



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

**MORFO-ANATOMIA DA FLOR DO CACTO EPÍFITO *Schlumbergera truncata*
(HAW.) MORAN (Rhipsalidae: Cactaceae), COM ÊNFASE NA ONTOGENIA DO
NECTÁRIO FLORAL.**

VERONICA RUBIM APOLONIO

MORFO-ANATOMIA DA FLOR DO CACTO EPÍFITO *Schlumbergera truncata* (HAW.) MORAN (RHIPSALIDEAE: CACTACEAE), COM ÊNFASE NA ONTOGENIA DO NECTÁRIO FLORAL

Dissertação de Mestrado apresentada como exigência para obtenção do título de Mestre junto ao Programa de Pós Graduação, do Instituto de Biociências, do Campus de Rio Claro da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP).

Orientador: Prof^o. Dr^o. Odair José Garcia de Almeida

Coorientadora: Prof^a Dr^a Alessandra Ike coan

RIO CLARO - SP

2022

A644m

Apolonio, Veronica Rubim

Morfo-anatomia da flor do cacto epífita Schlumbergera truncata (Haw.) Moran (Rhipsalidae: Cactaceae), com ênfase na ontogenia do nectário floral. / Veronica Rubim Apolonio. -- Rio Claro, 2022

58 p. : fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientador: Odair José Garcia de Almeida

Coorientador: Alessandra Ike Coan

1. Botânica. 2. Morfologia Vegetal. 3. Anatomia Vegetal. 4. Cactos. 5. Nectários. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: ONTOGENIA DO NECTÁRIO FLORAL DO CACTO EPÍFITO *Schulumbergera truncata* (HAW.) MORAN (RHIPSALIDEAE: CACTACEAE)

AUTORA: VERONICA RUBIM APOLONIO

ORIENTADOR: ODAIR JOSÉ GARCIA DE ALMEIDA

COORIENTADORA: ALESSANDRA IKE COAN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA VEGETAL), área: Biologia Vegetal pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ODAIR JOSÉ GARCIA DE ALMEIDA (Participação Virtual)
UNESP - Instituto de Biociências / Campus do Litoral Paulista - São Vicente - SP



Prof. Dr. YOANNIS DOMINGUEZ RODRIGUEZ (Participação Virtual)
Campus do Litoral Paulista / UNESP - Instituto de Biociências - São Vicente / SP



Prof. Dr. LUIZ ANTONIO DE SOUZA (Participação Virtual)
Depto de Biologia / Universidade Estadual de Maringá - UEM

Rio Claro, 29 de abril de 2022.

Ao meu avô, pai e grande amigo Edison Paniça Rubim.

*E a todas as outras famílias do mundo que perderam alguém durante a
pandemia de COVID-19 e não puderam prestar suas despedidas.*

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
pela oportunidade de realizar mestrado como bolsista;

Aos Laboratórios de Morfologia Vegetal de São Vicente e Rio Claro, com
carinho especial para a Aline Sayuri e Paulo;

Muito obrigada pela estadia em Rio Claro República Cabeças;

Aos meus amigos e familiares, por todo o apoio e carinho durante esses dois
anos difíceis de pandemia, especialmente minha melhor amiga Maria
Constance e meus tios Erica e Clodoaldo.

"I do whatever it takes 'cause I love how it feels when I break the chains."

- Imagine Dragons

RESUMO

Schlumbergera é um gênero composto por seis espécies de cactos epífitos, nativo do sudeste brasileiro. Possui interesse ornamental e por esta razão é cultivada em muitas partes do mundo. As flores de *Schlumbergera truncata* são adaptadas à ornitofilia e possuem nectários de morfologia conspícua dentro da família. Buxbaum descreveu três tipos morfológicos de nectários para Cactaceae, sendo (1) em fenda, (2) em disco (anelar) e (3) em câmara. Há apenas dois trabalhos relacionados à arquitetura do nectário floral de *Schlumbergera* e nenhum deles é conclusivo sobre a sua natureza. Neste trabalho buscou-se estudar a morfologia floral enfatizando a ontogenia do nectário em *S. truncata*. Para tal, usamos técnicas de histologia vegetal e imagens de microscopia eletrônica de varredura, desde os estágios iniciais de desenvolvimento até a antese. O nectário se forma a partir de células meristemáticas, no tubo floral, entre o primeiro ciclo de estames e a base do estilete. A cobertura sobre o nectário, que o torna excêntrico, é formada por apêndices encontrados na base do filete, que também têm origem no tubo floral. O nectário com a estrutura de cobertura evita que a água do néctar evapore para o ambiente, fazendo com que o néctar fique menos viscoso por mais tempo. Estudos com beija-flores apontam que esses animais preferem estas configurações de néctar. Além das novidades ontogenéticas, as informações presentes neste trabalho contribuem para elucidar outros estudos morfológicos e sistemáticos dentro de Rhipsalideae.

PALAVRAS-CHAVE: Anatomia floral; Desenvolvimento; Flor; Flor-de-maio; Néctar; Tubo floral.

ABSTRACT

Schlumbergera is a genus composed of six species of epiphytic cacti, native to southeastern Brazil. It has ornamental interest and for this reason it is cultivated in many parts of the world. The flowers of *Schlumbergera truncata* are adapted to ornithophily and have nectaries of conspicuous morphology within the family. Buxbaum described three morphological types of nectaries for Cactaceae, being (1) cleft, (2) disc (annular) and (3) chamber. There are only two works related to the architecture of the *Schlumbergera* floral nectary and neither is conclusive about its nature. In this work we sought to study the floral morphology emphasizing the ontogeny of the nectary in *S. truncata*. To this end, we used plant histology techniques and scanning electron microscopy images, from the early stages of development to anthesis. The nectary forms from meristematic cells, in the floral tube, between the first cycle of stamens and the base of the style. The covering over the nectary, which makes it eccentric, is formed by appendages found at the base of the fillet, which also originate from the floral tube. The nectar with the cover structure prevents the nectar water from evaporating into the environment, making the nectar less viscous for longer. Studies with hummingbirds indicate that these animals prefer these nectar settings. In addition to the ontogenetic novelties, the information presented in this work contributes to elucidate other morphological and systematic studies within Rhipsalideae.

KEY WORDS: Development; Floral anatomy; Floral tube; Flower; Nectar; Christmas cactus.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES/TABELAS

Figura 1 – Botões de *S. truncata* em desenvolvimento, coletados na floração de maio de 2020. Barra = 1cm. 16

Figura 2 – Flor em antese de *S. truncata*. Barra = 1cm. 21

Figura 3 - Tépalas internas e externas. Barra = 200µm. te: tépala externa; ti: tépala interna; um: célula de mucilagem. A – Botão com 0,5cm de comprimento no estágio I, corte longitudinal. B – Botão com 0,5cm de comprimento no estágio I corte transversal. Barra = 200µm. C – Botão com 0,8 cm de comprimento do estágio II, corte transversal. Barra = 200µm. D – Células em anáfase do parênquima do tubo floral no estágio I. E – tépala externa, botão com 3,7 cm de comprimento, estágio IV, corte transversal. Barra = 200µm. 24

Figura 4 – Imagens do hipanto de *Schlumbergera truncata*. pe: pericarpelo; ca: carpelo; ne: nectário; fv: feixe vascular; es: estigma. A. Botão do estágio I, barra = 200µm, corte longitudinal. B. Botão do estágio III, corte transversal, barra = 200µm. C. Botão do estágio II, corte transversal, barra = 400µm. D. Botão do estágio IV, corte transversal da região do hipanto, barra = 100µm. 27

Figura 5 - Desenvolvimento dos filetes de *S. truncata*. fi: filete; ti: tépala interna; te: tépala externa; na: antera; fv: feixe vascular; es: estilete; et: estigma; na: antera; ep: epiderme. A – C. Corte transversal de botão no estágio I, A-B barra = 200µm. C barra = 100 µm. D. Filete no estágio II, corte transversal, barra = 100 µm. E. Inserção dos três ciclos de filetes no tubo floral, distanciamento entre o primeiro e o segundo ciclo em corte longitudinal. Barra = 200 µm. F. Inserção do filete em corte transversal em botão do estágio IV. 30

Figura 6 - Androceu de *S. truncata*. an: antera; fi: filete; ep: epiderme; cm: camada média; mc: microsporócito; ta: tapete; fv: feixe vascular; ov: ovário; et: estigma. A. Botão pequeno, estames jovens, corte longitudinal, seta: espaço entre os ciclos de estames, barra = 50µm. B. Botão pequeno, estágio I, corte longitudinal, barra = 200 µm. C. antera em estágio II, corte transversal barra = 50µm. 31

Figura 7 - A. Antera de *S. truncata* em pré antese, barra = 1mm. B. Grão de pólen, Barra = 50µm 32

Figura 8 - Gineceu de *S. truncata*. po: primórdio ovular; ov: óvulo; tr: tricoma; fu: funículo; te: tegumento externo; ti: tegumento interno; mg: megasporo. A. Ovário de botão no estágio I. Barra = 100µm. B. Ovário em estágio III. Barra = 200µm. C. Ovário de botão em estágio II. Barra = 200µm. D. Ovário de botão no estágio IV. Barra = 1mm. E. Ovário (D), aproximação dos óvulos. Barra = 200µm. F. Óvulo de (D). Barra = 100µm 34

Figura 9 - Óvulos de *S. truncata* por microscopia eletrônica de varredura. Ov: óvulo; tr: tricoma. A. Óvulos de botão com 2,9cm de comprimento (estágio IV). Barra = 400µm. B. Ovário com óvulos de flor em antese (estágio IV). Barra = 1mm. C. Óvulos de botão com 1,5cm de comprimento (estágio III). Barra = 200µm. 35

Figura 10 - Região do nectário em contato com o filete do primeiro ciclo de estames de *S. truncata*. an: antera; fi: filete; es: estilete; et: estigma; ne: nectário; pn: subparênquima nectarífero; ap: apêndice do tipo “escama”; fv: feixe vascular. A. Botão do estágio I, barra = 1mm. B. Botão do estágio II, barra = 200µm. C. Botão do estágio III, barra = 200µm. D. Botão do estágio IV, barra = 1mm. E. aproximação da imagem A, barra = 50µm. F. Tecido nectarífero no estágio III. 38

Figura 11 - Nectário floral de *S. truncata* em MEV. Gineceu removido. es: escamas; fi: filete; ne: nectário; an: antera; el: elevação. A. Botão com 2,9cm, barra = 1mm. B. Botão com 1,5cm de comprimento, barra = 400µm. C. Botão com 1,1cm de comprimento, barra = 400µm. D. Botão com 1,5cm de comprimento, barra = 1mm. 39

Figura 12 - Botões em desenvolvimento de *S. truncata*. ne: nectário; fi: filete; na: antera; es: apêndice em “escama”; et: estigma; ti: tépala interna. A. Botão com 0,2cm de comprimento, imagem aproximada de B, barra = 200µm. B. Botão com 0,2cm de comprimento, barra = 400µm. C. Botão com 0,6cm de comprimento, barra = 1mm. D. Captura dos apêndices em formado de “escama”, gineceu removido, botão com 2,9cm de comprimento, barra = 400µm. E. Botão com 0,6cm de comprimento, imagem aproximada de C, barra = 400µm. 41

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
Coleta de material	16
Microscopia de luz	17
Microscopia eletrônica de varredura	19
RESULTADOS	20
Fenologia	20
Caracterização morfológica	20
Anatomia do perianto	21
Hipanto e Nectário	25
Androceu	28
Gineceu	32
Ontogenia do Nectário	36
	41
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	50

INTRODUÇÃO

Originada no México e das Américas, hoje a família Cactaceae Juss. está naturalizada em muitas partes quentes de todo o mundo (BARTHLOTT & HUNT, 1993), embora ainda seja um grupo de plantas endêmico das Américas. Distribui-se do sul do Canadá ao sul da Argentina, desde regiões baixas, como zonas costeiras, até 5.000 metros de altitude no alto dos Andes (BARTHLOTT, 2015). Os cactos concentram-se em regiões áridas e semiáridas, com principais centros de diversidade no México, arredores da América Central, sudoeste dos Estados Unidos, Peru, Bolívia e leste do Brasil (NYFFELER & EGGLI, 2010). O largo alcance de latitude do grupo está intimamente relacionado ao bem sucedido evento de radiação (ARARAKI ET AL., 2011), acompanhado de uma grande diversidade morfológica.

Os cactos são conhecidos por sua morfologia peculiar, que vem intrigando pesquisadores desde o século XIX (ROWLEY, 1997). Contudo, ainda existem diversas lacunas de conhecimento quanto à filogenia e sistemática do grupo. A família compreende atualmente 151 gêneros que contêm 1855 espécies (STEVENS, 2017; KOROTKOVA et al, 2021). A maioria dos cactos apresenta forma de vida especializada para ambientes secos incluindo metabolismo ácido das crassuláceas (MAC); caules permanentemente verdes e fotossintetizantes, com córtex e medula modificados em um tecido suculento para retenção de água; as folhas e galhos laterais são transformados em grupos de espinhos chamados de aréolas e a ramificação geralmente é bem reduzida (GIBSON & NOBEL, 1986; NYFELLER, 2002). Embora sejam adaptações para suportar climas áridos, muitas espécies de cactos epífitos da tribo Rhipsalideae estabeleceram-se,

principalmente, na Mata Atlântica brasileira, bioma de clima úmido (BARTHLOTT, 1983).

