil Flora Group). Growing knowledge: an overview of Seed plants diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085–1113, 2015.
- BOTTEGA, S.; CORSI, G. Structure, secretion and possible functions of calyx glandular hairs of *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae). **Botanical Journal of Linnean Society** v. 132: p. 325-335, 2000.
- BOX, M. S.; BATEMAN, R. M.; GLOVER, B. J.; RUDALL, P. J. Floral ontogenetic evidence of repeated speciation via paedomorphosis in subtribe Orchidinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 157, p. 429-454, 2008.
- BULLOCK, J. M. R.; FEDERLE, W. The effect of surface roughness on claw and adhesive hair performance in the dock beetle *Gastrophysa viridula*. **Insect Science**, v. 18, p. 298-304, 2010.

CARLQUIST, S. Toward acceptable evolutionary interpretations of floral anatomy. **Phytomorphology**, 19, p. 335-362, 1969.

CHASE, M. W. Classification of Orchidaceae in the age of DNA data. **Curti's Botanical Magazine**, v. 22, n. 1, p. 2-7, 2005.

CHASE, M. W.; FREUDENSTEIN, J. V.; CAMERON, K. M.; BARRETT, R. L. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. *In*: Dixon K, Kell SP, Barrett RL, Cribb PJ. (Ed.). **Orchid conservation**. Kota Kinabalu: Natural History Publications, p. 69-89, 2003.

CHASE, M. W.; CAMERON, K. M.; FREUDENSTEIN, J. V.; PRIDGEON, A. M.; SALAZAR, G.; VAN DEN BERG, C.; SCHUITEMAN, A. An updated classification of Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.177, p. 151–174, 2015.

CHRISTENSEN, K. I.; HANSEN, H. V. SEM-studies of epidermal patterns of petals in the angiosperms. **Opera Botanica**, v. 135, p. 5-87, 1998.

COSTA, V. B. S.; PIMENTEL, R. M. M.; CHAGAS, M. G. S. ALVES, G. D.; CASTRO, C. C. Petal micromorphology and its relationship to pollination. **Plant Biology**, v. 19, p. 115-122, 2017.

COZZOLINO, S.; ACETO, S.; CAPUTO, P.; WIDMER, A.; DAFNI, A. Speciation processes in Eastern Mediterranean *Orchis* s.l. species: Molecular evidence and the role of pollination biology. **Israel Journal of Plant Sciences**, v. 49, p. 91-103, 2001.

DAI, Z.; GORB, S. N.; SCHWARZ, U. Roughness-dependent friction force of the tarsal claw system in the beetle *Pachnoda marginata* (Coleoptera, Scarabaeidae). **Journal of Experimental Biology**, v. 205, p. 2479-2488, 2002.

DAVIES, K. L. A preliminary survey of foliar anatomy in *Maxillaria*. **Lindleyana**, v. 14: p. 126-135, 1999.

DAVIES, K. L.; STPICZYNSKA, M. Labellar micromorphology of Bifrenariinae Dressler (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 98, p. 1215–1231, 2006.

DAVIES, K. L.; STPICZYNSKA, M. Micromorphology of the labellum and floral spur of *Cryptocentrum* Benth. and *Sepalosaccus* Schltr. (Maxillariinae: Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 100: p. 797–805, 2007.

DAVIES, K.L.; STPICZYNSKA, M. The anatomical basis of floral, food-reward production in Orchidaceae. *In*: Texeira da Silva JA. ed. Floriculture, ornamental and plant biotechnology. London: **Global Science Books**, p. 392–407, 2008a.

DAVIES, K. L.; STPICZYNSKA, M. Labellar micromorphology of two Euglossine-pollinated Orchid Genera; *Scuticaria* Lindl. and *Dichaea* Lindl. **Annals of Botany**, v. 102, p. 805–824, 2008b.

DAVIES, K. L.; STPICZYNSKA, M. Comparative histology of floral elaiophores in the orchids *Rudolfiella picta* (Schltr.) Hoene (Maxillariinae *sensu lato*) and *Oncidium ornithirhynchum* H.B.K. (Oncidiinae *sensu lato*). **Annals of Botany**, v. 104, p. 221-234, 2009.



