

Anatomia comparada dos órgãos vegetativos de espécies de *Bulbophyllum* seção *Didactyle* (Lindl.) Cogn. e *Bulbophyllum* seção *Xiphizusa* Rchb.f. (Orchidaceae)¹

Ligia Debone Piazza², Eric de Camargo Smidt² e Cleusa Bona^{2,3}

Recebido: 2.07.2014; aceito: 17.11.2014

ABSTRACT - (Comparative anatomy of the vegetative organs of species of *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* (Lindl.) Cogn. and *Bulbophyllum* sect. *Xiphizusa* Rchb.f. (Orchidaceae)). *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* and *B. sect. Xiphizusa* are monophyletic and sister groups, inserted in the neotropical clade of the genus. The species occur as epiphytes or rupicolous in mountainous areas with predominance of rocky fields. This study aimed to comparatively describe the anatomy of the vegetative organs of 13 species of these sections. This work highlights for the first time the lipophilic secretion of trichomes in young leaves; uniform xeromorphic characters between species of the two sections as thick cuticle, presence of idioblasts, aquifer parenchyma, and fibers along the vascular bundles; absence of prismatic crystals in the root and pseudobulb in *B. sect. Didactyle* species and absence of idioblast with spiral thickening in root, epidermis with thickening wall in pseudobulb and predominance of heterogeneous mesophyll leaves of species of *B. sect. Xiphizusa*, could be considered synapomorphic character state to the sections, showing the importance of the anatomy in systematic studies.

Keywords: epiphytes, leaf anatomy, monocots, pseudobulb, root anatomy

RESUMO - (Anatomia comparada dos órgãos vegetativos de espécies de *Bulbophyllum* seção *Didactyle* (Lindl.) Cogn. e *Bulbophyllum* seção *Xiphizusa* Rchb.f. (Orchidaceae)). *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* e *B. sect. Xiphizusa* são grupos monofiléticos irmãos, inseridos no clado neotropical do gênero. As espécies ocorrem como epífitas ou rupícolas em áreas montanhosas com predomínio dos campos rupestres. O objetivo foi descrever comparativamente a anatomia dos órgãos vegetativos de 13 espécies dessas seções. O trabalho evidencia pela primeira vez a secreção lipofílica dos tricomas na folha jovem; caracteres xeromorfos uniformes entre as duas seções, como a cutícula espessa, presença de idioblastos, parênquima aquífero e fibras junto aos feixes vasculares; a ausência de cristais prismáticos na raiz e bulbo nas espécies de *B. sect. Didactyle* e a ausência de idioblastos com espessamento espiralados na raiz, espessamento na parede epidérmica do pseudobulbo e predomínio de mesófilo heterogêneo nas folhas das espécies de *B. sect. Xiphizusa* podem ser considerados estados de caractere sinapomórfico para as seções mostrando a importância da anatomia em estudos sistemáticos.

Palavras-chave: anatomia da raiz, anatomia foliar, epífitas, monocotiledôneas, pseudobulbo

Introdução

O gênero *Bulbophyllum* Thouars (Epidendroideae, Dendrobieae, Bulbophyllinae) é considerado o maior gênero pantropical de Orchidaceae, com aproximadamente 2.200 espécies (Gravendeel *et al.* 2014). Na região neotropical, o gênero é representado por um clado composto por seis seções monofiléticas delimitadas a partir de análises filogenéticas moleculares (Smidt *et al.* 2011).

Segundo Smidt *et al.* (2011), duas destas seções: *Bulbophyllum* sect. *Xiphizusa* Rchb. f. e *B. sect. Didactyle* (Lindl.) Cogn. são grupos irmãos em um clado bem suportado por dados moleculares, sendo o labelo dividido em hipoquilo e epiquilo, um estado de caractere sinapomórfico para essas duas seções. Além desta sinapomorfia morfológica, as espécies destas seções compartilham características como pseudobulbo unifoliado, folha coriácea, inflorescências delgadas, com flores dispostas dísticamente na raque,

1. Parte da dissertação de Mestrado da primeira Autora

2. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Jardim da Américas, Caixa Postal 19031 81531-980 Curitiba, PR, Brasil

3. Autor para correspondência: bonacleusa@gmail.com

presença de estelídeos e dentes na porção ventral da coluna (Smidt *et al.* 2011). No entanto, as seções diferem vegetativamente pelo pseudobulbo oblongo e 4-angular, com superfície lisa e pelas folhas oblongas bem desenvolvidas, com pelo menos 10 cm de comprimento e 2-3 cm de largura, em *B. sect. Didactyle*; e pseudobulbo discoide, comparativamente menor, com superfície rugosa e pelas folhas elípticas menores, com menos 5 cm de comprimento e 0,5-1 cm de largura, em *B. sect. Xiphizusa* (Smidt 2007).

Os representantes de *B. sect. Xiphizusa* e *B. sect. Didactyle* são epífitos ou rupícolas, presentes predominantemente em campos rupestres (campos de altitude) e florestas de Cerrado e Mata Atlântica (Smidt & Borba 2007, Smidt *et al.* 2007). Segundo Smidt *et al.* (2011), *B. sect. Didactyle* apresenta sete espécies, distribuídas do norte ao sul, entre a Venezuela e Santa Catarina (Brasil); entre leste e oeste são encontradas do Estado de Pernambuco (Brasil) até a Amazônia peruana. As espécies ocorrem como epífitas no Cerrado, raramente na Mata Atlântica e rupícolas em campos rupestres. *Bulbophyllum sect. Xiphizusa* possui 23 espécies distribuídas do México até o Paraguai e a leste até o Estado da Bahia (Brasil). As espécies são encontradas como rupícolas em campos rupestres e epífitas na Mata Atlântica, mata de galeria e Cerrado (Smidt *et al.* 2011).

Caracteres anatômicos vegetativos constituem uma importante ferramenta para respaldar as reconstruções filogenéticas de Orchidaceae, em diferentes níveis de classificação (Pridgeon 1982, Holtzmeier *et al.* 1998, Yukawa & Stern 2002, Figueroa *et al.* 2008, Carlsward & Stern 2009, Smidt *et al.* 2013). Os caracteres anatômicos vegetativos mais utilizados para a família são o número de camadas de velame; presença de tilossomos; tipo de espessamento da exoderme e endoderme; espessamento da cutícula da folha e do pseudobulbo; tipo de tricomas; presença de cristais, idioblastos com parede espessada (folha e pseudobulbo) e idioblastos mucilaginosos; mesofilo homogêneo ou heterogêneo; disposição dos feixes vasculares no mesofilo; e presença de coléteres (Pridgeon 1982, Poremski & Barthlott 1988, Scatena & Nunes 1996, Stern & Judd 2001, 2002, Yukawa & Stern 2002, Stern & Carlsward 2006, Figueroa *et al.* 2008, Carlsward & Stern 2009, Silva *et al.* 2010, Aybeke 2012, Smidt *et al.* 2013, Cardoso *et al.* 2014).

Embora Gravendeel *et al.* (2014) tenham apresentado uma ampla literatura que faz referência a anatomia de *Bulbophyllum* e Stern (2014) referiram-se a *Bulbophyllum* como um gênero bem estudado,

poucos são os trabalhos que utilizam os caracteres anatômicos como suporte à filogenia do grupo. Um desses trabalhos é o de Mohana Rao & Khasim (1987) que utilizaram a presença de um anel de esclerênquima envolvendo o cilindro vascular para distinguir dois gêneros da subtribo Dendrobiinae, *Bulbophyllum* e *Dendrobium*. Recentemente, Smidt *et al.* (2013) identificaram características anatômicas foliares sinapomórficas na resolução de *B. sect. Micranthae*, como cutícula espessa, epiderme simples, estômatos tetracíticos com câmaras supraestomáticas e presença de tricomas. Na revisão de Gravendeel *et al.* (2014), as características predominantes em *Bulbophyllum* são: velame uniestratificado, exoderme e endoderme com parede espessa, tilossoma lamelado ou esponjoso, cilindro vascular poliarco e medula esclerificada na raiz; células aquíferas com espessamento em espiral na raiz, pseudobulbo e folhas, células mucilaginosas constantes no pseudobulbo e folha; tricomas afundados na epiderme, estômatos tetracíticos na face abaxial, hipoderme, feixes vasculares com bainha de esclerênquima e ausência de estegmata na folha.