Espécies epífitas correspondem a 10% de todas as cactáceas (COTA-SÁNCHEZ & ABREU, 2007) e pertencem a Cactoideae, uma subfamília caracterizada pela redução completa das folhas em espinhos (NYFELLER, 2002). As tribos Rhipsalideae e Hylocereeae representam as duas principais linhagens de cactos epífitos. Cactoideae, com cerca de 1498 espécies (STEVENS, 2017), tem origem nas regiões dos Andes centrais, datada de 30 a 20 milhões de anos e em paralelo com a orogênese da cordilheira (HERSHKOWITZ & ZIMMER, 1997). Estudos biogeográficos com o gênero *Rhipsalis* Gaertn. afirmaram que este grupo se originou na costa do Brasil e se diversificou para o restante da América (CALVENTE et al., 2011a). De modo geral, atribui-se o título de centro de diversidade de Rhipsalidae às florestas úmidas brasileiras, com os principais gêneros sendo *Hatiora* Britton & Rose, *Lepismium* Pfeiff., *Rhipsalis* e *Schlumbergera* Lemaire. As características morfológicas que compõem Rhipsalidae, um grupo de cactos atípicos, incluem redução do corpo vegetativo, sistemas de raízes adventícias especializado, flores e frutos pequenos e a falta de espinhos nas aréolas (CALVENTE et al., 2011b).

Schlumbergera é um gênero composto por seis espécies de cactos epífitos (HUNT et al., 2006), nativos das florestas úmidas do sudeste brasileiro (Hunt, 1969). *Schlumbergera truncata* (Haworth) Moran (= *Zygocactus* Schum.), é uma espécie holoepífita (BARTHLOTT, 1983), popularmente conhecida como flor-de-maio. Possui grande interesse estético e ornamental e por esta razão é cultivada e comercializada em diferentes partes do mundo (BOYLE et al., 1995). As outras espécies do gênero raramente são

encontradas em cultivo, possuem registros em fragmentos de Mata Atlântica na região sudeste do Brasil (HUNT, 1969). Atualmente, o gênero está classificado como vulnerável e ameaçado na lista vermelha da IUCN, e *S. truncata* encontra-se vulnerável na natureza (TAYLOR & ZAPPI, 2017).

A maioria das espécies de Cactaceae apresenta ovário ínfero, o que resulta diretamente na formação de um hipanto pronunciado em forma de tubo. É muito visível em *Epiphyllum* Haw. (BARTHLOTT & HUNT, 1993; ALMEIDA et al. 2010), mas também pode ser fino e petalóide, como acontece em *Schlumbergera*, considerado como um tubo verdadeiro (BARTHLOTT & HUNT, 1993). As flores de *S. truncata* são aparentemente adaptadas à ornitofilia, e atraem exclusivamente beija-flores. São evidências dessa síndrome de polinização a morfologia do longo tubo floral, perianto com coloração vermelha, rosada, branca e amarela (BARTHLOTT & RAUH, 1975; BUXBAUM, 1953; HUNT, 1969), antese diurna e produção de néctar bem diluído (ALMEIDA et al., 2013), discriminada como preferência de concentração para beija-flores (TAMM & GASS, 1986).

Nectários, em simples definição, são estruturas secretoras de néctar, uma solução açucarada de glicose, sacarose e frutose (PACINI et al., 2003). Anatomicamente é descrito possuindo epiderme, parênquima nectarífero, normalmente composto por uma ou mais camadas de células pequenas com citoplasma denso localizado logo abaixo da epiderme e por fim, o parênquima subnectarífero, onde as células são um pouco maiores e é a região onde o nectário se encontra com o feixe vascular (NEPI, 2007). O néctar pode ser produzido no parênquima nectarífero através da hidrólise de grãos de amido estocados ou ação direta da fotossíntese, evidenciado pela presença de muitos cloroplastos (PACINI et al, 2003).

A quantidade de células e o volume de néctar produzido está diretamente relacionado com os hábitos alimentares do visitante floral ou da quantidade de visitas (PACINI et al, 2003). A secreção do néctar é normalmente feita através da epiderme do nectário, por meio de células especializadas em estômatos, a maneira mais comum de exsudação de néctar encontrada na natureza (NEPI 2007), ou outras modificações, sendo elas tricomas, papilas, idioblastos e outras glândulas específicas (MAUSETH, 1982; BERNADELLO, 2007). A forma, origem e inserção dos nectários em órgãos florais também é um meio de classificá-los, o que revela importância nos estudos de relação da planta-polinizador e outras relações com animais, alheias ao processo reprodutivo, como em casos de nectários extraflorais (BERNADELLO, 2007; ALMEIDA et al, 2011).

Dentro do contexto da polinização, o néctar é uma das recompensas mais importantes que as plantas podem oferecer, pois é alimento para diferentes grupos de animais, como aves, insetos e mamíferos (SIMPSON & NEFF, 1983). Além da imensa contribuição ecológica, nectários são estruturas promissoras e de grande interesse para diagnosticar e resolver impasses sistemáticos entre grupos, porém, ainda é um critério muito pouco utilizado para este fim, com poucos trabalhos sobre o tema, como os de Bonnier (1879), Norris (1941) e Almeida et al. (2013). Cactaceae é um grupo muito interessante para se investigar nectários florais e extraflorais, devido às interações ecológicas com diversos tipos de animais, como formigas e beija-flores, que garantem vantagens de sobrevivência além da polinização (ALMEIDA et al., 2012, 2013; SANDOVAL-MOLINA et al., 2018; ÁVILA-ARGÁEZ et al., 2019).

Buxbaum (1953) descreveu três tipos básicos morfológicos de nectários para Cactaceae, sendo (1) em fenda, (2) em disco (anelar) e (3) em câmara, que possuem variações e subtipos para cada grupo estudado. Segundo este autor, a localização do nectário na flor, morfologia e desenvolvimento é relacionada com a posição e a formação do primeiro ciclo de estames para diversos grupos em Cactaceae.

O primeiro tipo descrito, sendo em fenda, é considerado mais comum e com maior número de variações. A formação deste tipo de nectário provém do crescimento do tecido entre o primeiro ciclo de estames e o estilete, que se desenvolvem a partir do receptáculo, formando uma pequena bacia. Os outros ciclos de estames se desenvolvem acompanhando o alongamento do tubo floral. O segundo tipo, em disco (anelar), de acordo com Buxbaum (1953) pode ser descrito como uma elevação do tecido nectarífero, aumentando perceptivelmente a distância entre o primeiro ciclo de estames e o estilete quando comparado ao tipo fenda. O nectário é então posicionado de forma horizontal no eixo da flor. O último tipo, em câmara, é formado também pela elevação do tecido nectarífero, mas difere do tipo em fenda devido a exposição da superfície do ovário, que pode ser observado em *Strombocactus* sp. (CAMACHO-VELÁZQUEZ et al, 2019) e *Ancistrocactus* (MAUSETH, 1982). As espécies da tribo Rhipsalideae apresentam o primeiro tipo, em fenda, para os gêneros *Hatiora* e *Lepismium* e anelar para *Rhipsalis* (ALMEIDA et al., 2013).

De acordo, ainda, com Almeida et al. (2013), o nectário de *S. truncata* é classificado como em fenda e subtipo com “cobertura”, pois acima da fenda nectarífera há uma estrutura que atua como um “teto”. Os autores sugerem, baseados em Buxbaum (1953), que essa “cobertura” é formada pelos estames

primários fusionados na base envolvendo o estilete. Entretanto, pouco se sabe sobre a origem dos tecidos envolvidos e como esta estrutura é formada. Essas características podem ser de grande relevância na classificação dos cactos epífitos, uma vez que o contexto filogenético de Rhipsalideae e de *Schlumbergera* vem sendo discutido desde a última década (KOROTKOVA et al., 2011; CALVENTE et al., 2011 b).

A morfologia floral das espécies de *Schlumbergera* é considerada uma exceção dentro de Rhipsalideae, devido ao tamanho de suas flores, tubo floral relativamente longo, simetria zigomórfica, as características do nectário e, inclusive, a concentração de açúcar na solução do néctar (ANDERSON, 2001; CALVENTE et al., 2011a, ALMEIDA et al., 2013). Assim, esperamos que o conhecimento sobre as estruturas envolvidas na formação do nectário floral de *Schlumbergera truncata* possa contribuir com informações anatômicas, afim de melhorar o entendimento das particularidades do gênero.

Por fim, há apenas dois trabalhos relacionados à arquitetura do nectário floral de *Schlumbergera* (BUXBAUM, 1953; ALMEIDA et al, 2013). Contudo, nenhum deles é conclusivo a respeito da natureza do nectário encontrado no gênero, evidenciando uma grande lacuna de conhecimento quanto ao desenvolvimento da flor nesse grupo de plantas. Assim, o objetivo desse trabalho foi o estudo ontogenético do nectário floral em *S. truncata* buscando compreender e elucidar as questões levantadas por Buxbaum em 1953. Especificamente, analisamos o desenvolvimento dos verticilos florais, para poder descrever a ontogenia do nectário em relação ao perianto, androceu e gineceu.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de material

A floração de *Schlumbergera truncata* ocorre uma vez ao ano, iniciando durante o mês de maio no hemisfério sul. Por se tratar de uma espécie de apelo comercial e ornamental, é possível encontrá-la facilmente em mercados e floriculturas. Botões florais e flores em antese foram coletados de plantas cultivadas na coleção viva do Laboratório de Morfologia Vegetal, no Campus do Litoral Paulista, da Unesp em São Vicente-SP; a partir de plantas adquiridas na Serra do Órgãos em Teresópolis-RJ (Trilho do Sino). Adicionalmente, alguns botões florais também foram coletados a partir de plantas adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de São Paulo.

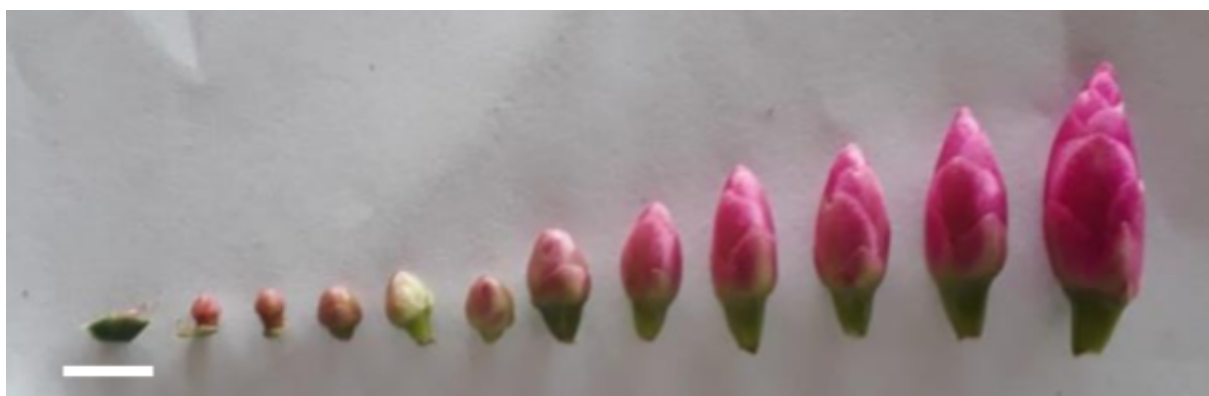


Figura 1 – Botões de *S. truncata* em desenvolvimento, coletados na floração de maio de 2020. Barra = 1cm.

Os botões coletados foram escolhidos arbitrariamente nos indivíduos cultivados, medidos e classificados seguindo os tamanhos de 0,1cm até 3,8cm de comprimento (fig. 1), dos primeiros dias de formação do botão até o estágio de pré-antese, e flores abertas com 1 ou 2 dias de antese. As amostras coletadas foram fixadas em FAA 50, um fixador composto por formol, ácido acético e álcool (JOHANSEN, 1940).

Para facilitar as descrições, os botões foram divididos em estágios de desenvolvimento conforme as medidas de comprimento, em centímetros. Assim sendo:

Estágio I - Botões muito pequenos, pétalas esbranquiçadas ou levemente coradas, tamanho de 0,1 cm até 0,5cm de comprimento. O tecido nectarífero ainda não está bem definido.

Estágio II - Botões intermediários, ainda pequenos. Tamanho de 0,6cm a 1cm. Neste estágio já é possível distinguir o tecido nectarífero.

Estágio III - Botões médios, alongamento dos apêndices da cobertura do nectário. Tamanho de 1cm a 2cm de comprimento.

Estágio IV e pré-antese - Botões grandes, formação completa do nectário e da cobertura nectarífera, anteras e pistilo bem desenvolvidos. Tamanho 2cm a 4cm.

Microscopia de luz

Para análise em microscópio de luz, 18 amostras foram selecionadas a partir do seu tamanho e seccionadas longitudinalmente nas zonas de interesse do tubo do floral contendo o nectário e os filetes centrais. As amostras com menos de 0,5 cm não foram seccionadas previamente. Em seguida, foram submetidas a processo de desidratação por série etílica para inclusão em resina histológica de glicol-metacrilato (Historesin, Leica) seguindo as recomendações do fabricante.