- DAVIES, K. L.; STPICZYNSKA, M. Structure and distribution of floral trichomes in *Lycaste* and *Sudamerlycaste* (Orchidaceae: Maxillariinae s.l.). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 164, p. 409-421, 2010.
- DAVIES, K. L.; STPICZYNSKA, M. Labellar anatomy and secretion in *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae: Bulbophyllinae) sect. *Racemosae* Benth. & Hook. f. **Annals of Botany**, v. 114, n. 5, p.889-911, 2014.
- DAVIES, K. L.; TURNER, M. P. Morphology of floral papillae in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 93, p. 75-86, 2004.
- DAVIES, K. L.; TURNER, M. P.; GREGG, A. Lipoidal labellar secretions in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 91, p. 439-446, 2003
- DI STILIO, V. S.; MARTIN, C.; SCHULFER, A. F.; CONNELLY, C. F. An ortholog of MIXTA-like2 controls epidermal cell shape in flowers of *Thalictrum*. **New Phytologist**, v. 183, p. 718-728, 2009.
- DRESSLER, R. **Phylogeny and classifications of the orchid family**. Portland: Dioscorides press. 1993.
- DRESSLER, R. L.; CHASE, M. W. Whence the orchids? *In*: RUDALL, P.; CRIBB, P.; CUTLER, D.; HUMPHRIES, C. (eds.), *Monocotyledons: systematics and evolution*. **Royal Botanic Gardens**, Kew: p. 217-226, 1995.
- DUGARTE-CORREDOR, B. A.; ARIAS, R. B. Morfoanatomía en Cranichideae (Orchidaceae) de la Estación Loma Redonda del Parque Nacional “Sierra Neva da”, Mérida, Venezuela. **Lankesteriana**, v, 12, p. 61-75, 2012.
- DURKEE, L. T.; GALL, D. J.; REISNER, W. H. The floral and extra-floral nectaries of *Passiflora*. I. The floral nectary. **American Journal of Botany**, v. 68: p. 453-462, 1981.
- ENGELS, M. E.; BARROS, F.; SMIDT, E. C. A subtribo Goodyerinae (Orchidaceae: Orchidoideae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, p. 917-952, 2016.
- FIGUEIREDO, A. C. S.; PAIS, M. S. Ultrastructural aspects of nectary spur of *Limodorum abortivum* (L) Sw. (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 70, p. 325-331, 1992.
- FIGUEROA, C.; SALAZAR, G. A.; ZAVALETA, H. A.; ENGLEMAN, E. M. Root Character Evolution and Systematics in Cranichidinae, Prescottiinae and Spiranthinae (Orchidaceae, Cranichideae). **Annals of Botany**, v. 101, p. 509-520, 2008.
- FRANCESCHI, V. R. Calcium oxalate in plants. **Trends in Plant Science**, v. 6: p. 331–331, 2001.
- FRANCESCHI, V. R.,; HORNER, H. T. JR. Calcium oxalate crystals in plants. **Botanical Review**, v. 46: p. 361–427, 1980.
- GAUME, L.; PERRET, P.; GORB, E.; GORB, S.; LABAT, J-J.; ROWE, N. How do plant waxes cause flies to slide? Experimental tests of waxbased trapping mechanisms in three pitfall carnivorous plants. **Arthropod Structure & Development**, v. 33, p. 103-111, 2004.
- GARAY, L. A. Systematics of the Physurinae (Orchidaceae) in the New Words. **Bradea**, v. 2, n. 28, p. 191-204, 1977.

GOVAERTS, R. World checklist of Orchidaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. 2014. Disponível em <http://www.kew.org/wcsp/monocots> . Acesso em 08 de abril de 2017.

GUNNING, B. E. S.; HUGHES, I. E. Quantitative assessment of symplastic transport of pre-nectar into trichomes of *Abutilon* nectaries. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 3: p. 619-637, 1976.

HANLEY, M. E.; LAMONT, B. B.; FAIRBANKS, M. M.; RAFFERTY, C. M. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. **Perspective in Plant Ecology: Evolution and Systematic**, v. 8, p. 157-178, 2007.

