

MORFOANATOMIA E HISTOQUÍMICA DE NECTÁRIOS FLORAIS DE *Parkia multijuga*

MORPHO-ANATOMY AND HISTOCHEMISTRY OF THE FLORAL NECTARIES OF *Parkia multijuga*

Alex Sandro Henrique de Jesus Freitas^{1*}; Michael John Gilbert Hopkins²; Maria Gracimar Pacheco de Araújo³

¹Universidade Federal de Mato Grosso. alex_henrike@hotmail.com

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. ³Universidade Federal do Amazonas

RESUMO

Parkia multijuga Benth. é uma espécie que possui uma grande distribuição na bacia Amazônica. Pertence à família Leguminosae, subfamília Mimosoideae, seção *Sphaeroparkia*. O gênero apresenta uma variação no grupo de polinizadores, podendo ser morcegos ou insetos. Das três espécies da seção *Sphaeroparkia*, duas são polinizadas por insetos e apenas em *P. multijuga* o polinizador é desconhecido. A presença de nectários e a produção de néctar ajudam a definir o polinizador. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar os nectários florais da espécie. O nectário se forma a partir da adnação dos estames, formando um disco nectarífero na parte basal das flores onde são observadas as principais substâncias produzidas. Os testes histoquímicos revelaram a presença de substâncias lipídicas, substâncias fenólicas e proteínas; porém, em baixa concentração, o que sugere pouca produção de néctar. Estes resultados corroboram para a evidência de que o polinizador de *Parkia multijuga*, seja inseto, uma vez que a quantidade de néctar não é atrativo para morcegos.

PALAVRAS-CHAVE: *Sphaeroparkia*, benguê, néctar.

ABSTRACT

In this work, has been studied the floral nectaries of *Parkia multijuga* Benth. a species that has a wide distribution in the Amazon basin and belongs to the Leguminosae family. The genus of this species presents a variation in the group of pollinators, which may be bats or insects. The results show that the nectary is formed from the adnation of stems, forming a nectar disk in the basal part of the flower, the presence of trichomes was observed only in the ovary, but the main substances evidenced are not found in the nectar disk. Histochemical tests reveal the presence of lipid substances, phenolic substances and proteins in the cells of the nectar disk, therefore in low concentration, would suggest little nectar production, would explain the change of pollinators in this section of the genus.

KEYWORDS: *Sphaeroparkia*, benguê, nectar.

INTRODUÇÃO

Parkia multijuga Benth., conhecida como benguê ou arara-tucupi, é uma espécie originária da Bacia Amazônica, com distribuição até o sudeste brasileiro. As flores estão dispostas em capítulos globosos, com flores férteis tubulares tanto masculinas quanto hermafroditas. Nas flores hermafroditas, o estilete projeta-se para fora da corola e o estigma é pequeno e terminal. Já nas flores masculinas, o gineceu é reduzido ou geralmente ausente. O cálice e a corola são pentálobos, com conação e adnação. As anteras possuem deiscência longitudinal e o ovário é unicarpelar e pluriovulado. A coloração das flores é amarela⁽¹⁾. A antese das flores é noturna⁽²⁻³⁾. A espécie pertence à família Leguminosae, subfamília Mimosoideae, seção *Sphaeroparkia*.

Em Mimosoideae há nectários presentes na base dos filamentos estaminais e na base do ovário ou ginóforo. Vistos de cima, se assemelham a um disco lobado, mas seu desenvolvimento pode variar de uma simples epiderme glandular ou uma pequena área secretora, até uma volumosa “almofada” parenquimática. Na espécie *Parkia multijuga* o nectário se apresenta como um tecido glandular profundo, na face adaxial do tubo floral. A morfologia da flor e a quantidade de recursos oferecidos é um aspecto coevolutivo entre a planta e o polinizador, desta forma, a presença de nectários e a quantidade de néctar produzido são aspectos que podem definir o tamanho do polinizador, uma vez que nectários são tecidos secretores de néctar, envolvidos em interações com animais. O termo não se refere a uma estrutura anatômica bem definida, pois pode variar quanto a sua origem, função, localização e constituição e essas características refletem o tipo de polinizador⁽⁴⁻⁷⁾.