Com base nas evidências filogenéticas que indicam que estas duas seções são grupos irmãos, o objetivo deste trabalho foi descrever a anatomia vegetativa de seus representantes, visando responder às seguintes questões: 1) Dada a diferenciação macromorfológica vegetativa entre as seções, será que existe algum caráter diagnóstico micromorfológico útil para diferenciar tanto as seções quanto grupos de espécies dentro de cada seção? 2) Quais caracteres compartilhados poderiam ser indicados como fruto da adaptação ao ambiente xérico que ambas as seções ocupam?

Material e métodos

Amostragens e coleta dos táxons - Foram analisadas seis das sete espécies de *Bulbophyllum sect. Didactyle* e sete das 23 espécies de *Bulbophyllum sect. Xiphizusa*. Os dados das espécies, vouchers, hábito, e órgão analisado de cada indivíduo coletado estão sumarizados na tabela 1. As amostras foram fixadas em FAA70 (Johansen 1940) e armazenadas em etanol 70%. Foram selecionadas de uma a três amostras de raiz, pseudobulbo e folha completamente desenvolvida de cada espécime coletado (tabela 1). Foram analisadas folhas jovens de *B. perii* (mudas micropropagadas) para análise do tricoma. As amostras foram retiradas da região mediana de cada órgão.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) - As superfícies da lâmina foliar, do pseudobulbo e o velame foram analisados em MEV. Para detecção da presença ou ausência de tilossomos no velame, foram feitos cortes paradérmicos na superfície da raiz, removendo as células ou paredes periclinais externas, a fim de visualizar a parede periclinal interna. Para essas análises, foram utilizadas amostras fixadas em FAA 70 (Johansen 1940). O material foi desidratado em série etílica ascendente e seco via ponto crítico com CO₂ (aparelho CPD 030, Leica®). Em seguida, o material foi fixado com fita de cobre adesiva, em suportes metálicos, e metalizado com ouro (equipamento Balzers Union FL 9496 SCD 030). As análises e as eletromicrografias foram feitas em microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM - 6360LV), no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Análise em microscopia de luz - Foram confeccionadas lâminas semipermanentes a partir de cortes à mão livre, com auxílio de lâminas de barbear, ou amostras incluídas em Polietilenoglicol 1500 U.S.P. (PEG). Para inclusão em PEG, as amostras foram pré-infiltradas em solução de PEG e álcool etílico 70% na proporção de 1:1, em estufa a 56 °C por 12 horas; seguido de

infiltração com solução pura de PEG, por 4 horas. As secções foram feitas com 35 µm de espessura em micrótomo de rotação com navalha de aço. As lâminas foram coradas com azul de astra e safranina (Bukatsch 1972), montadas em gelatina glicerínada (Kaiser 1880) e vedadas com esmalte incolor.

Lâminas permanentes foram preparadas a partir do material processado e incluído em historresina (Leica®), segundo orientação do fabricante. As secções foram feitas em micrótomo de rotação com navalha de aço, com 5 µm de espessura. As lâminas foram coradas com azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964).

A espessura da cutícula foi classificada conforme proposto por Morris *et al.* (1996): pouco espessa (menor que 3 µm); moderadamente espessa (de 3-10 µm) e espessa (acima de 10 µm). A espessura foi definida pela média de três mensurações por folha/planta.

Para a detecção de polissacarídeos totais no interior dos tricomas foi utilizada a técnica de PAS (McManus 1948). Para a análise dos idioblastos com paredes espessadas, as amostras de pseudobulbo e folha foram maceradas segundo a técnica de Franklin (1945), coradas com safranina aquosa a 1% e montadas em lâminas semipermanentes com gelatina glicerínada (Kaiser 1880).

Tabela 1. Lista das espécies de *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* e *B.* sect. *Xiphizusa*, com respectivos dados de hábito, voucher e órgão analisado. Ru: rupícola; Ep: epífito; R: raiz; P: pseudobulbo; F: folha.

Table 1. List of *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* and *B.* sect. *Xiphizusa* species with habit, voucher and organ analyzed. Ru: rupicolous; Ep: epiphytic; R: root; P: pseudobulb; F: leaf.

Seção	Espécie	Hábito	Voucher	Órgão analisado
<i>Didactyle</i>	<i>B. exaltatum</i> Lindl.	Ru	E.C. Smidt <i>et al.</i> 753	R, P, F
	<i>B. involutum</i> Borba, Semir & F. Barr	Ru	E.L. Borba s.n	R, P, F
	<i>B. meridense</i> Rchb. F.	Ep	E.C. Smidt <i>et al.</i> s.n.	F
	<i>B. perii</i> Schltr.	Ep	Bento s.n.	R, P, F
	<i>B. perii</i> Schltr.	Ep	W.S. Mancinelli & M.E. Engels 1143	R, P, F
	<i>B. tripetalum</i> Lindl.	Ep, Ru	W.S. Mancinelli & M.E. Engels 1141	R, P, F
<i>Xiphizusa</i>	<i>B. weddellii</i> (Lindl.) Rchb. F.	Ru	C. Azevedo 188	R, P, F
	<i>B. bidentata</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Ru	E.C. Smidt <i>et al.</i> 777	R, P, F
	<i>B. ciluliae</i> Bianch. & J.A.N.Bat.	Ru	E.C. Smidt <i>et al.</i> 805	R, P, F
	<i>B. chloropterum</i> Rchb. f.	Ep	M. Campacci s.n.	R, P, F
	<i>B. dusenii</i> Kraenzl.	Ep	W.S. Mancinelli 950	R, P, F
	<i>B. filifolium</i> Borba & Smidt	Ru	E.C. Smidt <i>et al.</i> 793	F, P
	<i>B. gladiatum</i> Lindl.	Ep	A. Bresolin 259	R, P, F
	<i>B. gladiatum</i> Lindl.	Ep	Toscana 1905	R, P, F
	<i>B. plumosum</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Ru	W.S. Mancinelli 861	R, P, F
	<i>B. plumosum</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Ep	E.C. Smidt 726	R, P, F

As fotomicrografias foram obtidas em microscópio Olympus BX41, com câmera digital SC30-Olympus acoplada. A cutícula foi mensurada em microscópio Olympus calibrado com auxílio de uma lâmina de calibração micrometrada ZEISS 5+ 100/100 mm. Os feixes vasculares da lâmina foliar foram contados em estereomicroscópio Olympus.

Resultados

Raiz - A raiz da maioria das espécies estudadas apresenta uma camada de velame com células alongadas no sentido radial, com paredes anticlinais e periclinais internas ligeiramente espessas e periclinais externas delgadas (figuras 1, 2). A exceção é *B. weddellii* (*B. sect. Didactyle*) com duas camadas epidérmicas (figura 3). A exoderme possui espessamento regular em quase todas as espécies, exceto *B. involutum* e um espécime de *B. perii* (ambos *B. sect. Didactyle*), que possuem espessamento em U invertido, onde a parede periclinal externa é a mais espessa (figura 2).