HODGES, S. A. Floral nectar spurs and diversification. **International Journal of Plant Species**, v. 158 (Suppl. 6): p. 81–88, 1997.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechniques**. New York, McGraw-Hill book company, 1940.

JOHNSON, S. D.; STEINER, K. E. Long-tongued fly pollination and evolution of floral spur length in the *Disa draconis* complex (Orchidaceae). **Evolution**, v. 51, p. 45-53, 1997.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, v. 27, p. 137-138, 1965.

KALLUNKI, J. A. Population studies in *Goodyera* (Orchidaceae) with emphases on the hybrid origin of *G. tessellata*. **Brittonia**, v. 28, p. 53-75, 1976.

KALLUNKI, J. A. Reproductive biology of mixed –species population of *Goodyera* (Orchidaceae) in Northern Michigan. **Brittonia**, v. 33, p. 137-155, 1981.

KAY, Q. O. N.; DAOUD, H. S. Pigment distribution, light reflection and cell structure in petals. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 83, p. 57-84, 1981.

KEVAN, P. G.; LANE, M. A. Flower petal microtexture is a tactile cue for bees. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 82, p. 4750-4752, 1985.

KOCH, K; BARTHLOTT, W: Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. **Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences**, v. 367:p. 1487-1509, 2009.

KOCYAN, A.; DE VOGEL, E. F.; CONTI, E.; GRAVENDEEL, B. Molecular phylogeny of *Aerides* (Orchidaceae) based on one nuclear and two plastid markers: a step forward in understanding the evolution of the Aeridinae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, p. 422-443, 2008.

KOUROUNIOTI, R. L. A.; BAND, L. R.; FOZARD, J. A.; HAMPSTEAD, A.; LOVRICS, A.; MOYROUD, E.; VIGNOLINI, S.; KING, J. R.; JENSEN, O. E.; GLOVER, B. J. Buckling as an origin of ordered cuticular patterns in flower petals. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 10: p. 201-208, 2013.

KOWALKOWSKA, A. K.; KOZIERADZKA-KISZKURNO, M.; TURZYNSKI, S. Morphological, histological and ultrastructural features of osmophores and nectary of *Bulbophyllum wendlandianum* (Kraenzl.) Dammer (*B.* section *Cirrhopetalum* Lindl., Bulbophyllinae Schltr., Orchidaceae). **Springer**, v. 301, n. 2, p. 609-622, 2014.

- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. EDUR, Seropédica. 1997.
- KRAMER, E. M.; HODGES, S. A. *Aquilegia* as a model system for the evolution and ecology of petals. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 365: p. 477–490, 2010.
- KRONESTEDT-ROBARDS, E. C.; ROBARDS, A. W.; STRAK, M.; OLESEN, P. Development of trichomes in the *Abutilon* nectary gland. **Nordic Journal of Botany**. v. 6, p. 627-639, 1986.
- LEITÃO, C. A. E.; DOLDER, M. A. H.; CORTELAZZO, A. L. Anatomy and histochemistry of the nectaries of *Rodriguezia venusta* (Lindl.) Rchb. f. (Orchidaceae). **Flora**, v. 209, p. 233-243, 2014.
- LUCAS, P. W.; TURNER, I. M.; DOMINY, N. J.; YAMASHITA, N. Mechanical defenses to herbivory. **Annals of Botany**, v. 86, p. 913-920, 2000.
- MENEGUZZO, T. E. C. Mudanças nomenclaturais em Goodyerinae do Novo Mundo (Orchidaceae). **Orquidário**, v. 26, p. 86-91. 2012.
- MOREIRA, A. S. F. P.; FUHRO, D.; ISAIAS, R. M. S. Anatomia floral de *Epidendrum fulgens* Brongn. (Orchidaceae – Epidendroidea) com ênfase no nectário e sua funcionalidade. **Revista de Biologia Neotropical**, v.5, n. 1, p. 23-39, 2008.
- MUDALIGE, R. G.; KUEHNLE, A. R.; AMORE, T. D. Pigment distribution and epidermal cell shape in *Dendrobium* species and hybrids. **Hort Science**, v. 38, p. 573-577, 2003.
- NEPI, M.; CIAMPOLINI, F.; PACINI, E. Development and ultrastructure of *Cucurbita pepo* nectaries of male flowers. **Annals of Botany**, v. 78: p. 95-104, 1996.
- NICHOLSON, C. C.; BALES, J. W.; PALMER-FORTUNE, J. E.; NICHOLSON, R. G. Darwin's bee-trap. The kinetics of *Catasetum*, a new world orchid. **Plant Signal Behavior**, v. 3, p. 19-23, 2008.
- NUNES, E. L. P.; SMIDT, E. C.; STÜZEL, T.; COAN, A. I. What do floral anatomy and micromorphology tell us about Neotropical *Bulbophyllum* section *Didactyle* (Orchidaceae: Bulbophyllinae)? **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 175, p. 438-452, 2014.
- NUNES, E. L. P.; SMIDT, E. C.; STÜZEL, T.; COAN, A. I. Comparative floral micromorphology and anatomy of species of *Bulbophyllum* section *Napelli* (Orchidaceae), a Neotropical section widely distributed in forest habitats. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.175, p.438-452, 2015.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.
- OELSCHLÄGEL, B.; GORB, S.; WANKE, S.; NEINHUIS, C. Structure and biomechanics of trapping flower trichomes and their role in the pollination biology of *Aristolochia* plants (Aristolochiaceae). **New Phytologist**, v. 184, p. 988-1002, 2009.
- OLIVEIRA, V. C.; SAJO, A. G. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 3, p. 365-374, 1999.