Uma vez processadas, foram seccionadas em micrótomo de rotação Leica nos planos transversal e longitudinal, no Laboratório de Morfologia

Vegetal da UNESP no Campus São Vicente, Laboratório de Morfologia Vegetal da UNESP no Campus Rio Claro/SP e no Instituto de Estudos do Mar em São Vicente/SP. Os cortes de 6 a 7µm de espessura foram acondicionados sobre lâminas histológicas de vidro. Para visualizar as características do material, as lâminas foram submetidas a coloração por azul de toluidina 0,05% em tampão acetato pH 4,6 durante 5 a 6 minutos em temperatura ambiente (O'BRIEN et al, 1964). Após a coloração, as lâminas com o conteúdo foram impermeabilizadas com Entellan e lamínula de vidro.

Microscopia eletrônica de varredura

Para análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram selecionados 5 botões dentre os 4 estágios mencionados. Os botões foram manipulados e seccionados na região do nectário, analisados e fotografados em microscópio estereoscópio e, por fim, conservados em solução de Karnovsky para posterior desidratação (KARNOVSKY, 1965). As amostras foram desidratadas em série etílico-acetônica e levadas para secagem em ponto crítico. Após a montagem dos nectários e botões nos “stubs”, procedeu-se a deposição metálica com ouro. Estes procedimentos foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica da UNESP, localizado no Campus de Botucatu/SP. Após esta etapa, os “stubs” foram transportados para o Parque Tecnológico em São José dos Campos/SP e analisados no microscópio eletrônico de varredura do Instituto de Estudos Avançados do Mar (IEMAR).

As imagens selecionadas foram editadas em pranchas utilizando os softwares Adobe Photoshop, Photoscape e Microsoft Word.

RESULTADOS

Fenologia

As flores de *Schlumbergera truncata* se abrem pela manhã durante o mês de maio, perdurando até o mês seguinte. Durante o mês de agosto de 2021, alguns botões surgiram nas plantas cultivadas da UNESP no Campus do Litoral Paulista, após uma longa sequência de dias com temperatura amena.

Caracterização morfológica

As flores de *Schlumbergera truncata* são hermafroditas e se desenvolvem a partir do meristema floral, nas aréolas de ápices caulinares. De natureza epígina, o crescimento do perianto forma um longo hipanto petaloide que pode ser chamado de tubo floral (Fig. 2). A flor é orientada em um plano bilateral por conta da curvatura do tubo, determinando sua zigomorfia (Fig. 2). Dentre as espécies de Rhipsalidae, as flores de *S. truncata* são grandes, podendo atingir aproximadamente 7 centímetros de comprimento. A antese é diurna, com duração de aproximadamente 4 dias até a sua senescência. As cores das pétalas variam de vermelho, rosa, branco e amarelo em diferentes indivíduos.

O androceu polistêmone possui estames que estão organizados em ciclos concêntricos formados a partir da parede do tubo. Entre eles existe uma diferenciação espacial onde os estames centrais formam um curto tubo em volta do estilete. Estes, por sua vez, também atuam como um “teto” do

nectário (em forma de bacia), localizado na base do estilete. As anteras são tetrasporangiadas e bitecas, basifixas, com deiscência longitudinal. O ovário é pluricarpelar e unilocular com múltiplos óvulos com placentação parietal.



Figura 2 – Flor em antese de *S. truncata*. Barra = 1cm.

Anatomia do perianto

Durante o estágio I de desenvolvimento de *S. truncata*, a epiderme das tépalas externas é composta por células revestidas por cutícula delgada (sobre as paredes periclinais externas), menores quando comparadas com as demais camadas de células do mesófilo (fig. 3 - A e B). Na face abaxial as células são predominantemente esféricas, enquanto que na face adaxial são cuboides. O mesofilo é composto por cerca de 7 camadas de células parenquimáticas com tamanho e formato variados (fig. 3 – B); as camadas centrais apresentam grandes células e cavidades secretoras, que normalmente são descritas como mucilagem. As células próximas a epiderme apresentam indícios de divisão

celular recente, como grandes núcleos e novas paredes celulares (fig. 3 – D). Imerso no mesófilo existem pequenos feixes vasculares colaterais de pequeno calibre (fig. 3 – B).

No estágio II não ocorrem variações quanto a morfologia da epiderme nas faces abaxial e adaxial. No entanto, há o aumento da quantidade de células no mesófilo, possuindo em média de 8 a 9 camadas, com paredes irregulares e muito finas. As células do parênquima desta região são predominantemente esféricas, e não há alteração quanto a organização das mesmas (fig. 3 – C). No eixo longitudinal, as células não variam no seu comprimento comparando os estágios I e II, é possível dizer que o crescimento das tépalas externas se dá, nestes períodos, por divisão celular, e não por alongamento. Em relação ao estágio I, as camadas do centro do mesófilo ainda são caracterizadas pelas grandes cavidades secretoras de mucilagem, mas o aumento do tecido e de suas camadas deu-se pela multiplicação de células parenquimáticas comuns em planos anticlinais e periclinais. Nos botões do estágio IV, o mesófilo das tépalas externas alcança uma média de 12 camadas, morfologicamente semelhantes, de células arredondadas (fig. 3 – E).

Nas tépalas internas, no estágio I e II, a epiderme é formada por células predominantemente cuboides nas duas faces. Há por volta de 6 camadas celulares no mesófilo, entretanto de tamanho reduzido em relação ao mesófilo das tépalas externas (fig. 3 – A, B e C). No estágio II as células parenquimáticas do mesófilo são esféricas e apresentam células secretoras de mucilagem em maior quantidade e tamanho comparados aos botões do estágio I. A vascularização nas tépalas internas nos estágios I e II ocorre por meio de pequenos feixes vasculares colaterais, mas que também não

apresenta mudanças no decorrer do desenvolvimento quanto a organização das células do tecido vascular. Nos botões do estágio IV, a epiderme das tépalas internas não apresenta mudanças significativas em relação aos estágios anteriores, porém são bem menores quando comparadas com as células da epiderme das tépalas externas. Quanto ao mesófilo, as células são predominantemente esféricas organizadas em 8 camadas com paredes finas, de tamanho irregular, maiores no centro, onde é rico em cavidades mucilaginosas, e menores nas extremidades.

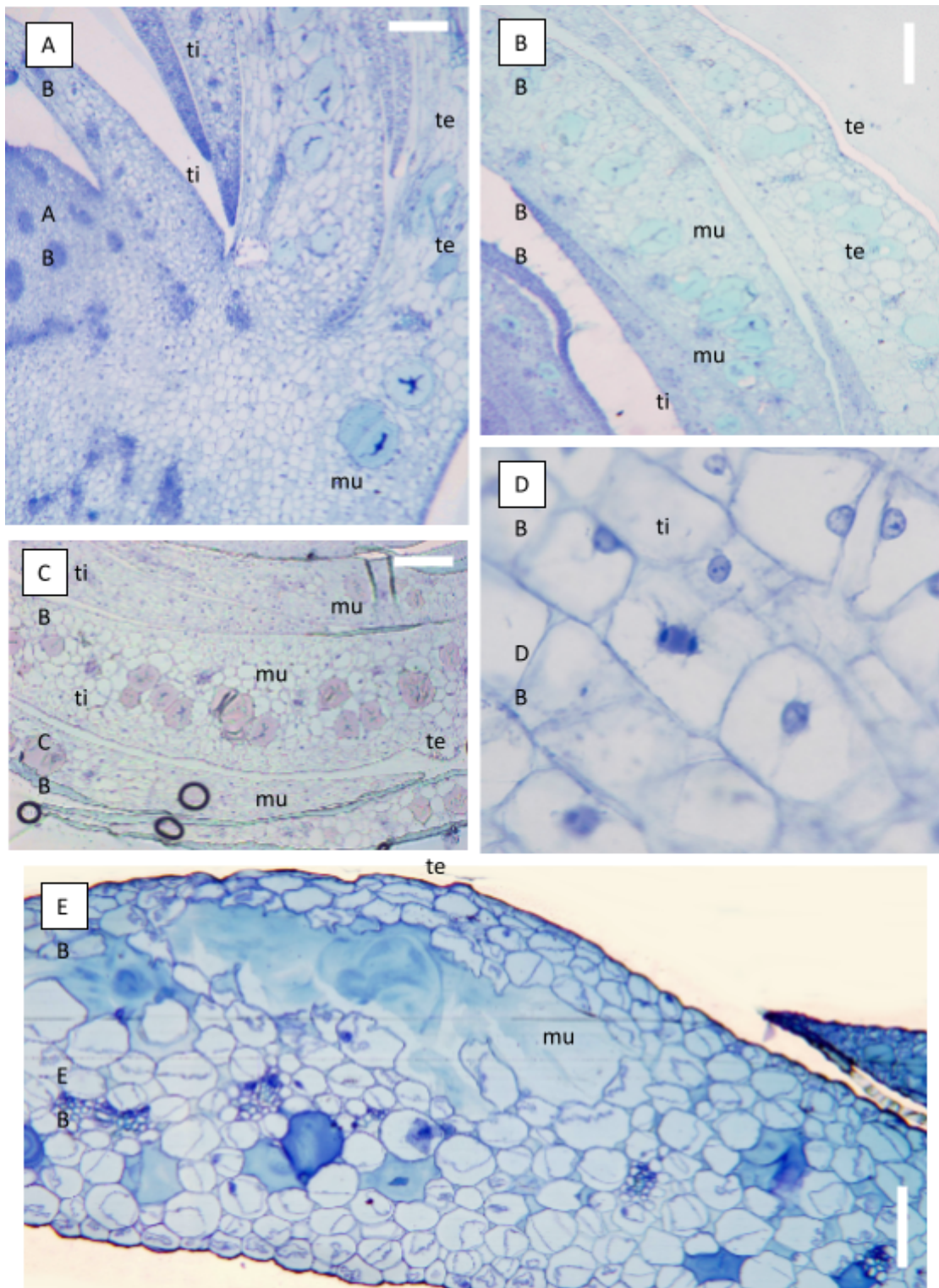


Figura 3 - Tépalas internas e externas. Barra = 200μm. te: tépala externa; ti: tépala interna; um: célula de mucilagem. A – Botão com 0,5cm de comprimento no estágio I, corte longitudinal. B – Botão com 0,5cm de comprimento no estágio I corte transversal. Barra = 200μm. C – Botão com 0,8 cm de comprimento do estágio II, corte transversal. Barra = 200μm. D – Células em anáfase do parênquima do tubo floral no estágio I. E – tépala externa, botão com 3,7 cm de comprimento, estágio IV, corte transversal. Barra = 200μm.

Hipanto e Nectário

Quanto ao tubo floral (hipanto) de *S. truncata*, os botões dos estágios I e II exibem epiderme glabra nas duas faces, composta por células pequenas, mais ou menos esféricas, recobertas por fina camada cuticular. As células tendem a cuboides em algumas regiões da epiderme (fig. 4 – A).

Ainda no estágio II, o mesófilo parenquimático do hipanto é dividido em duas regiões histológicas, separado por um anel de feixes vasculares colaterais de grande porte (sistema vascular ascendente) (fig. 4 – A a D), essas regiões formam a face externa do fruto (pericarpelo) e a face interna (carpelo), o que corresponde com os tecidos do ovário (fig. 4 – A). Nos estágios seguintes (III e IV), é possível identificar que estes feixes que delimitam as duas regiões histológicas, correspondem ao sistema vascular ascendente, que vasculariza também a região nectarífera (fig 4 – C e D).

A região do pericarpelo nos estágios iniciais de desenvolvimento é composta por grandes células parenquimáticas de tamanho e formato irregulares, variando de 14 a 20 camadas (fig. 4 – C). Nesta porção, ocorrem células secretoras de mucilagem. Em botões do estágio IV, esta região possui de 25 a 30 camadas de células que não diferem tanto em sua morfologia comparado aos estágios iniciais. Ocorre variação de tamanho entre as células, aquelas mais próximas à epiderme são menores, e conforme avançam aumentam o diâmetro até o centro, onde podem ser encontradas mais cavidades mucilaginosas, e diminuem novamente se aproximando dos feixes vasculares (fig. 4 – D).

Nos botões de estágio I, na região do carpelo, encontram-se células parenquimáticas menores de formato arredondado, com indícios de divisão em

várias direções, organizadas em 16 - 23 camadas (fig. 4 – C), sem células secretoras de mucilagem. As células tendem a diminuir seu diâmetro conforme se aproximam do ovário. Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais de pequeno calibre e traços vasculares; que claramente são responsáveis pela vascularização do tecido nectarífero (fig. 4 – B e C) e, continuamente, seguem para vascularizar os estames dos ciclos superiores. Conforme análises no hipanto e tubo floral em direção ao ápice do botão em cortes longitudinais e transversais, ocorre a individualização de feixes vasculares anficrivais, bem como a delimitação de células parenquimáticas e epidérmicas, que darão origem aos filetes dos estames. Em botões mais desenvolvidos nos estágios III e IV, as células do carpelo estão organizadas em 27 a 30 camadas, ainda por células pequenas, arredondadas a cuboides, que tendem a ser menores à medida que se aproximam do ovário.