O gênero *Parkia* apresenta uma variação no grupo de polinizadores, podendo estes serem morcegos ou insetos. A seção *Sphaeroparkia* tem três espécies: *P. ulei*, *P. velutina* e *P. multijuga*, sendo as duas primeiras polinizadas por abelhas e apenas de *P. multijuga* o polinizador ainda é desconhecido. O objetivo deste trabalho foi investigar a anatomia e a histoquímica dos nectários florais de *P. multijuga*, na busca de elucidar os possíveis visitantes e/ou polinizadores desta

espécie. Os resultados dessa investigação contribuem para entender a evolução dos sistemas de polinização do gênero *Parkia*, no que diz respeito à troca do polinizador, de morcegos em grupos mais basais para insetos, em grupos mais derivados, condicionada pela morfologia da flor e produção de néctar.

MATERIAL E MÉTODOS

O material foi coletado na Associação de Servidores do INPA (INPA), ao lado do campus 3 do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, em 27 de agosto de 2015. Os exemplares foram depositados no Herbário do INPA, registrado com o número Oliveira, L.C. 86 (INPA). As inflorescências foram coletadas em pré-antese e antese e fixadas em FAA70 e FNT, por 24 a 48 horas, respectivamente, e estocadas em álcool etílico 70%, indefinidamente ⁽⁹⁾. Das inflorescências, foram selecionadas as flores masculinas e hermafroditas, sendo 3 da porção apical, 3 da porção mediana e 3 da porção basal, caracterizando 9 flores para cada indivíduo. O material foi incluído em Paraplast Plus® (Sigma) em um processador de tecidos (Leica TP 1020) e posteriormente os blocos foram cortados com navalha de aço, em um micrótomo rotativo de avanço automático (RM 2245 da Leica), com espessura de 5µm. As amostras foram então coradas com safrablau = azul de astra e safranina 9:1⁽¹⁰⁾, azul de toluidina⁽¹¹⁾ e coloração hematoxilina-eosina⁽¹²⁾, conforme protocolos. Para os testes histoquímicos, as secções foram tratadas com Sudan IV⁽⁹⁾, para detectar a presença de lipídeos; cloreto férrico⁽⁹⁾ para compostos fenólicos; vermelho de rutênio para substâncias pécnicas⁽⁹⁾; lugol para amido⁽⁹⁾; e Xilidine Ponceau para proteínas⁽¹³⁾. Foi aplicado tratamento controle para os testes histoquímicos, de acordo com a indicação dos respectivos autores acima citados. As observações e a obtenção das imagens foram realizadas em fotomicroscópio Zeiss Primo Star MicroImaging 37081) acoplado a uma câmera digital (Canon PC1252) com as escalas nas mesmas condições ópticas.

RESULTADOS

As sépalas, em secção transversal apresentam epiderme uniestratificada com pouco extrato cuticular (Fig 1). As células da epiderme são arredondas em ambas as faces, em *Parkia multijuga* as células da epiderme adaxial são maiores que as células da epiderme abaxial. As paredes celulares são pouco espessas. Não foram visualizados a presença de tricomas ou estômatos. O mesófilo é parenquimático e homogêneo e possui traços vasculares.

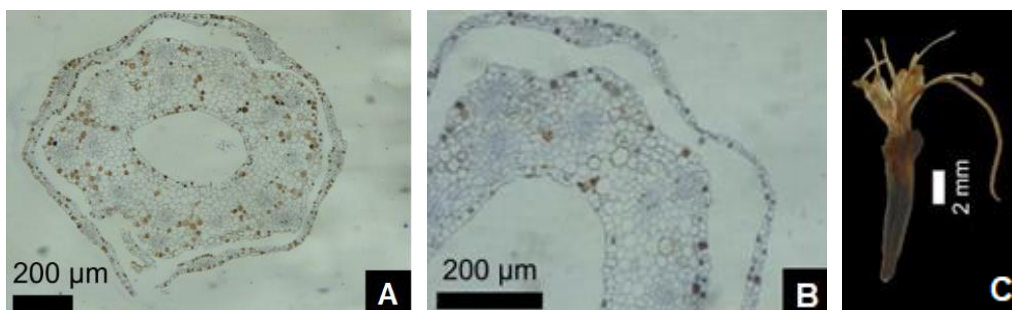


Figura 1. Cortes microscópicos do nectário extrafloral de *P. multijuga*. A. Visão geral, no aumento de 200 μ , da estrutura microscópica do nectário extrafloral. B. Detalhe, no aumento de 200 μ , das sépalas e sua epiderme uniestratificada. C. Detalhe da flor hermafrodita de *P. multijuga*.