O córtex é parenquimático, com número de camadas variável (figura 1). Células com conteúdo amilífero foram registradas apenas em *B. ciluliae* (*B. sect. Xiphizusa*). Ráfides estão presentes em todas as espécies analisadas (tabela 2). Cristais prismáticos e drusas foram registrados em *B. dusenii* e *B. plumosum*, e somente cristais prismáticos em *B. chloropterum*, (*B. sect. Xiphizusa*) (tabela 2). As drusas são de tamanho reduzido e de difícil visualização. Idioblastos com espessamento de parede espiralado, com barras finas, são comuns a todas as espécies de *B. sect. Didactyle* e ausentes em *B. sect. Xiphizusa*. Os idioblastos com espessamento de parede reticulado (figura 4) foram observados em *B. exaltatum* e *B. perii* (*B. sect. Didactyle*), e em *B. chloropterum*, *B. dusenii* e *B. gladiatum* (*B. sect. Xiphizusa*) (tabela 2). A endoderme é uniestratificada, com células espessadas em O e intercaladas por 1-3 células de passagem (figura 4). O cilindro vascular é poliarco, variando entre 5-9 em *B. sect. Xiphizusa* e 6-12 em *B. sect. Didactyle* (tabela 2). A medula é esclerificada (figura 1).

Pseudobulbo - O sistema de revestimento do pseudobulbo, em vista frontal, é formado por células epidérmicas poligonais. Em *B. sect. Xiphizusa* essas células são quadrangulares ou irregulares (figura 5) e nas espécies de *B. sect. Didactyle* podem ser quadrangulares a retangulares (figura 6). Em seção transversal, a cutícula é moderadamente espessa ou

espessa para a maioria das espécies (figura 7), com exceção de *B. dusenii* (*B. sect. Xiphizusa*) que é pouco espessa (figura 8). A epiderme é uniestratificada (figuras 7-9) em todas as espécies estudadas e a parede periclinal externa é espessa e lignificada para a maioria das espécies de *B. sect. Xiphizusa* (figura 9, tabela 3).

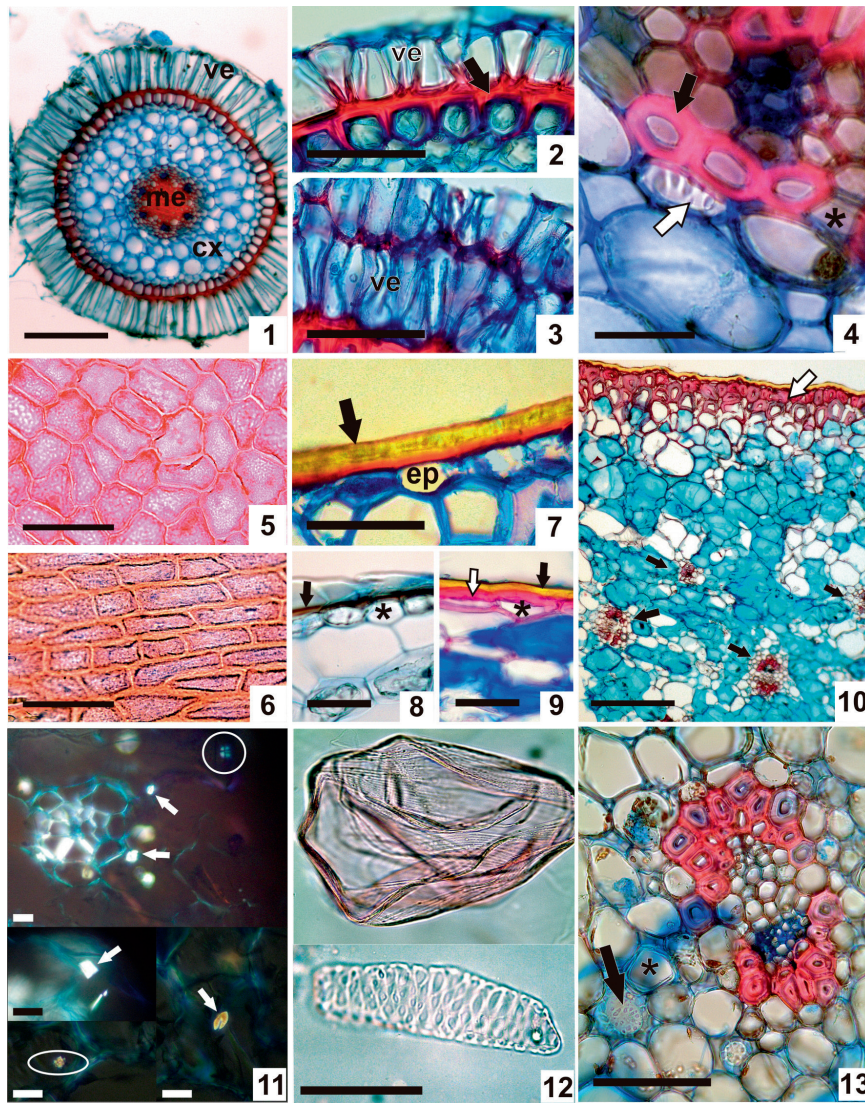
Hipoderme esclerificada foi encontrada apenas para *B. weddellii* (*B. sect. Didactyle*) (figura 10). O córtex é composto por número variável de camadas de parênquima aquífero (figura 10), que pode apresentar conteúdo amilífero (figura 11) na maioria das espécies e mucilaginoso em todas as espécies (figura 10, tabela 3). Ráfides foram registradas para todas as espécies das duas seções com exceção de *B. ciluliae* (*B. sect. Xiphizusa*) (tabela 3). Cristais prismáticos e drusas foram registrados apenas nas espécies de *B. sect. Xiphizusa* (figura 11), podendo estar presentes ou ausentes na mesma espécie (tabela 3). Idioblastos com espessamento espiralado, com barras finas, (figura 12) ou reticulado (figuras 12, 13) ocorrem em todas as espécies (tabela 3).

A organização do sistema vascular é atactostélica (figura 10), sem limite nítido em relação ao córtex. Os feixes vasculares são colaterais e parcialmente envoltos por fibras, que formam calotas mais pronunciadas junto ao floema e xilema (figura 13) e pouco desenvolvidas nos feixes pequenos.

Lâmina foliar - A lâmina foliar é hipoestomática (figuras 14, 15). Em vista frontal, as células epidérmicas são poligonais, hexagonais ou irregulares nas espécies de *B. sect. Didactyle* (figura 16) e poligonais, irregulares ou retangulares nas espécies de *B. sect. Xiphizusa* (figuras 17, 18). O tipo de estômato predominante é o tetracítico (figuras 17-18), com câmara supraestomática formada pela projeção da crista externa (figura 14, detalhe).

Tricomas bicelulares ocorrem em ambas as faces e são compostos de uma célula basal, inserida em depressão na epiderme, e uma célula apical alongada (figuras 19, 20), ou arredondada (figura 21). Esses tricomas são caducos e observados inteiros somente no limbo foliar jovem, quando secretam polissacarídeos (figura 22). Nas folhas adultas foram registradas apenas as depressões com célula basal embutida ou com a célula apical retraída ou rompida (figuras 14, 18, 21, 23), restos de exsudato sobre a epiderme e concentração de hifas de fungos na região do tricoma (figura 23).

A cutícula pode ser espessa (figura 24) ou moderadamente espessa (figura 25) (tabela 4); estriada



Figuras 1-13. Raiz e pseudobulbo de *Bulbophyllum*. Cortes transversais (1-4, 7-11, 13), cortes paradérmicos (5, 6), macerado (12). Raiz: 1. *B. plumosum*, vista geral, velame (ve), córtex (cx), medula esclerificada (me). 2. *B. involutum*, velame uniestratificado (ve), exoderme com espessamento em \cap (seta). 3. *B. weddellii*, velame biestratificado (ve). 4. *B. exaltatum*, endoderme com espessamento em O (seta preta), célula de passagem (*) e idioblasto com espessamento reticulado (seta). Pseudobulbo: 5. *B. gladiatum*, epiderme com células poligonais irregulares. 6. *B. perii*, epiderme com células retangulares. 7. *B. involutum*, detalhes da cutícula espessa (seta) e epiderme simples (ep). 8. *B. dusenii*, detalhe da epiderme simples (*) e cutícula fina (seta). 9. *B. plumosum*, detalhe da epiderme com parede periclinal externa espessada (seta branca) e cutícula (seta preta). 10. *B. weddellii*, hipoderme esclerificada (seta branca), parênquima aquífero com mucilagem (células em azul), e feixes vasculares (setas pretas). 11. *B. gladiatum* (vista geral acima) e *B. plumosum* (detalhes abaixo), imagem em luz polarizada, amido (círculo), cristais prismáticos (setas) e drusa (elipse). 12. idioblasto com espessamento espiralado em *B. weddellii* (acima) e idioblasto com espessamento reticulado em *B. dusenii* (abaixo). 13. *B. weddellii*, detalhe do feixe vascular e idioblastos reticulado (seta preta) e espiralado (*). Escalas: 500 μm (1, 10), 100 μm (7), 50 μm (2, 3, 5, 6, 8, 12, 13), 40 μm (9), 20 μm (4, 11).