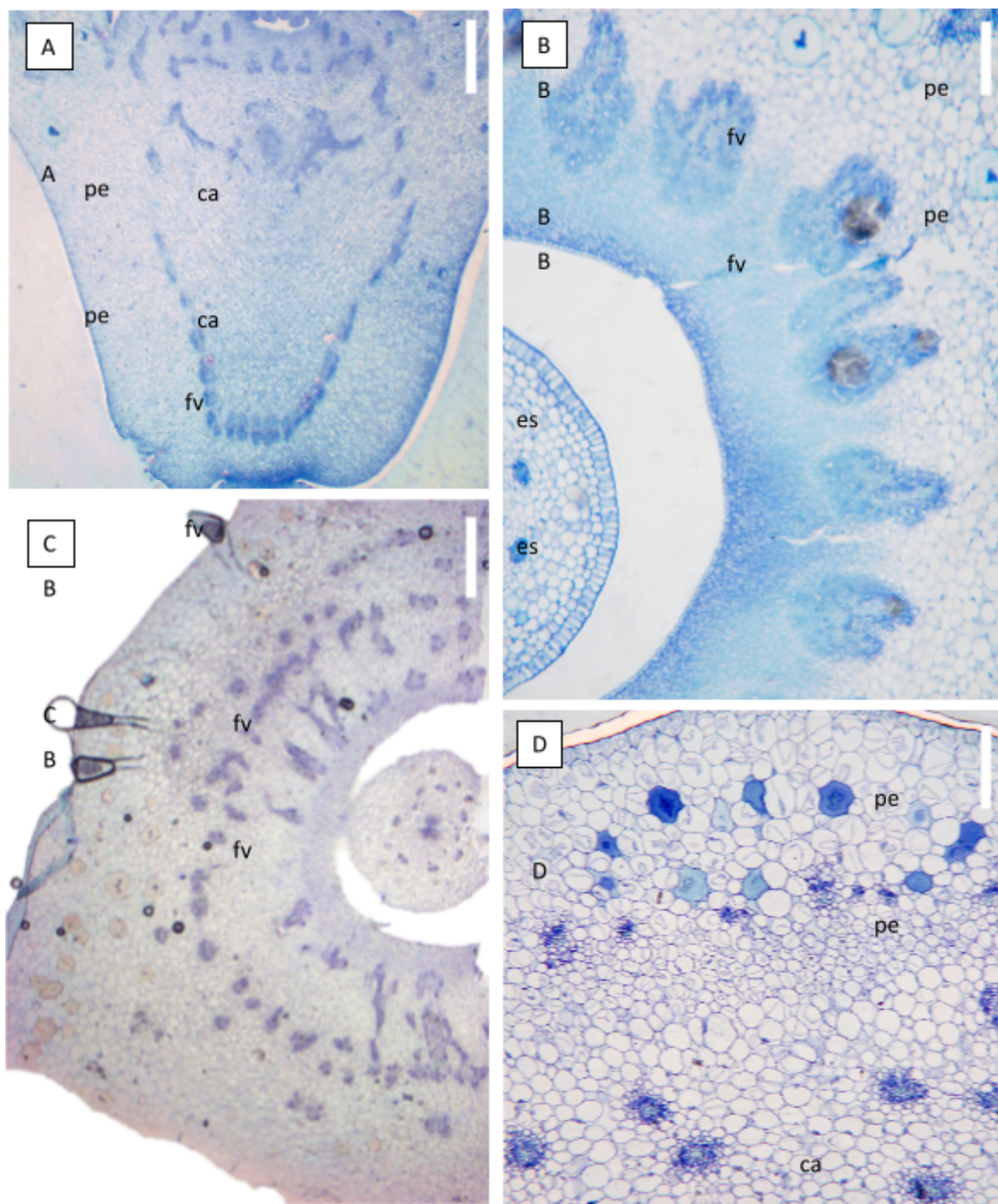


Figura 4 – Imagens do hipanto de *Schlumbergera truncata*. pe: pericarpelo; ca: carpelo; ne: nectário; fv: feixe vascular; es: estigma. A. Botão do estágio I, barra = 200µm, corte longitudinal. B. Botão do estágio III, corte transversal, barra = 200µm. C. Botão do estágio II, corte transversal, barra = 400µm. D. Botão do estágio IV, corte transversal da região do hipanto, barra = 100µm.

Androceu

Na região do conectivo no estágio II, foram encontrados cristais cilíndricos, e um feixe vascular, composto por cordões procambiais de floema e xilema primários. No estágio I o primeiro ciclo de estames (mais interno) já está formado (fig. 5 – E; fig. 6 - B), que será responsável pela formação do tubo estaminal que envolve o estilete. Esta série de estames, é o primeiro ciclo a se desenvolver, caracterizando o androceu com desenvolvimento estaminal centrífugo. Nota-se que os estames posicionados no centro do botão são maiores e mais desenvolvidos que os estames dos dois ciclos consecutivos, visível no estágio I (fig. 5 – E).

Os filetes deste primeiro ciclo de estames são formados e diferenciam-se do tecido meristemático que virá a formar a parede superior do nectário e as escamas. Os demais estames são formados a partir do tecido do tubo (fig. 5 – A-C e E). Nos botões muito pequenos do estágio I (com 0,3cm) já é possível visualizar a diferenciação espacial entre o primeiro ciclo de estames e o segundo, que aumenta progressivamente conforme o desenvolvimento do botão floral, uma vez que os filetes do primeiro ciclo serão inclinados em direção ao centro. Esse movimento vem das divisões celulares periclinais do tubo entre os ciclos de estames, que ocorre em conjunto com o crescimento da cobertura do nectário (fig. 6 – A).

Os filetes do tubo e do primeiro ciclo são irrigados por pequenos feixes vasculares anficrivais (fig. 5 – D), que provém do sistema vascular ascendente. Com 1,5cm de comprimento total do botão, os filetes já estão formados, crescendo em alongamento celular e divisões anticlinais até a antese durante o estágio IV. O mesofilo do filete, tanto do primeiro ciclo quanto dos ciclos

consecutivos, é formado por 3 camadas de células (fig. 5 – D). A epiderme que os recobre é muito bem delimitada por uma camada de células cuboides, sem tricomas e recoberta por cutícula muito fina (fig. 5 – D). Os ciclos de filetes que se desenvolvem do centro para o exterior do botão estão organizados de forma concêntrica, sendo possível delimitar anéis de formação dos ciclos de filete segundo os cortes anatômicos transversais em diferentes alturas do tubo floral (fig. 5 – A e B).

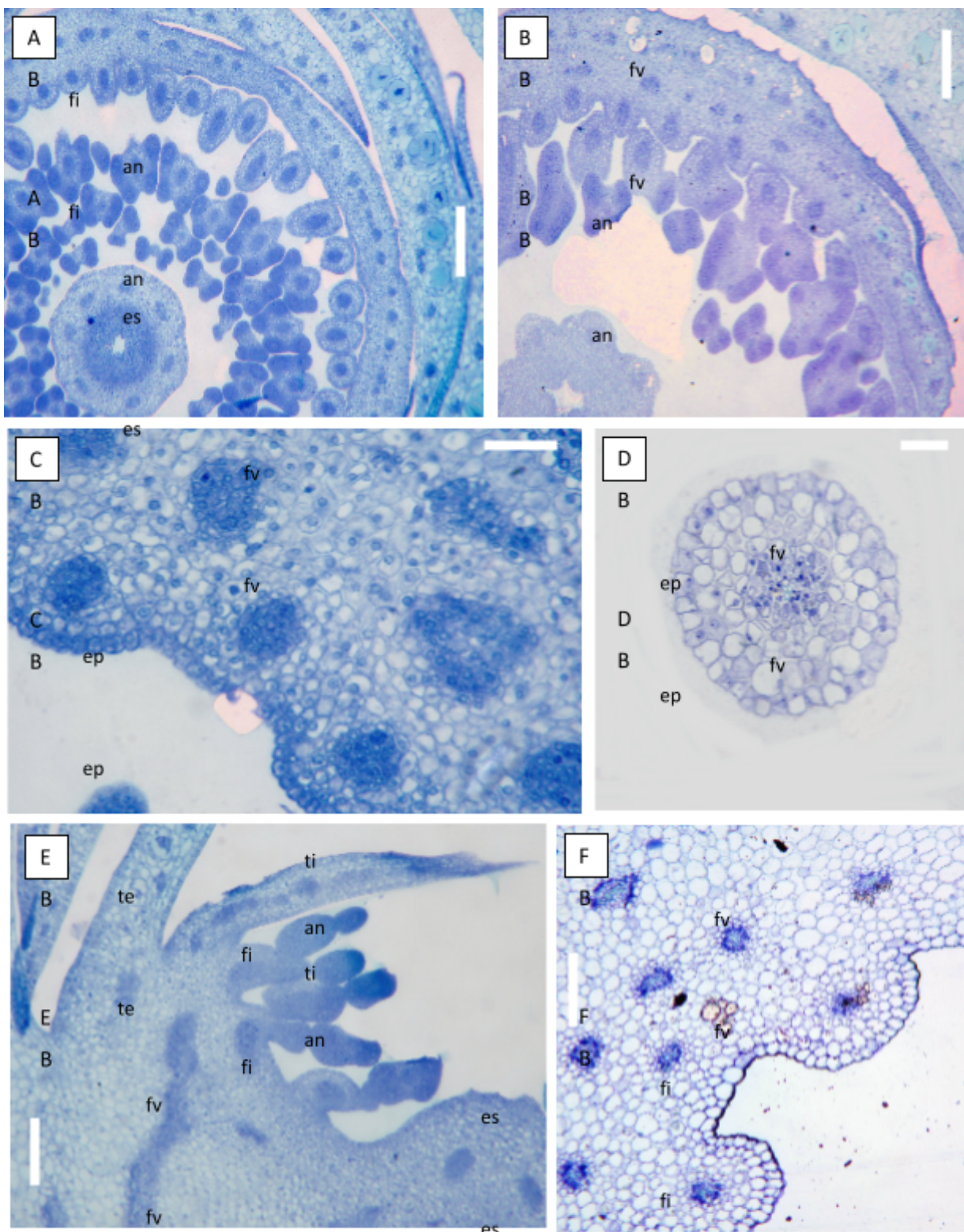


Figura 5 - Desenvolvimento dos filetes de *S. truncata*. fi: filete; ti: tépala interna; te: tépala externa; na: antera; fv: feixe vascular; es: estilete; et: estigma; na: antera; ep: epiderme. A – C. Corte transversal de botão no estágio I, A-B barra = 200µm. C barra = 100 µm. D. Filete no estágio II, corte transversal, barra = 100 µm. E. Inserção dos três ciclos de filetes no tubo floral, distanciamento entre o primeiro e o segundo ciclo em corte longitudinal. Barra = 200 µm. F. Inserção do filete em corte transversal em botão do estágio IV.

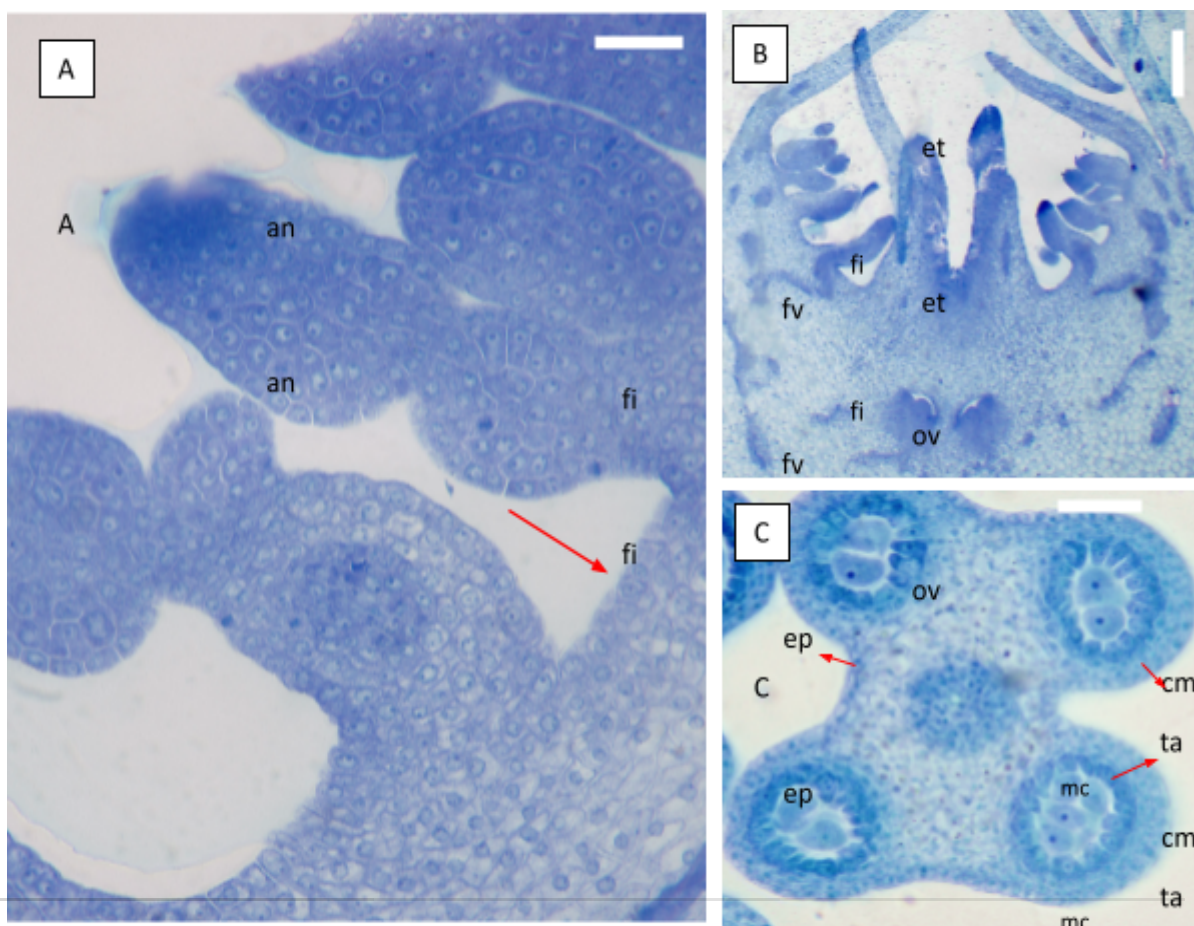


Figura 6 - Androceu de *S. truncata*. an: antera; fi: filete; ep: epiderme; cm: camada média; mc: microsporócito; ta: tapete; fv: feixe vascular; ov: ovário; et: estigma. A. Botão pequeno, estames jovens, corte longitudinal, seta: espaço entre os ciclos de estames, barra = 50µm. B. Botão pequeno, estágio I, corte longitudinal, barra = 200 µm. C. antera em estágio II, corte transversal barra = 50µm.