- ORMEROD, P. Studies of Neotropical Goodyerinae (Orchidaceae). **Harvard papers in Botany**, v. 9, n. 2, p. 391-423, 2005.
- ORMEROD, P. Studies of Neotropical Goodyerinae (Orchidaceae) 4, **Harvard papers in Botany**, v. 14, n.2, p. 111-128, 2009.
- ORMEROD, P. Studies of Neotropical Goodyerinae (Orchidaceae) 5. **Harvard papers in Botany**, v. 18, p. 51-60, 2013.
- PABST, G. F. J.; MOUTINHO, J. L. A.; PINTO, A. V. Restabelecimento do gênero *Anacheilium* Hoffm. e revisão no gênero *Hormidium* Lindl. ex Heynh. In: Anais do 1º Encontro Nacional de Orquídeófilos e Orquídeólogos. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 71-85, 1980.
- PAIS, M. S.; FIGUEIREDO, A. C.S. Floral nectaries from *Limodorum abortivum* (L.) Sw. and *Epipactis atropurpurea* Rafin (Orchidaceae): ultrastructural changes in plastids during the secretory process. **Apidologie**, v. 25, p. 615-626, 1994.
- PANSARIN, L. M.; CASTRO, M. M.; SAZIMA, M. Osmophores and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 159, p. 408-415, 2009.
- PEIFFER, M.; TOOKER, J. F.; LUTHE, D. S.; FELTON, G. W. Plants on early alert: glandular trichomes as sensors for insect herbivores. **New Phytologist**, v. 184, p. 644-656, 2009.
- PINHEIRO, F.; BARROS, F.; LOURENÇO, R. A. O que é uma orquídea? In: BARROS F.; KERBAUY G. B. Orquidologia sul-americana: uma compilação científica. **São Paulo: SMA**. p. 11-28, 2004.
- PLETT, J. M.; WILKINS, O.; CAMPBELL, M. M.; RALPH, S. G.; REGAN, S. Endogenous overexpression of *Populus MYB186* increases trichome density, improves insect pest resistance, and impacts plant growth. **Plant Journal**, v. 64, p. 419-432, 2010.
- POPPINGA, S.; KOCH, K.; BOHN, H. F.; BARTHOLOTT, W. Comparative and functional morphology of hierarchically structured antiadhesive surfaces in carnivorous plants and kettle trap flowers. **Functional Plant Biology**, v., 37, p. 952-961, 2010.
- PRIDGEON, A. M.; CRIBB, P. J.; CHASE, M. W. Gênera Orchidacearum. v.1. **General Introduction, Apostasioidea, Cyripedioidea**. Oxford University Press. 189 p. 1999.
- PRIDGEON, A. M., CRIBB, P. J., CHASE, M. W.; RASMUSSEN, F. Genera Orchidacearum. v.3: **Orchidoideae. pt. 2: Vanilloideae**. Oxford University Press, Oxford. 2003.
- PRÜM, B.; SEIDEL, R.; BOHN, H. F.; SPECK, T. Plant surfaces with cuticular folds are slippery for beetles. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 9, p. 127-135, 2012.
- RATNAYAKE, R. M. C. S.; GUNATILLEKE, I. A. U. N.; WIJESUNDARA, D. S. A.; SAUNDERS, R. M. K. Pollination ecology and breeding system of *Xylopia championii* (Annonaceae): curculionid beetle pollination, promoted by floral scents and elevated floral temperatures. **International Journal of Plant Science**, v. 168, p. 1255-1268, 2007.