As pétalas apresentam uma epiderme cubóide em *Parkia multijuga*, com uma variação do tamanho do lúmen das células em ambas as epidermes. Todas as espécies apresentam epiderme unisseriada, com extrato cuticular pouco espesso, ausência de estômatos e tricomas. Apresentam paredes celulares pouco espessas. O mesófilo é parenquimático e homogêneo, constituídos por células arredondadas com paredes finas e tamanhas diferentes com a presença de traços vasculares.

Próximo à região mediana das flores férteis, os dez estames se fundem entre si e com as pétalas, produzindo um disco. As células epidérmicas são arredondadas em ambas as faces, destituídas de tricomas. A epiderme em ambas as faces apresenta extrato cuticular perceptível. Abaixo da epiderme há um parênquima homogêneo com células de paredes finas, apresentando traços vasculares, um para cada filete. Em *P. multijuga* é possível observar o ovário no interior do tecido (Fig. 2). A epiderme externa e interna do ovário são

uniestratificadas, com células de citoplasma abundante. A epiderme abaxial apresenta células cubóides ou levemente retangulares, enquanto que na epiderme adaxial as células são levemente arredondadas. O mesófilo é parenquimático homogêneo, constituídos por células arredondadas com paredes finas e tamanhas diferentes com a presença de traços vasculares nos filetes, além disso, é possível visualizar a presença de idioblastos contendo lipídeos e compostos fenólicos, dispersos no parênquima e na epiderme do disco.

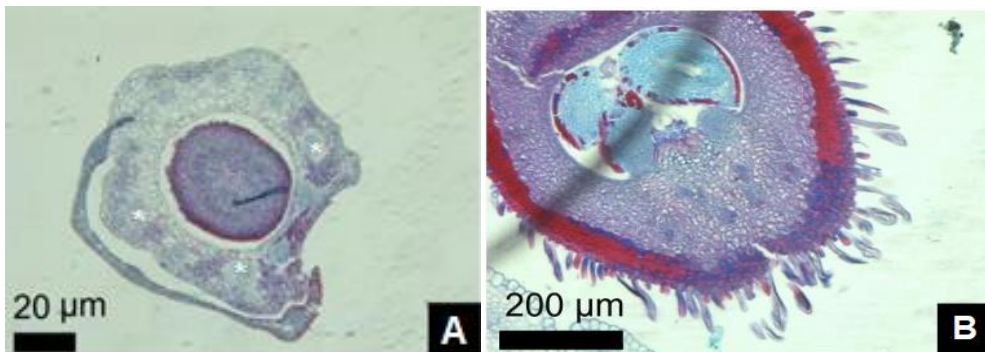


Figura 2. Detalhe do ovário em *P. multijuga*. A. Estrutura do disco nectarífero, detalhe (asteriscos) dos estames soldados formando a estrutura. B. Detalhe do ovário, evidenciando a presença de tricomas em sua superfície.

Os testes histoquímicos realizados mostraram resultado positivo para a presença de compostos fenólicos, mucilagens, taninos e proteínas nas células do disco nectarífero. A espécie apresentou a presença de gotas lipídicas dispersas nas células do parênquima cortical, nas pétalas e principalmente nas sépalas.

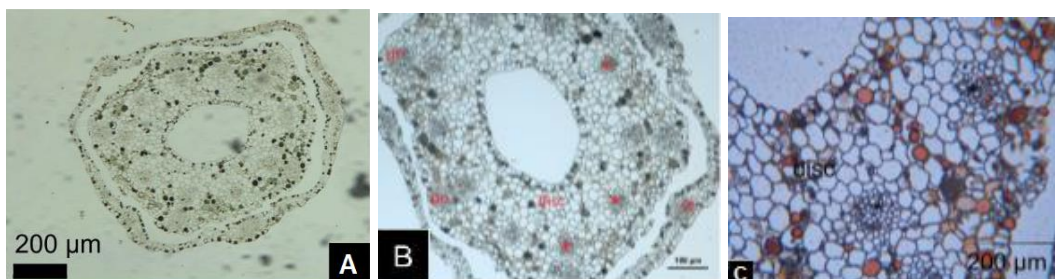


Figura 3. Detalhes dos resultados histoquímicos evidenciando a presença de substâncias em *P. multijuga*. A- Taninos; B – Compostos fenólicos e C – Lipídeos. Legenda: Disc = disco nectarífero, se = sépala, pe = pétala e * = estames.