A antera jovem é composta predominantemente por células meristemáticas (fig. 6 – A). Em anteras já desenvolvidas, a epiderme é composta por células mais ou menos cuboides, com grandes núcleos, endotécio e camada média formadas por células alongadas periclinalmente, o tapete secretor é unisseriado, composto por células grandes predominantemente prismáticas, de citoplasma denso e com grandes núcleos, contornando os microsporócitos em formação (fig. 6 – C). Ao decorrer do desenvolvimento, as anteras são tetrasporangiadas, divididas em duas tecas (fig. 6 – C). Em botões do estágio IV, com 3,5cm de comprimento, foi observado a formação da região de fratura, o estômio, onde a antera se

romperá no processo de deiscência por meio de uma fenda longitudinal. As anteras em estágio IV, com 3cm de comprimento total do botão, ainda apresentam células do tapete, evidenciando o não desenvolvimento completo dos grãos de pólen até este tamanho. As anteras desenvolvem-se com seu ápice voltado para o interior do botão, ficando levemente inclinadas nos estágios I e II (fig. 6 – A e B).

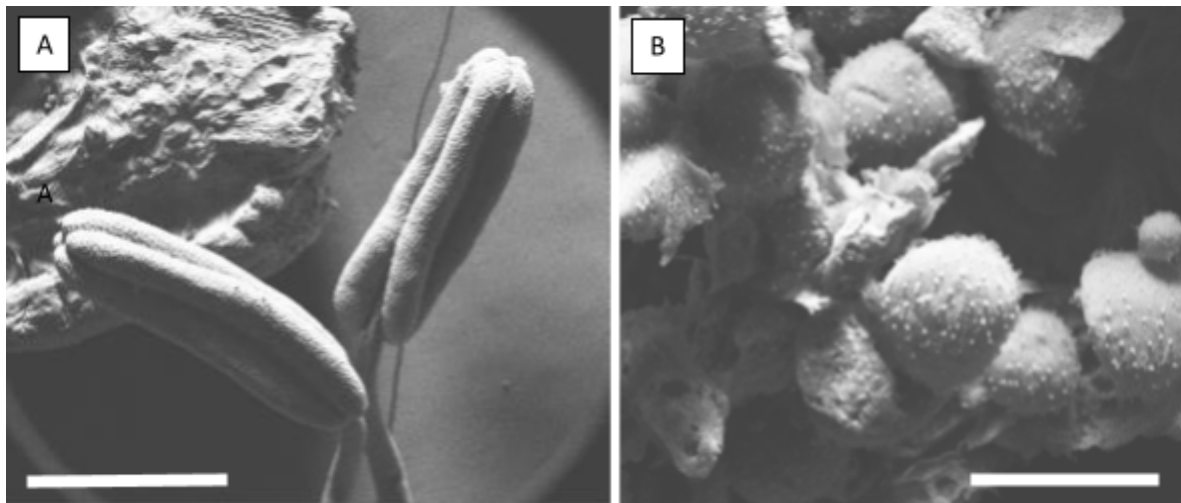


Figura 7 - A. Antera de *S. truncata* em pré antese, barra = 1mm. B. Grão de pólen, Barra = 50µm

Gineceu

Os óvulos desenvolvem-se ligados na parede do ovário, definido como tipo de placentação parietal (fig. 8 e 9). O óvulo está conectado ao ovário pela região da calaza através do funículo (fig. 8 – E). Os óvulos apresentam dois tegumentos, sendo o interno e o externo, visíveis em imagens do estágio III (fig. 8 – F), antes disso os primórdios ovulares já estão bem evidentes durante o estágio I (fig. 8 – A). Os óvulos foram classificados neste trabalho como anátropos.

A superfície interna do ovário é repleta de tricomas, que, possivelmente, funcionam como obturador (fig. 8 – A a D), estas especializações da epiderme

adaxial começam a se desenvolver no estágio II e já estão formadas no estágio IV, durante o estágio I a protoderme é glabra. As células do carpelo logo abaixo da epiderme são pequenas, menores nas camadas mais próximas à epiderme. Durante o estágio IV apresentam formato cúbico pouco arredondado e paredes finas. Estão dispostas em aproximadamente 15 camadas de células. Após estas camadas, do ovário para o exterior do botão, há outra separação de tecido, em que as células parenquimáticas são maiores, arredondadas e em divisão celular, evidenciado pelas novas paredes celulares (fig. 8 – E).

O gineceu possui estigma com 7 lóbulos. As células da epiderme são prismáticas, recobertas por cutícula e ausentes de especializações. O citoplasma das células da epiderme é um pouco mais denso comparado as células do parênquima de preenchimento, que possuem formato cilíndrico com paredes finas pouco irregulares em algumas regiões. As células na região subepiderme são maiores, e diminuem conforme se aproximam do centro. O estigma é irrigado por 7 feixes vasculares anficrivais e possui cavidades mucilaginosas imersas em seu parênquima. Inicia o desenvolvimento a partir de divisões celulares periclinais e anticlinais no estágio I, e as células se alongam e dividem-se em sentido anticlinal do estágio III em diante.

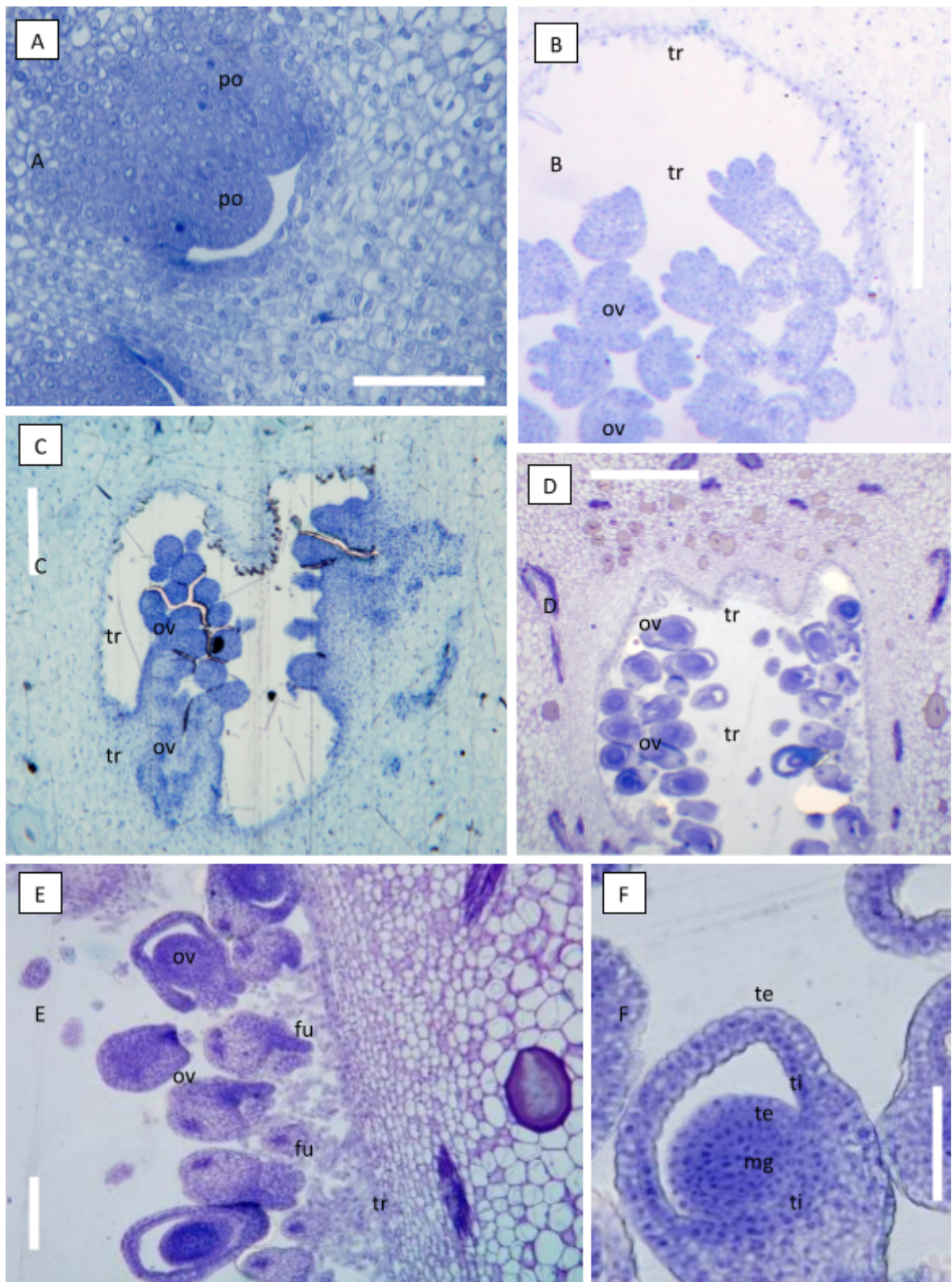


Figura 8 - Gineceu de *S. truncata*. po: primórdio ovular; ov: óvulo; tr: tricoma; fu: funículo; te: tegumento externo; ti: tegumento interno; mg: megasporo. A. Ovário de botão no estágio I. Barra = 100µm. B. Ovário em estágio III. Barra = 200µm. C. Ovário de botão em estágio II. Barra = 200µm. D. Ovário de botão no estágio IV. Barra = 1mm. E. Ovário (D), aproximação dos óvulos. Barra = 200µm. F. Óvulo de (D). Barra = 100µm