- READ, J.; STOKES, A. Plant biomechanics in an ecological context. **American Journal of Botany**, v. 93, p. 1546-1565, 2006.
- REITH, M.; BAUMANN, G.; CLABEN-BOCKHOFF, R.; SPECK, T. New insights into the functional morphology of the lever mechanism of *Salvia pratensis* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v. 100, p. 393-400, 2007.
- REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain for electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 17, p. 208-212, 1963.
- RIEDERER, M.; MÜLLER, C. **Biology of the Plant Cuticle**. Oxford, UK: Blackwell Publishing; 2006.
- ROBARDS, A. W., STARK, M. Nectar secretion in *Abutilon*: a new model. **Protoplasma**, v. 142: p. 79-91, 1988.
- RUAN, C. J.; DA SILVA, J. A. T. Adaptive significance of floral movement. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 30, p. 293-328, 2011.
- RUSCHI, A. Orquídeas do estado do Espírito Santo. **Expressão e Cultura, Rio de Janeiro**. 1997.
- SALAZAR, G. A.; CHASE, M. W.; ARENAS, M. A. S.; INGROUILLE, M. Phylogenetics of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. **American Journal of Botany**, v. 90, p. 777-795, 2003.
- SALAZAR, G. A.; CABRERA, L. I.; MADRIÑÁN, S.; CHASE, M. W. Phylogenetic relationships of Cranichidinae and Prescottiinae (Orchidaceae, Cranichideae) inferred from plastid and nuclear DNA sequences. **Annals of Botany**, v. 104, p. 403-416, 2009.
- SALAZAR, G. A.; VAN DEN BERG, C.; POPOVKIN, A. Phylogenetic relationships of *Discyphus scopulariae* (Orchidaceae, Cranichideae) inferred from plastid and nuclear DNA sequences: evidence supporting recognition of a new subtribe, Discyphinae. **Phytotaxa**, v. 173, p. 127-139, 2014.
- SANSON, G. The biomechanics of browsing and grazing. **American Journal of Botany**, v. 93, p. 1531-1545, 2006.
- SAWIDIS, T. The subglandular tissue of *Hibiscus rosa-sinensis* nectaries. **Flora**, v. 193, p. 327-335, 1998.
- SAWIDIS, T.; ELEFThERIOU, E. P.; TSEKOS, I. The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis* L. II. Plasmodesmatal frequencies. **Phyton**, v. 27: p. 155-164, 1987.
- SAWIDIS, T.; ELEFThERIOU, E. P.; TSEKOS, I. The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis* III. A morphometric and ultrastructural approach. **Nordic Journal of Botany**, v. 9: p. 63-71, 1989.
- SIGIURA, N.; YAMAGUCHI, T. Pollination of *Goodyera foliosa* var. *maximowicziana* (Orchidaceae) by the Bumblebee *Bombus diversus diversus*. **Plant Species Biology**, v. 12, p. 9-14, 2005.
- SCHOLZ, I.; BUCKINS, M.; DOLGE, L.; ERLINGHAGEN, T.; WETH, A.; HISCHE, F.; MAYER, J.; HOFFMANN, S.; RIEDERER, M.; RIEDEL, M. Slippery surfaces of pitcher



plants: Nepenthes wax crystals minimize insect attachment via microscopic surface roughness. **Journal Experimental Biology**, v. 213, p. 1115-1125, 2010.