DISCUSSÃO

As espécies de *Parkia*, apresentam uma morfologia floral semelhante com algumas variações entre as seções, relacionadas a sexualidade floral, o seu desenvolvimento, o tamanho do diâmetro das flores, a rigidez das flores⁽¹⁴⁾. Uma das características compartilhadas entre as espécies é a presença de dez estames por flor, que são adnatos na base das pétalas, formando um disco nectarífero intraestaminal, também observado por Fortunato et al.⁽¹⁵⁾ em *Calliandra*, *Inga affinis* e *I. saltensis* e por Borges⁽¹⁶⁾ em *Calliandra parvifolia*, *Calliandra brevipes* e *Inga subnuda*. Em ambos os trabalhos é possível perceber que este é um caráter de interesse taxonômico, uma vez que, nem todas as espécies de Mimosoideae citadas possuem.

Em *Parkia* a ausência de estômatos, de pelos glandulares e concentração de substâncias no mesófilo, indicam que o néctar é exsudado via cutícula. As observações feitas por Ancibor⁽⁸⁾ descrevem que em Mimosoidae, os nectários se apresentam na base dos filetes e do ovário e visualizados de cima, formam um disco lobado cujo desenvolvimento varia entre as tribos; em *Parkia*, o nectário se assemelha a uma pequena área de reserva de substâncias. Os tecidos de armazenamento de substâncias das espécies de *Parkia* apresentam composição semelhantes, que correspondem a epiderme e ao parênquima nectarífero descritos por Nepi⁽¹⁷⁾ e se assemelham ao tecido secretor que compõe os nectários de *Hymenea stigonocarpa* Mart. (Leguminosae - Caesalpinoidae) mencionados por Paiva e Machado⁽¹⁸⁾.

Freitas⁽¹⁹⁾ em seu estudo analisou diversas espécies do gênero e observou que com relação às amostras analisadas, a histologia do parênquima permanece semelhante. Porém a densidade e concentração de substâncias nos tecidos dos verticilos florais se diferenciam espécies polinizadas por morcegos apresentavam uma concentração maior com relação às espécies polinizadas por insetos. Embora estejam presentes em todas partes, as substâncias se concentram no parênquima do disco, especialmente nas flores nectaríferas das seções *Parkia* e *Platyparkia*.

Ancibor⁽⁸⁾, descreve a presença de taninos nestas regiões, o que foi corroborado em nosso estudo. Tanino é um metabólito secundário associado à proteção contra herbivoria⁽²⁰⁻²²⁾. Os testes histoquímicos também detectaram a presença de outras substâncias associadas a essas regiões, como: proteínas, lipídios, compostos fenólicos, porém a concentração nas células parece ser diminuta em *P. multijuga*, sugerindo que a produção de néctar pode ser baixa ou inexistente.

CONCLUSÃO

As análises anatômicas florais indicaram que a espécie *P. multijuga* apresenta tricomas e estômato apenas na superfície de seu ovário, acredita-se que assim como nas outras espécies e com a literatura, a produção do néctar está ligada a formação do disco lobado pela adnação e conação dos filetes, formando um disco nectarífero. Os testes histoquímicos evidenciaram acúmulo de substâncias mais próximo da região basal do que ao ápice. Foram detectados a presença de compostos fenólicos, porém nenhum tipo de açúcar foi encontrado durante as análises, o que indica que ou a concentração é mínima ou as flores foram coletadas fora do horário de produção de néctar. A evidência de substâncias e sua concentração nas flores de *P. multijuga* são importantes para entender como ocorreu a troca dos sistemas de polinização do gênero inseto-morcegos, buscando compreender se há vestígios que nos permitam compreender se a diminuição na produção do recurso alterou o seu visitante ou a diminuição na visita, alterou a concentração de produção de néctar.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório Temático de Microscopia e Nanotecnologia – LTMN, bem como o técnico Lucas Castanhola Dias pelo auxílio na preparação do material e confecção das lâminas e a Capes pela concessão da bolsa.