Figures 1-13. *Bulbophyllum* root and pseudobulb. Transverse sections (1-4, 7-10, 13), front view (5, 6), macerated (11, 12): Root: 1. *B. plumosum*, general view velamen (ve), cortex (cx), sclerotic pith (me). 2. *B. involutum*, 1-layered velamen (ve), exodermal \cap -thickened wall (arrow). 3. *B. weddellii*, 2-layered velamen (ve). 4. *B. exaltatum*, endodermal O-thickened wall (black arrow), passage cell (*) and idioblast with reticulate thickening (white arrow). Pseudobulb: 5. *B. exaltatum*, epidermis with polygonal cells, 6. *B. perii*, epidermis with rectangular cells. 7. *B. involutum*, simple epidermis (ep) with thick cuticle (arrow), 8. *B. dusenii*, simple epidermis (*) with thin cuticle (arrow). 9. *B. plumosum*, epidermis detail with thickened outer wall (white arrow) and cuticle (black arrow). 10. *B. weddellii*, sclerophyllous hypodermis (white arrow), mucilaginous water-storage cells (in blue), and vascular bundles (black arrows), 11. *B. gladiatum* (general view) and *B. plumosum* (details below), image in polarized light, starch (circle), prismatic crystals (arrows) and druse (ellipse). 12. idioblast with spiral thickening in *B. weddellii* (above) and idioblast with reticulate thickening in *B. dusenii* (below). 13. *B. weddellii*, vascular bundle and idioblast with reticulate thickening (black arrow) and spiral thickening (*). Scales: 500 μm (1, 10), 100 μm (7), 50 μm (2, 3, 5, 6, 8, 12, 13), 40 μm (9), 20 μm (4, 11).

na face abaxial (estrias curtas e largas acompanhando o formato das células e parecendo ondulações em vista frontal) (figuras 18, 24) e lisa na face adaxial (figura 25), ou mais raramente estriada em ambas as faces, como em *B. meridense* (*B. sect. Didactyle*) e *B. dusenii* (*B. sect. Xiphizusa*) (figura 18). A epiderme é uniestratificada (figuras 14, 15), com paredes delgadas ou periclinal externa ligeiramente espessada e não lignificada (figuras 24, 25).

O mesofilo da folha das espécies de *B. sect. Didactyle* pode ser homogêneo (figura 14) (*B. exaltatum*, *B. involutum*, *B. meridense* e *B. perii*) ou fracamente heterogêneo (*B. tripetalum* e *B. weddellii*), enquanto *B. sect. Xiphizusa* é predominantemente heterogêneo, com mesofilo homogêneo apenas em *B. dusenii* (figura 15, tabela 4). É comum em *B. sect. Xiphizusa* uma ou mais camadas de parênquima paliçádico e redução das camadas de parênquima lacunoso em relação a *B. sect. Didactyle* (tabela 4). Enquanto ráfides são comuns a todos os indivíduos, cristais prismáticos e drusas ocorrem menos frequentemente. Os cristais prismáticos são mais comuns em *B. sect. Xiphizusa*, estando ausentes apenas em *B. dusenii* (tabela 4), em *B. sect. Didactyle* foram registrados apenas em *B. meridense* (tabela 4). Drusas foram

registradas apenas em *B. weddellii* (*B. sect. Didactyle*) (tabela 4). Idioblastos com espessamento espiralado, com barras finas, ou reticulado estão presentes na maioria das espécies (figuras 14, 15), exceto em *B. filifolium* (*B. sect. Xiphizusa*) (tabela 4).

Os feixes vasculares são colaterais, parcialmente envoltos por fibras formando calotas sobre o floema e xilema (figuras 14, 15). Os feixes vasculares estão alinhados na região central do mesofilo, maiores e menores intercalados, ocorrendo em número de 26-40 nas espécies de *B. sect. Didactyle* e 6-34 para *B. sect. Xiphizusa* (tabela 4).

Discussão

Várias das características aqui registradas para *B. sect. Didactyle* e *B. sect. Xiphizusa* como velame uni- ou biestratificado, células da exoderme e endoderme com paredes espessadas, medula esclerificada na raiz; pseudobulbo com epiderme simples, parênquima aquífero com células mucilaginosas, feixes vasculares colaterais parcialmente envoltos por fibras e idioblastos com espessamento espiralado; folha hipostomáticas, com epiderme simples, estômatos tetracíticos, presença de tricomas, cutícula

Tabela 2. Presença e organização das estruturas na raiz das espécies de *Bulbophyllum sect. Didactyle* e *B. sect. Xiphizusa*. CP: Cristal prismático; +: presente; -: ausente; Id: idioblasto; H: idioblasto com espessamento espiralado; R: idioblasto com espessamento reticulado.

Table 2. Presence and organization of the root structure of *Bulbophyllum sect. Didactyle* and *B. sect. Xiphizusa* species. CP: prismatic crystal; +: present; -: absent; Id: idioblast; H: idioblast with spiral thickenings; R: idioblast with crosslinked thickenings.

Seção	Espécie	Nº camadas córtex	Ráfides	CP	Drusas	Nº pólos xilemáticos	Id
<i>Didactyle</i>	<i>B. exaltatum</i>	5	+	-	-	9-0	H, R
	<i>B. involutum</i>	5	+	-	-	9-19	H
	<i>B. perii</i>	5	+	-	-	8-9	H, R
	<i>B. perii</i>	7	+	-	-	6-7	H
	<i>B. tripetalum</i>	4-5	+	-	-	11-12	H
	<i>B. weddellii</i>	6-7	+	-	-	9-10	H
	<i>B. bidentata</i>	4	+	-	-	8-9	-
	<i>B. ciluliae</i>	6	+	-	-	6-7	-
<i>Xiphizusa</i>	<i>B. chloropterum</i>	4-5	+	+	-	8-9	R
	<i>B. dusenii</i>	4-5	+	+	+	5-6	R
	<i>B. gladiatum</i>	4	+	-	-	7	R
	<i>B. gladiatum</i>	5	+	-	-	7	R
	<i>B. plumosum</i>	5	+	-	-	6-7	-
	<i>B. plumosum</i>	5	+	+	+	6	-

espessa, feixes vasculares colaterais parcialmente envolvidos por fibras, ausência de stegmata e presença de idioblastos com espessamento espiralado são comum para as demais seções de *Bulbophyllum* segundo a revisão de *Gravendeel et al.* (2014). No entanto algumas características parecem peculiares às espécies neotropicais, como por exemplo, a câmara supraestomática pronunciada e presença de monocristais, também registrada para *B.* sect. *Micranthae* (Smidt *et al.* 2013).

Nossas observações mostram que as espécies das seções analisadas apresentam dados característicos quanto à ocorrência de cristais prismáticos, drusas e tipo de espessamento nos idioblastos, além da ocorrência destes nos órgãos e a predominância do mesofilo heterogêneo. Além dessas informações, registramos o tipo de secreção e provável função dos tricomas caducos em *Bulbophyllum*.

Os cristais prismáticos são frequentes em todos os órgãos das espécies de *B.* sect. *Xiphizusa* e ausentes ou raramente presentes em *B.* sect. *Didactyle*, e também registrados nas folhas de *B.* sect. *Micranthae* por Smidt *et al.* (2013). As drusas foram mais comumente registradas em *B.* sect. *Xiphizusa*, mas também ocorrem em *B.* sect. *Micranthae* (Smidt *et al.* 2013).