SILVA, I. V.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A. Anatomia de raízes de espécies de Orchidaceae do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais. **Hoehnea**, v. 37, n. 1, p. 147-161, 2010.

SINGER, R. B.; SAZIMA, M. Flower morphology and pollination mechanisms in three sympatric Goodyerinae orchids from Southeastern Brazil. **Annals of Botany**, v. 88: p. 989-997, 2001.

SINGER, R. B. Orchid pollination: recent developments from Brazil. **Lankesteriana**, v. 7, p. 111-114, 2003.

SZLACHETKO, D. L.; RUTKOWSKI, P. Gynostemia orchidialium I. Apostasiaceae, Cyrtipediaceae, Orchidaceae (Thelymitroideae, Orchidoideae, Tropidioideae, Spiranthoideae, Neottioideae, Vanilloideae). **Annales Botanici Fennici** v. 169, p. 1-379, 2000.

SOROKA, J. J.; HOLOWACHUK, J. M.; GRUBER, M. Y.; GRENKOW, L. F. Feeding by flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae; *Phyllotreta* spp.) is decreased on canola (*Brassica napus*) seedlings with increased trichome density. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, p. 125-136, 2011.

STERN, W. L. **Anatomy of the Monocotyledons**. Volume X: Orchidaceae. Oxford University Press. 2014.

STPICZYNSKA, M. The structure of the nectary of *Platanthera bifolia* L. (Orchidaceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 66: p. 5–11, 1997.

STPICZYNSKA, M.; MATUSIEWICZ, J. Anatomy and ultrastructure of the spur nectary of *Gymnadenia conopsea* L. (Orchidaceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 70: p. 267–272, 2001.

STPICZYNSKA, M.; DAVIES, K. L.; GREGG, A. Nectary structure and nectar secretion in *Maxillaria coccinea* (Jacq.) L.O. Williams ex Hodge (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 93: p. 87–95, 2003.

STPICZYNSKA, M.; DAVIES, K. L.; KAMINSKA, M. Comparative anatomy of the nectary spur in selected species of Aeridinae (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 107, p. 327-345, 2011.

SWIECZKOWSKA, E.; KOWALKPWSKA, A. K.; Floral nectary anatomy and ultrastructure in mycoheterotrophic plant, *Epipogium aphyllum* Sw. (Orchidaceae). **The Scientific World Journal**. 11 p. 2015.

TEIXEIRA, S. P.; BORBA, E. L.; SEMIR, J. Lip anatomy and implications for the pollination mechanisms of *Bulbophyllum* species (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 93, p. 499-505, 2004.

TOPIK, H.; YUKAWA, T.; ITO, M. Molecular phylogenetics of subtribe Aeridinae (Orchidaceae): insights from plastid matK and nuclear ribosomal ITS sequences. **Journal of Plant Research**, v. 118: p. 271–284, 2005.



WARREN, J.; JAMES, P. Do flowers wave to attract pollinators? A case study with *Silene maritima*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 21, p. 1024-1029, 2008.

WHITNEY, H. M.; FEDERLE, W. Biomechanics of plant-insect interactions. **Plant Biology**, v. 16, p. 105-111, 2013.

WHITNEY, H. M.; CHITTKA, L.; BRUCE, T. J. A.; GLOVER, B. J. Conical epidermal cells allow bees to grip flowers and increase foraging efficiency. **Current Biology**, v. 19, p. 1-6, 2009.

WHITNEY, H. M.; BERNNETT, K. M. V.; DORLING, M. SANDBACH, L.; PRINCE, D.; CHITTKA, L.; GLOVER, B. J. Why so many petals have conical epidermal cells? **Annals of Botany**, v. 108, p. 609-616, 2011.

ZELLNIG, G.; KRONESTEDT-ROBARDS, E.; ROBARDS, A. W. Intercellular permeability in *Abutilon* nectary trichomes. **Protoplasma**, v. 161: p. 150-159, 1991.