REFERÊNCIAS

- (1) Hopkins, HCF. 1984. Floral biology and pollination ecology of the neotropical species of *Parkia*. *Jo. of Ecolo.*, 72 (1): 1-23.
- (2) Hopkins, MJG.; Hopkins, HCF.; Sothers, CA. 2000. Nocturnal pollination of *Parkia velutina* by *Megalopta* bees in Amazonia and its possible significance in the evolution of chiropterophily. *Jo. of Tr. Ecol.*, 16: 733-746.
- (3) Chaves, SR. 2015. Biologia floral e polinização de *Parkia ulei* (Harms) Kuhl. e *Parkia multijuga* Benth. (FABACEAE-MIMOSOIDEAE). Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- (4) Fahn, A. 1979a. Secretory tissues in plants. New York: Academic Press, New York, USA, 302 p.
- (5) Baker, HG, Baker, I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: Jones, C.E, Little, R.J, eds. Handbook of experimental pollination biology. New York: Van Nostrand Reinhold Company Inc., 117-141.
- (6) Nepi, M.; Pacini, E. 1993. Pollination, pollen viability and pistil receptivity in *Cucurbita pepo*. *Ann Bot*, 72: 527–536.
- (7) Fahn, A. 2000. Structure and function of secretory cells. In: Hallahan DL, Gray JC, Callow JA, eds. Advances in botanical research incorporating advances in plant pathology, volume 31: plant trichomes. London: Academic Press.
- (8) Ancibor, E. 1969. Los nectarios florales en Leguminosas-Mimosoideas. *Darwiniana*. 15: 128- 142.
- (9) Johansen, DA. 1940. Plant microtechnique. Mc Graw Hill, New York.
- (10) Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos*, 61: 255
- (11) O'brien, TP.; Feder, N.; Mccully, ME. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- (12) Wissowzky, A. 1876. Ueber das Eosin als reagenz auf Hämoglobin und die Bildung von Blutgefäßen und Blutkörperchen bei Säugetier und Hühnerembryonen. *Archiv. für mikroskopische Anatomie*. 13: 479-496

- (13) Vidal, BC. 1970. Dichroism in collagen bundles stained with xylydine Ponceau 2R. *Anal Histochem.*, 15:289-296.
- (14) Hopkins, HCF. 1986. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae), Monografia. Flora Neotropica 43, New York Botanical Garden.
- (15) Fortunato, H.; Beyhaut, R.; Bortoluzzi, RLC.; Gómez-Sosa, EV.; Izaguirre, P.; Lima, C.; Miotto, STS.; Baptista, LRM.; Ulibarri, E. 2008. Fabaceae. In: Zuloaga, F.O.; Morrone, O.; Belgrano, M.J. Catálogo de las plantas vasculares del Cono Sur. Vol. 2. Missouri Botanical Gardens Press, Saint Louis. Pp. 2287-2319.
- (16) Borges, LAAP. 2010. Biologia reprodutiva de espécies lenhosas de Leguminosae na Caatinga. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2010.
- (17) NEPI, M. 2007. Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson, S.; Nepi, M.; Pacini, E, editors. Nectaries and nectar. Dordrecht: Springer; pp. 129–166.
- (18) PAIVA, E.A.S.; MACHADO, S.R. 2008. The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. *Ann. Bot.*, 101: 125-133.
- (19) Freitas, ASHJ. 2017. Morfoanatomia e histoquímica de nectários florais de *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) e suas relações com os sistemas de polinização no gênero. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- (20) Kutchan, T.M 2001. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Plant. Physiol*, 125: 58-62.
- (21) Monteiro, JM.; Lins-Neto, EMF.; Amorim, ELC.; Strattmann, RR.; Araújo, EL.; Albuquerque, UP. 2005. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. *Revista Árvore* 29: 999-1005.
- (22) Thomson, JD; Wilson, P. 2008. Explaining evolutionary shifts between bee and hummingbird pollination: convergence, divergence, and directionality. *International Journal of Plant Sciences*. 2008;169:23–38.