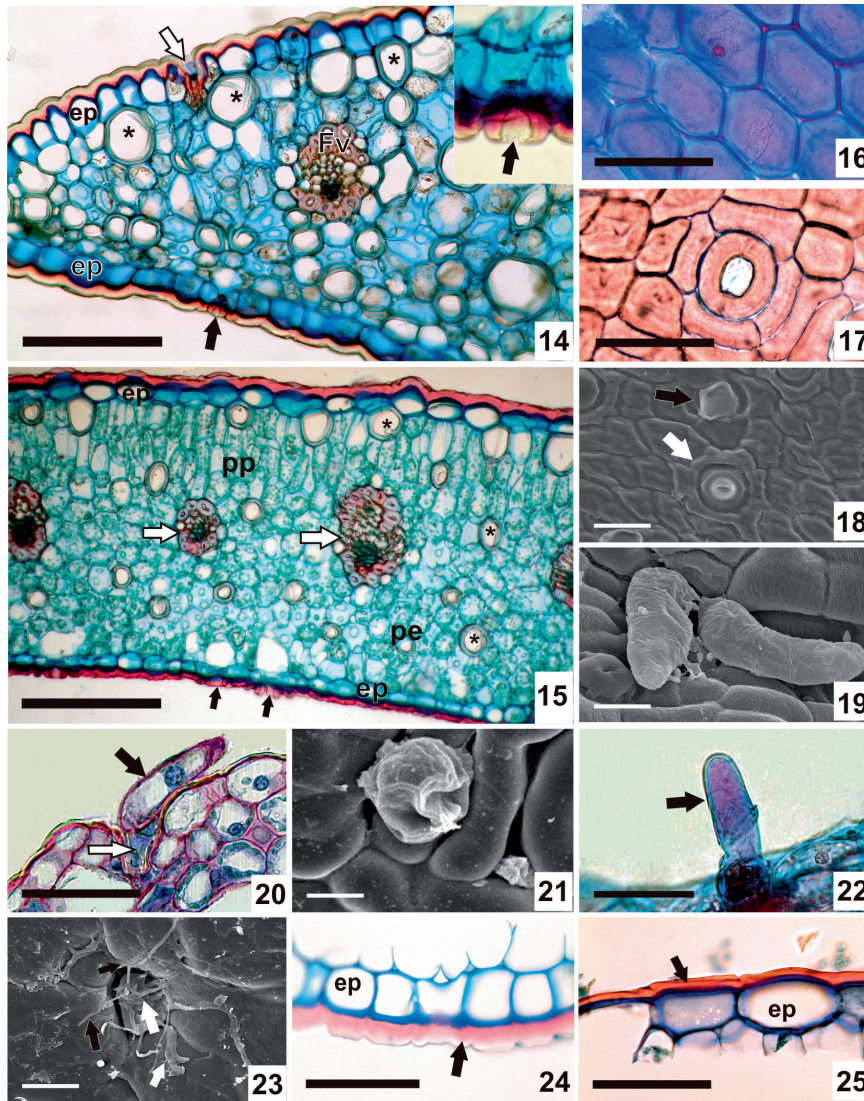
Notou-se que nas espécies com cristais prismáticos e drusas parece haver menos incidência de ráfides. No entanto, essa característica não foi quantificada.

Os idioblastos com espessamento de parede espiralado, presentes nas espécies de ambas as seções estudadas, são células comuns às epífitas e amplamente registrados nas Orchidaceae (Olatunji & Nengim 1980, *Gravendeel et al.* 2014, Stern 2014). O idioblasto espiralado com barras finas, registrado nas espécies do presente trabalho, é predominante em *Bulbophyllum* de maneira geral, ocorrendo associados as células parenquimáticas (Olatunji & Nengim 1980). A referência a esses idioblastos também foi feita para a folha de *B.* sect. *Micranthae* (Smidt *et al.* 2013). Idioblastos espiralados predominam no pseudobulbo e folha e não foram registrados na raiz das espécies aqui analisadas de *B.* sect. *Xiphizusa*. Idioblastos com espessamento reticulado também foram registrados em todos os órgãos das espécies analisadas, mas menos frequentemente na raiz de *B.* sect. *Didactyle* e presente na raiz de *B.* sect. *Xiphizusa*. A ausência de idioblastos espiralados na raiz das espécies de *B.* sect. *Xiphizusa* parece ser uma característica de valor taxonômico, no entanto maior número de espécies seria necessário para essa confirmação.

Tabela 3. Presença de cristais, idioblastos e estrutura da epiderme do pseudobulbo das espécies de *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* e *B.* sect. *Xiphizusa*. PPEE: parede periclinal externa da epiderme espessada; CP: cristais prismáticos; Id: idioblasto com parede espessada; +: presente; -: ausente.

Table 3. Crystal presence, tracheoidal idioblasts and pseudobulb epidermal thickened structures of *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* and sect. *Xiphizusa* species. PPEL: outer epidermal wall; CP: prismatic crystals; Id; idioblast with thickened wall; +: present, -: absent.

Seções	Espécie	Espessura cutícula (µm)	PPEE	Ráfides	CP	Drusas	Mucilagem	Id
<i>Didactyle</i>	<i>B. exaltatum</i>	12, 61	-	+	-	-	+	+
	<i>B. involutum</i>	17, 09	-	+	-	-	+	+
	<i>B. perii</i>	10, 03	-	+	-	-	+	+
	<i>B. perii</i>	9, 66	-	+	-	-	+	+
	<i>B. tripetalum</i>	22, 30	-	+	-	-	+	+
	<i>B. weddellii</i>	20, 05	-	+	-	-	+	+
	<i>B. bidentata</i>	14,49	+	+	+	-	+	+
	<i>B. ciluliae</i>	7,8	+	-	-	-	+	+
	<i>B. chloropterum</i>	8,92	+	+	+	+	+	+
<i>Xiphizusa</i>	<i>B. dusenii</i>	2,97	-	+	+	-	+	+
	<i>B. filifolium</i>	5,59	+	+	+	-	+	+
	<i>B. gladiatum</i>	5,01	-	+	+	+	+	+
	<i>B. gladiatum</i>	11,15	-	+	-	-	+	+
	<i>B. plumosum</i>	8,92	+	+	-	-	+	+
	<i>B. plumosum</i>	12,26	-	+	+	+	+	+



Figuras 14-25. Folha de *Bulbophyllum*. Cortes transversais (14, 15, 20, 22, 24, 25), vista frontal (16-19, 21, 23), microscopia eletrônica de varredura (MEV) (18, 19, 21, 23). 14. *B. exaltatum*, limbo com estômato (seta preta), epiderme (ep), inserção de tricoma (seta branca), mesofilo homogêneo, idioblastos espiralados (*) e feixe vascular (Fv). 15. *B. plumosum*, limbo com estômato (seta preta), epiderme (ep), mesofilo heterogêneo com parênquima paliçádico (pp) e esponjoso (pe), idioblastos espiralados (*) e feixes vasculares (seta branca). 16. *B. exaltatum*, face adaxial da epiderme. 17. *B. filifolium*, na face abaxial da epiderme e estômato tetracítico. 18. *B. dusenii*, face abaxial da epiderme, com cutícula estriada, estômato (seta branca) e tricoma colapsado (seta preta). 19. *B. perii*, tricoma na folha jovem, face abaxial. 20. *B. perii*, folha jovem, tricoma com célula basal (seta branca) e apical (seta preta). 21. *B. plumosum*, tricoma com célula apical colapsada. 22. *B. perii*, tricoma, reação positiva para PAS na célula apical (seta). 23. *B. tripetalum*, tricoma colapsado na folha adulta com restos de exudatos (seta branca) e hifas (seta preta). 24. *B. weddellii*, epiderme (ep) com cutícula espessa e estriada, face abaxial (seta). 25. *B. chloropterum*, epiderme (ep) com cutícula moderadamente espessa e lisa, face adaxial (seta). Escalas: 200 μm (14, 15), 50 μm (16, 17, 20, 24, 25), 20 μm (18, 22), 10 μm (19, 21, 23).