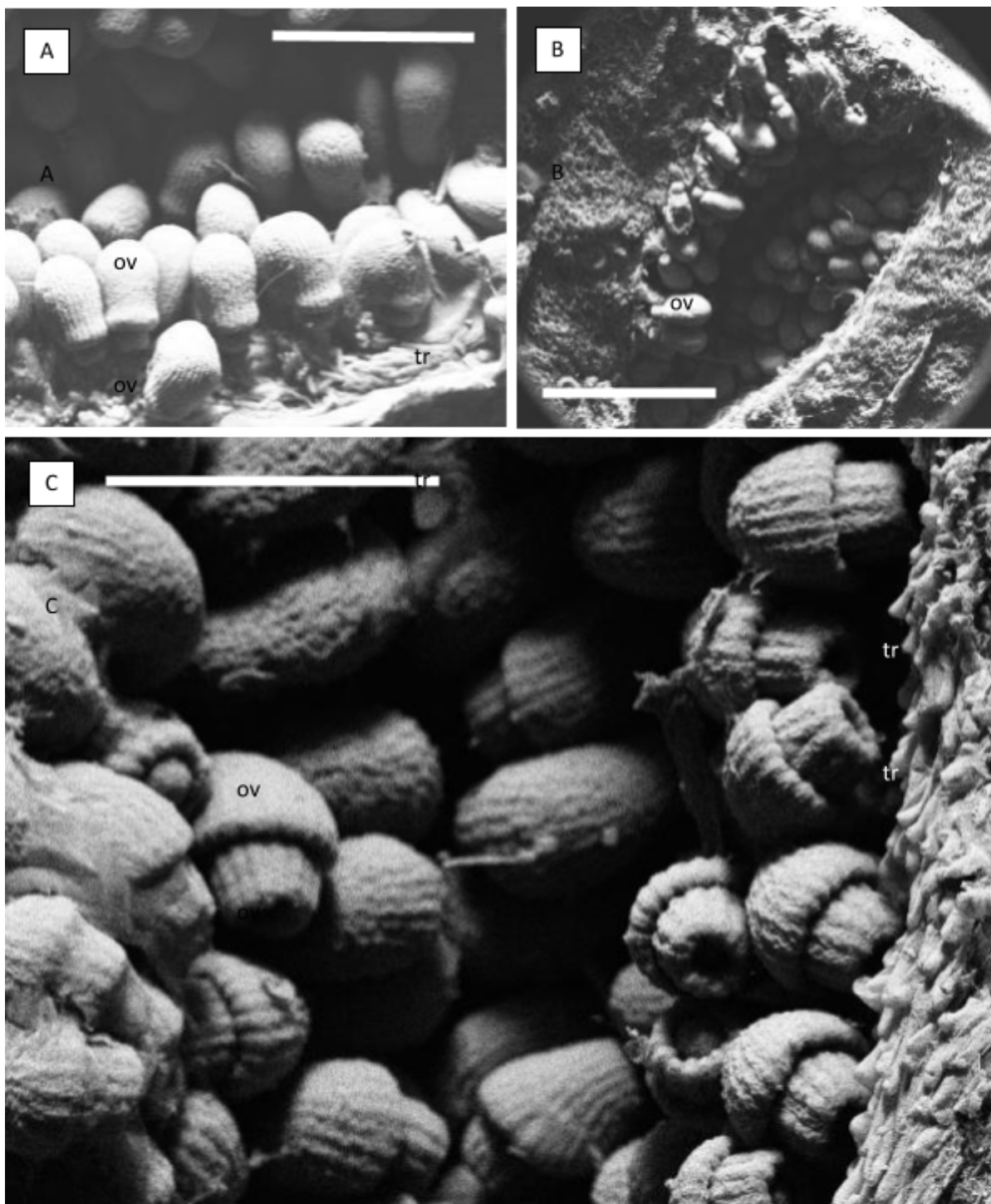


Figura 9 - Óvulos de *S. truncata* por microscopia eletrônica de varredura. Ov: óvulo; tr: tricoma. A. Óvulos de botão com 2,9cm de comprimento (estágio IV). Barra = 400µm. B. Ovário com óvulos de flor em antese (estágio IV). Barra = 1mm. C. Óvulos de botão com 1,5cm de comprimento (estágio III). Barra = 200µm.

Ontogenia do Nectário

As células protodérmicas do nectário no estágio I são cúbicas, dividindo-se em plano anticlinal (fig. 10 – E). No decorrer destas divisões, já no estágio II, a epiderme do nectário está localizada voltada para o centro do botão. É glabra, composta por células predominantemente cubóides, alongadas periclinalmente e maiores que as células do parênquima secretor. Durante este estágio, a região do nectário ainda não é caracterizada, ou seja, é formada por células do meristema fundamental que ainda não se diferenciaram. Estas células são cúbicas, pouco arredondadas e pequenas (fig. 10 – A e E).

O nectário é visivelmente reconhecido a partir do estágio II, constituído por parênquima secretor, com 9-12 camadas de diminutas células com citoplasma denso (fig. 10 – B), sem cavidades mucilaginosas, e com grandes núcleos. Neste estágio as células do parênquima nectarífero estão em grande atividade de divisão celular. As divisões ocorrem em plano periclinal, acompanhando o crescimento da bacia nectarífera, e em plano anticlinal, crescendo em altura e profundidade.

O nectário apresenta uma região de parênquima subnectarífero bem definida, do estágio III em diante (fig. 10 – F), este tecido atua como uma intersecção, realizando a comunicação entre as células do nectário com os elementos do floema e do xilema. As células que fazem a fronteira com os feixes vasculares possuem paredes finas e são um pouco maiores que as células do parênquima nectarífero.

Ao longo do estágio III o nectário já ganha forma, e pode ser comparado como uma “bacia” no fundo do tubo floral (fig. 10 – C; fig. 11 – A e C), sendo

definido neste trabalho como tipo anelar, com subtipo de cobertura, segundo a classificação de Buxbaum (1953).

No estágio IV e em nectários completamente desenvolvidos, as células estão organizadas em 28 – 30 camadas muito bem compactadas, o citoplasma ainda mais denso contrastando visivelmente do parênquima das outras células (fig. 10 – D), devido a intensa atividade próxima da antese.

O teto do nectário, que o faz excêntrico dentro de *Rhipsalideae*, é formada por dois eventos: 1) crescimento das células do tubo e 2) formação de apêndices. O crescimento de células do tubo em direção ao centro do botão, esta região é formada pelo tecido meristemático localizado abaixo do filete, através de divisões anticlinais (fig. 10 – A a D; fig. 11 – A a D;). O aumento de células e, posteriormente, seu alongamento, resulta na formação de uma estrutura de elevação do primeiro ciclo de estames (fig. 11; fig. 12). O desenvolvimento desta estrutura se inicia nos botões próximos a 1 cm de comprimento, já no estágio II, marcadas por uma série de divisões celulares anticlinais e periclinais do tecido meristemático, com células pequenas e de formato arredondado (fig. 10 e 11). Porém a sua formação ocorre ao fim do estágio III, formado majoritariamente por células pequenas e arredondadas nas camadas abaixo da epiderme e por células alongadas e retangulares próximas ao feixe vascular.

Durante o estágio IV, as células pequenas da elevação estão organizadas em aproximadamente 18 camadas (fig. 10 – D). A epiderme é composta por células glabras nas duas faces, cuboides tendendo a arredondadas na região voltada para o interior do botão e de formato

retangular a cuboide na região oposta, recobertas por uma fina camada de cutícula.

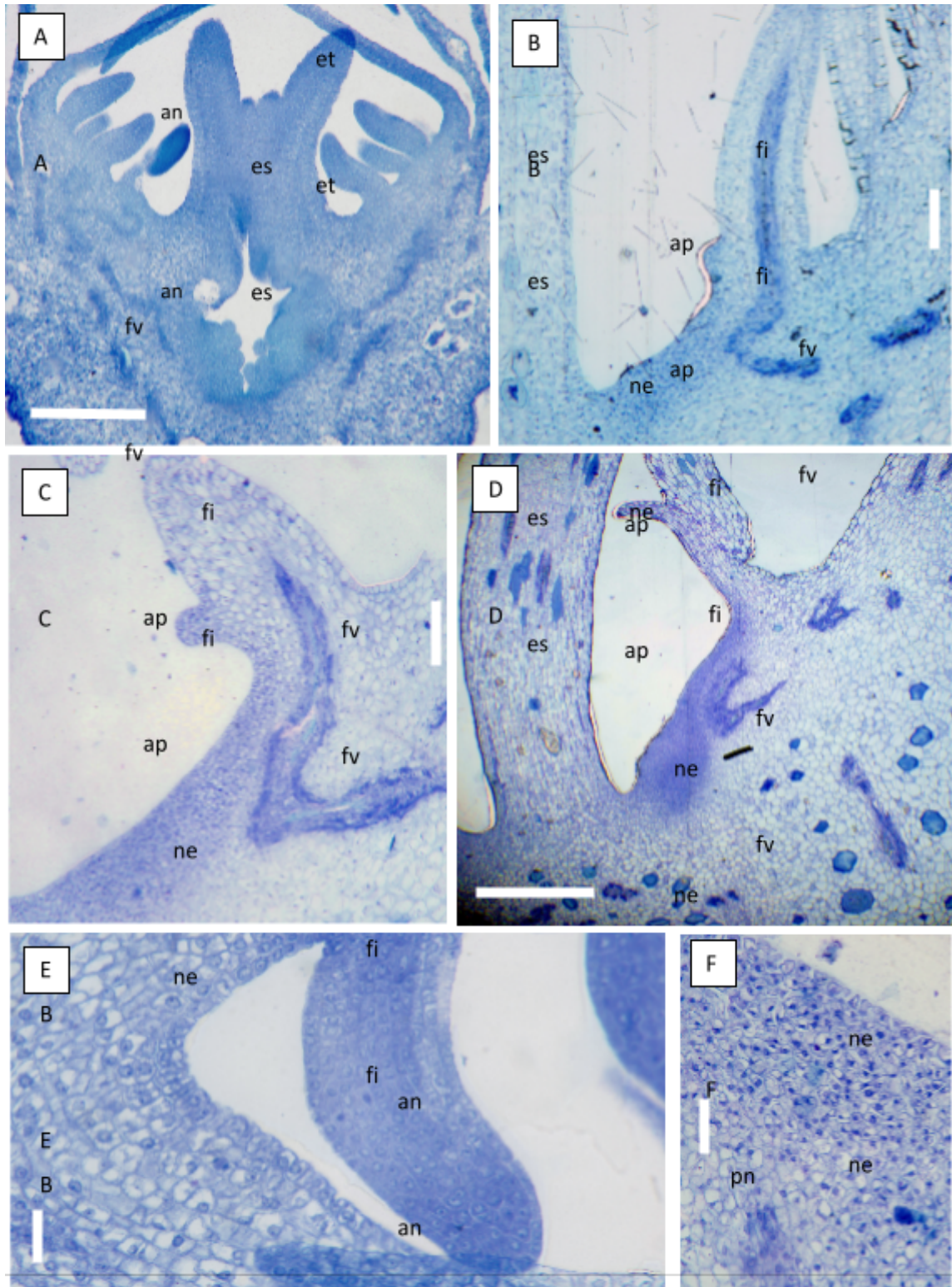


Figura 10 - Região do nectário em contato com o filete do primeiro ciclo de estames de *S. truncata*. an: antera; fi: filete; es: estilete; et: estigma; ne: nectário; pn:

subparênquima nectarífero; ap: apêndice do tipo “escama”; fv: feixe vascular. A. Botão do estágio I, barra = 1mm. B. Botão do estágio II, barra = 200µm. C. Botão do estágio III, barra = 200µm. D. Botão do estágio IV, barra = 1mm. E. aproximação da imagem A, barra = 50µm. F. Tecido nectarífero no estágio III.

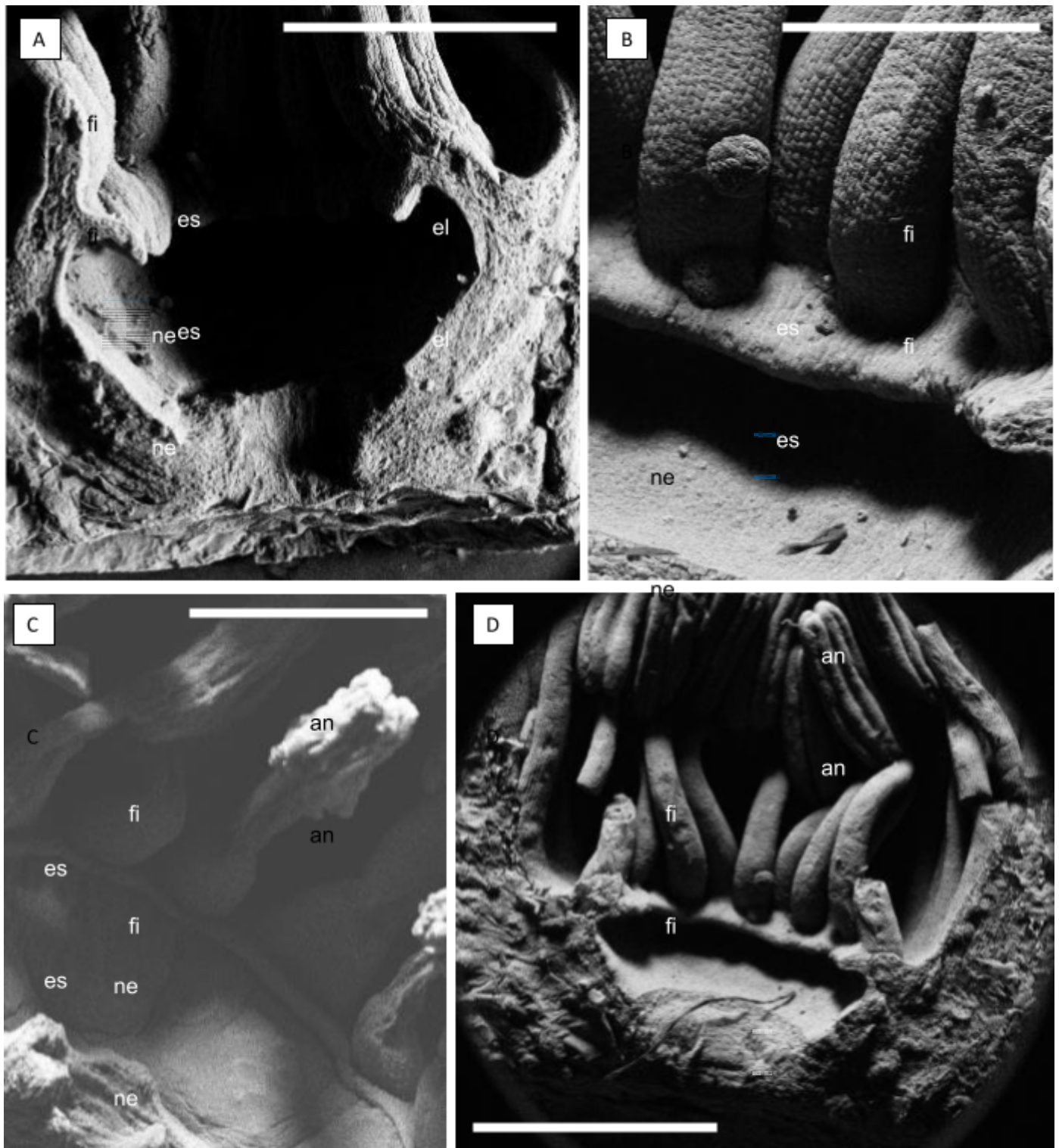


Figura 11 - Nectário floral de *S. truncata* em MEV. Gineceu removido. es: escamas; fi: filete; ne: nectário; an: antera; el: elevação. A. Botão com 2,9cm, barra =

1mm. B. Botão com 1,5cm de comprimento, barra = 400µm. C. Botão com 1,1cm de comprimento, barra = 400µm. D. Botão com 1,5cm de comprimento, barra = 1mm.