Figures 13-25. *Bulbophyllum* leaf blade. Cross section (14, 15, 20, 22, 24, 25), front view (16-19, 21, 23), in scanning electron microscopy (SEM) (18, 19, 21, 23). 14. *B. exaltatum*, leaf blade with stomata (black arrow), epidermis (ep), insertion of trichomes (white arrow), homogeneous mesophyll, spiral idioblast (*) and vascular bundle (Fv). 15. *B. plumosum*, leaf blade with stomata (black arrow), epidermis (ep), heterogeneous mesophyll with palisade parenchyma (pp) and spongy parenchyma (pe), spiral idioblast (black arrow) and vascular bundle (white arrow). 16. *B. exaltatum*, adaxial epidermis. 17. *B. filifolium*, abaxial epidermis and tetracytic stomata. 18. *B. dusenii*, abaxial epidermis, with striated cuticle, stomata (white arrow) and collapsed trichome (black arrow). 19. *B. perii*, trichomes in young leaf, abaxial epidermis. 20. *B. perii*, young leaf, trichome with basal cell (white arrow) and apical cell (black arrow). 21. *B. plumosum*, trichomes with collapsed apical cell. 22. *B. perii*, trichome, positive reaction for PAS in the apical cell (arrow). 23. *B. tripetalum*, collapsed trichomes in adult leaf, note the exudate (white arrows) and hyphae (black arrows). 24. *B. weddellii*, epidermis (ep), with thick and striated cuticle (arrow), abaxial side. 25. *B. chloropterum*, epidermis (ep) with moderate thickening and smooth cuticle (arrow), adaxial side. Scales: 200 μm (14, 15), 50 μm (16, 17, 20, 24, 25), 20 μm (18, 22), 10 μm (19, 21, 23).

Acredita-se que os idioblastos possam auxiliar no acúmulo de água (Pridgeon 1982), uma vez que alguns apresentam conteúdo mucilaginoso. Todavia, a função de suporte mecânico também é referida a essas células, por estarem adjacentes às células parenquimáticas, prevenindo o colapso nos períodos de estresse hídrico (Olatunji & Nengim 1980, Holtzmeier *et al.* 1998). No levantamento desses idioblastos em 13 espécies de *Bulbophyllum* africanas, Olatunji & Nengim (1980) registraram essas células no pseudobulbo da maioria das espécies, na folha de cinco espécies e ausente na raiz. Nas espécies aqui analisadas os idioblastos estão ausentes ou presentes em menor frequência na raiz. Essa ocorrência reforça a hipótese da função de suporte mecânico, uma vez que, as folhas e o pseudobulbo estariam mais sujeitos ao colapso celular pela perda de água, por possuírem tecido aquífero.

Claramente nota-se a presença de caracteres xeromorfos nos três órgãos analisados, das espécies de ambas as seções, como presença de idioblastos com espessamento espiralado, cutícula espessa no

pseudobulbo e limbo, idioblastos mucilaginosos no pseudobulbo e estômatos com câmara supraestomática. Essas características também foram evidenciadas em *B.* sect. *Micranthae* (Smidt *et al.* 2013), também neotropical. A presença de fibras envolvendo parcialmente os feixes vasculares das folhas é uma característica que distingue a maioria das Epidendroideae (Pridgeon *et al.* 2005) e é uma característica que mantém a estrutura foliar nos períodos de estresse hídrico.

O velame uniestratificado, das espécies de *Bulbophyllum* aqui analisadas, é eficiente na captação da umidade relativa do ambiente rupestre além de facilitar a absorção da umidade noturna. Essa característica pode ser associada às células amplas, com parede anticlinal resistente, que mantêm a estrutura celular. Embora Silva *et al.* (2010) acreditem que os fatores ambientais possam influenciar no número de camadas de velame em Orchidaceae, Moreira & Isaías (2008) verificaram que essa característica não muda em diferentes condições ambientais. O padrão uni-

Tabela 4 - Presença de cristais, estrutura e organização dos tecidos na lâmina foliar das espécies de *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* e *B.* sect. *Xiphizusa*. PP: Parênquima paliçádico (camadas); PE= Parênquima esponjoso (camadas); CP: cristais prismáticos; +: presente; -: ausente; na: dado não avaliado.

Table 4. Crystal presence, leaf blade structure and organization of tissues of *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* and *B.* sect. *Xiphizusa* species. PP: Palisade parenchyma (layers); PE: Spongy parenchyma (layers); CP: prismatic crystals; +: present, -: absent; na: data not evaluated.

Seções	Espécie	Espessura cutícula (µm)	PP	PE	CP	Drusas	Idioblasto	Nº feixe vascular
	<i>B. exaltatum</i>	9,46	-	9	-	-	+	34
	<i>B. involutum</i>	20,81	6	7	-	-	+	40
	<i>B. meridense</i>	16,47	-	3	+	-	+	na
<i>Didactyle</i>	<i>B. perii</i>	7,24	-	8	-	-	+	26
	<i>B. perii</i>	3,56	-	4-5	-	-	+	26
	<i>B. tripetalum</i>	12,26	-	4-6	-	-	+	28
	<i>B. weddellii</i>	23,93	3-4	5	-	+	+	32
	<i>B. bidentata</i>	28,99	3	3-5	+	-	+	16
	<i>B. ciluliae</i>	9,47	3-4	5-6	+	-	+	24
	<i>B. chloropterum</i>	7,24	2	2-3	+	-	+	22
	<i>B. dusenii</i>	3,12	-	3-5	-	-	+	22
<i>Xiphizusa</i>	<i>B. flifolium</i>	8,92	2-3	2-3	+	-	-	6
	<i>B. gladiatum</i>	6,69	1-2	2-3	+	-	+	24
	<i>B. gladiatum</i>	10,03	1-2	3-4	+	-	+	34
	<i>B. plumosum</i>	11,00	2-3	5-6	+	-	+	15
	<i>B. plumosum</i>	15,05	2-3	4-5	+	-	+	32

ou biestratificado típico de *Bulbophyllum* (Porembsk & Barthlott 1988, *Gravendeel et al.* 2014) também ocorre nas espécies de *Bulbophyllum* do velho mundo (Mohana Rao & Khasim 1987), e, embora com apenas uma camada de células, é eficiente para as espécies epífitas e rupícolas neotropicais aqui analisadas.

Exoderme e endoderme uniestratificadas e com espessamento de parede, como nas espécies aqui avaliadas, são características comuns à subfamília Epidendroideae (Pridgeon 1982, Mohana Rao & Khasim 1987, Morris *et al.* 1996, Stern & Judd 2001, 2002, Aybeke 2012), não havendo diferença entre as seções de *B. sect. Didactyle* e *B. sect. Xiphizusa*. O espessamento em U, O ou \cap (U invertido) na exoderme e espessamento na endoderme típicos de *Bulbophyllum* (*Gravendeel et al.* 2014) são semelhantes aos registrados para espécies da subtribo Dendrobiineae (Morris *et al.* 1996), bem como para outros grupos não relacionados próximos ao gênero *Vanda* Gaud. ex Pfitzer (Carlswald *et al.* 2006), espécies epífitas de *Maxillaria* e *Miltonia regnellii* (Dettke *et al.* 2007, 2008) e rupícolas como *Pleurothallis rupestris* (Scatena & Nunes 1996). O espessamento da parede da exoderme e endoderme foi considerado por Moreira & Isaiás (2008) como uma adaptação ao hábito epifítico para evitar a evaporação da água da região cortical e cilindro vascular.

As características xeromorfas do pseudobulbo das espécies analisadas, como cutícula espessa, parede periclinal externa lignificada, presença de hipoderme, parênquima aquífero e idioblastos com parede espessada, são semelhantes às observadas para outras orquídeas epífitas (Arditti 1992, Silva & Milaneze-Gutierrez 2004). Esta organização do pseudobulbo é semelhante nas espécies de ambas as seções aqui analisadas e também descritas para o gênero *Bulbophyllum* na revisão de *Gravendeel et al.* (2014). Esse é um órgão tipicamente armazenador (Ng & Hew 2000) e, embora o parênquima possa conter amido, o conteúdo celular é comumente hialino e armazena água (Mohana Rao & Khasim 1987, Stern & Morris 1992, Holtzmeier *et al.* 1998, Oliveira & Sajo 2001). A presença de células mucilaginosas, comuns nesse tecido, está relacionada à retenção da água (Gibson & Nobel 1986), bem como a cutícula espessa e a hipoderme esclerificada.

Nas espécies analisadas, ocorrem divergências dentro da mesma seção, quanto à espessura da cutícula no pseudobulbo e folha, e a presença de hipoderme esclerificada no pseudobulbo. A presença de hipoderme esclerificada no pseudobulbo de

B. weddellii (*B. sect. Didactyle*) e a cutícula fina no pseudobulbo de *B. dusenii* (*B. sect. Xiphizusa*) as diferenciam das demais espécies aqui analisadas. O espessamento da parede periclinal externa da epiderme do pseudobulbo distingue *B. sect. Xiphizusa* de *B. sect. Didactyle*. A espessura da cutícula, que se apresenta de moderadamente espessa a espessa, principalmente na folha é uma forte adaptação ao ambiente xérico, nas espécies de *Bulbophyllum*. Essa característica é típica de espécies de *Bulbophyllum* neotropicais (Smidt *et al.* 2013) e de *Bulbophyllum* como um todo (*Gravendeel et al.* 2014), bem como para as Epidendroideae (Holtzmeier *et al.* 1998, Oliveira & Sajo 1999, Stern & Whitten 1999, Stern & Judd 2001, Stern *et al.* 2004, Carlswald & Stern 2009).

A presença dos tricomas inteiros e com secreção de polissacarídeos totais durante a fase jovem da folha em *B. perii* e tricomas colapsados ou cicatrizes de tricomas caducos na folha adulta, podem indicar uma função de coléter, segundo o conceito utilizado por Fahn (1979), Leitão & Cortelalazzo (2008), Mayer *et al.* (2011) e Cardoso *et al.* (2014).

Tricomas foliares foram identificados em *Bulbophyllum* (Mohana Rao & Khasim 1987, Smidt *et al.* 2013), em outras subtribos da subfamília Epidendroideae como Pleurothallidinae (Pridgeon 1981, Pridgeon 1982, Scatena & Nunes 1996, Silva *et al.* 2006), e Dendrobiineae (Morris *et al.* 1996), *Maxillaria* (Holtzmeier *et al.* 1998) e *Stanhopea* (Stern & Whitten 1999). Embora a ontogênese desses em Pleurothallidinae tenha sido descrita por Pridgeon (1981) e a morfologia por Stern & Whitten (1999), registrando a queda da célula apical (Holtzmeier *et al.* 1998), ainda não se sabia ao certo sua função. A função secretora sugerida por Pridgeon (1981) e Holtzmeier (1998) é confirmada nas nossas análises. No entanto, pela primeira vez é registrada a secreção de polissacarídeos totais na célula apical dos tricomas de *Bulbophyllum*. A função de secreção nos estágios jovens da folha foi aqui confirmada pela presença do exsudato no interior das células e posteriormente recobrimo regiões da epiderme nas folhas jovens. A funcionalidade desse tricoma somente na folha jovem e a queda na folha adulta, reforçam a função de proteção contra a desidratação, como indicado por Mercadante-Simões & Paiva (2009) para os coléteres na espécie de cerrado *Tontelea micrantha* (Celastraceae).

O reconhecimento da presença de tricomas com função de coléter em Monocotiledôneas, especialmente em Orchidaceae foi registrado

recentemente nas espécies de Epidendroideae, *Rodriguezia venusta* (Leitão e Cortelazzo 2008), *Oncidium flexuosum* (Mayer *et al.* 2011) e em vários gêneros de Pleurothallidinae (Cardoso *et al.* 2014). Acreditamos que os tricomas registrados nas espécies de *Bulbophyllum* sect. *Didactyle* e *B.* sect. *Xiphizusa* são coléteres e que investigações morfológicas mais amplas poderiam evidenciar alguma importância taxonômica.

Nas espécies neotropicais de *Bulbophyllum* aqui analisadas o mesofilo heterogêneo com parênquima paliçádico na face adaxial é claramente predominante nas espécies de *B.* sect. *Xiphizusa* em relação às espécies de *B.* sect. *Didactyle*, embora ambas compartilhem o mesmo hábito. Dentre as Orchidaceae, o mesofilo varia entre homogêneo e heterogêneo (Kurzweil *et al.* 1995, Morris *et al.* 1996, Oliveira & Sajo 1999, Pires *et al.* 2003, Silva *et al.* 2006, Stern & Carlsward 2006, Carlsward & Stern 2009, Aybeke *et al.* 2010, Aybeke 2012), bem como dentro do gênero *Bulbophyllum* (Gravendeel *et al.* 2014). Essa característica está claramente associada às espécies que toleram grande exposição ao sol, como registrado para *Cymbidium* (Yukawa & Stern 2002).

Embora a morfologia externa dos órgãos vegetativos seja claramente distinta entre as seções de *Bulbophyllum* (Smidt *et al.* 2011), nota-se que a estrutura anatômica das espécies de *B.* sect. *Didactyle* e *B.* sect. *Xiphizusa* é semelhante. As características foliares dessas seções também são similares as de *B.* sect. *Micranthae* analisada por Smidt *et al.* (2013). Segundo os autores, estas semelhanças podem estar relacionadas a adaptações às condições similares nos habitats compartilhados por estas espécies.

São características que distinguem as seções e poderiam ser avaliadas filogeneticamente, as variações registradas, como ausência de cristais prismáticos e drusas na raiz e pseudobulbo, e a baixa frequência desses nas folhas das espécies de *B.* sect. *Didactyle*, e a ausência de idioblastos espiralados na raiz, parede periclinal externa da epiderme do pseudobulbo espessada e parênquima paliçádico mais desenvolvido no mesofilo das folhas das espécies de *B.* sect. *Xiphizusa*. Algumas das espécies analisadas são distintas pelas características anatômicas. *Bulbophyllum weddellii* (*B.* sect. *Didactyle*) difere pela presença de hipoderme esclerificada no pseudobulbo e velame biestratificado. *Bulbophyllum dusenii* (*B.* sect. *Xiphizusa*) difere pela cutícula fina no pseudobulbo e *B.* *ciluliae* (*B.* sect. *Xiphizusa*) pela ausência de

ráfides no pseudobulbo. Os resultados encontrados neste estudo reforçam a necessidade de estudos macro e micromorfológicos, tanto para o entendimento da presença de características relacionadas aos habitats ocupados por estas espécies, quanto na busca de sinapomorfias morfológicas que auxiliem o entendimento da evolução deste grupo de plantas neotropicais.

Agradecimentos

À CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado da primeira Autora e ao financiamento do projeto PNADB (processo n. 23038.000027/2010-51); ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR, pelo uso das dependências e equipamentos.