Conforme esta região se desenvolve, a angulação da estrutura de cobertura faz com que o primeiro ciclo de estames posicionados logo acima seja cada vez mais tensionado para o centro do botão (fig. 12), possível de ser visualizado no estágio IV, o que virá a formar o pequeno tubo estaminal que envolve o estilete.

Ao decorrer do alongamento, em análises longitudinais, é possível identificar uma pequena estrutura, semelhante a um apêndice, originada do meristema fundamental do tubo (fig. 10; fig. 12), logo na região de intersecção entre o início do tecido que dá origem ao filete. Este apêndice é a segunda parte que compõe o “teto” do nectário e tem morfologia semelhante a uma “escama” (fig. 12 – E), que cresce a partir de divisões anti e periclinais, levemente voltada para baixo. É identificado apenas na base dos filetes como uma pequena protuberância no estágio II (fig. 11 – B), em botões com 0,8cm. Suas divisões celulares ocorrem até botões de 3cm no estágio IV, em todos os sentidos, as células do preenchimento são idênticas as células da estrutura de elevação dos estames, arredondadas e diminutas, o que reforça a origem do tubo, e não do tecido estaminal. A epiderme das “escamas” se assemelha muito a epiderme descrita da estrutura de elevação da cobertura do nectário, sendo formada por células pequenas, cúbicas pouco arredondadas e cobertas por uma fina cutícula. As escamas parecem surgir individualmente para cada unidade de filete em cortes longitudinais, mas são fusionadas lateralmente (fig. 12 - D). O anel de “escamas” forma parte da “cobertura” propriamente dita do nectário, atuando como um meio de impedir o contato direto do ciclo de filetes com o estilete.

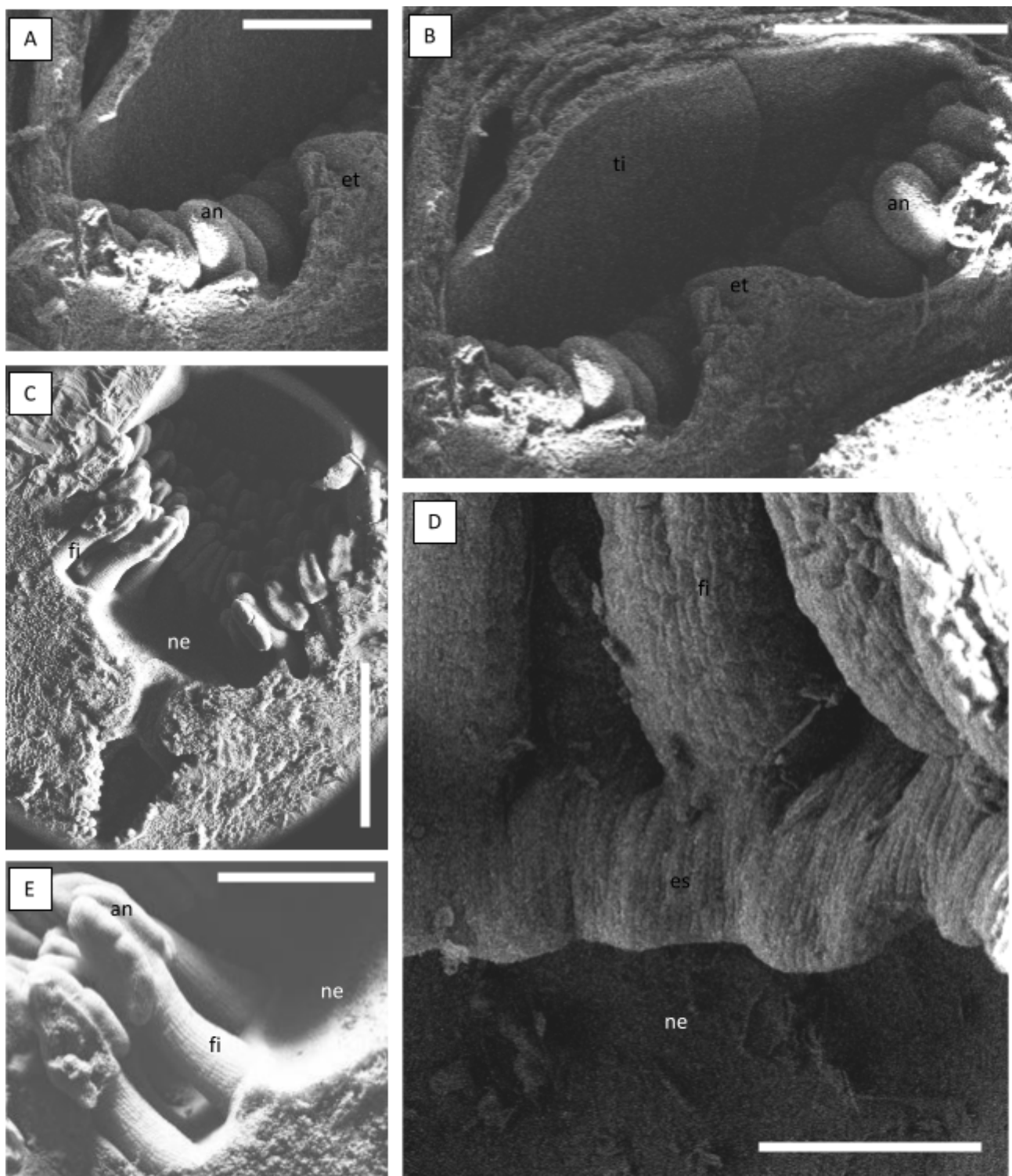


Figura 12 - Botões em desenvolvimento de *S. truncata*. ne: nectário; fi: filete; na: antera; es: apêndice em “escama”; et: estigma; ti: tépala interna. A. Botão com 0,2cm de comprimento, imagem aproximada de B, barra = 200µm B. Botão com 0,2cm de comprimento, barra = 400µm. C. Botão com 0,6cm de comprimento, barra = 1mm. D. Captura dos apêndices em formado de “escama”, gineceu removido, botão com 2,9cm de comprimento, barra = 400µm E. Botão com 0,6cm de comprimento, imagem aproximada de C, barra = 400µm.

DISCUSSÃO

As pétalas e sépalas de *S. truncata* desempenham a função comum de proteger os verticilos férteis no interior do botão contra choques mecânicos, desidratação e demais riscos do meio ambiente. O crescimento das pétalas em um longo tubo e a orientação zigomórfica da flor são características morfológicas que devem colaborar para a síndrome de polinização por beija-flores, como sugerido em Almeida et al. (2013). Uma característica muito interessante é a formação de grandes células de mucilagem no interior das tépalas. Estas estruturas são muito comuns no córtex do caule da maioria das espécies de Cactaceae, e em algumas espécies é ausente em órgãos vegetativos, aparecendo somente em flores e frutos (NOBEL & GIBSON, 1986). O processo de produção celular e composição química do conteúdo mucilaginoso em *S. truncata* ainda é desconhecido, mas estudos com outras espécies de plantas apontam que mucilagens são compostas por heterossacarídeos e monoses, com o objetivo de armazenar água em estado de “gel”, e estão presentes em todos os órgãos de plantas (GREGORY & BAAS, 1989). Idioblastos mucilaginosos são características de plantas xerófitas, muito comuns em espécies de Cactaceae (TRATCHENBERG & FAHN, 1981), apesar de *S. truncata* tratar-se de uma espécie epífita de ambiente úmido, como as florestas tropicais do sudeste brasileiro.

A flor de *S. truncata* apresenta ovário ínfero, caracterizando natureza epígina. Devido a este fato, os tecidos do ovário são envoltos em um hipanto formado a partir do receptáculo floral, o pericarpelo. É evidente que ocorre uma separação de tecidos do pericarpelo e do ovário (carpelos), delimitada pelos feixes vasculares que são responsáveis pela nutrição de todo o botão

floral. As regiões histológicas da base da flor (pericarpelo e ovário) de *S. truncata*, foram nomeadas com base em Almeida et al. (2018). O pericarpelo é composto por cavidades mucilaginosas, células parenquimáticas maiores e arredondadas. Como mediador destas grandes regiões, encontra-se o sistema de vascularização ascendente, composto por feixes colaterais de grande porte que se ramificam à medida que se aproximam da região da coluna da flor (ápice do ovário e base do tubo floral). Uma ramificação destes feixes desce para irrigar o ovário, invertendo o xilema em relação ao floema. Em seguida, novas ramificações dão origem aos traços vasculares do estilete, enquanto os demais feixes irrigam o nectário, o primeiro ciclo de estames, os demais estames e às tépalas, passando pelo tubo floral.

A superfície interna do ovário da flor de *S. truncata* é repleta de tricomas, chamados de “papilas” na descrição de Buxbaum (1953). Estes tricomas estão presentes na epiderme do ovário, na região do funículo. São comuns em Cactaceae, na qual acredita-se que funcionam como obturador. Já foram descritos para cactos epífitos de Hylocereeae e Rhipsalideae (ALMEIDA et al. 2010; SANTOS & ALMEIDA (2018), em cactos colunares do gênero *Cereus* (SILVA, 2020) e *Opuntia* spp. (FUENTES-PERES et al. 2009). Esses tricomas, juntamente com os funículos e as camadas internas do carpelo, dão origem a polpa, durante o desenvolvimento do fruto (BUXBAUM, 1953, ALMEIDA et al. 2018).

Os primórdios de estames em outras espécies desenvolvem-se antes do desenvolvimento dos carpelos e depois das pétalas e sépalas, em um processo coreografado com os outros verticilos, mas não de maneira dependente (GOLDBERG et al, 1993). Os numerosos estames são basipétalos, isto é, desenvolvem-se a partir do tecido do tubo floral, e estão

dispostos em 3 ciclos. O ciclo mais próximo do centro é o primeiro a se desenvolver, seguido pelos dois ciclos consecutivos, caracterizando desenvolvimento de sequência centrífuga. Este conjunto de características é comum e já foi descrito para Cactaceae (BUXBAUM, 1953; ROSS, 1982; BARTHLOTT & HUNT, 1993).

O primeiro ciclo de estames tem íntima ligação com o nectário, os filetes crescem ao redor do estilete formando um círculo. Esta característica compõe uma importante particularidade do gênero *Schlumbergera*. Este anel de estames está sobre a elevação do tecido do tubo floral, que por sua vez, recobre a fenda nectarífera, atuando como uma proteção. Desde os estágios iniciais, estes estames já possuem uma diferenciação espacial quanto aos demais ciclos, e, em conjunto com a rota dos feixes vasculares, é possível inferir que sua origem e função já estão determinadas, desde o início do desenvolvimento do botão floral.

O nectário se forma a partir das divisões celulares do fundo do tubo floral, das células meristemáticas localizadas no espaço entre o primeiro ciclo de estames e a base do estilete. As células começam a se diferenciar em tecidos nectaríferos a partir do crescimento do botão com 0,5cm. Logo, sua diferenciação acontece após o início do desenvolvimento de todos os verticilos florais. As células do parênquima nectarífero possuem citoplasma denso, grandes núcleos com um ou mais nucléolos. Essas características evidenciam a intensa atividade celular. A secreção de néctar ocorre por meio de estômatos na epiderme do nectário, quando o tecido está completamente desenvolvido. Apesar de não terem sido encontrados em imagens neste trabalho, este tipo de secreção já foi observado em estudos anteriores (ALMEIDA et al, 2013; BUXBAUM, 1953). A epiderme do nectário também se manteve glabra desde

sua formação até a maturação do tecido, não apresentando nenhum tipo de papila ou tricoma secretor.

Depois de um hiato de quase 70 anos, desde as especulações realizadas por Buxbaum (1953), nossos resultados trouxeram luz sobre esse incomum tipo de nectário. Buxbaum (1953) sugeriu que o “teto” do nectário, em *S. truncata*, é formado pelos estames primários fusionados na base envolvendo o estilete. Embora, Almeida et al. (2013), analisando a morfologia do nectário floral de *S. truncata*, da flor em antese, chegou à conclusão semelhante, nossos resultados demonstraram que o teto do nectário floral de *S. truncata*, tem total origem no tubo floral. Apesar do ciclo central de estames ser importante na morfologia floral e na apresentação dos recursos florais, foi possível demonstrar que a origem dos tecidos nectaríferos, bem como os apêndices que formam a cobertura (teto) do nectário floral tipo anelar, subtipo “cobertura” têm origem no tubo floral.