Literatura citada

- Arditti, J.** 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. Wiley, New York.
- Aybeke, M.** 2012. Comparative anatomy of selected rhizomatous and tuberous taxa of subfamilies Orchidoideae and Epidendroideae (Orchidaceae) as an aid to identification. *Plant Systematic Evolution* 298: 1643-1658.
- Aybeke, M., Sezik, E. & Olgun, G.** 2010. Vegetative anatomy of some *Ophrys*, *Orchis*, *Dactylorhiza* (Orchidaceae) taxa in Trakya region of Turkey. *Flora* 205: 73-89.
- Bukatsch, F.** 1972. Bemerkungen zur doppelfärbung astrablau - safranin. *Mikrokosmos* 61: 255.
- Cardoso, P.G., Campbell, L.M., Mazzoni-Viveiros, S.C. & Barros F.** 2014. Floral colleters in Pleurothallidinae (Epidendroideae: Orchidaceae). *American Journal of Botany* 101: 587-597.
- Carlsward, B.S. & Stern, W.L.** 2009. Vegetative anatomy and systematics of Triphorinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 159: 203-210.
- Carlsward, B.S., Stern, W.L. & Bytebier, B.** 2006. Comparative vegetative anatomy and systematics of the Angraecoids (Vandae, Orchidaceae) with an emphasis on the leafless habit. *Botanical Journal of Linnean Society*, 151: 165-218.
- Dettke, G.A., Sanches-Marques, A.M.M. & Milaneze-Gutierrez, M.A.** 2007. Anatomia vegetativa de três espécies de *Maxillaria* Ruiz *et* Pavón (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 531-533.
- Dettke, G.A., Sanches-Marques, A.M.M., Fernandes, M. & Milaneze-Gutierrez, M.A.** 2008. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Miltonia regnellii* (Lindl.) Rchb. f. (Oncidiinae, Orchidaceae). *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 30: 9-16.

- Fahn, A.** 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, New York:
- Figueroa, C., Salazar, G.A., Zavaleta, H.A. & Engleman, E.M.** 2008. Root character evolution and systematics in Cranichidinae, Prescottiinae and Spiranthininae (Orchidaceae, Cranichideae). *Annals of Botany* 101: 509-520.
- Franklin, G.L.** 1945. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155: 51.
- Gibson, A.C. & Nobel, P.S.** 1986. *The Cactus primer*. Harvard University Press, Cambridge:
- Gravendeel, B., Vermeulen, J.J., Fisher, G.A., Smidt, E.C., Veitch, N.C., Grayer, R.J. & Sieder, A.** 2014. 621. *Bulbophyllum*. In: Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. (eds.) *Genera Orchidacearum*, 6, Epidendroideae (Part Three). Oxford University, Oxford, pp. 4-51.
- Holtzmeier, M.A., Stern, W.L. & Judd, W.S.** 1998. Comparative anatomy and systematics of Senghas's cushion species of *Maxillaria* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 127: 43-82.
- Johansen, D.A.** 1940. *Plant microtechnique*. Mc Graw Hill Book, New York.
- Kaiser, E.** 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Bot. Zentralb.* 1880: 25-26.
- Kurzweil, H., Linder, H.P., Stern, W.L. & Pridgeon, A.M.** 1995. Comparative vegetative anatomy and classification of *Disea* (Orchidaceae). *Botanical Journal of Linnean Society*, 117: 171-220.
- Leitão, C.A. & Cortelazzo, A.L.** 2008. Structural and histochemical characterisation of the collectors of *Rodriguezia venusta* (Orchidaceae). *Australian Journal of Botany*, 56: 161-165.
- Mayer, J.L.S., Cardoso-Gustavson, P. & Appezzato-da-Gloria, B.** 2011. Collecters in monocots: New record for Orchidaceae. *Flora* 206: 185-190.
- McManus, J.F.A.** 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technol.* 23: 99-108.
- Mercadante-Simões, M.O. & Paiva, E.A.S.** 2009. Leaf collectors in *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae): Ecological, morphological and structural aspects. *C.R. Biologies* (2013). Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2013.06.007>.
- Mohana Rao, P.R. & Khasim, S.M.** 1987. Anatomy of three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) with comments on their ecological adaptability and taxonomy. *Proceedings Indian Academy Sciences (Plant Science)* 97: 391-397.
- Moreira, A.S.F.P. & Isaias, R.M.S.** 2008. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51: 83-93.
- Morris, M.W., Stern, W.L. & Judd, W.S.** 1996. Vegetative anatomy and systematic of subtribe Dendrobiinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 120: 89-114.
- Ng, C.K.Y. & Hew, C.S.** 2000. Orchid pseudobulbs - 'false' bulbs with a genuine importance in orchid growth and survival! *Scientia Horticulturae* 83: 165-172.
- O'Brien, T.P., Feder, N. & McCully, M.E.** 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Olaturunji, O.A. & Nengim, R.O.** 1980. Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 80: 357-370.
- Oliveira, V.D.C. & Sajo, M.G.** 1999. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 22: 365-374.
- Oliveira, V.D.C. & Sajo, M.G.** 2001. Morfo-anatomia caulinar de nove espécies de Orchidaceae. *Acta Botanica Brasilica* 15: 177-188.
- Pires, M.F. O., Semir, J. & Pinna, G.F.A.M.** 2003. Taxonomic separation of the genera *Prostechea* and *Encyclia* (Laeliinae: Orchidaceae) using leaf and root anatomical features. *Botanical Journal Linnean Society*, 143: 293-303.
- Poremski, S. & Barthlott, W.** 1988. Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. *Nordic Journal of Botany* 8: 117-137.
- Pridgeon, A.M.** 1981. Absorbing trichomes in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 68: 64-71.
- Pridgeon, A.M.** 1982. Diagnostic anatomical characters in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *American Journal Botany* 69: 921-938.
- Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W. & Rasmussen, F.N.** 2005. *Genera Orchidacearum*. v. 4. Epidendroideae (Part one). Oxford: Oxford University Press.
- Scatena, V.L. & Nunes, A.C.** 1996. Anatomia de *Pleurothallis rupestris* Lindl. (Orchidaceae) dos campos rupestres do Brasil. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 15: 35-43.
- Silva, I.S. & Milaneze-Gutierrez, M.A.** 2004. Caracterização morfo-anatômica dos órgãos vegetativos de *Cattleya walkeriana* Gardner (Orchidaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 26: 91-100.
- Silva, I.V., Meira, R.M.S.A., Azevedo, A.A. & Euclides, R.M.A.** 2006. Estratégias anatômicas foliares de treze espécies de Orchidaceae ocorrentes em um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB)-MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 20: 741-750.
- Silva, I.V., Meira, R.M.S.A. & Azevedo, A.A.** 2010. Anatomia de raízes de espécies de Orchidaceae do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais. *Hoehnea* 37: 147-161.

- Smidt, E.C.** 2007. Filogenia e revisão taxonômica de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae) ocorrentes no neotrópico. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- Smidt, E.C. & Borba, E.L.** 2007. *Bulbophyllums* in Brazil: collection history and distribution. *Orchids* 76: 130-133.
- Smidt, E.C., Silva-Pereira, V., Borba, E.L. & van den Berg, C.** 2007. Richness, distribution and important areas to preserve *Bulbophyllum* in the Neotropics, *Lankesteriana* 7: 107-113.
- Smidt, E.C., Borba, E.L., Gravendeel, B., Fisher, G.A. & van den Berg, C.** 2011. Molecular phylogeny of the Neotropical sections of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) using nuclear and plastid spacers. *Taxon* 60: 1050-1064.
- Smidt, E.C., Gallo, L.W. & Scatena, V.L.** 2013. Leaf anatomical and molecular studies of *Bulbophyllum* section *Micranthae* (Orchidaceae) and their implications for systematic. *Brazilian Journal of Botany* 36: 75-82.
- Stern, W.L.** 2014. *Anatomy of the Monocotyledons: X. Orchidaceae*. University Press, Oxford.
- Stern, W.L. & Whitten, W.M.** 1999. Comparative vegetative anatomy of Stanhopeinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 129: 87-103.
- Stern, W.L. & Judd, W.** 2002. Systematic and comparative anatomy of Cymbidieae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 1-27.
- Stern, W.L. & Carlsward, B.S.** 2006. Comparative vegetative anatomy and systematics of the Oncidiinae (Maxillarieae, Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 152: 91-107.
- Stern, W.L., Judd, W. & Carlsward, B.S.** 2004. Systematic and comparative anatomy of Maxillarieae (Orchidaceae), *sans* Oncidiinae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 144: 251-274.
- Yukawa, T. & Stern, W.L.** 2002. Comparative vegetative anatomy and systematics of *Cymbidium* (Cymbidieae: Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 383-419.