A elevação do tecido do tubo, localizada logo acima do nectário, e a formação de uma coroa de “escamas” no tecido entre o tubo e os filamentos são responsáveis pela estrutura característica de “recipiente”. O tecido da elevação e das escamas não possuem características de células específicas de produção ou secreção de néctar, no entanto fazem parte da construção do nectário. As células responsáveis pela formação da elevação e, posteriormente, das escamas, diferenciam-se e formam-se do meristema localizado embaixo do tecido dos filetes.

Durante este processo de crescimento e alongamento da cobertura do nectário, o primeiro ciclo de estames situado logo acima é empurrado para o centro pelo crescimento das células da estrutura de elevação, formando o anel

estaminal em volta do estilete. As escamas se desenvolvem levemente inclinadas para baixo, até alcançarem a superfície do estilete, formando a cobertura propriamente dita do “recipiente” do nectário.

Entre a camada de células densas e compactadas do nectário, há a comunicação com um tecido nectarífero intermediário, denominado de subparênquima nectarífero por Nepi (2007). Nesta região as células são um pouco maiores, o citoplasma um pouco menos denso e com paredes finas. Essas células estão em contato com os elementos celulares do floema e do xilema, atuando como um meio de comunicação entre o tecido vascular e o tecido nectarífero, levando os nutrientes necessários para a produção de néctar.

Ainda não se sabe ao certo as vantagens adaptativas da morfologia conspícua do nectário floral de *S. truncata* devido à escassez de estudos sobre morfologia de nectários florais em Rhipsalideae, mas em conjunto com as características da síndrome de polinização por aves, acreditamos que exista ligação com a morfologia do corpo e dieta do agente polinizador.

A cobertura sobre o nectário confere uma proteção mecânica que, além de aproximar as anteras centrais ao rosto do polinizador durante a polinização, também funciona como um meio de manter a concentração de açúcares do néctar mais estável. As flores de *S. truncata* são maiores, mais robustas e duram mais tempo em antese que flores generalistas do gênero *Rhipsalis* (ALMEIDA et al, 2013). O nectário com a estrutura de cobertura evita que a água da solução do néctar evapore para o ambiente, mantendo o néctar menos viscoso por mais tempo. Ainda no trabalho de Almeida et al. (2013), através de estudos da concentração do néctar em Rhipsalideae, os autores

reportaram o néctar de *S. truncata* como diluído, apresentando 37% de concentração de açúcares na solução do néctar. Estudos com preferências de néctar por beija-flores apontam que os animais tendem a preferir e buscar flores com néctares menos viscosos e mais adocicados (TAMM & GASS, 1986).

CONCLUSÃO

Por fim, este trabalho colabora de maneira detalhada para elucidar as questões levantadas há mais de 70 anos quanto à origem e estrutura do nectário floral de *Schlumbergera truncata*. Concluimos através das análises anatômicas e morfológicas presentes neste estudo que a cobertura sobre o nectário da espécie estudada, formada pela estrutura de elevação e as escamas, são formadas do meristema do tubo floral, e não possuem relação com o meristema dos filetes. No entanto, é possível inferir que o primeiro ciclo de estames do botão tem íntima relação com a cobertura, diagnosticado pelo desenvolvimento centrífugo e pela distância até o segundo ciclo.

As características morfológicas florais de *S. truncata*, como o tamanho da flor, simetria e coloração das peças florais, a morfologia do nectário são importantes caracteres para a classificação filogenética de Rhipsalideae. Em adição, através desse estudo foi possível demonstrar a origem ontogenética do nectário floral de *S. truncata*, apresentando novas informações sobre o desenvolvimento da flor dessa espécie, que pode ser explorado futuramente em análises evolutivas e comparativas com outros grupos de Rhipsalideae.

Mais estudos a respeito do desenvolvimento de nectários e sobre sua morfologia se mostram necessários para realizar comparações e entender ainda mais sobre a biologia destas estruturas no contexto de Cactaceae, principalmente das espécies endêmicas do Brasil. Visto que sua forma atrelada a função revela muito sobre a história evolutiva e filogenética dos grupos de plantas. Ademais, nectários trazem detalhes que traduzem informações sobre as síndromes de polinização e sua relação com o meio

ambiente, o que vem a ser enriquecedor para estudos sobre a história de colonização de cactos nos ambientes tropicais e costeiros.

REFERÊNCIAS

- Anderson, E. F. (2001). **The cactus family**. Timber Press., Portland, Oregon.
- Almeida O. J. G., Paoli, A. A. S. & Souza, L.A. (2010). Flower morpho–anatomy in *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). **Revista Mexicana de Biodiversidad**, 81(1), 65-80.
- Almeida, O. J. G., Paoli, A. A. S. & Cota-Sánchez, J. H. (2012). A macro-and micromorphological survey of floral and extrafloral nectaries in the epiphytic cactus *Rhipsalis teres* (Cactoideae: Rhipsalideae). **Flora**, 207(2), 119-125.
- Almeida, O. J., Cota-Sánchez, J. H. & Paoli, A. A. (2013). The systematic significance of floral morphology, nectaries, and nectar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, 15(5), 255-268.
- Almeida, O. J. G., Souza, L. A., Paoli, A. A. S., Davis, A. R. & Cota-Sánchez, J. H. (2018). Pericarp development in fruit of epiphytic cacti: implications for fruit classification and macro-morphology in the Cactaceae. **Canadian Science Publishing**. 96(9): 621-635.
- Arakaki, M., Christin, P. A., Nyffeler, R., Lendel, A., Eggli, U., Ogburn, R. M., Spriggs, E., Moore, M. J. & Edwards, E. J. (2011). Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 108(20), 8379-8384.

- Ávila-Argáez, M., Yáñez-Espinosa, L., Badano, E., Barragán-Torres, F. & Flores, J. (2019). Extrafloral nectaries of *Cylindropuntia imbricata* (Cactaceae) in the southern Chihuahuan Desert: anatomy and interaction with ants. **Arthropod-Plant Interactions**, 13(3), 401-409.
- Barthlott, W. (1983). Biogeography and evolution in neo-and paleotropical Rhipsalinae (Cactaceae). **Dispersal and distribution**, Paul Parey (241–248), Hamburg, Germany.
- Barthlott, W., Burstedde, K., Geffert, L. L. Ibsch, P. L. Korotkova, N., Miebach, A., Rafiqpoor, M. D. Stein, A. & Mutke, J. (2015). Biogeograph and biodiversity of cacti. **Schumannia** 7, 1-205.
- Barthlott, W. & Hunt, D. R. (1993). **Flowering plants Dicotyledons: Cactaceae** (pp. 161-197). Springer, Berlin, Germany.
- Barthlott, W. & Rauh, W. (1975). Notes on the morphology, palynology, and evolution of the genus *Schlumbergera* Lemaire (Cactaceae). **Cactus and Succulent Journal**, 47, 5-21.
- Bernardello, G. (2007). **Nectaries and nectar: A systematic survey of floral nectaries**. (pp. 19-128). Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Bonnier, G. (1879). **Les nectaires: étude critique, anatomique et physiologique**. G. Masson, Paris, France.
- Boyle, T. H., Karle, R. & Han, S. S. (1995). Pollen germination, pollen tube growth, fruit set, and seed development in *Schlumbergera truncata* and *S. × buckleyi* (Cactaceae). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 120(2), 313-317.

- Buxbaum, F. (1953). **Morphology of Cacti: Flower**. Abbey Garden Press, Pasadena, California, USA.
- Calvente, A., Zappi, D. C., Forest, F. & Lohmann, L. G. (2011a). Molecular phylogeny, evolution, and biogeography of South American epiphytic cacti. **International Journal of Plant Sciences**, 172(7), 902-914.
- Calvente, A., Zappi, D. C., Forest, F. & Lohmann, L. G. (2011b). Molecular phylogeny of tribe Rhipsalideae (Cactaceae) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hatiora*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 58(3), 456-468.
- Camacho-Velázquez, A., Arias, S., Márquez-Guzmán, J. & Vázquez-Santana, S. (2019). The structure of nectaries in the genus *Strombocactus* (Cactaceae) La estructura de los nectarios en el género *Strombocactus* (Cactaceae). **Botanical Sciences**, 97 (1): 100-109.
- Cota-Sánchez, J. H. & Abreu, D. D. (2007). Vivipary and offspring survival in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). **Journal of Experimental Botany**, 58(14), 3865-3873.
- Fuentes-Perez, M., T. Terrazas & S. Arias. 2009. Anatomía floral de cinco especies de *Opuntia* (Opuntioideae, Cactaceae) de México. **Polibotánica**, 27,87-100.
- Gibson, A. C. & Nobel, P. S. (1986). **The cactus primer**. Harvard University Press, Cambridge, Massachussets, USA.
- Goldberg, R. B., Beals, T. P., & Sanders, P. M. (1993). Anther development: basic principles and practical applications. *The Plant cell*, 5(10), 1217–1229. <https://doi.org/10.1105/tpc.5.10.1217>

- Gregory, M. & Baas, P. (1989). A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. **Israel Journal of Botany**, 38:2-3, 125-174. DOI: 10.1080/0021213X.1989.10677119
- HersHKovitz, M. A. & Zimmer, E. A. (1997). On the evolutionary origins of the cacti. **Taxon**, 46(2), 217-232.
- Hunt, D. R. (1969). Contributions to the Flora of Tropical America: LXXVII: A synopsis of *Schlumbergera* Lem.(Cactaceae). **Kew Bulletin**, 23(2), 255-263.
- Hunt, D., Taylor, N. & Charles, G., (2006). **The New Cactus Lexicon**. DH books, Milborne, Port, UK.
- Johansen, D.A. (1940). **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book, New York, New York, USA.
- Karnovsky, M.J. (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. **Journal of Cell Biology**, 27, 137-138.
- Korotkova, N., Borsch, T., Quandt, D., Taylor, N. P., Müller, K. F. & Barthlott, W. (2011). What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from the epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). **American Journal of Botany**, 98(9), 1549-1572.
- Mauseth, J. D. (1982). Development and ultrastructure of extrafloral nectaries in *Ancistrocactus scheeri* (Cactaceae). **Botanical Gazette**, v. 143, n. 3, p. 273-277.
- Nepi M. (2007) Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson S.W., Nepi M. & Pacini, E. (eds) **Nectaries and Nectar**. Springer, Dordrecht.

- Nobel, P. S. & Gibson, A. C. (1986). **The Cactus Primer**. Reino Unido: Harvard University Press.
- Norris, T. (1941). Torus anatomy and nectary characteristics as phylogenetic criteria in the Rhoadales. **American Journal of Botany**, 28(2), 101-113.
- Nyffeler, R. (2002). Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from *trnK/matK* and *trnL-trnF* sequences. **American Journal of Botany**, 89(2), 312-326.
- Nyffeler, R. & Eggli, U. (2010). A farewell to dated ideas and concepts: molecular phylogenetics and a revised suprageneric classification of the family Cactaceae. **Schumannia**, 6, 109-149.
- O'Brien, T. P., Feder, N. & McCully, M. E. (1964). Pylchomatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O. **Protoplasma**, 59, 367-373
- Pacini, E. N. M. V. J., Nepi, M. & Vesprini, J. L. (2003). Nectar biodiversity: a short review. **Plant Systematics and Evolution**, 238(1-4), 7-21.
- Ross, R. (1982). Initiation of stamens, carpels, and receptacle in the Cactaceae. **American Journal of Botany**, 69(3), 369-379.
- Rowley, G. D. (1997). **A History of Succulent Plants**. Strawberry Press, Mill Valley, California, USA.
- Santos, B. M. & Almeida, O. J. G.. Anatomia floral do cacto epífita *Rhipsalis teres* (Vell.) Steud. (Cactaceae). In: José Max Barbosa de Oliveira Junior. (Org.). **Análise crítica das ciências biológicas e da natureza**. 1ed. Ponta Grossa: Atenas, 2019, v. 1, p. 297-303.
- Sandoval-Molina, M. A., Zavaleta-Mancera, H. A., León-Solano, H. J., Solache-Ramos, L. T., Jenner, B., Morales-Rodriguez, S. & Janczur, M. K.

- (2018). First description of extrafloral nectaries in *Opuntia robusta* (Cactaceae): Anatomy and ultrastructure. **PloS One**, 13(7), p. 1-26.
- Simpson, B. B., & Neff, J. L. (1983). Evolution and diversity of floral rewards. **Handbook of experimental pollination biology**. (pp. 360–372). Van Nostrand Reinhold, New York, New York, USA.
- Stevens, P. F. (2017). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017. Acessado em 23 de maio de 2020. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>
- Tamm, S. & Gass, C.L. (1986). Energy intake rates and nectar concentration preferences by hummingbirds. **Oecologia**, 70, 20–23.
- Taylor, N.P. & Zappi, D. (2017). *Schlumbergera truncata* (amended version of 2013 assessment). **The IUCN Red List of Threatened Species**. Acessado em 20 de abril de 2020. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T152554A121599528>.
- Trachtenberg, S. & Fahn, A. (1981). The Mucilage Cells of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.-Development, Ultrastructure, and Mucilage Secretion. **Botanical Gazette**. 142, 2pp. 206 – 213.